

INSTITUTO NACIONAL DE PESQUISAS DA AMAZÔNIA - INPA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ECOLOGIA

**DISTRIBUIÇÃO, ECOFISIOLOGIA E CAPACIDADE ADAPTATIVA
DO GÊNERO *Montrichardia* H. CRUEG NA BACIA AMAZÔNICA**

ALINE LOPES

Manaus – AM

Setembro, 2014

ALINE LOPES

**DISTRIBUIÇÃO, ECOFISIOLOGIA E CAPACIDADE ADAPTATIVA
DO GÊNERO *Montrichardia* H. CRUEG NA BACIA AMAZÔNICA**

ORIENTADORA: Dra. MARIA TERESA FERNANDEZ PIEDADE
Coorientador: Dr. Sidinei Magela Thomaz

Tese apresentada ao Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutora em Biologia (Ecologia).

Manaus – AM

Setembro, 2014

Banca Examinadora do Trabalho Escrito

Nome – Instituição	Parecer
Vera Maria F. de Almeida-Val – Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia	Aprovada
Doriane Picanço Rodrigues – Universidade Federal do Amazonas	Aprovada
Antonio F.M. Camargo – UNESP/Rio Claro	Aprovada
Augusto Cesar Franco – Universidade de Brasília	Aprovada com Correções
Christine Lucas - Universidad de la República del Uruguay	Aprovada com Correções
Evlyn M.L.M. Novo – Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais	Aprovada com Correções
Jochen Schöngart - Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia	Aprovada com Correções

Banca Avaliadora da Defesa da Tese

Nome – Instituição	Parecer
Vera Maria F. de Almeida-Val – Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia	Aprovada
Jefferson da Cruz – Universidade Federal do Amazonas	Aprovada
Cristiane S. Ferreira – Universidade de Brasília	Aprovada

L864 Lopes, Aline

Distribuição, ecofisiologia e capacidade adaptativa do gênero *Montrichardia* H. Crueg na Bacia Amazônica / Aline Lopes. --- Manaus: [s.n.], 2014.

168 f. : il. color.

Tese (Doutorado) --- INPA, Manaus, 2014.

Orientador: Maria Teresa Fernandez Piedade.

Coorientador: Sidinei Magela Thomaz.

Área de concentração: Ecologia.

1. Macrófitas aquáticas. 2. Ecologia de populações.
3. Plasticidade fenotípica. I. Título.

CDD

574.52632

Sinopse:

Estudou-se a capacidade adaptativa do gênero *Montrichardia* analisando sua distribuição na Amazônia, nicho ecológico, estrutura populacional e estrutura genética em 55 parcelas na Amazônia brasileira. Além disso, estudou-se em laboratório o efeito da elevação de CO₂ e temperatura na germinação, morfologia e fisiologia de *M. arboresces*.

Palavras chave:

Áreas úmidas, plasticidade fenotípica, genética de populações, mudanças climáticas, nicho ecológico.

Às duas mulheres que me ensinaram o mais importante: ser forte. Minha mãe, Wanda Laura Lopes por todo incentivo e carinho e a minha orientadora Maria Teresa Fernandez Piedade por toda dedicação e ensinamentos no decorrer desses nove anos.

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia e aos professores da instituição por todo aprendizado ao longo de todos esses anos.

Aos meus amigos do Grupo MAUA, Beth, Celso, Lucia, Kelvin, Wallace, Valdeney, que ao longo desses anos de convivência me ensinaram mais do que eu imaginaria que poderia aprender quando vim estudar no INPA. Agradeço o auxílio nas coletas, às explicações, o tempo dedicado e o abraço amigo. Ao Dr. Florian Wittmann e Dr. Jochen Schöngart por todo incentivo desde a elaboração do projeto, coletas de campo e finalização da tese. Aos diversos alunos de mestrado, doutorado e iniciação de científica que ajudaram no campo e nas discussões do projeto e da tese. Em especial a minha aluna de PIBIC Aurélia que ensinou muito mais a mim do que eu a ela. E me faltam palavras para agradecer a Maitê Piedade, minha orientadora, a qual participou de todo o processo da minha formação como pesquisadora.

Às minhas irmãs Karina e Jacqueline por todo incentivo, paciência, carinho, análises psicológicas, por aguentar todo o meu choro e lamentações, e por me darem sobrinhas maravilhosas que sempre me alegam, mesmo nos momentos mais difíceis. Às minhas amigas Joana e Natália por toda paciência nesse período tão difícil de finalização da tese. Mais que amigas foram minhas irmãs em Manaus.

À minha mãe e meu pai (*in memoriam*) agradeço por confiarem sempre na minha capacidade e por me mostrarem que sempre é possível superar os obstáculos no caminho. Ao José Ronaldo, que mesmo sem entender nada do que eu estava fazendo passou horas ao meu lado no laboratório me fazendo companhia e me dando todo o amor e carinho, quando eu já não conseguia mais suportar tanta pressão.

A Dra. Marina Anciães pela ajuda na interpretação dos modelos. Ao MSc. Marcelo “Brasa” pelo tempo dedicado me ensinando a modelar o nicho das espécies. Ao Dr. Sidinei M. Thomaz pela leitura e comentários aos manuscritos. À Dra. Vera M. F. de Almeida e Val, Dra. Maristerra R. Lemes e Dra. Doriane Picanço agradeço pelas sugestões nas análises e interpretação dos dados genéticos. À Dra. Pia Parolin, que foi de extrema importância na finalização da tese, dando valiosas sugestões aos manuscritos.

Agradeço aos avaliadores anônimos do pré-projeto e aos membros da banca de qualificação pelas sugestões feitas ao projeto, Dr. Jansen Zuanon (INPA), Dra. Lourdes (INPA), Dra. Vera de Almeida e Val (INPA), Dr. Bruce Forsberg (INPA), Dr. Charles Clements (INPA). Aos avaliadores participantes da banca examinadora do trabalho escrito Dr. Antônio Camargo (UNESP), Dra. Vera de Almeida e Val (INPA), Dra. Christine Luca, Dr. Augusto Franco (UnB), Dra. Evelyn Novo (INPE), Jochen Schöngart (INPA) e Dra. Doriane Picanço (UFAM) pelas valorosas sugestões e correções da tese que foram extremamente importantes na concepção final dos artigos. Agradeço ainda aos avaliadores da defesa da tese Dra. Vera Maria Fonseca de Almeida-Val, Dr. Jefferson da Cruz e a Dra. Cristiane S. Ferreira. Ao CNPq agradeço pela bolsa de doutorado. Às agências CNPq e FAPPEAM pelo financiamento do projeto por meio dos editais INCT Adapta, Pronex – “Áreas Alagáveis”, Editais Universal (2009/2011 e 2011/2013) e PELD “MAUA”.

Agradeço ainda a todos que de forma direta ou indireta me ajudaram nessa jornada e que não poderei citar aqui tamanha a gama de pessoas envolvidas em todas as fases do projeto.

Agradeço, sobretudo, a oportunidade de ter conhecido essa imensidão de cores e sabores da Amazônia que aprendi a admirar cada dia mais. Por todos os Estados percorridos pude aprender um pouco da cultura e especificidades locais. As diferentes cores de água dos rios e igarapés, as lindas macrófitas nas águas claras do Tapajós, as Anavilhanas, um labirinto natural sempre verde, as praias de areia branca do rio Negro, o efeito de maré nos rios do Pará e Amapá, os lagos azuis de Roraima, a seca no rio Madeira. Enfim em cada ponto de coleta muito mais que dados ecológicos foram coletados.

"The important thing is not to stop questioning."

"Logics will get you from A to B, imagination will take you everywhere."

Albert Einstein

RESUMO

Nas áreas alagáveis amazônicas, ainda relativamente integras, a vegetação encontra-se adaptada ao regime regular de inundação, o qual determina a distribuição de espécies de plantas. Além do efeito dos níveis da água, as mudanças ambientais, em decorrência do aumento da temperatura e dos níveis de dióxido de carbono, podem ter efeitos marcantes sobre a flora e a fauna nestas áreas. A oscilação do nível das águas torna estas áreas frágeis, por isso, as mudanças ambientais são preocupantes, sendo necessário estimar a capacidade adaptativa e a resiliência do sistema. Para isso, é fundamental encontrar marcadores biológicos sensíveis e adequados que permitam desenvolver e propor estratégias de conservação. O objetivo deste estudo foi fornecer um conjunto de informações sobre as características adaptativas morfológicas e fisiológicas de macrófitas aquáticas com diferentes amplitudes de distribuição, visando entender como as modificações ambientais interferem sobre esse grupo de plantas de fundamental importância para a biota aquática. Foram coletados dados morfológicos, fisiológicos e moleculares de 55 populações de *Montrichardia* spp. distribuídas na Bacia Amazônica; e dados de distribuição provenientes de herbários, com o intuito de compreender a ecologia das espécies em escala regional (Amazônia) e macro-escala (Neotropical). Para simular o efeito das mudanças climáticas sobre *Montrichardia arborescens* foi realizado um experimento em microcosmo com duração de cinco meses. Neste experimento foi avaliando a germinação e crescimento inicial das plântulas com a elevação da temperatura (+1,5 a +4,5°C que o controle) e CO₂ (+200 a +800 ppm que o controle). Os diversos parâmetros ambientais e caracteres biológicos aferidos demonstraram a clara separação das espécies *M. linifera* e *M. arborescens*. Entretanto, a análise genética feita para as espécies não permitiu determinar a exata relação entre a variedade *M. arborescens* var. *aculeata* e as outras duas espécies. O alto índice de diferenciação genética (RST) entre as espécies *M. linifera* e *M. arborescens*, aliado à interpretação da rede de haplótipos, permitiu confirmar a separação destas duas espécies, o que se mostrou compatível com a separação morfológica propiciada pela análise do número de nervuras apicais secundárias. Os fatores hidroquímicos influenciaram a distribuição das espécies de *Montrichardia* em escala regional (Amazônia). Enquanto *M. linifera* ocorre principalmente em rios de água branca (várzeas), *M. arborescens* ocorre em rios de água preta (igapós) e riachos de terra-firme. Em uma macro-escala (Neotropical), a precipitação e a temperatura foram os fatores que mais influenciaram a distribuição das espécies. A simulação da elevação de temperatura e CO₂ nos microcosmos

permitiu inferir os efeitos das mudanças climáticas sobre *M. arborescens*. Esta espécie apresentou uma menor acumulação de biomassa e menor taxa de transporte de elétrons quanto exposta a níveis extremos de temperatura e CO₂. Concluímos que as espécies do gênero *Montrichardia* apresentam diferenças adaptativas morfológicas, fisiológicas e genéticas relacionadas aos parâmetros ambientais intervenientes em cada um dos locais amostrados (várzea e igapó), e que a elevação de temperatura e CO₂ influenciam a morfologia e fisiologia de *M. arborescens*.

Distribution, ecophysiology and adaptive capacity of genus *Montrichardia* H. Crueg in the Amazon Basin

ABSTRACT

In Amazonian floodplains, relatively integral system yet, the vegetation is adapted to regular flooding regime, which determines the distribution of plant species. Besides the effect of water levels, environmental changes, due to the increase in temperature and levels of CO₂, may have marked effects on the flora and fauna in these areas. The oscillation of the water level makes these areas so fragile, and the environmental changes are worrying, being necessary to estimate the adaptive capacity and resilience of the system. For this it is essential to find suitable and sensitive biological markers in order to develop and propose conservation strategies. The aim of this study was to provide a set of information about the morphological and physiological adaptive traits of aquatic macrophytes with different amplitudes of distribution, in order to understand how environmental changes affect this group of plants, with fundamental importance to aquatic biota. Morphological, physiological and molecular data of 55 populations of *Montrichardia* spp. distributed in the Amazon Basin were collected. Data of distribution from herbaria was used to elucidate the ecology of the species at the regional scale (Amazonia) and macro-scale (Neotropical). To estimate the effect of climate change on *Montrichardia arborescens* an experiment was performed in microcosm with the elevation of temperature and CO₂ for five months. The germination and growth of seedling were evaluated. Various environmental parameters and biological characteristics measured demonstrated the clear separation of species *M. linifera* and *M. arborescens*. However, genetic analysis did not allow to understand the exact relationship between *M. arborescens* var. *aculeata* and the other two other species. The degree of genetic differentiation (RST) between the species *M. arborescens* and *M. linifera*, together with the interpretation of the haplotype network, permitted to confirm the separation of these two species, which proved compatible with the morphological separation provided by the analysis of the number of secondary apical veins. The hydrochemical factors proved to influence the distribution of *Montrichardia* species on a regional scale (Amazonia). While *M. linifera* occurs mainly in white water rivers, *M. arborescens* occurs in black water rivers and upland streams. At a macro-scale (Neotropical), precipitation and temperature were the most important factors influencing the species distribution. The simulation of temperature rise and CO₂ in

microcosms allowed us to infer the effects of climate change on *M. arborescens*. This species showed a lower accumulation of biomass and lower rate of electron transport when exposed to extremes of temperature and CO₂. We conclude that the genus *Montrichardia* exhibit morphological, physiological and genetic adaptive differences relating to environmental parameters in each of the local environment (várzea and igapó), and that the temperature rise and CO₂ influence morphology and physiology of *M. arborescens*.

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS	xiii
LISTA DE FIGURAS	xv
INTRODUÇÃO	1
OBJETIVO GERAL	10
Objetivos específicos.....	11
Capítulo 1 - (Manuscrito formatado de acordo com as normas da revista Aquatic Botany).....	12
Capítulos 2 - (Manuscrito formatado de acordo com as normas da revista Hydrobiologia).....	38
Capítulo 3 - (Manuscrito formatado de acordo com as normas da revista Acta Amazônica).....	64
Capítulo 4 - (Manuscrito formatado de acordo com as normas da revista Environmental Science and Pollution Research).....	105
SÍNTESE.....	129
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	130
ANEXOS	140

LISTA DE TABELAS

Capítulo 1

Table 1 – Number of occurrence of each <i>Montrichardia</i> specie; Water bodies and water types where samplings were performed <i>in situ</i> . MA = <i>Montrichardia arborescens</i> ; MAA = <i>Montrichardia arborescens</i> var. <i>aculeata</i> ; ML = <i>Montrichardia linifera</i>	18
Table 2 – Bioclimatic variables used to development of MAXENT models.....	21
Table 3 – Water types and water bodies were collected <i>Montrichardia</i> spp. In Amazon Basin	23
Table 4. Models for each of the tested species (MA and ML) and their AUC (area under the curve). *p <0,0001. Where; alt (altitude), rain_tot (rain total), soil (map of soil), veg2002 (Global Vegetation Index, 2002), temp_dry (temperature of the driest month). **see Table 2.	28

Capítulo 2

Table 1 – Water types and water bodies were collected <i>Montrichardia</i> spp. in the Brazilian Amazon Basin.....	43
Table 2 - Morphological traits and biomass values of ML = <i>Montrichardia linifera</i> , MA = <i>Montrichardia arborescens</i> and MAA= <i>Montrichardia arborescens</i> var. <i>aculeata</i> . Different letters indicate significant differences (p< 0.05) among factors.....	50
Table 3 - Percentage of success of the discriminatory analysis of ML = <i>Montrichardia linifera</i> , MA = <i>Montrichardia arborescens</i> and MAA= <i>Montrichardia arborescens</i> var. <i>aculeata</i>	51

Capítulo 3

Tabela 1. Características dos locos microssatélites do genoma do cloroplasto (cpSSR) utilizados nas análises genéticas das populações de *Montrichardia* spp. (T_A) = Temperatura de anelamento, N_A = número de alelos (Weisigner & Gardner 1999).....76

Tabela 2. Diversidade genética em populações de *Montrichardia* ssp. da Amazônia com base na análise de nove locos de cpSSR. N - número de indivíduos amostrados; Nh - número de haplótipos (frequência > 1); H - diversidade genética; A - número de alelos; H_E - índices de diversidade gênica (Nei, 1989).80

Tabela 3. Distribuição da variabilidade genética em 18 populações de *Montrichardia* spp. na Amazônia brasileira, com base na análise de variância molecular (AMOVA) de nove locos cpSSR. MA = *M. arborescens*, ML = *M. linifera* e MAA = *M. arborescens* var. *aculeata*.....81

Capítulo 4

Table 1- Programmed values of CO₂ concentration, temperature, and humidity for the microcosm.....112

Table 2 – Average values of microcosm climatic conditions per month in the experiment period.....115

Table 3 – Index of germination (median) of *Montrichardia arborescens*: percentage of germination (G%), initial time of germination (ITG), final time of germination (FTG), median germination time (t), the velocity of germination index (VGI).....115

Table 4 - Results of the ANCOVA to effect of temperature and CO₂ elevation (variable) and growth time (co-variable) of *Montrichardia arborescens* seedlings116

Table 5 – Means values of Chlorophyll ($\mu\text{mol}\cdot\text{mm}^{-2}$) at adaxial side of the leaf of *Montrichardia arborescens*119

LISTA DE FIGURAS

Capítulo 1

- Fig. 1. Flowchart of the analysis of data from herbarium and field sample. MA = *Montrichardia arborescens*; ML = *M. linifera* and MAA = *Montrichardia arborescens* var. *aculeata*.17
- Fig. 2 Sample area of the *Montrichardia linifera*, *Montrichardia arborescens* and *Montrichardia arborescens* var. *aculeata*, highlight the Amazon Basin in Brazil's territory..18
- Fig. 3 Leaves and stem of *Montrichardia* genus differentiated by the number of secondary apical veins and the prickles in the stem. a) *Montrichardia linifera*, b) *Montrichardia arborescens* and c) *Montrichardia arborescens* var. *aculeata*.....19
- Fig. 4 Ripley's K function (estimated L) for: a) *M. arborescens*, b) *M. linifera* c) *M. arborescens* var. *aculeata* in the Amazon Basin.....22
- Fig. 5 Species distribution of the *Montrichardia* genus according to the water gradients: a) electric conductivity, b) pH, c) water transparency (Secchi depth). MA= *M. arborescens*, ML= *M. linifera*, MAA= *M. arborescens* var. *aculeata*.....24
- Fig. 6 Distribution of *Montrichardia* genus according to the records of consulted herbarium (list at the appendix 1).....25
- Fig. 7 Ecological niche modeling with field data (not used in the model): a) for *Montrichardia arborescens* and b) for *Montrichardia linifera*; and with data from herbarium specimens (used for making the models): c) for *Montrichardia arborescens* and d) for *Montrichardia linifera*.....27
- Fig. 8 Results of Jackknife evaluations of the relative importance of predictor variables for: a) *M. arborescens* b) *M. linifera* in the Maxent model.), alt = altitude, rain_tot = rain total, solo = map of soil, veg 2002 = Global Vegetation Index, 2002.....28

Capítulo 2

- Fig. 1. Distribution of plots in the Amazon Basin. MA = *Montrichardia arborescens*, MAA = *Montrichardia arborescens* var. *aculeata*, ML = *Montrichardia linifera*. CA= Central Amazonia, EA = Eastern Amazon, WA = Western Amazon. **White water:** lakes: Porto Velho-RO (3), Juruá-AM (2), Manaus-AM (3), Pará (2); river: Juruá-AM (2), Barcarena-PA (6), Solimões - Tabatinga-AM (3), Boa Vista-RR (3); **Black water:** lakes: Anavilhanas-AM (1), Praia Grande-AM (3); rivers: Água Boa do Univini-AM (1), Barcelos-AM (6), Boa Vista-RR (3); **Clear water:** lakes: Boa Vista-RR (3), river: Jari-AP (6), Parú-AP (4), Tapajós-PA (2), Salinópolis-PA (1). Between parentheses are the samples numbers per sitio.....44
- Fig. 2. Leaves and stem of the genus *Montrichardia* differentiated by the number of secondary apical veins and by the number of prickles in stem. ML = *Montrichardia linifera*, MA = *Montrichardia arborescens* e MAA= *Montrichardia arborescens* var. *aculeata*.....45
- Fig. 3 Distribution of taxa densities in gradients: a) pH, b) electrical conductivity, c) water transparency (Secchi deep), d) inundation of plot. ML = *Montrichardia linifera*, MA = *Montrichardia arborescens* and MAA= *Montrichardia arborescens* var. *aculeata*.....48
- Fig. 4. Correlation between plant height (all taxa) and Secchi depth (water transparency)....49
- Fig. 5. Correlation between biomass of *Montrichardia* spp: a) leaves biomass and pH and b) stem biomass and pH50
- Fig. 6. Discriminant analysis of morphological characters of ML = *Montrichardia linifera*, MA = *Montrichardia arborescens* e MAA= *Montrichardia arborescens* var. *aculeata*.....51
- Fig.7. Chlorophyll a and b content in ML = *Montrichardia linifera*, MA = *Montrichardia arborescens* and MAA= *Montrichardia arborescens* var. *aculeata*.....52
- Fig. 8 Fv/Fm of ML = *Montrichardia linifera*, MA = *Montrichardia arborescens* and MAA= *Montrichardia arborescens* var. *aculeata* and the relation with the flood level.53
- Fig. 9 Distribution of stems density per m²; a) *Montrichardia arborescens* b) *Montrichardia arborescens* var. *aculeata* c) *Montrichardia linifera* in the Amazon Basin. The size of cycle indicates the density of the taxa.....54

Fig. 10 Ordenation in two axes yielded by principal components analysis (PCA) of soil properties in Amazon Basin. The color of the cycles represents the taxa present in the plot. ML= *Montrichardia linifera*, MA = *Montrichardia arborescens* and MAA= *Montrichardia arborescens* var. *aculeata*. Soil properties are given as vectors..... 55

Capítulo 3

Fig.1 Localização das áreas de amostragem das populações de *Montrichardia* spp. Em verde observa-se a delimitação da Amazônia Legal Brasileira.....74

Fig. 2 Diferenças morfológicas nas folhas e caule de: a) *Montrichardia linifera*; b) *Montrichardia arborescens*; c) *Montrichardia arborescens* var. *aculeata*.....74

Fig. 3 Dendrograma mostrando a relação entre as amostras de *Montrichardia* na Amazônia brasileira, gerada por pares de grupos não ponderados por análise de parâmetro das distâncias genéticas (Nei, 1972; UPGMA).....82

Fig. 4 Correlação entre a distância genética (Nei, 1989) e geográfica (km) das população de *Montrichardia* spp.....83

Fig. 5 Relações entre haplótipos inferida a partir da análise *Median-Joining* implementada pelo programa *Network*, com base na análise de nove locos de cpSSR de *Montrichardia* spp. Cada círculo corresponde a um haplótipo e sua área é proporcional à frequência do haplótipo. Cada traço observado nas linhas que unem os haplótipos representa um evento mutacional. O ponto mv representa um haplótipo hipotético (*median vector*). As cores representam as espécies.....84

Fig. 6 Relações entre haplótipos inferida a partir da análise *Median-Joining* implementada pelo programa *Network*, com base na análise de nove locos de cpSSR de *Montrichardia* spp. Cada círculo corresponde a um haplótipo e sua área é proporcional à frequência do haplótipo. Cada traço observado nas linhas que unem os haplótipos representa um evento mutacional. O ponto mv representa um haplótipo hipotético (*median vector*). As cores representam as populações.....85

Fig. 7 Distribuição geográfica de haplótipos observados em 18 populações de *Montrichardia* spp para nove locos cpSSR. Os tamanhos dos círculos são proporcionais ao tamanho amostral e as cores representam os haplótipos, conforme legenda à direita da figura.....87

Capítulo 4

Figure 1. Length of roots of *M. arborescens* in each treatment. Medians with standard error.....117

Figure 2. Total biomass (shoot plus root) of *M. arborescens* in each treatment. Medians with standard error.....117

Figure 3. Fv/Fm values of *Montrichardia arborescens* from each CO₂/temperature conditions. Medians with standard error.....118

Figure 4. Rapid light curves in the leaves of *M. arborescens* submitted to different temperatures and CO₂ concentrations. PPFD=photosynthetic photon flux density ($\mu\text{mol photons/m}^2/\text{second}$).119

INTRODUÇÃO

A distribuição geográfica de plantas é frequentemente limitada por fatores climáticos, pela competição entre as espécies e por barreiras geográficas que impeçam migrações (Sculthorpe 1967; Woodward & Williams 1987; Woodward 1988; Santamaría 2002). Quando expostas a fatores ambientais próximos da sua faixa de tolerância às espécies apenas sobrevivem, tendo suas taxas de reprodução e crescimento diminuídas (Kasuga *et al.* 1999; Camargo *et al.* 2003; Wang *et al.* 2003). Já as barreiras geográficas impedem tanto o fluxo gênico, pela impossibilidade de troca de gametas, quanto à dispersão das plantas, e com isso impossibilitam a interação entre populações e a colonização de novas áreas (Slatkin 1987). No caso das plantas aquáticas, uma distribuição compatível com essas grandes barreiras terrestres entre os corpos hídricos seria esperada. Entretanto, cerca de 39% dos gêneros que contem macrófitas aquáticas são endêmicos de alguma região biogeográfica (Chambers *et al.* 2008). Em nível mundial esse padrão de distribuição se deve à facilitação da dispersão propiciada pelas navegações há mais de cinco séculos (Cook 1985); em níveis regionais e locais, outros fatores como a conectividade hídrica, ao menos sazonal, podem ser de grande relevância (Junk & Piedade 1997; Hoorn 2006).

A vegetação aquática na Bacia Amazônica está intimamente relacionada com os corpos de água que podem ter diferentes propriedades físicas e químicas de acordo com a geologia da área de drenagem (Piedade *et al.* 2010). As espécies de macrófitas aquáticas podem habitar desde as várzeas férteis de água branca, e também os pobres e ácidos igapós de águas pretas e claras (Sioli 1954). Nesse contexto surge uma importante questão: a distribuição de macrófitas aquáticas na Amazônia Bacia está relacionada apenas às propriedades da água dos rios, como acidez e penetração de luz, ou responde ao gradiente Oeste-Leste do declínio da fertilidade descrito para as florestas de terra firme da Amazônia (Ter Steege *et al.* 2006)?

Ao longo do tempo, as mudanças ambientais interferem na distribuição das espécies, pois a ocorrência de uma espécie não está associada somente às características atuais do ambiente, mas também aos eventos de mobilidade, exclusão e ingresso de populações que ocorreram em resposta a mudanças de fatores físicos e edáficos ao longo do tempo (Sculthorpe 1967; Hoffmann & Sgrò 2011). Fatores estressantes, ou seja, condições

desfavoráveis para o crescimento e desenvolvimento das plantas, podem ocorrer sazonalmente ou permanentemente em um determinado ambiente (Larcher 2000). Os fatores estressantes induzem o desenvolvimento de respostas adaptativas nas plantas, que variam com a intensidade do estresse e envolvem mudanças nas rotas do metabolismo primário, (Larcher 2000; Taiz & Zeiger 2004).

Atualmente, com as mudanças ambientais ocorrendo em escala global, notadamente a elevação da concentração atmosférica de CO₂ (IPCC 2013), muitas espécies terão de se adaptar a essa dinâmica, ou haverá uma probabilidade cada vez maior de extinção (Templeton *et al.* 2001; Bellard *et al.* 2012). Além disso, mudanças no uso do solo na Amazônia como a construção de barragens e estradas, têm contribuído para a perda de biodiversidade (Feeley *et al.* 2012) .

A biodiversidade deve ser considerada nos diversos níveis de organização biológica, que incluem genes, espécies, comunidades e ecossistemas (Meffe *et al.* 1997) e as atividades humanas vêm causando impacto em todos esses níveis da biodiversidade. Em geral o impacto é mais visível ao nível de espécie, enquanto que o impacto sobre a diversidade genética de uma espécie, por ser menos aparente, é muitas vezes ignorado (Templeton *et al.* 2001; Crispo *et al.* 2011; Pauls *et al.* 2013). Além disso, a diversidade genética, por ser o nível mais baixo nesta hierarquia da diversidade, tem um impacto direto sobre os níveis mais elevados por meio do processo evolutivo.

As populações são conjuntos de indivíduos da mesma espécie que vivem em uma mesma área, porém, isso não significa que populações de uma mesma espécie sejam geneticamente ou espacialmente homogêneas (Silvertown & Doust, 1993). Elas apresentam variadas diferenças estruturais. A estrutura genética depende da frequência gênica e genotípica; a estrutura espacial está relacionada à variação de densidade; já a estrutura etária depende do número relativo de indivíduos jovens e adultos, enquanto que a estrutura de tamanho depende do número relativo de indivíduos grandes e pequenos (Silvertown & Doust 1993). Estudos sobre a distribuição espacial da variação genética dentro e entre as populações, ou da estrutura genética de uma mesma população têm facilitado muito a compreensão da especiação, adaptação e dinâmica populacional (Zhang *et al.* 2005), aspectos de vital importância para a conservação.

A estrutura genética da população depende principalmente do fluxo gênico e da deriva genética (Hamrick 1982). O fluxo gênico depende das migrações entre populações locais,

havendo aumento da diferenciação genética dentro de uma população, mas causando uma diminuição da variação genética entre populações (Wright 1932). Já a deriva genética afeta a frequência de um alelo na população devido à amostragem aleatória de gametas, promovendo com isso a diminuição da variação genética dentro de uma população local, mas aumentando a diferenciação genética entre populações pequenas (Wright 1969). As atividades humanas frequentemente resultam na diminuição da deriva genética e no aumento do fluxo gênico de muitas espécies, o que reduz a variação genética nas populações locais e evita a propagação de complexos adaptativos para fora da sua população de origem (Crispo *et al.* 2011). Desta forma, os processos adaptativos são perturbados local e globalmente dentro de uma espécie (Silvertown & Doust 1993).

A deriva genética raramente ocorre independentemente da seleção natural (Silvertown & Doust, 1993), a qual seleciona os organismos com as melhores adaptações ao ambiente. A seleção natural é o único processo que pode resultar em mudanças adaptativas (Silvertown & Doust 1993). Segundo Darwin (1859), três condições são necessárias para que ocorra a seleção natural: (1) variação entre indivíduos; (2) herança da variação; (3) diferenças de aptidão entre os variantes. Uma vez que essas condições estejam presentes, genótipos com fenótipos de maior aptidão irão se multiplicar mais rapidamente na população que outros com menor aptidão, havendo um potencial para mudanças adaptativas. Desta forma, os processos ecológicos influenciam a estrutura genética das populações, por meio da seleção natural, promovendo o aumento da variação genética (Silvertown & Doust 1993).

O conhecimento da estrutura genética de populações vegetais pode também ajudar a explicar a evolução da alta diversidade vegetal encontrada nos trópicos (Eguiarte *et al.* 1992; Hewitt, 2000; Hoorn *et al.*, 2010). Segundo a Teoria de Equilíbrio Instável de Wright (1932) a subdivisão de uma população em demes¹ pequenos, havendo baixo fluxo gênico entre os mesmos, poderia resultar em uma rápida diferenciação genética devida à deriva, levando a uma eventual especiação simpátrica. Fedorov (1966) também defende que a alta diversidade de espécies tropicais seria o produto de especiação não adaptativa, resultante do acasalamento de indivíduos que são relacionados por ascendência (endogamia) e deriva genética, provocadas por baixas densidades de indivíduos coespecíficos e autofecundação predominante. Uma hipótese alternativa, a de Equilíbrio em Micro nichos, estabelece que a diversidade em florestas tropicais resulte da adaptação das populações a nichos bastante

¹ Populações locais pequenas que se inter cruzam e partilham um conjunto de genes distintos.

específicos, definidos por fatores bióticos e abióticos (Dobzhansky 1950; Bawa 1990). Neste caso haveria uma baixa endogamia e grandes tamanhos efetivos de população, com o modo de especiação sendo similar ao de uma diferenciação alopátrica de espécies com fecundação cruzada (alógamas) predominante (Eguiarte *et al.* 1992).

A alta capacidade reprodutiva de muitas plantas aquáticas na Amazônia pode estar relacionada com as grandes flutuações do nível da água, ocasionada pelo pulso de inundação a que elas estão sujeitas (Junk *et al.* 1989). A alta mortalidade de plantas durante a seca favoreceu a seleção genética para altas taxas de reprodução que foram conseguidas principalmente por reprodução vegetativa (Junk & Mello 1990; Piedade *et al.* 2010). Diante disto, a variedade dentro e até mesmo entre as populações é pequena. Por outro lado, observações de campo mostram que após uma grande seca há emergência de plântulas provenientes do banco de sementes (D'Angelo 2009), o que favoreceria a variabilidade genética dentro e entre as populações.

As populações respondem a cada ambiente diferentemente, visando garantir maior eficiência na aquisição de carbono e sucesso reprodutivo (Kozlowski 1997; Dias-Filho 2005), resultando em indivíduos com diferentes fenótipos (Silvertown & Doust 1993). A plasticidade fenotípica retrata a habilidade de um organismo alterar sua fisiologia e/ou morfologia em decorrência de sua interação com o ambiente (Bradshaw 1965; Schlichting 1986; Schlichting & Pigliucci 1993; Stearns 1989; Scheiner 1993; Sultan 2000; Matesanz *et al.* 2012). Por muito tempo acreditou-se que a plasticidade fenotípica limitaria o potencial para mudanças evolutivas, por reduzir o impacto da seleção natural na estrutura genética de populações (Wright 1932). Entretanto, atualmente estão sendo desenvolvidos novos métodos de estudos e modelos matemáticos de genética quantitativa que descreveram a relação entre a plasticidade fenotípica e importantes processos biológicos, revisando esse paradigma (Reed *et al.* 2011; Thibert-Plante & Hendry 2011).

A plasticidade fenotípica pode ser considerada um mecanismo gerador de variabilidade fenotípica, uma vez que a seleção natural age sobre fenótipos criando oportunidades para que mudanças genéticas ocorram. Além disto, se as divergências fenotípicas geradas dentro de uma população forem mantidas por seleção disruptiva, haverá favorecimento para o surgimento de subespécies, raças ou populações geneticamente únicas, adaptadas ao seu ambiente local (ecótipos) (Via & Lande 1985; Thompson 1991). A caracterização de ecótipos ou verificação de potencialidades para sua formação gera

importantes subsídios para maximizar a preservação da variabilidade genética, quando da delimitação de áreas de conservação, ou quando projetos de manejo sustentado da flora silvestre estiverem sendo efetuados (Nanson 1993; Lortie & Aarssen 1996). Espécies com grande potencial para plasticidade em caracteres ligados à sobrevivência apresentam vantagens adaptativas em ambientes instáveis, heterogêneos ou de transição, visto que as mudanças produzidas podem facilitar a exploração de novos nichos, resultando no aumento da tolerância às condições físico-químicas ambientais (Via 1993; Via *et al.* 1995). Desta forma, espera-se que uma população que ocupe um ambiente heterogêneo ou de transição, como é o caso das áreas alagáveis (zona de transição aquático-terrestre), apresente grande potencial plástico em suas características fisiológicas e/ou morfológicas (Junk *et al.* 1989; Fuzeto & Lomônaco 2000).

As planícies alagáveis são áreas úmidas que alternam as fases aquática e terrestre ao longo do ano (Junk *et al.* 1989). Por apresentarem esta alternância de fases e porque seu uso e funções ecológicas eram pouco conhecidos, por muito tempo as áreas inundáveis foram consideradas prejudiciais para a população humana e sofreram inúmeras intervenções visando sua modificação em todo o mundo (Junk 1997). Entretanto, nos dias de hoje as múltiplas funções desses ambientes são amplamente reconhecidas e grandes esforços vêm sendo aglutinados visando seu uso sustentável e conservação (Junk *et al.* 2014).

Nas áreas alagáveis amazônicas há uma grande diversidade vegetal, composta de árvores, palmeiras, arbustos, herbáceas semi-aquáticas e aquáticas (Junk & Piedade 1997). O pulso de inundação é o principal fator responsável pela estruturação das comunidades vegetais nestas áreas (Junk *et al.* 1989). A adaptação das plantas ao regime de inundação ocorre em resposta à interação entre frequência, magnitude e previsibilidade dos eventos que causam mortalidade (Lytle & Poff 2004). As macrófitas aquáticas enraizadas, por exemplo, estão sujeitas a estresses típicos do ambiente aquático, como a formação de ondas, escassez de oxigênio, instabilidade do substrato, mas também a variação periódica do nível da água, que causa mudanças drásticas no ambiente (Junk & Piedade 1997; Piedade *et al.* 2013).

Para sobreviver nas áreas alagáveis as plantas precisam superar as restrições decorrentes da redução periódica do oxigênio disponível e da intensidade de luz (Junk & Piedade 1997). Dentre as espécies que ocorrem nesses ambientes, as macrófitas aquáticas são as mais bem adaptadas à inundação, ocupando áreas onde a cota do nível do rio pode atingir até 10 m de amplitude e a inundação pode ter uma duração de mais de 230 dias por ano (Junk

1989). As macrófitas aquáticas são capazes de colonizar ambientes com as mais diversas características físicas e químicas devido à grande plasticidade fisiológica que possuem. Segundo Sculthorpe (1967) durante a evolução as plantas aquáticas retornaram do ambiente terrestre para o ambiente aquático, desenvolvendo assim progressivas adaptações para a vida aquática, que podem ser visualizadas pelos diferentes hábitos de vida, tais como: submersas, flutuantes, enraizadas com folhas flutuantes e emergentes. Cada um desses tipos biológicos reage diferentemente às oscilações do nível da água (Humphries 1996; Thomaz & Bini 2003).

Os modelos clássicos de distribuição e desenvolvimento da vegetação aquática geralmente são baseados nas relações fisiológicas entre as plantas e as condições ambientais, na sua tolerância e na sua habilidade para crescer nestas diferentes condições (Cancian *et al.* 2009). Os padrões de crescimento desses vegetais estão relacionados principalmente com luminosidade, temperatura, disponibilidade de nutrientes, pH, alcalinidade, salinidade, velocidade da corrente, variação no nível de água e processos ecológicos, sendo que as variáveis abióticas e bióticas atuam em conjunto sobre uma população ou sobre um indivíduo (Madsen *et al.* 1998; Riis *et al.* 2000; Murphy 2002; Barendregt & Bio 2003; Neiff & Neiff 2003; Henry-Silva & Camargo 2005).

As adaptações morfológicas, anatômicas, fisiológicas e fenológicas de plantas aquáticas são tidas como respostas às mudanças físico-químicas resultantes das oscilações entre fases terrestres e aquáticas (Nogueira & Couto, 2004). As adaptações morfológicas incluem redução do tamanho corpóreo, mudança na alocação de biomassa e mudanças fisiológicas e no ciclo de vida (crescimento e reprodução), que é sincronizado ao pulso de inundação (Junk *et al.* 1989; Lytle & Poff 2004). Quando comparados indivíduos da mesma espécie, emergentes e terrestres, nota-se alterações anatômicas como redução do parênquima paliçádico e sua substituição por espaços celulares ocupados por ar, redução da quantidade e da posição dos estômatos, redução do xilema e da lignificação das fibras do floema (Sculthorpe 1967; Simpson, 1988; Boeger & Poulson, 2003).

A natureza das adaptações fisiológicas pode variar bastante entre espécies, tanto de acordo com as características genéticas, quanto em função da disponibilidade dos recursos ambientais. As adaptações podem influenciar diretamente parâmetros responsáveis pela aquisição diária de carbono como a capacidade fotossintética e a eficiência quântica e a absorção e uso de nutrientes do solo, que influenciam o metabolismo primário (Pimenta *et al.* 1998; Parolin 2001; De Simone *et al.* 2002). Assim, o estudo do comportamento

ecofisiológico de espécies vegetais que colonizam diferentes ecossistemas inundáveis é uma importante ferramenta para compreender os potenciais efeitos de alterações ambientais.

Além das adaptações à inundação, as espécies de áreas alagáveis precisam de adaptações para sobreviver na época de seca (Lytle & Poff 2004). O ciclo de vida de diversas espécies foi sincronizado, ao longo do tempo geológico, com o regime de inundação. Isto só é possível se o regime de secas e cheias for previsível ao longo dos anos. A macrofita aquática emergente *Echinochloa polystachya*, por exemplo, floresce todos os anos na época de cheia e se reproduz por rebrotamento na época de seca (Piedade *et al.* 1991). Espécies, com ciclo de vida adaptado ao regime de inundação, em caso de alterações deste regime (como da construção de barragens), que resultem em inundações em diferentes períodos do ano, seriam extremamente afetadas, podendo ocasionar a diminuição das taxas de reprodução e sobrevivência (Junk & Mello 1990; Thomaz & Bini 2003; Lytle & Poff 2004). Já no caso das plantas flutuantes, a frequência de ocorrência das espécies praticamente não se altera em resposta à oscilação brusca do nível de água, embora possa haver um aumento de biomassa de algumas espécies quando o nível retorna ao normal, possivelmente devido às alterações na química da água (Thomaz & Bini 2003). Desta forma, dentre as macrófitas aquáticas, as fixas ao substrato seriam as melhores indicadoras de mudanças provocadas na amplitude na inundação.

As macrófitas aquáticas são as principais produtoras nas áreas alagáveis, favorecendo o processo de ciclagem de nutrientes, atuando, ainda, como armazenadoras de nutrientes em sua biomassa (Thomaz & Esteves 1986; Melack & Fosberg 2001; Piedade *et al.* 2001). Além disso, essas plantas afetam a química da água por meio da fotossíntese e promovem substrato para consumidores e decompositores, sendo responsáveis pela oxigenação e depuração da água, proteção das margens da ação erosiva da água; servem inclusive como refúgio para diversas espécies de vertebrados e invertebrados aquáticos (Esteves 1998). Sua distribuição na planície de inundação depende da duração da fase aquática e terrestre, da estabilidade física do habitat, que é influenciada pelos processos de sedimentação e erosão, dos processos sucessionais relacionados com o período de vida e idade das plantas, e de impactos humanos (Junk & Piedade 1997). Por terem um ciclo de vida curto e altas taxas reprodutivas, as macrófitas aquáticas são representativas das condições ambientais atuais, diferentemente das árvores que respondem às mudanças ambientais mais lentamente (Junk & Piedade 1997; Junk *et al.* 2011).

O reconhecimento da variabilidade estrutural e funcional no tempo e no espaço é de grande importância para o estabelecimento de políticas de conservação ambiental (Frankham *et al.* 2002; Allendorf & Luikart 2007). Pesquisas sobre variabilidade genética com o uso de marcadores moleculares têm sido amplamente utilizadas em plantas aquáticas consideradas daninhas como *Eichhornia crassipes* (Cardoso *et al.* 2003), *Egeria densa*, *Egeria najas* (Martins *et al.* 2003; Rodella *et al.* 2006) e *Pistia stratiotes* (Cardoso *et al.* 2005; Cícero *et al.* 2007). Essa metodologia pode fornecer subsídios para avaliação da origem e dispersão de espécies nativas ou exóticas, bem como servir como ponto de partida para estudos de manejo (Martins *et al.* 2003). Além disso, a ocorrência de variedades ou ecótipos de macrófitas aquáticas em função de mudanças ambientais nas planícies inundáveis brasileiras poderia constituir um indicativo dos efeitos de alterações antrópicas nestas áreas, possibilitando propor estratégias de conservação e manejo adequado das espécies e ambientes.

A análise de marcadores moleculares pode contribuir também para a delimitação de espécies (Guichoux *et al.* 2011; Wang *et al.* 2011). O gênero *Montrichardia* Crueg. inclui plantas que podem ser encontradas nas áreas úmidas da América Latina (Mayo *et al.* 1997; Croat *et al.* 2005). Atualmente duas espécies são reconhecidas no gênero, *Montrichardia arborescens* (L.) Schott e *Montrichardia linifera* (Arruda) Schott (Croat *et al.* 2005), havendo ainda a descrição da variedade *M. arborescens aculeata* (G. Mey.) Engl. (Lins 1994) e a espécie extinta *Montrichardia aquatica* (Herrera 2008). Alguns estudos utilizando caracteres morfológicos de folhas apontam para a definição de apenas uma espécie, *M. linifera* (Silva *et al.* 2012), enquanto outros estudos apontam para a separação das duas espécies (Mirouze *et al.* 2012).

A espécie *M. linifera* ocorre em altas densidades na várzea amazônica, colonizando as margens de rios e lagos, enquanto *M. arborescens* tem uma distribuição mais esparsa ao longo dos rios amazônicos, ocupando o sub-bosque de florestas alagáveis (Lopes & Piedade 2012; CRIA 2014). *Montrichardia arborescens* var. *aculeata* (G.Mey.) Engl. difere de *M. arborescens* pelo grande número de acúleos e é encontrada principalmente em ambientes de água salobra, perto da costa brasileira (Lins 1994). Apesar do maior número de registros em herbários para *M. arborescens* (CRIA 2014), *M. linifera* ocupa uma vasta área ao longo do Rio Amazonas (CRIA 2014).

Apesar da alta diversidade de espécies, das variadas formas de vidas e de sua ampla distribuição geográfica, a origem e evolução da família Araceae ainda é pobremente conhecida. Seu registro fóssil é escasso e controverso (Herendeen & Crane 1995). O

desenvolvimento de modelos de nicho ecológico pode ser importante para investigar padrões e processos biogeográficos, possibilitando a previsão da distribuição geográfica de espécies a partir de dados esparsos de ocorrência (Guisan & Thuiller 2005). Além disso, a modelagem do nicho ecológico das espécies e dados históricos da biodiversidade tem sido utilizada para prever a distribuição das espécies frente às mudanças climáticas (Siqueira & Peterson 2003).

Os organismos desenvolveram adaptações ao longo do processo evolutivo para enfrentar as modificações ambientais naturais, e esta especificidade de respostas pode também contribuir negativamente para a sobrevivência das espécies em face de desafios agudos, como os de origem antrópica (Brauner *et al.* 1999; Val & Almeida-Val 2004; Lopes *et al.* 2009). Nesse sentido, do gênero *Montrichardia* foi escolhido para gerar um conjunto de informações sobre as características adaptativas e fisiológicas das espécies componentes, de forma a entender como as modificações ambientais interferem sobre esse grupo de plantas de fundamental importância para a biota aquática, contribuindo ainda para a delimitação taxonômica das espécies.

OBJETIVO GERAL

Determinar como macrófitas aquáticas amazônicas congênicas respondem à diferentes desafios ambientais de origem natural e antrópica.

Objetivos Específicos

- I. Modelar a distribuição potencial do gênero *Montrichardia*. nos Neotrópicos e analisar a distribuição dos táxons na Bacia Amazônica;
- II. Caracterizar a variação morfológica e fisiológica entre populações de *M. arborescens*, *M. arborescens* var. *aculeata* e *M. linifera* submetidas a ambientes com diferentes condições nutricionais na Bacia Amazônica;
- III. Caracterizar geneticamente as populações de *M. arborescens*, *M. linifera* e *M. arborescens* var. *aculeata* na Bacia Amazônica e identificar o grau de diferenciação genética existente entre as espécies do gênero *Montrichardia*;
- IV. Determinar o efeito da elevação de CO₂ e temperatura na germinação, crescimento e fisiologia de *M. arborescens*.

Capítulo 1

Lopes *et al.* (submetido) Modeling distribution and ecological niches of *Montrichardia* Crueg. (Araceae) in the Neotropics, Aquatic Botany.

Modeling distribution and ecological niches of *Montrichardia* Crueg. (Araceae) in the Neotropics

Aline Lopes¹, Florian Wittmann², & Maria Teresa Fernandez Piedade³

¹Graduate Program in Ecology, Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia - INPA Grupo de Ecologia, Monitoramento e Uso Sustentável de Áreas Úmidas – MAUA. CP 47869011-970 Manaus, Amazonas, Brazil alopesmga@gmail.com

²Max Planck Institute for Chemistry, Biogeochemistry Dep. Mainz, Germany f-wittmann@web.de

³ Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, CDAM/ Grupo MAUA “Ecologia, Monitoramento e Uso Sustentável de Áreas Úmidas Amazônicas” maitepp@inpa.gov.br

Highlights:

1. Climatic factors influence the distribution of species at a Neotropical scale.
2. Hydrochemical factors influence the distribution of axa at an Amazonian scale.
3. The models were able to predict the presence of congeneric species.

Abstract: Congeneric aquatic plant species may colonize different aquatic ecosystems in the Amazon through adaptations in growth and reproduction to cope with diverse environmental challenges. *Montrichardia* is a Neotropical genus comprised of two species: *M. linifera* and *M. arborescens*, the latter with the variety *aculeata*. Ecological niche modeling is an important tool to understand factors controlling specie distribution. The study of the geographical distribution of the species was based on herbarium data as well as species sampling in 55 sites across the Amazon Basin in different water bodies, covering an estimated area of 3.8 million km². The modeling algorithm for maximum entropy distribution – MAXENT - was used to analyze the distribution patterns in relation to climatic and environmental factors on a large scale (Neotropics). With comparatively few data and environmental layers, the model was able to predict with high accuracy the occurrence of these congeneric species. At the large scale *M. arborescens* showed a wide distribution occurring in Central America and the Amazon Basin while *M. linifera* seems to be restricted

to the Guyana Shield and Andean regions. At the regional scale (Amazon basin), hydrochemical factors such as the type of water (black or white) appear to influence the distribution of both species. The ecological niche of the species showed that *M. linifera* has a potential for wider distribution than *M. arborescens*, especially within the Amazonian Basin.

Key-words: Wetlands, Araceae, aquatic macrophytes, Maxent.

Introduction

The geographical distribution of plants is often limited by climatic factors, competition between species and geographical barriers preventing migrations (Sculthorpe, 1967; Woodward & Williams, 1987; Woodward, 1988; Santamaría, 2002). When species are next to their tolerance range of environmental factors they only survive, restraining the body from fully reaching its biotic potential, and decreasing growth rates (Kasuga *et al.*, 1999; Camargo *et al.*, 2003; Wang *et al.*, 2003). Geographical barriers also inhibit gene flow by preventing the exchange of gametes and interrupting the events of dispersal, thus hampering the interaction between populations and the colonization of new areas (Martins, 1987). Despite the major barriers separating water bodies, only about 39% of the genera of aquatic macrophytes have a endemic distribution in one biogeography region, although endemism rates can be elevated in some specific areas (Chambers *et al.*, 2008).

Environmental changes influence the distribution of aquatic plants over time, since the occurrence of a species is not only associated with the current environmental characteristics, but also with the events of mobility, exclusion and admission of populations that occurred in response to changes in physical and edaphic factors along geological time (Sculthorpe, 1967). The classical models of distribution and development of aquatic vegetation are usually based on physiological relationships between plants and environmental conditions (such as light, temperature, nutrient availability, pH, alkalinity, salinity, water velocity and water-level variation) and on the tolerance and ability to grow under different environmental conditions (Madsen *et al.*, 1998; Riis *et al.*, 2000; Murphy, 2002; Barendregt & Bio, 2003; Neiff & Neiff, 2003, Henry-Silva & Camargo, 2005; Cancian *et al.*, 2009). The historical factors that influenced the current distribution pattern of aquatic macrophytes are rarely considered.

Some organisms in Amazon Basin have their distribution restricted to water types (Junk *et al.*, 2000, Lima & Araujo-Lima, 2004, Piedade *et al.*, 2010, Lopes *et al.*, 2011), differentiated as black, white and clear water according to the geology of the drainage basin

(Sioli, 1968). This classification is a simple categorization of water types, because the water color can be easily related to its physicochemical characteristics (Sioli, 1968; Furch, 2000; Junk *et al.*, 2011). White-water rivers drain Andean and pre-Andean terrains originating from lake and estuary sediments of the Tertiary and Pleistocene periods and thus they are rich in dissolved minerals (Furch & Junk, 1997). Intense erosion and depositional processes result in high loads of suspended matter being transported, resulting in a floodplain with a muddy colored water (várzea). The floodplain with no suspended material of clear and black water rivers (igapós) drain the Precambrian and Paleozoic formations of the Brazilian and Guiana shields (Furch & Junk, 1997). The black water rivers are originated from lowland regions with bleached sandy soil, the end product of weathering (Mounier *et al.*, 1998) and are characterized by high level of dissolved humic substances, low pH (acidic waters) and low suspended particulate matter concentration. The clear water rivers are characterized by a high phytoplankton production, comparable to that in the várzea lakes (Richey *et al.*, 1990; Junk, 1997). Both white and clear waters have more aquatic plants and floating meadows than black waters (Piedade *et al.*, 2010). There are few species of aquatic macrophytes occurring in igapó floodplains, the Cyperaceae, Poaceae, Maranthaceae and Araceae are the families more common in igapó of Negro River (Piedade *et al.*, 2010, Lopes *et al.*, 2014).

The origin and evolution of the Araceae family is still poorly known (Nauheimer *et al.*, 2012), despite its high diversity of species (about 3.790 species), varied forms of life (lianas, epiphytes and herbaceous) and widespread geographic distribution, occurring in subtropical, tropical and temperate climates (Watson & Dallwitz, 1992, Boyce & Croat, 2011). Their fossil records are sparse and controversial (Herendeen *et al.*, 1992). *Montrichardia* is exclusively Neotropical (Mayo, 1997) and contains only two species of aquatic macrophytes, *M. linifera* and *M. arborescens*, both known popularly as Aroid Marsh and in Brazil as “Aningá”. Populations of both species occur in the Amazon Basin, often forming monospecific stands. *M. linifera* occurs with high densities in the Amazonian várzea, colonizing the edges of rivers and lakes, while *M. arborescens* occurs mainly in igapó, fringing the understory of floodplain forests (Lopes & Piedade., 2012; CRIA, 2014). *Montrichardia arborescens* var. *aculeata* (G.Mey.) Engl. differs from *M. arborescens* by the large number of prickles and is mostly found in brackish environments (Lins, 1994).

The causes of the niche separation of these three taxa have not yet been explained. However, since as a general pattern the effect of climatic and physical factors (as temperature, rainfall, elevation, geology, vegetation, inferring geographical regions), at certain scales affect the distributions of species (Soberón & Peterson, 2005). The development of ecological niche

modeling is an important tool to investigate biogeographic patterns, allowing the prediction of geographic distribution of species from sparse occurrence data (Guisan & Thuiller, 2005). Moreover, modeling the ecological niche of species and biodiversity historical data has been used to predict the distribution of species in face of future climate change (Siqueira & Peterson, 2003; Pearson & Dawson, 2003; Thomas et al., 2004).

In this study we infer about the patterns of geographic distribution of the three *Montrichardia* taxa and estimate the ecological niche of two species, aiming of test if the species' distribution responds either to Neotropical climatic factors or to local environmental factors. *Montrichardia* was chosen to test the accuracy of modeling techniques in order to elucidate how its two congeneric species with differential distribution over the Amazon basin respond to the same environmental variables. Moreover, this analyses permit to test if the number of records is a good indicator of the niche size. Our hypothesis is that despite the larger number of records of *M. arborescens*, *M. linifera* has a fundamentally wider ecological niche than *M. arborescens*, because the former species has been detected in a much smaller geographical range (CRIA, 2014).

Material and methods

Two data sets were analyzed (Fig. 1): A) To analyze the influence of local environmental in three taxa distribution we performed field sampling in a total of 55 different sites distributed over an area of 3.8 million km² within the Amazon Basin (Fig. 2). B) To make the Maxent model we used georeferenced data gathered from herbarium material of registered sites in the CRIA (2014, appendix 1) and MOBOT (2014), in a total of 170 records for *Montrichardia arborescens* (MA) and 93 records for *M. linifera* (ML). As *Montrichardia arborescens* var. *aculeata* (MAA) variety is not recognized by the herbarium, it was not considered for analysis of distribution patterns using data from herbarium.

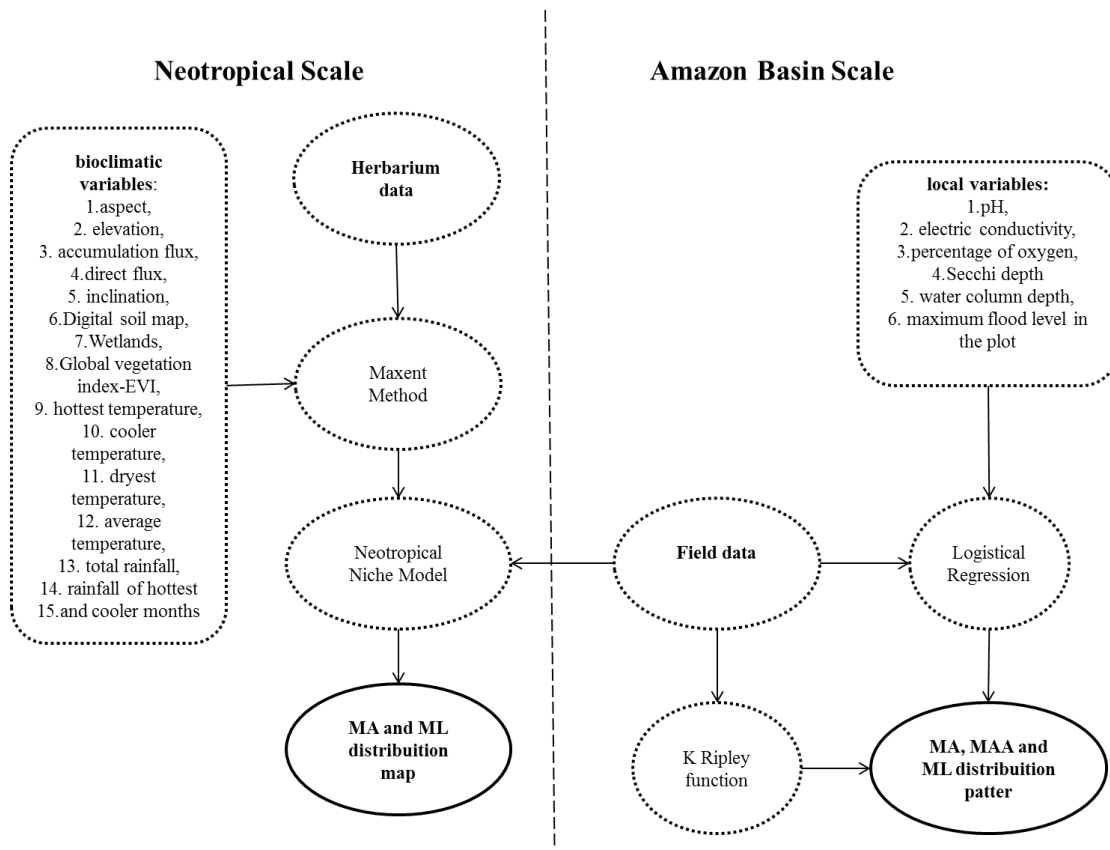


Fig. 1. Flowchart of the analysis of data from herbarium and field sample. MA = *Montrichardia arborescens*; ML = *M. linifera* and MAA = *Montrichardia arborescens* var. *aculeata*.

Field Sampling

Field observations were carried out on expeditions to different water bodies in the Brazilian Amazon during the period of 2009-2012 (Fig. 2), including the localities in Porto Velho Roraima State, Juruá Amazonas State, Manaus Amazonas State, Barcarena Pará State, Solimões Rives in Tabatinga Amazonas State, Boa Vista Raraima State; Anavilhanas Archipelago Amazonas State, Praia Grande Amazonas State; Água Boa do Univini Amazonas State, Barcelos Amazonas State, Jari Amapá State, Parú Amapá State, Tapajós Pará State, Salinópolis Pará State. The study covered as well the three major Amazonian water types, the white, black and clear water at lakes and rivers (Table 1).

Table 1 – Number of occurrence of each *Montrichardia* specie; Water bodies and water types where samplings were performed *in situ*. MA = *Montrichardia arborescens*; MAA = *Montrichardia arborescens* var. *aculeata*; ML = *Montrichardia linifera*

Water bodies	Water Type	taxa		
		MA	MAA	ML
Rivers	clear	1	4	8
	black	10		
	white	1	6	7
Lakes	clear	1		4
	black	4		
	white	3		6
Total		20	10	25

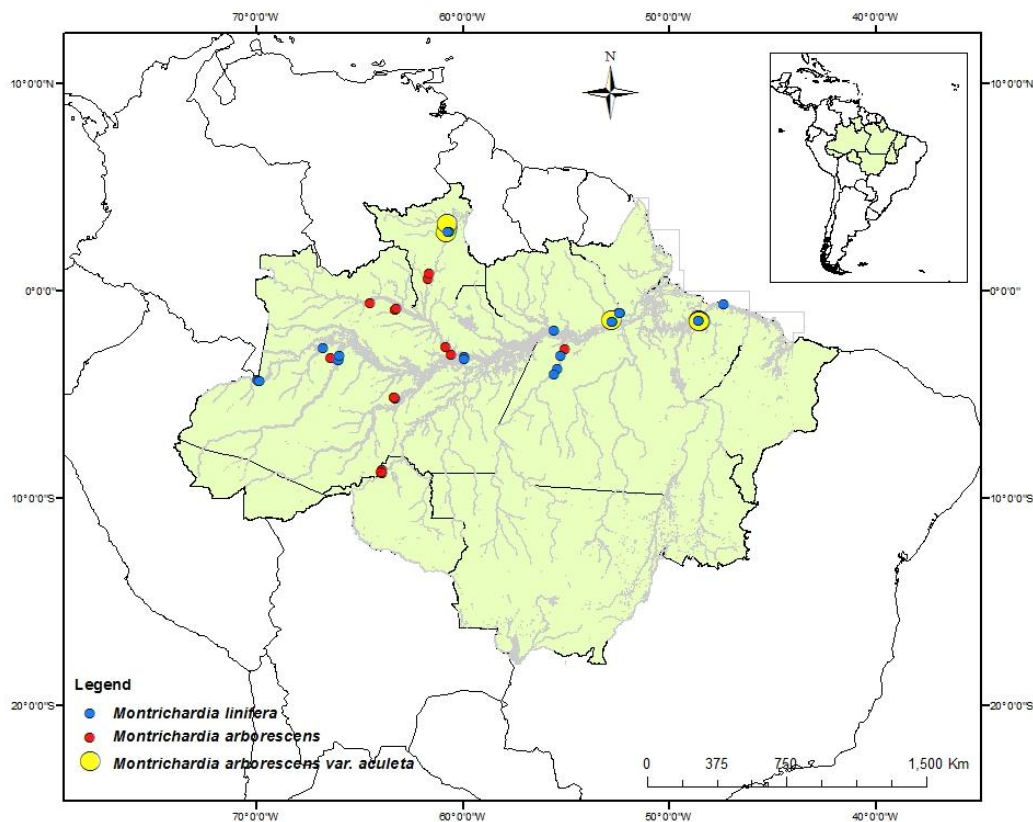


Fig. 2 Sample area of the *Montrichardia linifera*, *Montrichardia arborescens* and *Montrichardia arborescens* var. *aculeata*, highlight the Amazon Basin in Brazil's territory.

Analyses of field data

In the field, each population was georeferenced and population density estimated by counting all stems in one 2x2 m quadrat established. The physical and chemical data of the water (pH, electric conductivity, percentage of oxygen, Secchi depth and water column depth) were measured with portable devices (WTW, model pH 315i; WTW, model cond 315i and WTW, model oxi 325, respectively). The maximum flood level in the plot was estimated by measuring the watermark of the last high water period on the nearest tree to the sample area. The relationship between the presence of the species and the physical and chemical parameters was analyzed with logistical regression.

Following Mayo (1997), the two species of *Montrichardia* can be easily recognized in the field by the difference in the amount of secondary apical veins. *M. linifera* (ML) dispose of 6 to 9 veins (Fig. 3a), whereas *M. arborescens* (MA) has 3 to 5 veins (Fig. 3b), while the variety *M. arborescens* var. *aculeata* (MAA) is distinguished by the large number of prickles on the stem (Fig.3c) while the two other taxa have less prickles in the stem.

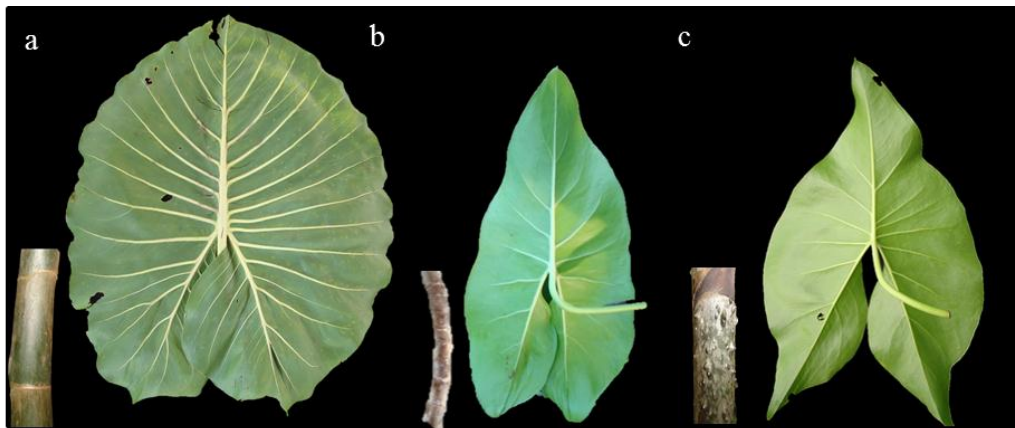


Fig. 3 Leaves and stem of *Montrichardia* genus differentiated by the number of secondary apical veins and the prickles in the stem. a) *Montrichardia linifera*, b) *Montrichardia arborescens* and c) *Montrichardia arborescens* var. *aculeata*.

The species distribution was performed using Arc GIS 10.0 Software. The distribution pattern of each taxa population in the Amazonian Basin was analyzed using Ripley's K function with 1000 permutations of all sampled populations (Ripley, 1981). The function $K(t)$ is defined as the expected number of individual populations within a distance t of a randomly chosen individual. Under the null hypothesis of complete spatial randomness, i.e., a Poisson process, the expected value of $K(t)=\pi t^2$. Edge effects are corrected by the method described

by Diggle (1983) and ter Braak (1980). The resulting estimates of $K(t)$ were transformed to $K^*(t) = \sqrt{[K(t)/\pi]-t}$. This transformation stabilizes the sampling variances of the estimates [see Besag in the discussion of Ripley (1977)] and gives a function whose expectation under the null hypothesis is zero for all distances t . Negative values of $K^*(t)$ indicate a regular pattern and positive values an aggregated pattern. A plot of $K^*(t)$ against t therefore reveals spatial pattern at various scales. Statistical analyzes were performed using the R 3.0.1 Software. Direct ordination of presence/absence of taxa to environmental gradients was also made in Comunitata 1.6 Software.

Analyses of herbarium data

To model the potential distribution and niche of *Montrichardia* species in the Neotropics we used the Maximum Entropy Method (MAXENT) general purpose machine learning method, which has been adapted and developed as a software (MaxEnt) for species distribution modeling (Phillips *et al.*, 2006) and identified as one of the most accurate methods for species niche modeling (Elith *et al.*, 2006). From small numbers of occurrence records MAXENT was better than others algorithms like GARP (Genetic Algorithm for Rule Set Production) when sample sizes were experimentally reduced to less than 10 presence-records (Pearson *et al.*, 2007). MaxEnt version 3.3.3k was used to perform the analysis (<http://www.cs.princeton.edu/~schapire/MaxEnt/>). The method combines biological data of species occurrence (presence-only data) with environmental characteristics (e.g., GIS layers with a grid of values for the geographic area considered; table 02) to estimate the probability of distribution of maximum entropy (i.e., closest to uniform), subject to the set of constraints provided (i.e., environmental characteristics where the species occurs) (Phillips *et al.*, 2006). For each species, 30% of samples were used for the validation of the model. All other settings were set as default as they perform well and are robust for a large range dataset.

Fifteen environmental variables were used with a resolution of 1 km, extracted of public data bases (Table 02). Variables were used individually and in several combinations in the search for the best MAXENT model with the lowest number of variables for the species to be tested. All models were made using 1000 permutations.

The performance of models was assessed using three methods: (i) the area under curve (AUC) of the receiver-operating characteristic (ROC) (ii) the jackknife validation method (iii) and by plotting our collected occurrence data in the model. In addition, results were interpreted in accordance with ecological knowledge of the studied species (see chapters 2, 3 and 4).

The AUC of ROC is obtained by plotting sensitivity (proportion of correct prediction true-positive, or absence of omission) and 1-specificity (proportion of false predicted presence - false-positive or commission error) for all possible thresholds of probability (threshold independent evaluation). In presence-only models, the AUC value represents the probability that the model scores a presence site (test locality) higher than a random background site (Phillips *et al.*, 2006). The value ranges from 0.5 to $1-a/2$, where a is the fraction of pixels covered by the species' distribution that remains unknown (Phillips *et al.*, 2006). An AUC value closer to 1 indicates that the model predicts better than a random model, while a value of 0.5 indicates that the prediction is worse than random (Phillips *et al.*, 2006).

Table 2 – Bioclimatic variables used to development of MAXENT models.

Variable	Base	Site
aspect, elevation, accumulation flux, direct flux, inclination	Hidro 1K	https://lta.cr.usgs.gov/HYDRO1K
Digital soil map (dominant soil, covering 40 % of the mapping unit; refers to the soil components described on the back of the map; associated soils; texture classes of the dominant soil; slope classes of the dominant soil.	WaterBase	http://www.waterbase.org/download_data.html
Wetlands (lakes, rivers and artificial waters body)	WWF	http://worldwildlife.org/publications/global-lakes-and-wetlands-database-lakes-and-wetlands-grid-level-3
Global vegetation index-EVI	EOS-EarthData	http://eos-earthdata.sr.unh.edu
hottest temperature, cooler temperature, driest temperature, average temperature, total rainfall, rainfall of hottest and cooler months	CIAT - SuthAmerica	http://openmodeller.sourceforge.net/index.html

Results and Discussion

The K Ripley's index showed an aggregated pattern of distribution of the sampled populations in the Amazon for *M. arborescens* to 1km and *M. arborescens* var. *aculeata*

aggregated to 5Km. At approximately 10 km *M. linifera* and *M. arborescens* showed a random pattern of distribution. At large distances *M. arborescens* and *M. linifera* showed a uniform pattern and *M. arborescens* var. *aculeata* a random pattern of distribution of (Fig. 4). ML populations are located in open areas along rivers and lakes (Lopes & Piedade, 2012) and the stems in the plots are more aggregated than those of MA, the latter being more sparsely distributed on the floodplain (Lopes & Piedade, 2012). Matteucci & Colma (1982) argue that species tend to have an aggregate distribution in the establishment of populations, tending to an uniform and random distribution in the course of succession. The *Montrichardia* species, although reproducing by seeds, have a rather intense resprouting by rhizomes, a mechanism that can lead to dispersal of species within shorter distances, causing the aggregation (Stoyan & Penttinen, 2000).

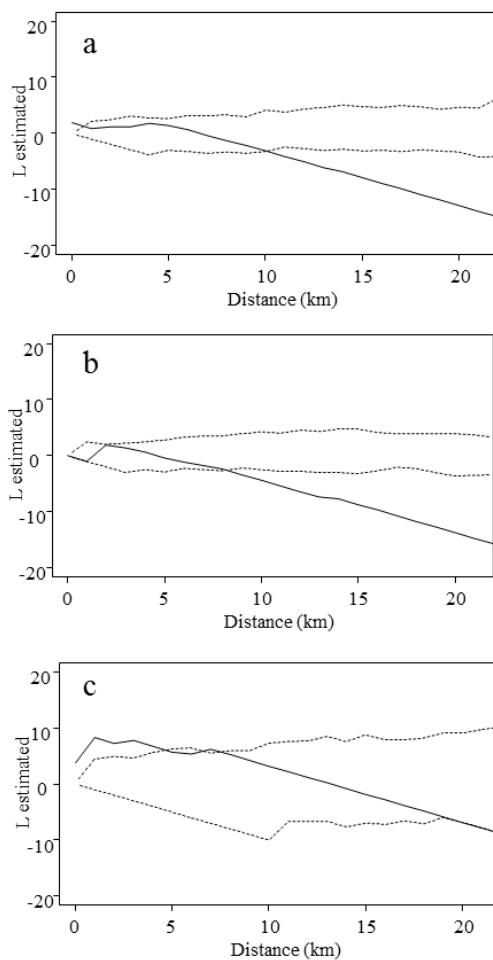


Fig. 4 Ripley's K function (estimated L) for: a) *M. arborescens*, b) *M. linifera* c) *M. arborescens* var. *aculeata* in the Amazon Basin.

Montrichardia linifera does not occur along the black rivers (Table 1; Fig. 5) and is likely to be limited to environments with high nutrient availability, where it forms large monospecific stands in rivers and lakes (Table 3). The analysis of *M. arborescens* field data showed that the species occurs preferentially along the margin of black rivers and lakes, and is also found in lower densities in várzea floodplains (Table 1 and 3). The occurrence of *M. arborescens* in the Brazilian part of the Amazon seems to be related to black and clear-water lowland rivers and upland streams, although some records for the Amazon River are available in herbaria (Fig. 1). This species demonstrates ability to colonize environments with distinct abiotic characteristics and low amount of nutrients (Lopes & Piedade, 2012), which explains its distribution along clear and black waters. The MAA variety was found only in Roraima (Cauamé River), Amapá (Paru River) and Pará (Piramonha River), occurring only in white and clear-water rivers (Fig. 2; Table 3). We argue that this variety might be a hybrid of MA and ML. Genetic test needs to be performed to confirm this hypothesis (see Chapter 3).

Table 3 – Water types and water bodies where collected *Montrichardia* spp. In Amazon Basin

	White	Black	Clear
Rivers	14	10	13
Lakes	10	4	4
Total	24	14	17

The species are also distributed in accordance to water pH, from acid to neutral, following the sequence MA (AUC = 0.92; $p < 0.0001$), MAA (AUC = 0.53; $p = 0.52$), and ML (AUC = 0.87; $p < 0.0001$) (Fig. 5a); the same pattern was observed for electrical conductivity: MA (AUC = 0.89; $p < 0.0001$), MAA (AUC = 0.41; $p = 0.47$), ML (AUC = 0.80; $p < 0.0001$) (Fig. 5c) and water transparency, following the sequence ML (AUC = 0.70; $p = 0.04$), MAA (AUC = 0.60; $p = 0.12$), MA (AUC = 0.77; $p = 0.002$) (Fig. 5b). Only MAA was not distributed according to any environmental parameter tested. Electrical conductivity, water transparency (Secchi depth) and pH are strongly related to the classification of the water types according to water color, white, black and clear (Sioli, 1968), and these variables are deeply related with nutrient concentration (Junk & Furch 1980). Furthermore, the pattern of *Montrichardia* species distribution is better related to water properties (Lopes *et al.*, 2011). Other local environmental variables tested (percentage of oxygen, water column depth and the maximum

flood level in the plot) were not related to species distribution ($p>0.05$). The distribution pattern showed the segregation of the species on pH gradient (Fig. 5c).

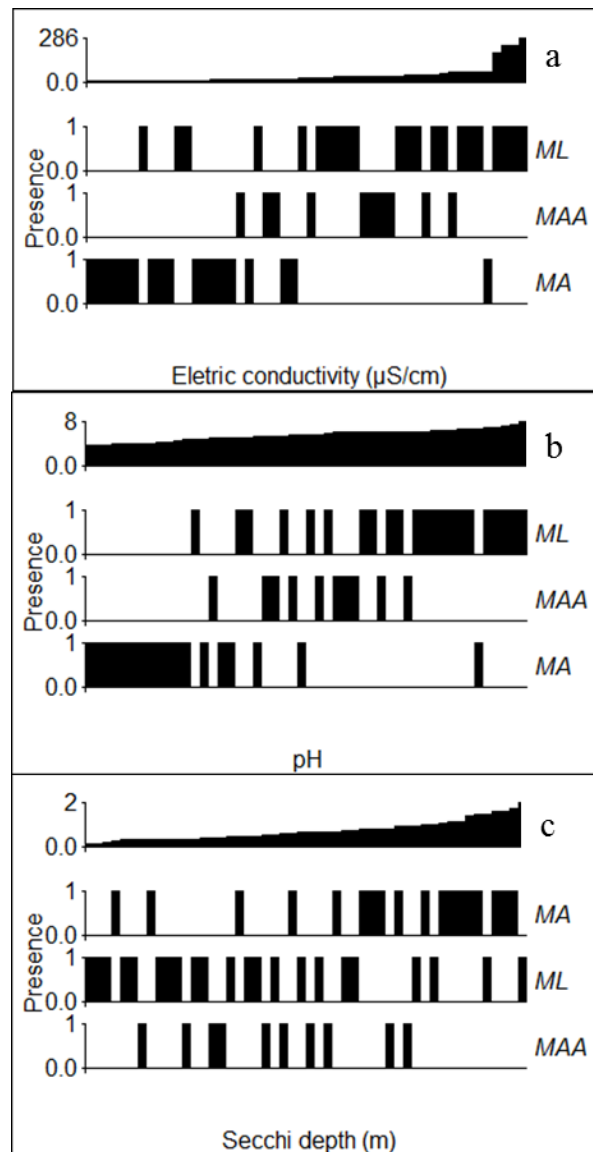


Fig. 5 Species distribution of the *Montrichardia* genus according to the water gradients: a) electric conductivity, b) pH, c) water transparency (Secchi depth). MA= *M. arborescens*, ML= *M. linifera*, MAA= *M. arborescens* var. *aculeata*.

The actual distribution of *M. linifera* derived from herbarium data was concentrated in the region of the Guyana Shield and Andean region following the eastwards course of the Amazon River up to its mouth and southwards from the Amazon delta to the State of Espírito Santo in SE-Brazil (Fig. 6). The species shows a phenotypic plasticity occurring either as fixed to the substrate or forming floating islands, called “Matupás” in the Northern region of

Brazil (Junk & Piedade, 1997). *M. arborescens* showed a wider distribution in the Amazon region and Central America.

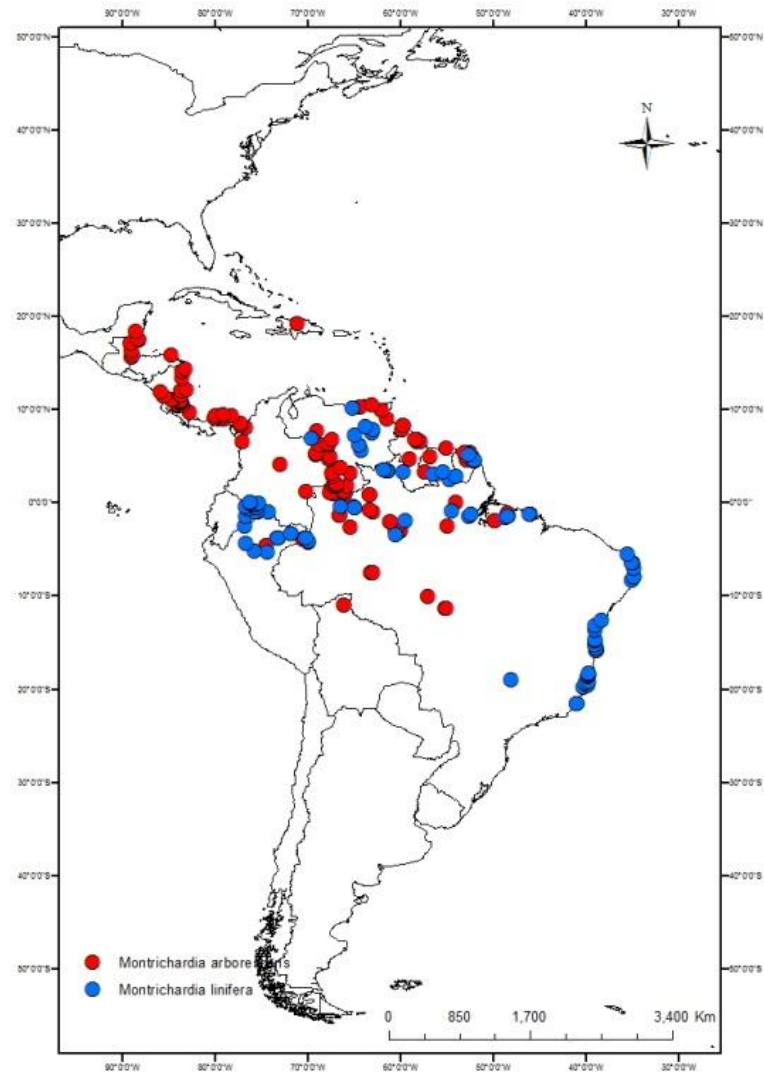


Fig. 6 Distribution of *Montrichardia* genus according to the records of consulted herbarium (list at the appendix 1).

Several MAXET models predicted the potential habitat for MA and ML with great success, as indicated by low rates of omissions and statistical significance (Table 4). The same models showing high AUC for MA presented high AUC for ML as well (Table 2); therefore two models with higher values of AUC were chosen to be presented in detail (Fig. 7). The Jackknife test showed that the variables altitude, total precipitation (rain_tot) and temperature of the driest month (temp_dry) were the most important variables for modeling the two species (Fig. 8, Table 4). Temperature is one of the most important climatic factors

affecting the range of distribution of many aquatic and wetland plant species (Sculthorpe, 1967; Santamaría, 2002; Bornette & Puijalón, 2011). It affects plant physiology, including the germination of seeds and the periodicity and rate of seasonal growth (Short & Neckles, 1999). In the Amazon Basin, temperature and precipitation are principal factors in which climate models predict changes during the next 100 years, driven by increases in atmospheric CO₂ concentrations (Houghton *et al.*, 2001, Stocker, 2013). For example, some climate models predict an increase in temperatures by up to 1.5 to 7°C coupled with a possible reduction in precipitation by 10% to 20% in east and south Amazon (Houghton *et al.*, 2001; IPCC, 2013).

The variables soil and EVI (Global vegetation index) commonly used to predict the distribution of species (Brown, 1994) had little importance in the present modeling, but remained in the final models to refine the forecast area of species occurrence. Including a layer of wetlands with rivers, lakes and other types of water bodies would probably lead to a better definition of the ecological niche of the two species, but as layer scales are below values of size found in the literature for Brazilian wetlands (Junk *et al.*, 2014), this layer was not considered in the final model.

The maps with the averages of the MAXENT models show that MA has a Neotropical distribution, the Central part of the Amazon and the coastal region of Brazil being preferential areas of species occurrence (Fig. 7a and c). On the other hand, ML has a fairly wide distribution in Central and South America, which is notably similar between different models, independent of different environmental layers (Fig. 7b and d). The models made with herbarium data also showed a good prediction of species occurrence, confirmed by checking in the field (Fig. 7a and b). Where the model predicted areas with high possibilities of occurrence of MA, its presence was confirmed in the field; while results in areas with median predictability of occurrence, the presence of congeneric species was frequently observed in the field (Fig. 7a). The same pattern was found for ML, although for this species the occurrence of congeneric species also occurred in areas with high predictability of ML occurrence, since its ecological niche was more widespread than that of MA (Fig. 7 b).

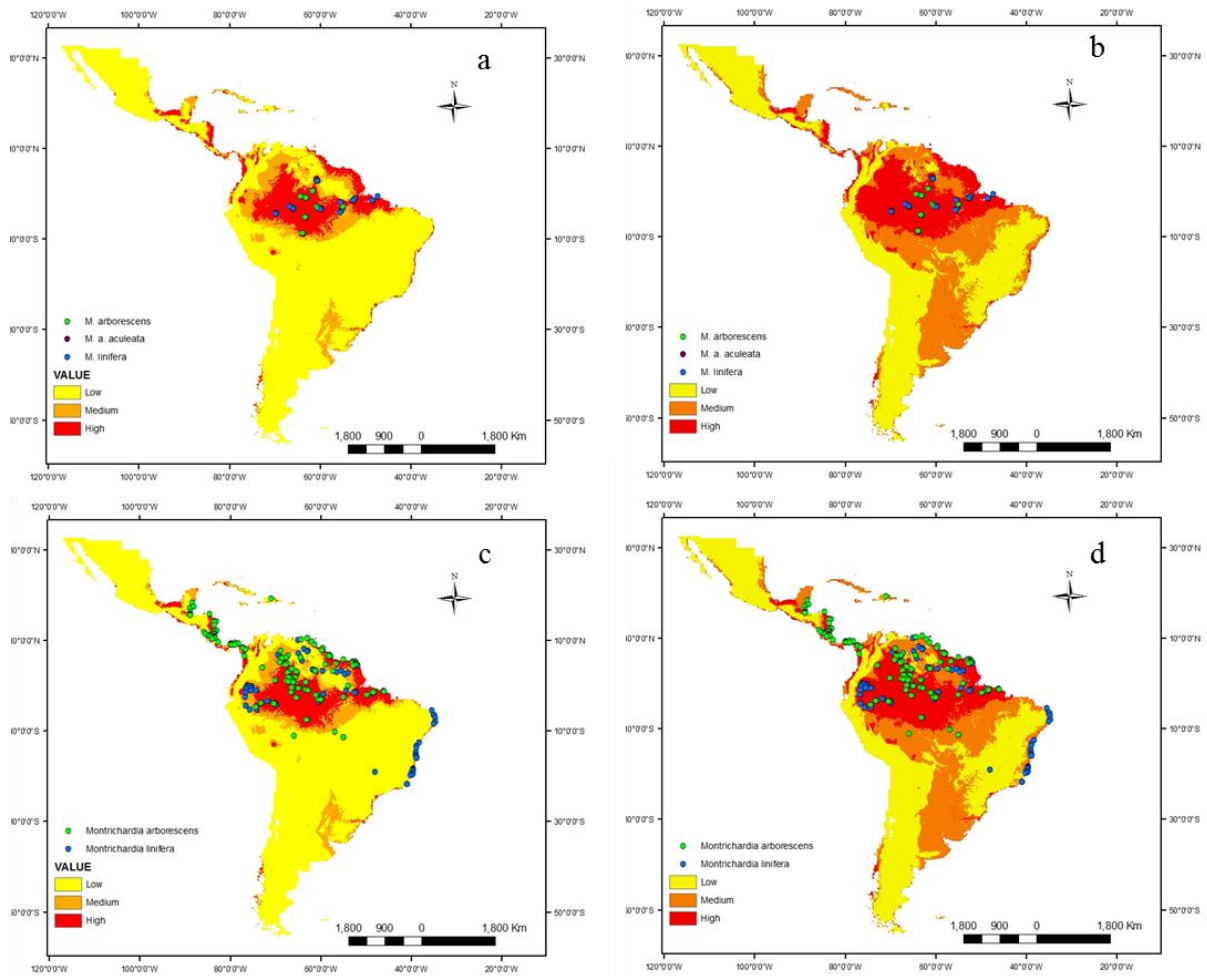


Fig. 7 Ecological niche modeling with field data (not used in the model): a) for *Montrichardia arborescens* and b) for *Montrichardia linifera*; and with data from herbarium specimens (used for making the models): c) for *Montrichardia arborescens* and d) for *Montrichardia linifera*.

Table 4. Models for each of the tested species (MA and ML) and their AUC (area under the curve). * $p < 0,0001$. Where; alt (altitude), rain_tot (rain total), soil (map of soil), veg2002 (Global Vegetation Index, 2002), temp_dry (temperature of the driest month). **see Table 2

Variables	AUC (median)	
	MA	ML
alt,rain_tot,soil, veg2002	0.923*	0.848*
alt, temp_dry, rain_tot, soil, veg2002	0.922*	0.842*
All variables** (15)	0.904*	0.863*

The models for *Montrichardia* spp. showed high predictability even being elaborated with few records (93 to ML and 170 to MA). As inventories of aquatic macrophytes are still poor and sparse in the Amazon Basin (Piedade *et al.*, 2010), the possibility of niche modeling of species with few data opens huge potential for interpretation for biogeography. Moreover, with just few independent variables (3-4) it was possible to develop robust models, which may be of advantage in remote areas such as the Amazon, where environmental data are still scarce. Potential distribution maps of species could be used in management plans, to discover new populations and to select priority areas for conservation (Kumar & Stohlgren, 2009).

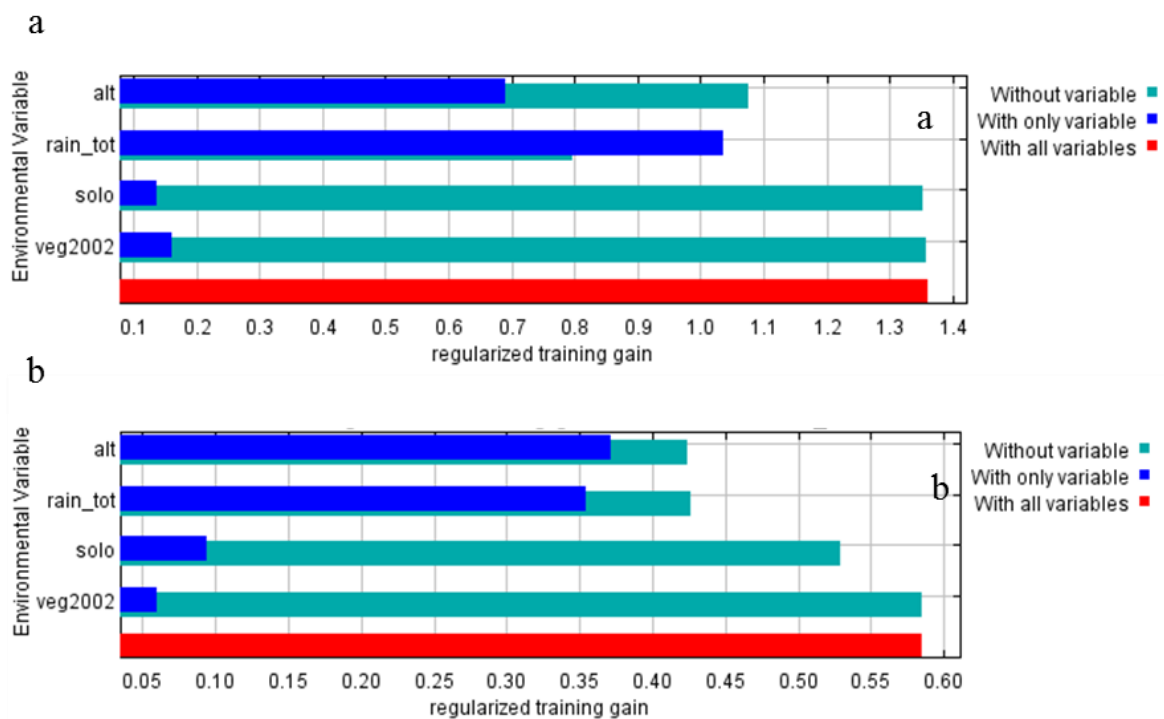


Fig. 8 Results of Jackknife evaluations of the relative importance of predictor variables for: a) *M. arborescens* b) *M. linifera* in the Maxent model.), alt = altitude, rain_tot = rain total, solo = map of soil, veg 2002 = Global Vegetation Index, 2002.

Conclusions

Climatic factors influence the distribution of *Montrichardia* spp. at the Neotropical scale. Both species showed a preference to environments with high values of temperature and precipitation. In a more refined analysis hydrochemical factors seem to influence the distribution of *Montrichardia* species at a regional scale (Amazonia). While *M. linifera* occurs more often in white water rivers, *M. arborescens* occur in black-water rivers and upland streams.

Montrichardia linifera showed a greater potential ecological niche than *M. arborescens* in accordance with our hypothesis. The models calibrated with few data and environmental layers were able to predict well the presence of species and the occurrence of congeneric species.

Acknowledgments

This work is supported by INCT ADAPTA - Brazilian Ministry of Science, Technology and Innovation (CNPq/FAPEAM), and the Universal CNPq (14/2009; 14/2011), PRONEX “Áreas alagáveis” (CNPq/FAPEAM), PELD MAUA (CNPq/FAPEAM). For Marcelo Santos Junior and Marina Ansiães for help with Maxent Software, Conceição Lucia Costa, Celso R. Costa and Valdeney de A. Azevedo we thank the assistance in the collection of data. The authors thank the Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) for Aline Lopes Doctor’s Grant; MAUA Research Group for logistical and technical support.

References

- Barendregt, A., Bio, A.M.F., 2003. Relevant variables to predict macrophytes communities in running waters. *Ecol. Model.* 160, 205-217.
- Bornette, G., Puijalón, S. 2011. Response of aquatic plants to abiotic factors: a review. *Aquatic Sciences.* 73(1), 1-14.
- Boyce, P.C., Croat, T.B., 2011. The Überlist of Araceae, Totals for Published and Estimated Number of Species in Aroid Genera. <http://www.aroid.org/genera/140313uberlist.pdf> [accessed 10 January 2014].
- Brown, D.G., 1994. Predicting vegetation types at treeline using topography and biophysical disturbance variables. *J Veg Sci.* 5, 641–656.
- Camargo, A.F.M., Pezzato, M. M., Henry-Silva, G. G., 2003. Fatores limitantes à produção primária de macrófitas aquáticas. In: Thomaz, S.M., Bini, L.M. *Ecologia e manejo de macrófitas.* Maringá: UEM, p. 59-83.
- Cancian, L.F., Camargo, A.F.M., Silva, G.G., 2009. Crescimento de *Pistia stratiotes* em diferentes condições de temperatura e fotoperíodo. *Acta Bot. Bras.* 23, 552-557.
- Chambers, P. A., Lacoul, P., Murphy, K. J., Thomaz S. M. 2008. Global diversity of aquatic macrophytes in freshwater. *Hydrobiologia* 595, 9-26.
- CRIA - Centro de Referência em Informação Ambiental, 2014. Species links. Disponível em: http://smlink.cria.org.br/centralized_search?criaLANG=pt [accessed 10 January 2014].
- Diggle, P.J., 1983. Statistical analysis of spatial point patterns. p.4-5 <http://www.cabnr.unr.edu/weisberg/NRES675/Diggle2003.pdf> [accessed 10 January 2014].
- Elith, J., Graham, C. H., Anderson, R. P., DudićK, M., Ferrier, S., Guisan, A., Hijmans, R. J., Huettmann, F., Leathwick, J. R., Lehmann, A., Li, J., Lohmann, L. G., Loiselle, B. A., Manion, G., Moritz, C., Nakamura, M., Nakazawa, Y., Overton, J. Mcc., Peterson, A. T., Phillips, S. J., Richardson, K. S., Scachetti-Pereira, R., Schapire, R. E., SoberoñN, J., Williams, S., Wisz, M. S., Zimmermann, N. E. 2006. Novel methods improve prediction of species' distributions from occurrence data. *Ecography*, 29, 129-151.

Furch, K., 2000. Chemistry and bioelement inventory of contrasting Amazonian forest soils. In: Junk, W.J., Ohly, J.J., Piedade, M.T.F., Soares, M.G.M. (Eds.), *The Central Amazon Floodplain: Actual Use and Options for a Sustainable Management*. Backhuys Publishers, Leiden, The Netherlands, pp. 109-128.

Furch, K., Junk, W.J., 1997. Physicochemical conditions in the floodplains. *Ecological Studies*, 126, 69–108.

Guisan, A., Thuiller, W., 2005. Predicting species distribution: offering more than simple habitat models. *Ecol. lett.* 8, 993-1009.

Henry-Silva, G.G., Camargo, A.F.M., 2005. Interações ecológicas entre as macrófitas aquáticas flutuantes *Eichhornia crassipes* e *Pistia stratiotes*. *Hoehnea*, 32(3), 445-452.

Herendeen, P., Crepet, W., Dilcher, D., 1992. The fossil history of the Leguminosae: Phylogenetic and biogeographic implications. In: Herendeen P, Dilcher, D. (Eds.), *Advances in Legume Systematics, Part 4. The Fossil Record*, Kew Publishing, Surrey, UK, pp. 303–316.

Houghton, R.A., Lawrence, K.T., Hackler, J.L., Brown, S., 2001. The spatial distribution of forest biomass in the Brazilian Amazon: A comparison of estimates. *Global Change Biol.* 7, 731–746.

IPCC, 2013: *Climate Change 2013: The Physical Science Basis. Contribution of Working Group I to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change* [Stocker, T. F., D. Qin, G.-K. Plattner, M. Tignor, S. K. Allen, J. Boschung, A. Nauels, Y. Xia, V. Bex and P. M. Midgley (eds.)]. Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom and New York, NY, USA. http://www.climatechange2013.org/images/report/WG1AR5_TS_FINAL.pdf

Junk W.J., 1997. *The Central Amazon Floodplain: Ecology of a Pulsing System*. *Ecological Studies* 126. Springer-Verlag: Berlin; 525.

Junk, W.J., Piedade, M.T.F., Lourival, R., Wittmann, F., Kandus, P., Lacerda, L.D., Bozelli, R.L., Esteves, F.A., Nunes Da Cunha, C., Maltchik, L., Schöngart, J., Schaeffer-Novelli, Y., Agostinho, A.A., 2014. Brazilian wetlands: their definition, delineation, and classification for research, sustainable management, and protection. *Aquat. Conserv.* 24, 5-22.

Junk, W.J. , Piedade, M TF, Schöngart, J, Cohn-Haft, M, Adeney, J. M , Wittmann, F. 2011 A Classification of Major Naturally-Occurring Amazonian Lowland Wetlands. *Wetlands* 31,623-640.

Junk, W.J., Ohly, J.J., Piedade, M.T.F., Soares, M.G.M., 2000. The Central Amazon Floodplain: Actual Use and Options for a Sustainable Management.- Backhuys Publishers b.V., Leiden, Klinge, H., Junk, W. J., Revilla, C.J. p. 584.

Junk, W.J., Piedade, M.T., 1997. Plant life in the floodplain with special reference to herbaceous plants. In: Junk, W.J. (Eds.), *The Central Amazon Floodplain*. Springer-Verlag, New York 126, pp. 147– 181.

Junk, W.J., Furch, K. 1980. Water Chemistry and aquatic macrophytes of rivers and streams in Amazon river Basin and adjacent areas. Part I: Cuiabá – Porto Velho - Manaus Path. *Acta Amaz.* 10 (3), 611-633.

Kasuga, M., Liu, Q., Miura, S., Yamaguchi-Shinozaki, K., & Shinozaki, K. (1999). Improving plant drought, salt, and freezing tolerance by gene transfer of a single stress-inducible transcription factor. *Nature Biotechnol.* 17(3), 287-291.

Kumar, S., Stohlgren, T.J., 2009. Maxent modeling for predicting suitable habitat for threatened and endangered tree *Canacomyrica monticola* in New Caledonia. *J. Ecol. Nat. Environ.* 1(4), 094-098.

Lima, Á.C., Araujo-Lima, C.A. 2004. The distributions of larval and juvenile fishes in Amazonian rivers of different nutrient status. *Freshwater Biol.* 49(6), 787-800.

Lins, A.L. 1994. Aspectos morfológicos e anatômicos de raízes do gênero *Montrichardia* Crueg (Araceae). M.Sc. dissertation, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 93 pp. Porto Alegre.

Lopes A., Piedade M.T.F., 2012. Distribuição, biomassa e variação morfológica entre populações do gênero *Montrichardia* Crueg (Araceae) na Bacia Amazônica. In: I Congresso Brasileiro de Áreas Úmidas, Cuiabá: Anais do I Congresso Brasileiro de Áreas Úmidas.

Lopes, A. Wittmann, F. Schöngart, J., Piedade, M.T.F. 2014. Herbáceas aquáticas em seis igapós na amazônia central: composição e diversidade de gêneros. *Revista Geográfica Acadêmica* (in press)

Lopes, A., Paula, J.D.A., Mardegan, S.F., Hamada, N., Piedade, M.T.F., 2011. Influência do hábitat na estrutura da comunidade de macroinvertebrados aquáticos associados às raízes de *Eichhornia crassipes* na região do Lago Catalão, Amazonas, Brasil. *Acta Amaz.* 41, 493-502.

Madsen, T.V., Hahn, P., Johansen, J., 1998. Effect of inorganic carbon supply on the nitrogen requirement of two submerged macrophytes, *Elodea Canadensis* and *Callitriche cophocarpa*. *Aquatic Bot.* 62, 95-106.

Martins, P.S., 1987. Estrutura populacional, fluxo gênico e conservação *in situ*. *IPEF.* 35,71-78.

Matteucci, S., Colma, A., 1982. Metodología para el estudio de la vegetación. Secretaría general de la Organización de los Estados Americanos. Washington, DC.

Mayo, S.J., Bogner J., Boyce P.C., 1997. The Genera of Araceae. RBGKew Press, London.

MOBOT. Missouri Botanical Garden - Disponível em: <http://www.mobot.org/MOBOT/research/APweb/welcome.html>. [accessed 10 January 2014].

Mounier S., Braucher R., Benaim J.Y., 1998. Differentiation of organic matter's properties of the Rio Negro basin by cross flow ultra-filtration and UV-spectrofluorescence. *Water Res.* 33(10): 2363–2373.

Murphy, K.J., 2002. Plant communities and plant diversity in softwater lakes of northern Europe. *Aquatic Bot.* 73, 287-324.

Nauheimer L., Boyce P.C., Renner S.S., 2012. Giant taro and its relatives: a phylogeny of the large genus *Alocasia* (Araceae) sheds light on Miocene floristic exchange in the Malesian region. *Mol. Phylogenet. Evol.* 63, 43–51.

Neiff, J.J., Poi de Neiff, A.S.G., 2003. Connectivity processes as a basis for the management of aquatic plants. In: Thomaz, S., Bini, L.M. (Eds.), *Ecologia e Manejo de Macrófitas Aquáticas*. Nupélia - Maringá. Eduem, Maringá, p. 39-58.

Pearson, R. G., Dawson, T. P. 2003. Predicting the impacts of climate change on the distribution of species: are bioclimate envelope models useful?. *Global Ecol. Biogeogr.* 12(5), 361-371.

- Pearson, R.G., Raxworthy, C. J., Nakamura, M., Peterson, A.T., 2007. Predicting species' distributions from small numbers of occurrence records: A test case using cryptic geckos in Madagascar. *J. Biogeog.* 34,102–117.
- Phillips, S.J., Anderson, R.P., Schapire, R.E., 2006. Maximum entropy modeling of species geographic distributions. *Ecol. Modell.* 190, 231-259.
- Piedade, M.T.F., Junk, W., D'Ângelo, S.A., Wittmann, F., Schöngart, J., Barbosa, K.M.D.N., Lopes, A., 2010. Aquatic herbaceous plants of the Amazon floodplains: state of the art and research needed. *Acta Limnol. Bras.* 22(2), 165-178.
- Richey J.R., Hedges J.I., Devol A.H., Quay P.D., Victoria R., Martinelli L.A., Forsberg B.R., 1990. Biogeochemistry of carbon in the Amazon River. *Limnol. Oceanogr.* 35,352–371.
- Riis, T., Sand-Jensen, K., Vestergaard, O., 2000. Plant communities in lowland Danish streams: species composition and environmental factors. *Aquatic Bot.* 66, 255-172.
- Ripley, B. D., 1977. Modelling spatial patterns (with Discussion). *J. R. Statist. Soc. B*, 39, 172-212
- Ripley, B.D., 1981. *Spatial statistics*. Wiley Series in Probability and Mathematical Statistics. John Wiley & Sons, New York.
- Santamaría, L. 2002. Why are most aquatic plants widely distributed? Dispersal, clonal growth and small-scale heterogeneity in a stressful environment. *Acta Oecol.* 23(3), 137-154.
- Santamaría, L., 2002. Why are most aquatic plants widely distributed? Dispersal, clonal growth and small-scale heterogeneity in a stressful environment. *Acta Oecol.* 23, 137–154.
- Sculthorpe, C.D., 1967. *The Biology of Aquatic Vascular Plants*. Edward Arnold, London, p. 610.
- Short, F.T., Neckles, H.A., 1999. The effects of global climate change on seagrasses. *Aquat. Bot.* 63(3), 169-196.
- Sioli, H., 1968. Hydrochemistry and geology in the Brazilian Amazon region. *Amazoniana* 3,267-277.
- Siqueira, M.F.D., Peterson, A.T., 2003. Consequences of global climate change for geographic distributions of *cerrado* tree species. *Biota Neotrop.* 3, 1-14.

- Soberón, J., Peterson, A. T. Interpretation of models of fundamental ecological niches and species' distributional areas. *Biodiversity Informatics*. 2(1),10- 20.
- Stocker, T. F., Qin, D., Plattner, G. K., Tignor, M., Allen, S. K., Boschung, J., ... & Midgley, P. M. 2013. IPCC, 2013: Climate Change 2013: The Physical Science Basis. Contribution of Working Group I to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change.
- Stoyan D., Penttinen A., 2000. Recent application of point process methods in forestry statistics. *Stat. Sci.*, 15(1): 61-78.
- ter Braak, C. J. F. 1980. Binary mosaics and point quadrat sampling in ecology. IWIS-TNO A80 ST 9637, IWIS- TNO, P.O. Box 100, Wageningen. Watson, L., Dallwitz, M.J., 1992 onwards. The families of flowering plants: descriptions, illustrations, identification, and information retrieval. [accessed 10 January 2014]. <http://delta-intkey.com>.
- Thomas, C. D., Cameron, A., Green, R. E., Bakkenes, M., Beaumont, L. J., Collingham, Y. C., ... & Williams, S. E. (2004). Extinction risk from climate change. *Nature*, 427(6970), 145-148.
- Wang, W., Vinocur, B., Altman, A. 2003. Plant responses to drought, salinity and extreme temperatures: towards genetic engineering for stress tolerance. *Planta*, 218(1), 1-14.
- Watson, L., Dallwitz, M.J. 1992 onwards. The grass genera of the world: descriptions, illustrations, identification, and information retrieval; including synonyms, morphology, anatomy, physiology, phytochemistry, cytology, classification, pathogens, world and local distribution, and references. [accessed 10 January 2014]. (<http://delta-intkey.com>).
- Woodward, F.I., 1988. Temperature and the distribution of plant species. In: Long, S.P., Woodward, F.I. (Eds.), *Plants and Temperature*. The Company of Biologists Limited. University of Cambridge, Cambridge, p. 59–75.
- Woodward, F.I., Williams, B.G., 1987. Climate and plant distribution at global and local scales. *Vegetatio*. 69,189-197.

Appendix 1

List of Herbarium consulted to determine the distribution of species (CRIA, 2014).

1. ASE - Herbário da Universidade Federal de Sergipe
2. BOTU - Herbário "Irina Delanova Gemtchújnicov"
3. CPMA - Coleção de plantas medicinais e aromáticas
4. EAC - Herbário Prisco Bezerra
5. EAN - Herbário Jaime Coelho de Moraes
6. ESA - Herbário da Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz
7. FUEL - Herbário da Universidade Estadual de Londrina
8. FURB - Herbário Dr. Roberto Miguel Klein
9. HISA - Herbário de Ilha Solteira
10. HRCB - Herbário Rioclarense
11. HSJRP - Herbário de São José do Rio Preto
12. HST - Herbário Sérgio Tavares
13. HTSA - Herbário do Trópico Semi-Árido
14. HUEM - Herbário UEM
15. HUMC - Herbário Mogiense
16. HUPG - Herbário da Universidade Estadual de Ponta Grossa
17. IAC - Herbário do Instituto Agronômico de Campinas
18. INPA-Herbario - Herbário
19. IPA - Herbário - IPA Dárdano de Andrade Lima
20. JBRJ_RB - Herbário Dimitri Sucre Benjamin
21. JPB - Herbário Lauro Pires Xavier

22. MAC - Herbário do Instituto do Meio Ambiente do Estado de Alagoas
23. MBM - Herbário do Museu Botânico Municipal
24. MBML-Herbario - Herbário
25. MOBOT_BR - Missouri Botanical Garden - Brazilian records
26. MOSS - Herbário Dárdano de Andrade Lima
27. NYBG_BR - The New York Botanical Garden - Brazilian records
28. PEUFR - Herbário Professor Vasconcelos Sobrinho
29. SPF - Herbário do Departamento de Botânica, SPF-IB/USP
30. SPSF - Herbário Dom Bento Pickel
31. TEPB - Herbário Graziela Barroso
32. UEC - Herbário da Universidade Estadual de Campinas
33. UFP - Herbário UFP - Geraldo Mariz
34. UFRN - Herbário UFRN
35. UPCB - Herbário do Departamento de Botânica
36. URM - Herbário Pe. Camille Torrand
37. VIES - Herbário Central da Universidade Federal do Espírito Santo VIES

Capítulo 2

Lopes *et al.*, (submetido) The genus *Montrichardia* Crueg (Araceae) in the Amazon Basin: overseeing morphological and physiological traits along a longitudinal gradient, *Hydrobiologia*.

The genus *Montrichardia* Crueg (Araceae) in the Amazon Basin: overseeing morphological and physiological traits along a longitudinal gradient

Aline Lopes¹, Pia Parolin², Maria Teresa Fernandez Piedade³

¹ Graduate Program in Ecology. Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia/ Grupo MAUA “Ecologia, Monitoramento e Uso Sustentável de Áreas Úmidas Amazônicas”, Av. André Araújo, 2.936 - Petrópolis Cx. Postal 2223 - CEP 69080-971 Manaus, Amazonas, Brasil. Telephone /fax+55 92 36421503 alopesmga@gmail.com

² Dept of Plant Diversity, Univ. of Hamburg, Germany, piaparolin@gmx.de

³ Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, CDAM/ Grupo MAUA “Ecologia, Monitoramento e Uso Sustentável de Áreas Úmidas Amazônicas” Av. André Araújo, 2.936 - Petrópolis Cx. Postal 2223 - CEP 69080-971 Manaus, Amazonas, Brasil. maitepp@inpa.gov.br

Abstract

Montrichardia is an exclusively Neotropical genus which is widely distributed and well adapted to Amazonian floodplains. Two species [*M. linifera* (ML) and *M. arborescens* (MA)] and one variety [*M. arborescens* var. *aculeata* (MAA)] are described, although some authors support that they belong to a single species characterized by high plasticity. This study aimed to determine if analyses of densities (stem/m²), morphology, physiology and biomass of 55 populations of *Montrichardia* growing in rivers with different water properties in the Amazon Basin can help in discriminating the taxa. Our sampling was made along a gradient of declining soil fertility from Western to Eastern Amazonia spanning more than 2,500 km along the Amazon River. Our results show that local phenotypic variations such as plant height, number of veins, and other morphological and physiological traits allowed the separation of the two species and one variety of *Montrichardia*. The discriminant analysis [DAB (diameter at the base), height, length-internodes] allowed separation of the species ML and MA, with MAA as a subset of MA. The density distribution of *Montrichardia* taxa proved to be more influenced by the type of water of the floodplains than the soil fertility gradient.

Key-words: Aquatic macrophytes; biomass; phenotypic plasticity; Amazon floodplains.

Introduction

The classic models of distribution and development of aquatic vegetation are usually based on physiological relationships between plants and environmental conditions and the tolerance and ability of the species to grow in different conditions (Barendregt & Bio, 2003). The growth patterns of these plants are mainly related to abiotic parameters such as light, temperature, nutrient availability, pH, alkalinity, salinity, stream velocity, water level variation and ecological processes, together with biotic variables acting on individuals (Riis et al., 2000; Murphy, 2002; Henry-Silva & Camargo, 2005; Madsen et al., 1998; Barendregt & Bio, 2003; Neiff & Neiff, 2003). Morphological adaptations include changes in body size, biomass allocation and physiology (Lytle & Poff, 2004). The nature of physiological adaptations can vary greatly among species, according to the genetic load and the availability of environmental resources. The direct influence of the parameters responsible for the daily carbon uptake, as the photosynthetic capacity and quantum efficiency, absorption and use of nutrients from the soil, ultimately influence the primary metabolism of plants (Pimenta, et al., 1998; Parolin, 2001; De Simone et al., 2002).

All species growing in the Amazon floodplains are subjected to the natural and predictable hydrological changes (Junk et al., 1989), and are highly adapted to them through physiological, morphological and phenological adaptations (Parolin et al., 2004; Parolin, 2009). Nevertheless, even highly adapted species in these environments may reduce growth rates for some weeks per year owing to abnormal dry periods or extended flooding (Pezeshki, 2001; Parolin et al., 2010), or when growing in limiting conditions i.e. low mineral contents. Thus, the study of the morphological and ecophysiological behavior of plant species colonizing different floodplain ecosystems is an important tool for understanding the potential effects of environmental changes in these extreme ecosystems which alternate drought and flood phases.

Studies of geographical variability in floristic composition, species diversity and abundance of trees within the Amazon are quite plentiful and based on correlation between floristic parameters at different sites and on environmental variables, such as precipitation and soil fertility (Whitmore, 1975; Gentry, 1988; Leigh, 1999; Ter Steege et al., 2000; Ter Steege et al., 2003, Ter Steege et al., 2013, Pitman et al., 2002, Wittmann et al., 2006). Historical and evolutionary interpretations are used to explain the division of Amazonia into phytogeographical provinces or regions (Mori, 1991; Prance, 1994; de Oliveira & Daly, 1999; Wittmann et al., 2006). On the other hand, studies of patterns of abundance and diversity of

aquatic macrophytes in the Amazon Basin are punctual, in rivers or lakes, and so far there is no distribution pattern for the aquatic macrophytes community (Piedade et al., 2010), or even for some of their species in the Amazon Basin. However, it is known that under favorable conditions of nutrients, aquatic herbaceous plants may have high growth rates and productivity (Piedade et al., 1991; Junk & Piedade, 1997). Furthermore, other factors may influence growth patterns, such as light, temperature, pH, alkalinity, salinity, competition and flow velocity (Lacoul & Freedman, 2006, Junk & Piedade, 1997). The differences in the characteristics of floodplains, such as nutrient concentration and pH can affect the occurrence and growth of the aquatic herbaceous plants (Piedade et al., 2010).

The aquatic vegetation is intimately related to the water bodies that may differ in water properties according to the geology of the catchment area along the Amazon Basin. Since species of aquatic macrophytes may inhabit fertile white water river floodplains (várzea), and also unfertile and acidic black and clear water river floodplains (igapó) (Sioli, 1954), a question arises: does the distribution of aquatic macrophytes in the Amazon Basin relate to the properties of the river water such as acidity and light penetration, or does it follow the West-East gradient of declining fertility described also for the upland forests of Amazonia (Ter Steege et al., 2006)?

To answer this question we selected the exclusively Neotropical genus *Montrichardia*, widely distributed in the Amazonian floodplains of different water properties. Some authors claim that the genus is composed by a single species with high plasticity (Silva et al., 2012) and others that there are two species [*M. linifera* (ML) and *M. arborescens* (MA)] and one variety [*M. arborescens* var. *aculeata* (MAA)] (Lins, 1994). We analyzed the distribution, densities (stem/m²), biomass, morphological and physiological traits and their plasticity in populations distributed in a variety of water bodies along the Amazon Basin. Based on our analyses of several morphological and ecophysiological variables of the genus *Montrichardia* we hypothesize that *Montrichardia* species are distributed according to physical and chemical variables, and that analysis of densities, morphology, physiology and biomass of individuals can help in discriminating the species. Moreover, it is expected that the densities of all the taxa decreases eastwards, from Tabatinga (Western Amazon), to the mouth of the Amazon River (Eastern Amazon) according to the longitudinal gradient of soil fertility described by Quesada et al. (2010).

Materials and Methods

1. Study sites

Sampling was conducted between the years 2010 and 2012 in 55 sites in the Brazilian Amazon Basin with distinct environmental conditions, in order to contemplate the longitudinal gradient from the Brazilian Amazon (Table 1; Fig. 1). The majority of sampling was made in the terrestrial phase, except Acará River and Cuiuni River both tributaries of Negro River, where samplings were taking in aquatic faze.

Table 1 – Water types and water bodies were collected *Montrichardia* spp. in the Brazilian Amazon Basin.

	White	Black	Clear
Rivers	14	10	13
Lakes	10	4	4
Total	24	14	17

At each sampling point, the depth of the water column where the aquatic macrophytes occurred was measured and the level of maximum flooding of the area was recorded by measuring the marks left by the last flood on the tree stems, accord the methodology proposal by Junk (1989), (see more details in Wittmann & Parolin,1999; Schöngart et al., 2005). Water pH, water temperature (WTW, model pH 315i) and electrical conductivity (WTW, Cond 315i model) were measured in situ. Soil samples (20 cm of deep) were obtained in each point for pH, granulometry a macronutrient (P, Na, Ca, Mg, Al) determination in laboratory. Soil analyses were made in Embrapa Amazônia Ocidental and used the Embrapa standard methods (Embrapa, 1997).

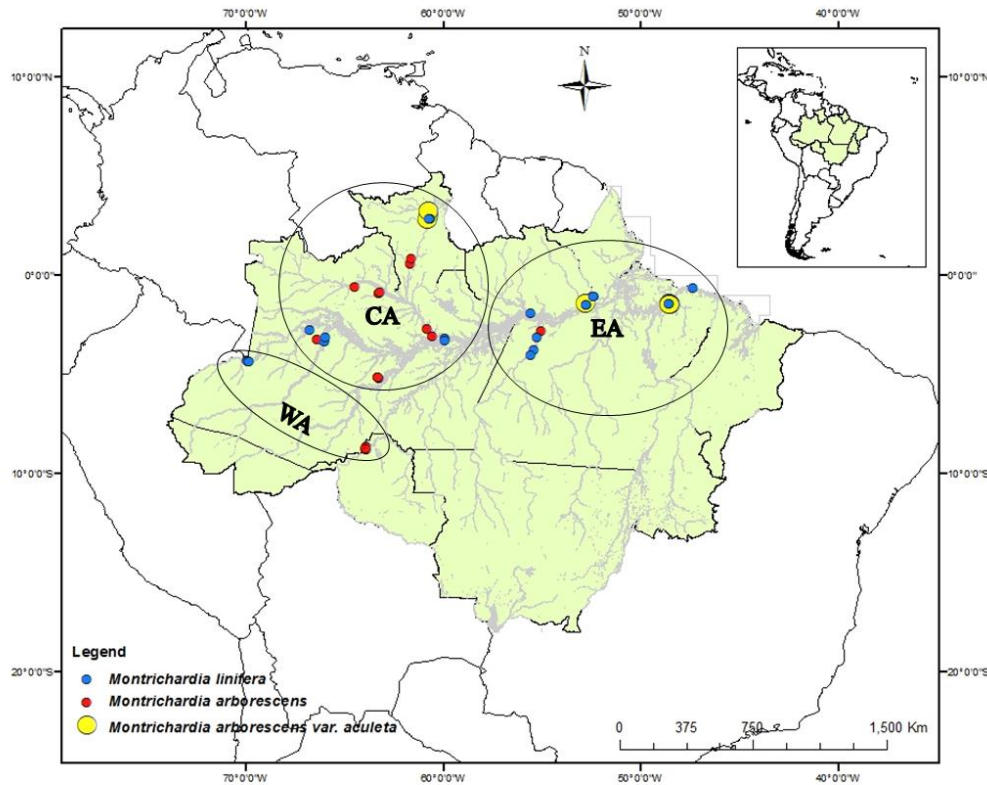


Fig. 1. Distribution of plots in the Amazon Basin. MA = *Montrichardia arborescens*, MAA = *Montrichardia arborescens* var. *aculeata*, ML = *Montrichardia linifera*. CA= Central Amazonia, EA = Eastern Amazon, WA = Western Amazon **White water:** lakes: Porto Velho-RO (3), Juruá-AM (2), Manaus-AM (3), Pará (2); river: Juruá-AM (2), Barcarena-PA (6), Solimões - Tabatinga-AM (3), Boa Vista-RR (3); **Black water:** lakes: Anavilhanas-AM (1), Praia Grande-AM (3); rivers: Água Boa do Univini-AM (1), Barcelos-AM (6), Boa Vista-RR (3); **Clear water:** lakes: Boa Vista-RR (3), river: Jari-AP (6), Parú-AP (4), Tapajós-PA (2), Salinópolis-PA (1). Between parentheses are the samples numbers per site.

2. Species:

Populations of Aninga, i.e. *Montrichardia arborescens* (L.) Schott (MA), *Montrichardia linifera* (Arr.) Schott (ML) and *M. arborescens* var. *aculeata* (G.Mey.) Engl (MAA) occurs along the rivers of the Amazon Basin, forming monospecific stands. *M. linifera* has been recorded more frequently in the coastal zone, while *M. arborescens* has a wider distribution within forested areas (CIA, 2014). However, they can also be found in high densities in Central America and in isolated spots in Minas Gerais State and Bahia State (Brazil). In the Amazon region they may be found in nutritionally rich environments, such as white water Rivers, but also in poor environments, such as the black water rivers, and

brackish environments in the estuary of the Amazon River (CRIA, 2014). Collections were made in each sampling point, and populations of MA and ML were separated in the field by the number of secondary veins only, 2 to 4 for MA and MAA, 5 to 12 for ML (Mayo, 1997). MAA differs from MA by the large number of prickles and is mostly found in brackish environments (Lins, 1994) (Fig. 2).

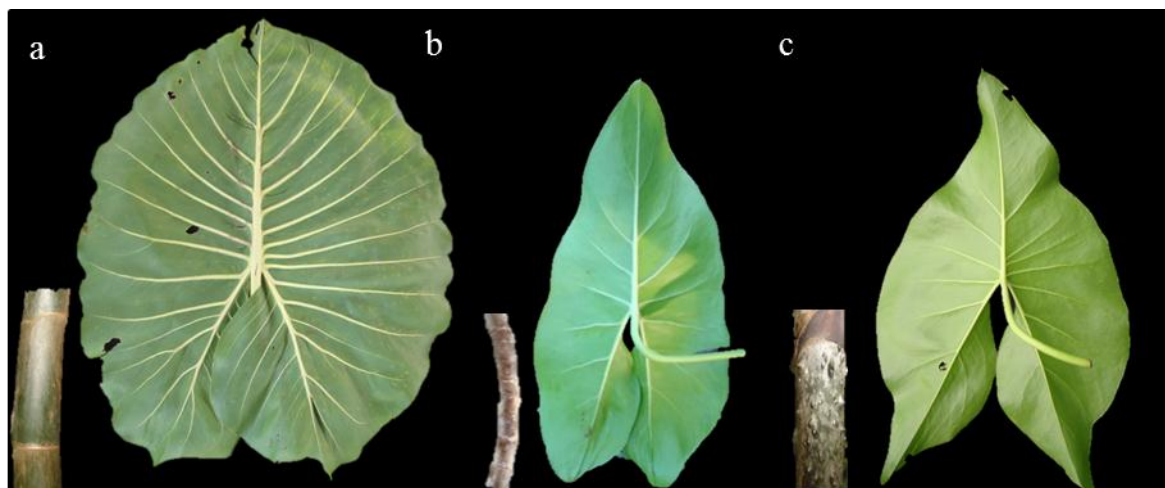


Fig. 2. Leaves and stem of the genus *Montrichardia* differentiated by the number of secondary apical veins and by the number of prickles in stem. ML = *Montrichardia linifera*, MA = *Montrichardia arborescens* e MAA= *Montrichardia arborescens* var. *aculeata*.

3. Sampling design

3.1. Morphological parameters, stem density and biomass estimation

To estimate the density of species in each site, local populations were sampled. Local populations were defined on the basis of the grouping of stems, where a plot of 2x2 m was established. Each selected population had a minimum distance of 500 m from another population (Fig. 1). Measurements of height, DAB (diameter at the base), number of leaves by stem and length of internodes by stem were made in each plot. The population density of every site was calculated by counting the stems within the plot. The leaf biomass was estimated by calibration curve made by a correlation between leaf number and leaf dry weight of 10 plants of the Anavilhanas population for MA and Juruá population of ML. The stem biomass was estimated by calibration curve made by a correlation between the DAB and the stem dry weight of 10 stems with the same population above described. The material was properly packaged and transported to the Project MAUA - INPA / Max-Planck (Manaus-

AM), where it was dried in oven (Heraeus & Memmert) with forced ventilation at 75 ° C until constant weight. The collected plants were deposited at the Herbarium of INPA.

For stomata counting, the modeling technique with quick drying glue was used in the middle third of the abaxial and adaxial side of the leaves. Stomata density was determined by counting the stomata located in an area of 0.864 mm² with an optical microscope with 20x of magnification. For each species at each site, mature leaves of ten plants were collected for measurement of specific leaf area (SLA). An area of 1.4 cm x 1.0 cm was cut from each sheet and packed in field into paper bag with silica gel. In the laboratory sheets were dried in oven with forced ventilation (Heraeus e Memmert) at 75°C until constant weight, and subsequently weighted. SLA was calculated as follows; $SLA = \text{leaf area/dry mass (cm}^2 \cdot \text{g}^{-1}\text{)}$.

3.2. *Physiological parameters*

In each local population, ten individuals were sampled for physiological measurements. We determined the quantum efficiency of PSII and the concentration of chloroplastid pigments. Data were collected between 9:00 am and 11:00 am in fully expanded leaves which seemed visually healthy. The ‘current photochemical capacity’ of PSII (Bolhár-Nordenkamp & Öquist, 1993) or ‘intrinsic efficiency’ (Maxwell and Johnson, 2000) was assessed with a Mini-PAM (Walz, Effeltrich, Germany). The maximal photochemical yield ($Y=F_v/F_m$) was measured in dark-adapted leaves (10 minutes), when a saturation pulse induces maximal fluorescence yield (F_m) and maximal variable fluorescence (F_v), which are considered as reliable measures of the potential quantum yield of Photosystem II. In dark-adapted leaves (all reaction centers of the electron transport chain oxidized) F_v/F_m is a parameter for measuring the maximum relative electron transport rate of PSII (Krause & Weis, 1991). Healthy leaves usually show F_v/F_m values between 0.66 and 0.80, lower values indicating intracellular or physiological changes (calculated according to Bolhár-Nordenkamp & Götzl, 1992, for several common floodplain species in Waldhoff et al., 2000). The concentration of chloroplastid pigments, chlorophyll a (Chl a), chlorophyll b (Chl b) and total chlorophyll were established with a portable meter (ClorofiLOG 1030, CFL). The ClorofiLOG analyzes three bands of light and allows obtaining indexes of dimensionless chlorophyll content, which should be related to the actual concentration of chlorophyll extracted from the leaves. To verify these relationship 22 leaf discs of 9 mm diameter of each species were collected. The discs were placed in graduated centrifuge tubes containing 10 ml

of extraction solution (80% acetone) and kept for 72 h. The pigment extract was subjected to absorbance in a spectrophotometer (Uvikon 930) at the wavelengths of 663 nm (maximum absorption peak of chlorophyll) and 645 nm (maximum absorption peak of chlorophyll b). The concentrations of Chl a and Chl b were calculated on the basis of the area ($\mu\text{mol}\cdot\text{mm}^{-2}$) using equations described by Hendry & Price (1993).

Statistical analyses

Analysis of variance (ANOVA) with two factors was used to evaluate the effect of water type and taxa on stem density, height, DAB and length of internodes, number of leaves, specific leaf area and biomass fractions. The data of density, DAB and length of internodes was normalized by Log to attend the requirements of the test. Simple correlation was used to assess the effect of continuous environmental variables (above described) between density of species and other morphological parameters. The simple correlations were made with all data and by taxa. Direct ordination of taxa to environmental gradients was also made in Comudata 1.6 Software (Dias, 2009). Principal component analysis (PCA) was used to obtain an overview of the soil data and to identify possible relations with species distributions. The distributions of taxa density in the regions of the Brazilian Amazonia were analyzes visually in the longitudinal gradient, Eastern Amazonia - EA, Central Amazonia - CA, Western Amazonia – WA). The statistical analyzes were made on Systat 12 software and density maps made in Arc GIS 9.3.

Results

Density, morphology and biomass

The stem density varied greatly among the sampling points (3-26 stems m^{-2}), with the type of water and between taxa ($F_{6, 48} = 2.63$; $p = 0.03$). The density (Log) of the taxa was significant negative correlation only to water pH ($r = -0.48$; $p = 0.04$) but a clear pattern of taxa densities distribution related to the water pH could be found (Fig. 3a). The same pattern was observed to electric conductivity gradient (Fig. 3b). The secchi depth and inundation of plot gradient did not show a clear pattern related to the taxa distribution (Fig. 3 c and d).

The height of the individuals varied between taxa and water type ($F_{6, 47} = 3.06$, $p = 0.013$, Tab. 2). There was a negative correlation between height and water transparency

($r=-0.5$; $p=0.02$, Fig. 4). Average DAB (Log) varied with water type and taxa ($F_{6, 47}= 19.88$, $p< 0.001$). ML and MAA showed greater values in white water than in clear water; and MA showed an opposite pattern (Tab. 2). No water characteristic has significant correlation with DAB. The number of leaves varied between taxa and water type ($F_{6, 44}= 4.06$, $p< 0.033$; Tab. 2). Only MA showed a positive correlation with water conductivity ($r=0.50$, $p=0.03$). The average length of the internodes (Log) varied between taxa and water type and was higher in MA and MAA than in ML ($F_{6, 33}= 2.80$, $p=0.023$; Tab. 2). In addition, specific leaf area (Log) of taxa was higher in MAA than in ML ($p = 0.023$, Tab. 2).

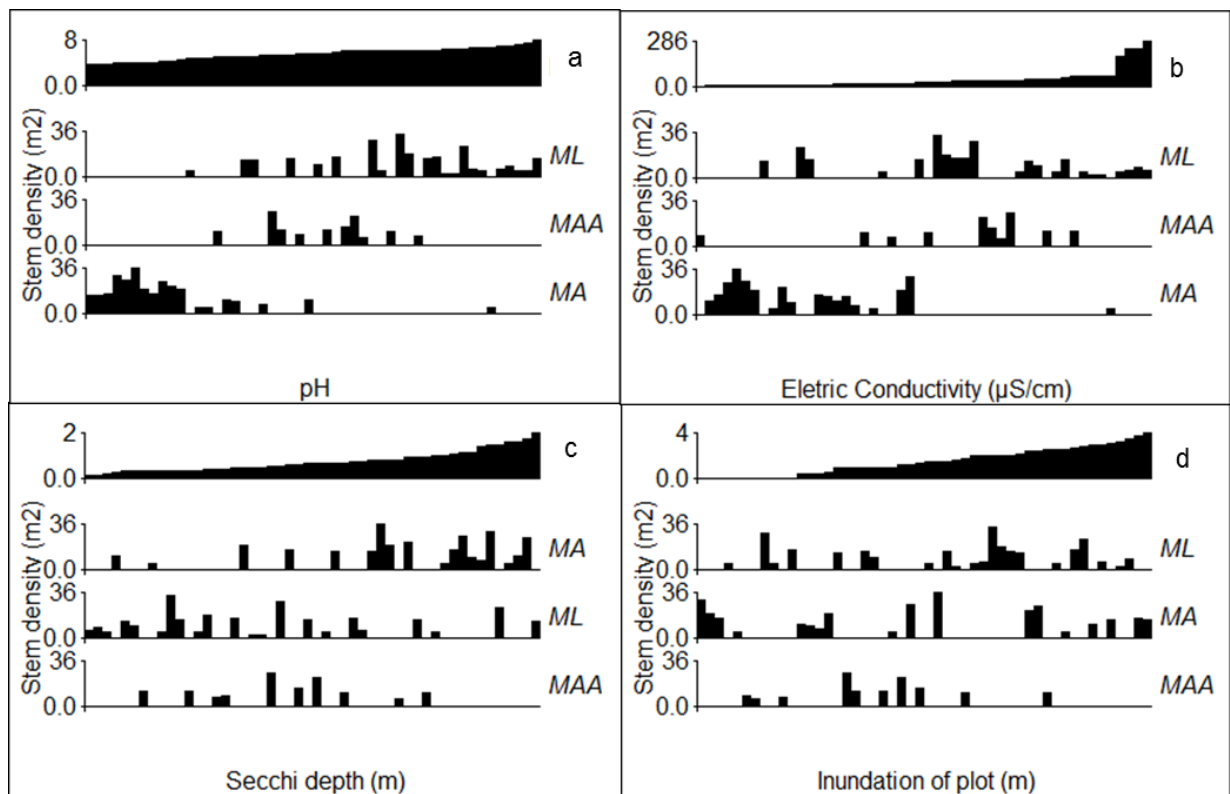


Fig. 3 Distribution of taxa densities in gradients: a) pH, b) electrical conductivity, c) water transparency (Secchi depth), d) inundation of plot. ML = *Montrichardia linifera*, MA = *Montrichardia arborescens* and MAA= *Montrichardia arborescens* var. *aculeata*.

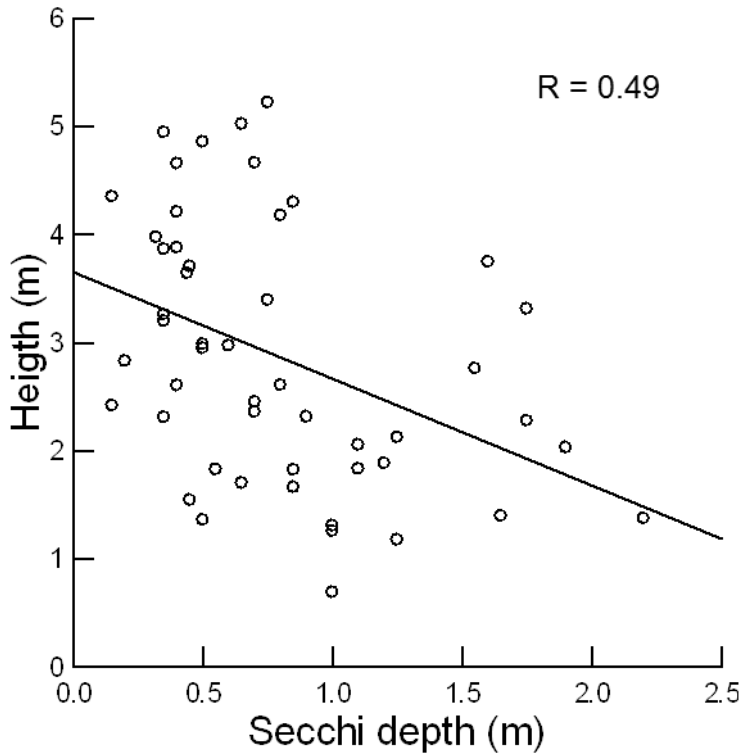


Fig. 4. Correlation between plant height (all taxa) and Secchi depth (water transparency).

The biomass equations were established based on the number of leaves and DAB. For ML: Leaves biomass = $15.097 * N^{\circ}$ of leaves - 24.364 ($R^2 = 0.90$); Biomass of Stem = $399.29 * DAB - 485.91$ ($R^2 = 0.82$). For MA and MAA: Leaves biomass = $2.0816 * N^{\circ}$ of leaves - 2.8489 ($R^2 = 0.84$); Biomass of Stem = $197.81 * DAB - 479.61$ ($R^2 = 0.89$). The leaves biomass (Log) showed significant difference between taxa and water type ($F_{6, 44} = 32.14$, $p < 0.0001$), with the biomass of ML being greater than that of MA and MAA (Tab. 2). Furthermore, leaf biomass was higher in white water than in the clear and black water ($p = 0.003$), showing a positive correlation between leaves biomass and pH ($r = 0.62$, $p = 0.002$, Fig. 5a), and electric conductivity ($r = 0.5$, $p = 0.035$).

The biomass of the stems (Log) varied between taxa and types of water ($F_{6, 47} = 29.91$; $p < 0.001$, Tab. 2). The stem biomass values for black water were lower than that of white and clear water (Tab. 2). Among the water bodies with white water ML presented higher biomass of stem, and the same pattern was found for clear water (Tab. 2). The average stem biomass values were correlated with the water pH ($r = 0.54$, $p = 0.01$, Fig 5b). The total biomass followed the same pattern of stem biomass ($F_{6, 47} = 40.06$; $p < 0.0001$; Tab. 2).

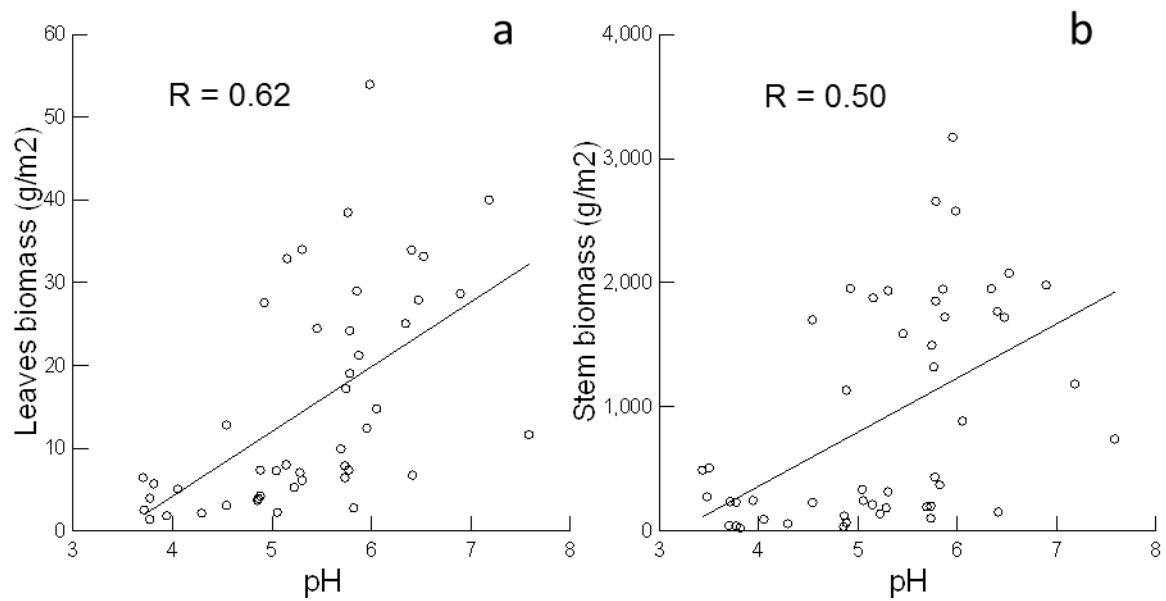


Fig. 5. Correlation between biomass of *Montrichardia* spp: a) leaves biomass and pH and b) stem biomass and pH.

Table 2 - Morphological traits and biomass values of ML = *Montrichardia linifera*, MA = *Montrichardia arborescens* and MAA= *Montrichardia arborescens* var. *aculeata*. Different letters indicate significant differences ($p < 0.05$) among factors.

	MA			MAA		ML	
	White	Clear	Black	White	Clear	White	Clear
Density(ind./m ²)	12.63 a	5.00 a	9.89 a	12.75 a	8.25 a	6.42 a	10.21 a
Height (m)	1.78 a	2.05 ab	2.95 ab	2.11 ab	2.44 ab	3.69 b	2.78 ab
DAB (cm)	3.63 a	4.54 ac	4.51 a	4.60 a	4.74 a	11.08 b	9.28 bc
N° of leaves	5.34 a	5.30 a	5.78 a	5.77 ab	8.90 b	6.20 a	4.13 a
Length of internodes (cm)	17.21 ab	16.23 ab	20.11 b	19.56 ab	15.64 ab	10.66 a	13.97 ab
N° of veins	2.94 a	3.30 a	3.05 a	3.27 a	3.68 a	7.71 b	7.11 b
Leaf biomass (g/m ²)	4.25 a	4.09 a	4.77 a	4.63 a	7.84 ab	32.73 b	19.40 b
Stem biomass (g/m ²)	119.10 a	209.03 a	206.67 a	215.44 a	228.78 a	1969.64 b	1609.70 b
Total biomass (g/m ²)	123.34 a	213.12 a	153.01 a	220.07 a	236.62 a	2002.37 b	1629.10 b
Specific leaf area (cm ² /g ¹)	162.06 ab	178.45 ab	232.81 ab	264.49 a	290.62 a	127.21 b	135.09 b
N° abaxial stomata	11.13 a	19.51 a	13.78 a	23.67 a	19.73 a	18.70 a	22.58 a
N° adaxial stomata	1.40 a	6.67 ab	2.62 a	4.47 ab	1.33 a	9.93 ab	16.71 b

Classical discriminant analysis considering the morphological data DAB + height + length of internodes ($p < 0.001$) was able to separate the species with 76% of total accuracy, MAA appearing as a subset of MA, confirming the separation performed in the field by the number of veins. The ML species showed 89% accuracy in the classification based on these 3

parameters with no overlapping with MAA or MA, while MA and MAA showed 69% and 64% accuracy respectively, as these two species were overlapping (Tab. 3).

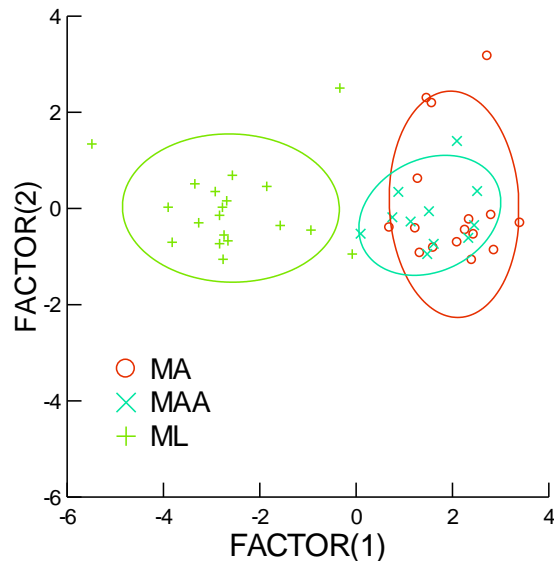


Fig. 6. Discriminant analysis of morphological characters of ML = *Montrichardia linifera*, MA = *Montrichardia arborescens* e MAA= *Montrichardia arborescens* var. *aculeata*.

Table 3 - Percentage of success of the discriminatory analysis of ML = *Montrichardia linifera*, MA = *Montrichardia arborescens* and MAA= *Montrichardia arborescens* var. *aculeata*.

	MA	MAA	ML	% success
MA (21)	11	5	0	69
MAA (9)	4	7	0	64
ML (19)	0	2	17	89
Total	15	14	17	76

The number of stomata was higher on the adaxial side than on the abaxial side of leaves, varying significantly between species only in the adaxial side of the leaf, where ML showed a greater average (12.9) than MA and MAA (3.3 and 3.5 respectively; Tab. 2). The number of stomata was not associated with any of the measured environmental variables.

Physiology

The correlations between the Chlorofilog index and chlorophyll concentration ($\mu\text{mol}\cdot\text{mm}^{-2}$) in the leaves of MA and ML were significant, being described by the following equation:

1. MA: Total Chlorophyll = $1.6429 \cdot \text{clorofilog index} + 17$, $R^2 = 0.935$, $p < 0.0001$; Chlorophyll a = $0.81 \cdot \text{clorofilog index} - 11.655$, $R^2 = 0.847$, $p < 0.0001$; Chlorophyll b = $0.2491 \cdot \text{clorofilog index} + 1.38$, $R^2 = 0.951$, $p < 0.0001$.
2. ML: Total Chlorophyll = $0.1571 \cdot \text{clorofilog index} - 1,394$, $R^2 = 0.857$, $p < 0.0001$; Chlorophyll a = $0.1963 \cdot \text{clorofilog index} - 1.8894$, $R^2 = 0.759$, $p < 0.0001$; Chlorophyll b = $0.0747 \cdot \text{clorofilog index} + 0.3297$, $R^2 = 0.856$, $p < 0.0001$.

The chlorophyll a ($F = 6.27$; $p > 0.0001$), b ($F = 7.36$; $p = 0.002$) and total ($F = 9.73$; $p < 0.0001$) were different between the species, MA and MAA showed height values than ML ($p < 0.005$, Fig. 7). The same pattern was found for the ratio of chlorophyll a/b between species ($F = 5.63$; $p > 0.0001$).

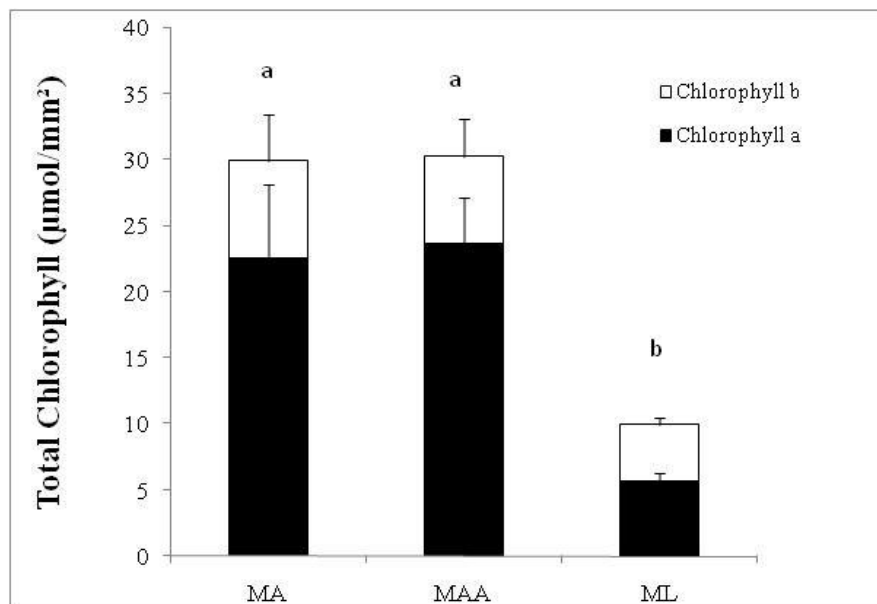


Fig.7. Chlorophyll a and b content in ML = *Montrichardia linifera*, MA = *Montrichardia arborescens* and MAA= *Montrichardia arborescens* var. *aculeata*.

The values of chlorophyll fluorescence yield F_v/F_m did not differ between taxa, being within the range of 0.6 e 0.9 ($F = 2.54$, $p = 0.09$). However, the values of F_v/F_m varied with the maximum plot inundation ($F = 6.66$, $r^2 = 0.41$; $p = 0.014$), with lower values in areas with higher depth of flooding (Fig. 8).

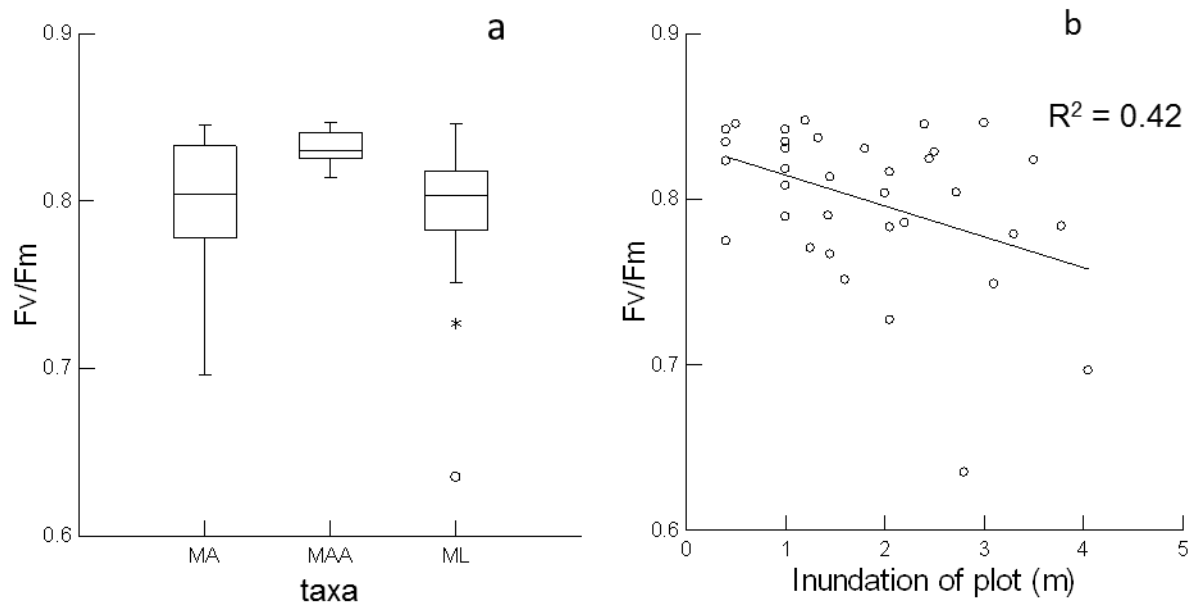


Fig. 8 Fv/Fm of ML = *Montrichardia linifera*, MA = *Montrichardia arborescens* and MAA = *Montrichardia arborescens* var. *aculeata* and the relation with the flood level.

Phenotypic plasticity in Amazon region

The stem density of *Montrichardia arborescens* decreased from WA to AE in the longitudinal gradient (Fig. 9a). *Montrichardia linifera* and *Montrichardia arborescens* var. *aculeata* did not show a clear pattern (Fig. 9b and c).

The axis 1 of PCA captured 41% of the variation and the axis 2 captured 20% of variation of soil data (large sand, fine sand, silt, clay, pH, Al, Mg, Na, Ca and P). The PCA axis 1 was correlated with the proportion of large sand, fine sand, silt, clay, Mg, Na and Ca and the PCA axis 2 was correlated with the proportion of clay and Al. Only the Tabatinga ML was grouped by PCA axis 2 been influenced by pH and P (Fig. 10). The PCA axis 1 grouped all *M. arborescens* plots with *M. linifera* occupying all gradient and *M. arborescens* var. *aculeata* forming two groups, one of Boa Vista (Roraima State) sites overlapping MA plots and another overlapping ML plots (Fig. 10).

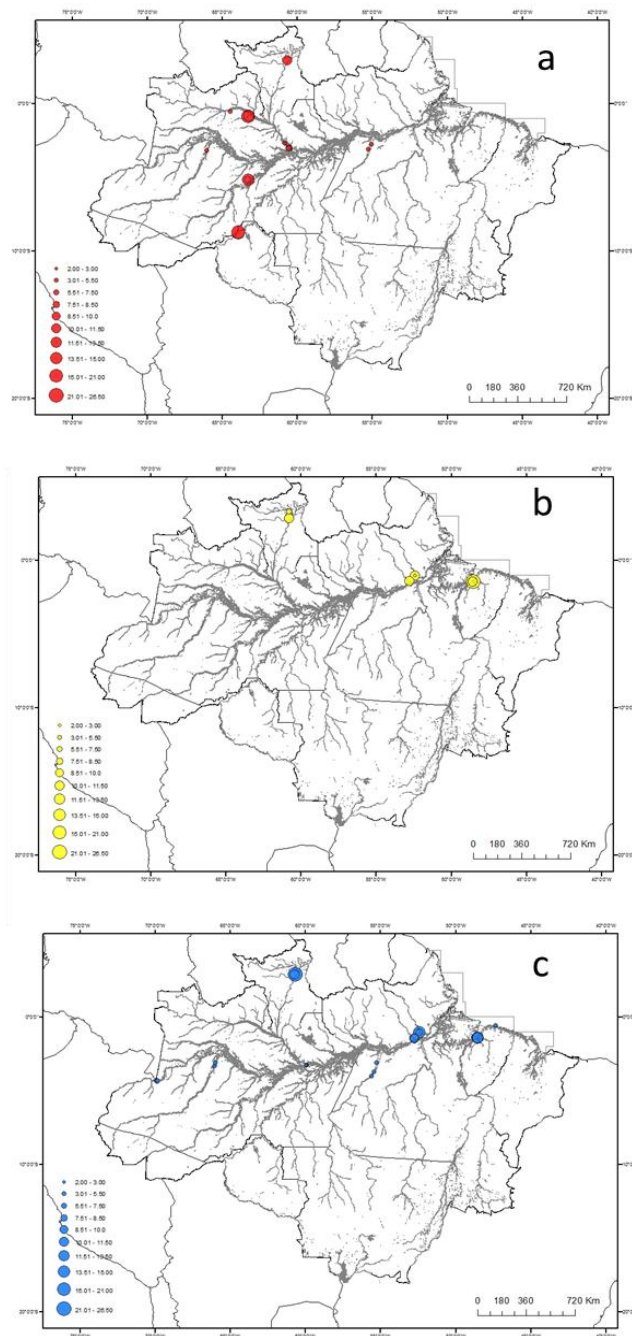


Fig. 9 Distribution of stems density per m^2 ; a) *Montrichardia arborescens* b) *Montrichardia arborescens* var. *aculeata* c) *Montrichardia linifera* in the Amazon Basin. The size of circle indicates the density of the taxa.

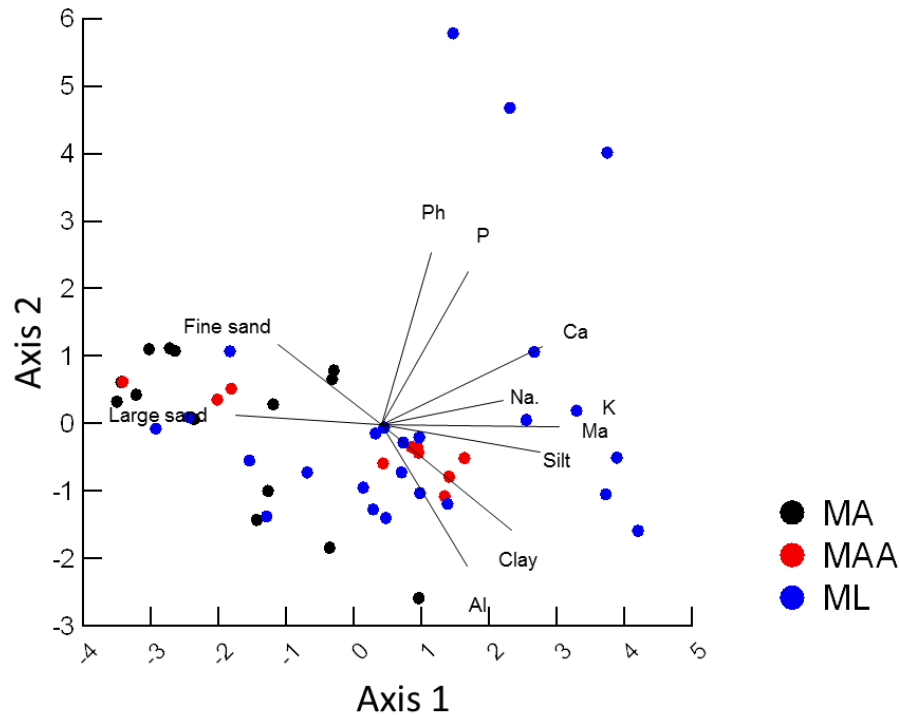


Fig. 10 Ordination in two axes yielded by principal components analysis (PCA) of soil properties in Amazon Basin. The color of the cycles represents the taxa present in the plot. ML= *Montrichardia linifera*, MA = *Montrichardia arborescens* and MAA= *Montrichardia arborescens* var. *aculeata*. Soil properties are given as vectors.

Discussion

The morphological and physiological data collected in various parts of the Amazon Basin showed that there is an influence of the environment on the individual's phenotype and a clear evidence of separation into two species of the genus *Montrichardia*.

The distribution of taxa seems to be determined by the nutritional characteristics of the environment. *Montrichardia linifera* is restricted to environments with high nutrient availability typical of white waters. MA occurs throughout the Amazon Basin, although the highest densities were found in the Western Amazon, while in the Eastern Amazon ML had higher densities. Pantoja (2011) compared the density of *Montrichardia* populations in Central Amazonia (next to the Negro River and Solimões River) and found higher density/m² of MA than ML. This difference in density between species depending on the location cannot be explained by a single environmental factor, since it is probably a combination of flooding tolerance (Squires & Valk, 1992), amount of available nutrients (Junk & Piedade, 1997) and intraspecific competition (Demirezen et al., 2007).

The growth in height and diameter plays an important role at the population level, since the size of the individual may influence the onset of the reproductive period (Lacey, 1986), also influencing the competitive ability for nutrients and space between the plants (Hutchings & Budd, 1981). The height of the taxa was negatively correlated with water transparency. Taller plants were found in less transparent water, a strategy of height increment probably related to the possibility to maintain some level of light uptake during the period of flooding. The occurrence of plants in environments subjected to flooding is related to the development of complex morphological and physiological adaptations selected throughout evolution (Crawford & Braendle, 1996) allowing these taxa to adapt and tolerate such conditions (Harborne, 1989). Moreover DAB appears to be related to the taxa and nutritional characteristics of the environment. Sites of the relatively nutritionally rich white waters showed higher values for DAB of ML, while MA showed higher values in the nutritionally poor black water. However, the height of plot inundation appears not to influence the DAB of *Montrichardia*, since DABs of the taxa did not change when analyzed in association to this factor, an opposite result in comparison to what was found for *Ischnosiphon polyphyllus* in the Rio Negro where smaller DABs were found in areas with higher floods (Nakazono & Piedade, 2004). In addition, *M. arborescens* showed higher DAB in environments with higher levels of flooding which may be related to the capacity of the taxa to endure the pressure of the water current and sediments (Junk & Piedade, 1997).

The high values of ML biomass found in the present study can be considered as high when compared to other aquatic macrophytes of Amazonian floodplains such as *Paspalum repens* (Ell.) Kunth. (2210 g/m²), *Oryza perennis* L. (1720 g/m²) and *Hymenachne amplexicaulis* (2270 g/m²) (Piedade et al. 1991, Junk & Howard-Williams 1984).

The concentration of chlorophyll in the leaves of *M. arborescens* was higher than that in *M. linifera*. The chlorophyll concentration may decrease due to nutritional deficiencies (Lichtenthaler et al., 2007), and higher levels of light incidence in leaves (Villadares & Niinemets, 2008). Since *M. linifera* occurs mainly in várzea floodplains with relatively high concentrations of nutrients such as nitrogen and magnesium (Furch & Junk, 1997), we may conclude that the lowest concentration of chlorophyll in this species may be related to differences in light intensity reaching the leaves, similar to the other species exposed to same condition (Lee et al., 2000). In this case the concentration of chlorophyll should relate to the habitat, since *M. linifera* inhabits open areas that receive high light intensity, while *M. arborescens* is an understory plant being shaded by trees (Lins, 1994).

The stomata usually are more abundant in the abaxial side of the leaf (Driscoll et al., 2006), but not in *Montrichardia* spp. Densities and size of stomata are a variable characteristic among the plants and depend on the environment (Castro et al., 2005, Melo et al., 2007). *M. linifera* showed higher density of stomata compared to *M. arborescens* and its variety *aculeata*. Reducing the amount of stomata in areas with higher flooding could be related to the lower water absorption (Kozłowski, 1984), but may also lead to plant water stress (Jackson & Colmer, 2005; Melo et al., 2007; Parent et al., 2008). Almost all measured leaves presented values of Fv/Fm between 0.635 and 0.847, which are within the range of values indicated for healthy aquatic macrophytes (Koch et al., 2007). However, lower values were found in plants subjected to greater flood levels, indicating that to prolonged flooding may promote damage in the photosynthetic apparatus even in well adapted species like these of *Montrichardia* spp.

The density of *Montrichardia* in Amazonia ranged from 3 to 26 stems/m². While *M. linifera* occupy an ample part of the gradient without any clear pattern related to differences in soil fertility *M. arborescens* showed a similar density distribution as tree taxa in the West-East gradient of soil fertility proposed to the Amazon region (Quesada et al., 2010).

Elevated values were found in the western Amazon where the soil fertility is higher (Ter Steege et al., 2003). However the other two taxa did not show a clear pattern. Therefore we suggest that similarly to the várzea forests (see Wittmann et al., 2006), the correlations between environmental variables, density and diversity patterns of aquatic macrophytes in Amazonian wetlands are difficult to explain because the amount of precipitation in most parts of the Amazon Basin is not directly related with the height and duration of the local annual inundations (Junk et al., 1989).

Conclusions

The morphological (height, DAB and length of internodes) and physiological (leaf chlorophyll concentration) data allowed a clear separation taxonomic and ecological of *Montrichardia linifera* and *Montrichardia arborescens*.

While *M. linifera* occupied an ample part of the gradient without any clear pattern related to differences in soil fertility, *M. arborescens* proved to be influenced in terms of stem density by this gradient, in a similar pattern as described for trees in the Amazon Basin.

The delimitation of our study taxa can well play a role in the context of discussions about the high species diversity of wetlands. If one species turns out to be two species or more, as we could demonstrate in our study for *Montrichardia* in Amazonian floodplains, the calculations of species numbers, diversity indices, and related plans for management and conservation must be corrected and generally regarded in a more critical way.

Acknowledgements

This work is supported by INCT ADAPTA - Brazilian Ministry of Science, Technology and Innovation (CNPq/FAPEAM), the Universal CNPq (14/2009; 14/2011), Pronex (CNPq/FAPEAM) and PELD MAUA (CNPq/FAPEAM). For Naara Ferreira da Silva (INPA), Raissa Lagreca (UFRO), Pauline Pantoja (INPA), Conceição Lucia Costa, Celso R. Costa and Valdeney de A. Azevedo we thank the assistance in the collection of data. The authors thank the Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) for Aline Lopes Doctor's Grant; MAUA Research Group, Laboratório de Ecofisiologia e Evolução (LEEM) for logistical and technical support.

References

- Barendregt, A. & A. M. F., Bio, 2003. Relevant variables to predict macrophytes communities in running waters. *Ecological Modelling*, 160: 205-217.
- Bolhár-Nordenkamp, H. R. & G. Öquist, 1993. Chlorophyll fluorescence as a tool in photosynthesis research. In: Hall, D.O., J. M. O. Scurlock, H. R. Bolhár-Nordenkamp, R.C. Leegood, R.C. & S. P. Long, (eds.), *Photosynthesis and Production in a Changing Environment*. Chapman and Hall: 93–206.
- Bolhár-Nordenkamp, H. R. & M. Götzl, 1992. Chlorophyllfluoreszenz als Indikator der mit Seehöhe zunehmenden Streßbelastung von Fichtennadeln, FBVA Berichte. Schriftenreihe d. Forstl. Bundesverant. 67, 119–131.

Castro, E. M., J. E. B. P. Pinto, H.C. Melo, A. M. Soares, A. A. Alvarenga, & E. C. Lima Júnior, 2005. Aspectos anatômicos e fisiológicos de plantas de guaco submetidas a diferentes fotoperíodos. *Horticultura Brasileira* 23: 846-850.

Crawford, R. M. M., & R. Braendle, 1996. Oxygen deprivation stress in a changing environment. *Journal of Experimental Botany*, 47(2), 145-159.

De Oliveira, A.A. & D. Daly, 1999. Geographic distribution of tree species in the region of Manaus, Brazil: implications for regional diversity and conservation. *Biodiversity and Conservation*, 8, 1245–1259.

De Simone, O., E. Müller, W. J. Junk, & W. Schmidt, 2002. Adaptations of Central Amazon tree species to prolonged flooding: Root morphology and leaf longevity. *Functional Plant Biology*, 29: 1025-1035.

Demirezen, D., A. Aksoy, & K. Uruc-, 2007. Effect of population density on growth, biomass and nickel accumulation capacity of *Lemna gibba* (Lemnaceae). *Chemosphere* 66, 553–557

Dias-Filho, M.B. 2005. Opções forrageiras para áreas sujeitas a inundação ou alagamento temporário. In: Pedreira, C.G.S., J. C. de Moura, S.C. da Silva & V. P. de Faria (eds.). 22º Simpósio sobre manejo de pastagem. Teoria e prática da produção animal em pastagens. Piracicaba: FEALQ, p.71-93.

Driscoll, S. P., A. Prins, E. Olmos, K. J. Kunert & C. H. Foyer, 2006. Specification of adaxial and abaxial stomata, epidermal structure and photosynthesis to CO₂ enrichment in maize leaves. *Journal of Experimental Botany*, 57(2), 381-390.

Gentry, A. H., 1988. Changes in plant community diversity and floristic composition on environmental and geographical gradients. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 75: 1–34.

Harborne, J. B., 1989. *Methods in plant biochemistry*. Volume 1. Plant phenolics. Academic Press Ltd..

Hendry, G.A.F. & A.H. Price, 1993. Stress indications: chlorophylls and carotenoids. p. 148-152. In: Hendry, G.A.F. & J.P. Prime, (eds). *Methods in comparative plant ecology*. A laboratory manual, Chapman & Hall, London.

- Henry-Silva, G. G. & A. F. M. Camargo, 2005. Interações ecológicas entre as macrófitas aquáticas flutuantes *Eichhornia crassipes* e *Pistia stratiotes*. *Hoehnea*, 32(3), 445-452.
- Hutchings, M. J., & C. S. Budd, C. S. 1981. Plant competition and its course through time. *Bioscience*, 31(9), 640-645.
- Jackson, M. B., & T. D. Colmer, 2005. Response and adaptation by plants to flooding stress. *Annals of Botany*, 96(4), 501-505.
- Junk, W. J & C. Howard-Williams, 1984. Ecology of aquatic macrophytes in Amazonia. In *The Amazon- Limnology and landscape ecology of a mighty tropical river and its basin*. Monographie biologicae (H. Sioli, ed). Dordrecht, p 270-293
- Junk, W. J. & M. T. F. Piedade, 1997. Plant life in the floodplain with special reference to herbaceous plants. In: Junk, W. J., (ed.) *The Central Amazon floodplain: Ecological Studies* Berlin: Springer, 126:147-185.
- Junk, W.J., 1989. Flood tolerance and tree distribution in central Amazonian floodplains. In: Holm-Nielsen L.B., I.C. Nielsen & H. Balslev (eds) *Tropical Forests: botanical dynamics, speciation and diversity*. Academic Press, London, 47-64.
- Junk, W.J., P. B. Bayley & R. E. Sparks, 1989. The flood pulse concept in river-floodplain systems. In: DOGE, D.P.(ed.). *Proc. Int. Large River Symp (LARS) – Can. Spec. Publ. Fish. Aquat. Sci.*, 106:110-127.
- Koch M. S., S. A. Schopmeyer, C. Kyhn-Hansen, C. J. Madden & J. S. Peters, 2007. Tropical seagrass species tolerance to hypersalinity stress *Aquatic Botany* 86:14–24.
- Kozlowski, T. T., 1984. Plant responses to flooding of soil. *BioScience* 34: 162–166.
- Lacey, E. 1986. Onset of reproduction in plants: Size-versus age-dependency. *Trends in Ecology and Evolution*, 1:72-75.
- Krause, G.H., Weis, E., 1991. Chlorophyll fluorescence and photosynthesis: The Basics. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 42, 313–349.
- Lacey, E. 1986. Onset of reproduction in plants: Size-versus age-dependency. *Trends in Ecology and Evolution*, 1:72-75.

- Lacoul, P., & B. Freedman, 2006. Environmental influences on aquatic plants in freshwater ecosystems. *Environmental Reviews*, 14(2), 89-136.
- Lee, D.W., F.Oberbauer, P.Johnson, K. Baskaran, M. Mansor, H. Mohamad & S. K. Yap, 2000. Effects of irradiance and spectral quality on leaf structure and function in seedlings of two southeast asian *Hopea* (Dipterocarpaceae) species. *American Journal of Botany*, 87 (4), 447-455.
- Leigh, E.G., 1999. Tropical forest ecology: a view from the Barro Colorado Island. Oxford University Press, Oxford.
- Lichtenthaler, H. K., 2007. Biosynthesis, accumulation and emission of carotenoids, α -tocopherol, plastoquinone, and isoprene in leaves under high photosynthetic irradiance. *Photosynthesis research*, 92(2), 163-179.
- Lins, A.L. 1994. Aspectos morfológicos e anatômicos de raízes do gênero *Montrichardia* Crueg (Araceae). M.Sc. dissertation, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 93 pp. Porto Alegre.
- Lytle, D. A. & N. L. Poff, 2004. Adaptation to natural flow regimes. *Trends in Ecology and evolution*, 16(2): 94-100.
- Madsen, T. V., P. Hahn & J. Johansen, 1998. Effect of inorganic carbon supply on the nitrogen requirement of two submerged macrophytes, *Elodea Canadensis* and *Callitriche cophocarpa*. *Aquatic Botany*, 62: 95-106.
- Maxwell, K., & Johnson, G. N. (2000). Chlorophyll fluorescence--a practical guide. *Journal of Experimental Botany*, 51(345), 659-68.
- Mayo, S. J., J. Bogner & P.C. Boyce, 1987. The Genera of Araceae. RBGKew Press, Londres.
- Melo, H. D., E. D. Castro, A. M. Soares, L. D. Melo & J. D. Alves, 2007. Alterações anatômicas e fisiológicas em *Setaria anceps* Stapf ex Massey e *Paspalum paniculatum* L. sob condições de déficit hídrico. *Hoehnea*, 34(2), 145-153.
- Mori S. A., 1991. The Guyana lowland Xoristic province. *Comp Rendu Séan Soc Biogéogr.* 67:67-75.

- Murphy, K. J., 2002. Plant communities and plant diversity in softwater lakes of northern Europe. *Aquatic Botany*, 73:287-324.
- Nakazono, E. M., & M. T. F. Piedade, 2004. Biologia e ecologia do arumã, *Ischnosiphon polyphyllus* (Marantaceae), no arquipélago de Anavilhanas, Rio Negro, Amazônia Central. *Revista Brasil. Bot.*, 27(3), 421-428.
- Neiff, J.J. & A. S. G. P. Neiff, 2003. Connectivity processes as a basis for the management of aquatic plants. In: *Ecologia e Manejo de Macrófitas Aquáticas*. Eds. Thomaz, S. & Bini, L.M. Nupélia - Maringá (SC). Eduem, Maringá, 39-58.
- Pantoja, P.O., 2011. Comparação ecofisiológica e de atributos de crescimento das herbáceas aquáticas *Montrichardia linifera* (Arruda.) Schott e *M. arborescens* (L.) Schott em tipologias alagáveis contrastantes na Amazônia Central. Master thesis., INPA, Manaus, 63 p.
- Parent, C., N. Capelli & J. Dat, 2008. Reactive oxygen species, stress and cell death in plants. *Comptes Rendus – Biologies* 331, 255–261.
- Parolin P., 2009. Submerged in darkness: adaptations to prolonged submergence by woody species of the Amazonian Floodplains. *Annals of Botany*. 103:359–376.
- Parolin P., C. Lucas, M. T. F. Piedade & F. Wittmann. 2010. Drought responses of flood-tolerant trees in Amazonian floodplains. *Annals of Botany*. 105:129–139.
- Parolin, P., O. De Simone, K. Haase, D. Waldhoff, R. S. Ottenberger, U. Kuhn, J. Kesselmeier, W. Schmidt, M. T. F. Piedade & W. J. Junk, 2004. Central Amazon floodplain forests: tree survival in a pulsing system.- *The Botanical Review* 70(3):357-380.
- Parolin, P., 2001. Morphological and physiological adjustments to water logging and drought in seedlings of Amazonian floodplain trees. *Oecologia*, 128: 326-335.
- Pezeshki, S. R., 2001. Wetland plant responses to soil flooding. *Environmental and Experimental Botany*, 46(3), 299-312.
- Piedade M. T. F., W. J. Junk, S. A. D'Ângelo, F. Wittmann, J. Schöngart, K. M. D. N. Barbosa, & A. Lopes, 2010. Aquatic herbaceous plants of the Amazon floodplains: state of the art and research needed. *Acta Limnologica Brasiliensia* 22(2):165-178.

- Piedade, M. T.F., W. J. Junk, & S. P. Long. 1991. The productivity of the C4 grass *Echinochloa polystachya* on the Amazon floodplain. *Ecology*, 72:1456–1463.
- Pimenta, J.A., E. Bianchini & M. F. Medri. 1998. Adaptations to flooding by tropical trees: morphological and anatomical modifications. In: F.R. Scarano & A.C. Franco (eds.). *Ecophysiological strategies of xerophytic and amphibious plants in the Neotropics. Série Oecologia Brasiliensis*, 4:154-176.
- Pitman, N.C.A., J. Terborgh, M. R. Silman, P. V. Nunêz, D.A. Neill, C. E. Ceron, W. A. Palacios & M. Aulestia, 2002. A comparison of tree species diversity in two upper Amazonian forests. *Ecology*, 83, 3210–3224.
- Prance, G.T., 1994. The use of phytogeographic data for conservation planning. *Systematics and conservation evaluation. Systematic Association Special, Vol. 50* (ed. by P.L. Forey, C.J. Humphries & R.I. Vane-Wright), pp. 145–163. Clarendon Press, Oxford
- Quesada, C. A. Lloyd, J. Schwarz, M. Patino, S. Baker, T.R. Czimczik, C.I. Fyllas, N.M. Martinelli, L. Nardoto, G.B. Schmerler, J. Santos, A.J.B. Hodnett, M.G. Herrera, R. Luizao, F.J. Arneith, A. Lloyd, G. Dezzeo, N. Hilke, I. Kuhlmann, I. Raessler, M. Brand, W.A. Geilmann, H. Moraes Filho, J.O. Carvalho, F.P. Araujo Filho, R.N. , *et al.* ; Variations in chemical and physical properties of Amazon forest soils in relation to their genesis. *Biogeosciences*, v. 7, p. 1515-1541, 2010.
- Riis, T., K. Sand-Jensen. & O. Vestergaard, 2000. Plant communities in lowland Danish streams: species composition and environmental factors. *Aquatic Botany*. 66: 255-172.
- Schöngart, J., M. T. F. Piedade, F. Wittmann, W. J. Junk, & M. Worbes, 2005. Wood growth patterns of *Macrolobium acaciifolium* (Benth.) Benth.(Fabaceae) in Amazonian black-water and white-water floodplain forests. *Oecologia*, 145(3), 454-461.
- Sculthorpe, C.D., 1967. *The Biology of Aquatic Vascular Plants*. Edward Arnold, London, p. 610.
- Silva, M. F. S., I. M. De Andrade, S. J. Mayo, 2012. Geometric morphometrics of leaf blade shape in *Montrichardia linifera* (Araceae) populations from the Rio Parnaíba Delta, north-east Brazil. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 170(4), 554-572.

- Sioli, H. 1954., Betrachtungen über den Begriff der “Fruchtbarkeit” eines Gebietes anhand der Verhältnisse in Böden und Gewässern Amazoniens. *Forsch. Fortscin. Berlin* 28(3):65–72.
- Squires, L. & A. V. D. Valk, 1992. Water-depth tolerances of the dominant emergent macrophytes of the Delta Marsh, Manitoba. *Canadian Journal of Botany*, 70(9), 1860-1867.
- Ter Steege, H., D. Sabatier, H. Castellanos, T. Van Andel, J. Duivenvoorden, A. A. de Oliveira, R. de Ek, R. Lilwah, P. Maas & S. Mori, 2000. An analysis of the floristic composition and diversity of Amazonian forests including those of the Guiana shield. *Journal of Tropical Ecology*, 16, 801–828.
- Ter Steege, H., N. C. Pitman, D. Sabatier, C. Baraloto, R. P. Salomão, J. E. Guevara & P. V. Fine, 2013. Hyperdominance in the Amazonian tree flora. *Science*, 342(6156), 1243092.
- Ter Steege, H., N. C. Pitman, O. L. Phillips, J. Chave, D. Sabatier, A. Duque, & R. Vásquez, 2006. Continental-scale patterns of canopy tree composition and function across Amazonia. *Nature*, 443(7110), 444-447.
- Ter Steege, H., N. Pitman, D. Sabatier, H. Castellanos, P. Van der Hout, D.C. Daly, M. Silveira, O. L. Phillips, R. Vasquez, T. Van Andel, J. Duivenvoorden, A. A. De Oliveira, R. Ek, R. Lilwah, R. Thomas, J. Van Essen, C. Baider, P. Maas, S. Mori, J. Terborgh, P. V. Nunez, H. Mogollo'n & W. Morawetz, 2003. A spatial model of tree a- diversity and b- density for the Amazon Region. *Biodiversity and Conservation*, 12, 2255–2277.
- Valladares, F. & U. L. Niinemets, 2008. Shade Tolerance, a Key Plant Feature of Complex Nature and Consequences. *Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.* 39: 237–57.
- Waldhoff, D., W. J. Junk & B. Furch, 2000. Comparative measurements of chlorophyll a parameters of *Nectandra ama zonom* under different environmental conditions in climate controlled chambers. *Verh. Internat. Verein. Limnol.* 27: 2052–2056.
- Whitmore, T. C., 1975. Tropical rain forests of the Far East. Clarendon, Oxford.
- Wittmann, F. & P. Parolin, 1999. Phenology of six tree species from Central Amazonian varzea. *Ecotropica* 5, 51–57
- Wittmann, F., J. Schöngart, J. C. Montero, T. Motzer, W. J. Junk, M. T. F. Piedade, & M. Worbes, 2006. Tree species composition and diversity gradients in white-water forests across the Amazon Basin. *Journal of Biogeography*, 33(8), 1334-1347.

Capítulo 3

Lopes *et al.*, (a ser submetido) Diversidade genética e estrutura filogeográfica de *Montrichardia* spp. (Araceae) na Bacia Amazônica, Acta Amazônica.

**Diversidade genética e estrutura filogeográfica de *Montrichardia*
spp. (Araceae) na Bacia Amazônica**

Aline Lopes¹, Maristerra R. Lemes², Rogério Gribel² & Maria Teresa Fernandez Piedade³

1 Pós-graduação em Ecologia. Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia/ Grupo MAUA “Ecologia, Monitoramento e Uso Sustentável de Áreas Úmidas Amazônicas”

2 Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Laboratório de Genética e Biologia Reprodutiva de Plantas (LabGen)

3 Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, CDAM/ Grupo MAUA “Ecologia, Monitoramento e Uso Sustentável de Áreas Úmidas Amazônicas”

Resumo

O gênero neotropical *Montrichardia* possui um complexo de três táxons cuja interpretação sistemática é feita com base em caracteres morfológicos. Buscando delimitar taxonomicamente as espécies, procedeu-se à caracterização dos padrões de distribuição da variabilidade genética em populações de *Montrichardia* spp. na Bacia Amazônica brasileira, com base na análise de nove locos microssatélites do genoma do cloroplasto, por meio de uma abordagem filogeográfica. Amostraram-se 288 indivíduos de 18 populações de *Montrichardia* spp. (*M. arborescens* (MA) = 7, *M. linifera* (ML) = 7 e *M. arborescens* var. *aculeata* (MAA) = 4). Foram observados entre 3 a 15 alelos por loco cpSSR e 36 haplótipos. O índice médio de diversidade genética (H_E) foi alto: MA= 0,68, MAA= 0,56 e ML= 0,62. A distribuição da variabilidade genética dentro e entre as populações (AMOVA) mostrou que 55,4% da variação genética encontram-se entre as populações (7,5% se deve à variação entre as espécies) e 37,1% dentro das populações, evidenciando alta estruturação genética entre as

populações ($R_{ST} = 0.63$) e baixa diferenciação entre os táxons. A análise de relacionamento dos haplótipos indicou a existência de eventos múltiplos de colonização por diferentes linhagens maternas na maioria das populações de *Montrichardia* estudadas. Os resultados também indicam a existência de fluxo gênico histórico entre as duas espécies (*M. arborescens* e *M. linifera*) e a variedade *M. arborescens* var. *aculeata*, sugerindo a ocorrência de introgressão. Sugerimos investigações futuras que incluam marcadores do genoma nuclear, para melhor compreender a influência da introgressão nos diferentes padrões morfológicos de *Montrichardia* observados na natureza.

Palavras chave: Macrófitas aquáticas, estrutura genética, diversidade haplotípica, SSR, genoma do cloroplasto.

Genetic diversity and phylogeographic structure of *Montrichardia* spp. (Araceae) populations in the Amazon Basin

Abstract The Neotropical genus *Montrichardia* has a complex of three taxa whose systematic interpretation varies according to the morphological characters considered. To delimit the species taxonomy the characterization of the distribution patterns of genetic variability was performed in populations of *Montrichardia* spp. in the Brazilian Amazon Basin with phylogeographic approach. We sampled 288 individuals from 18 populations of *M. arborescens* (MA; 7), *M. linifera* (ML; 7) and *M. arborescens* var. *aculeata* (MAA; 4). three to 15 alleles per locus cpSSR were observed. The average of genetic diversity index (H_E) was high: MA= 0.68, MAA= 0.56 and ML= 0.62. The distribution of genetic variation within and between populations (AMOVA) showed that 55,4 % of genetic variation is contained among populations (approximately 7,5 % due to the variation between species) and 37,1 % within populations, indicating high genetic structure among populations ($R_{ST} = 0.63$). The analysis of haplotypes relationship indicated the existence of multiple events of

colonization by different maternal lineages in most populations of *Montrichardia* studied. The results also indicate the existence of gene flow between the two species (*M. arborescens* and *M. linifera*) and the variety *M. arborescens* var. *aculeata*, suggesting the occurrence of introgression. We suggest that future research include the nuclear genome markers to better understand the influence of introgression in different morphological patterns of *Montrichardia* observed in nature.

Key-words: Aquatic macrophytes, genetic diversity, haplotype diversity, SSR, chloroplast genome

Introdução

A distribuição geográfica de plantas é frequentemente limitada por fatores climáticos, pela competição entre as espécies e por barreiras geográficas que impedem migrações (Sculthorpe 1967; Woodward & Williams 1987; Woodward 1988; Santamaría 2002). As barreiras geográficas impedem tanto o fluxo gênico pela impossibilidade de troca de gametas, quanto os eventos de dispersão das plantas, e com isso impossibilitam a interação entre populações e a colonização de novas áreas (Martins 1987). No caso das plantas aquáticas, uma distribuição compatível com as grandes barreiras terrestres que separam os corpos de água seria esperada. Entretanto somente cerca de 39% dos gêneros que contêm macrófitas aquáticas são endêmicos de alguma região biogeográfica (Chambers *et al.* 2008). Em nível mundial esse padrão de distribuição se deve à facilitação da dispersão propiciada pelas navegações há mais de cinco séculos (Cook, 1985); em níveis regionais e locais, outros fatores como a conectividade hídrica, ao menos sazonal, podem ser de grande relevância (Junk & Piedade 1997; Hoorn 2006).

As populações, embora sejam compostas por indivíduos da mesma espécie que vivem em uma mesma área, não são geneticamente homogêneas (Silvertown & Doust 1993). Elas apresentam variadas diferenças genéticas estruturais, as quais dependem da frequência gênica e genotípica (Hamrick 1982). O fluxo gênico depende das migrações entre populações, havendo aumento da diversidade genética dentro de uma população e diminuição da variação genética entre populações (Wright 1932). Já a deriva genética afeta a frequência de um alelo na população devido à amostragem aleatória de gametas, promovendo, com isso, a diminuição da variação genética dentro de uma população, mas aumentando a diferenciação genética entre populações pequenas (Wright 1969). As atividades humanas frequentemente resultam na diminuição da deriva genética e no aumento do fluxo gênico de muitas espécies, o que reduz a variação genética nas populações locais e evita a propagação de complexos adaptativos para fora da sua população de origem. Desta forma, os processos adaptativos são perturbados local e globalmente dentro de uma espécie (Silvertown & Doust 1993). Estudos sobre a distribuição espacial da variação genética dentro e entre as populações, ou da estrutura genética da população, têm facilitado muito a compreensão da especiação, adaptação e dinâmica populacional (Zhang *et al.* 2005), de vital importância para a conservação.

Pesquisas sobre variabilidade genética com o uso de marcadores moleculares SSR (*simple sequence repeat*) nucleares e de cloroplasto têm sido amplamente realizadas com plantas aquáticas como as espécies da família Araceae (*Lemna* spp.) (Xue *et al.* 2012), *Spartina maritima* (de Carvalho *et al.* 2013) e *Elodea canadensis* (Huotari & Korpelainen 2012; Huotari & Korpelainen 2013). Essa metodologia pode fornecer subsídios para a avaliação da origem e dispersão de espécies nativas ou exóticas, bem como servir como ponto de partida para estudos de manejo (Meekins *et al.* 2001; Tang *et al.* 2009). A utilização de marcadores microssatélites de cloroplasto para análises interespecíficas também é possível já que homoplasias têm sido observadas apenas em categorias taxonômicas acima de gênero

(Doyle *et al.* 1998; Hale *et al.* 2004) e, ainda assim, muitos pesquisadores têm considerado os níveis de homoplasia baixos o suficiente para permitir análises genéticas populacionais (Cuenca *et al.* 2003; Navascués & Emerson 2005). Em um estudo comparando simulações computacionais e dados empíricos de uma espécie de *Pinus*, Navascués & Emerson (2005) avaliaram os efeitos da homoplasia nas medidas de diversidade genética baseadas em cpSSR e concluíram que o índice de diversidade genética de Nei (H_E) é pouco influenciado por homoplasias, e que o uso de um grande número de locos contribui para diminuir os efeitos negativos das homoplasias nas estimativas de diversidade genética.

O gênero *Montrichardia* Crueg inclui plantas que podem ser encontradas nas áreas úmidas da América latina (Mayo *et al.* 1997; Croat *et al.* 2005), e seus representantes são polinizados por besouros e por entomofilia (Gibernau *et al.* 2003). Atualmente duas espécies são reconhecidas no gênero, *Montrichardia arborescens* (L.) Schott e *Montrichardia linifera* (Arruda) Schott (Croat *et al.* 2005), havendo ainda a descrição da variedade *M. arborescens aculeata* (G. Mey.) Engl. (Lins 1994) e a espécie extinta *Montrichardia aquatica* (Herrera 2008). Enquanto alguns estudos utilizando caracteres morfológicos de folhas apontam para a definição de apenas uma espécie, *M. linifera* (Silva *et al.* 2012), outros apontam para a separação das duas espécies (Mirouze *et al.* 2012, capítulo 2). Diante desta situação, a análise de marcadores moleculares pode contribuir para a delimitação das espécies do gênero *Montrichardia*.

Neste estudo foi analisada a estrutura filogeográfica de *Montrichardia* spp. utilizando um grande número (18) de populações distribuídas na Amazônia Legal Brasileira, analisadas por meio de marcadores do genoma do cloroplasto, nove locos de microssatélites. Os estudos de filogeografia em plantas baseiam-se principalmente na variabilidade do genoma de cloroplasto (cpDNA). O genoma do cloroplasto caracteriza-se por não ser recombinante, apresentar baixos níveis de mutação e herança haplóide (uniparental), geralmente materna, na

maioria das angiospermas (Avice 1994), e por ser transmitido unicamente via sementes (Birky 1995; McCauley 1994), o que possibilita identificar padrões de distribuição da variabilidade genética mais estruturados geograficamente, comparados àqueles observados no genoma nuclear (Ennos *et al.* 1999; Cavers *et al.* 2003; Petit *et al.* 2005). A estrutura genética deste genoma é influenciada pelo parentesco histórico e fluxo gênico ancestral entre populações, bem como por eventos históricos como glaciações e mudanças climáticas ao longo do tempo geológico (Avice 1994).

Este trabalho foi concebido tendo como objetivo identificar o grau de diferenciação genética existente entre as espécies e populações e caracterizar geneticamente, com marcadores moleculares, a distribuição de populações de *Montrichardia* spp. na Bacia Amazônica brasileira. Nossa hipótese é que a separação das espécies descritas com base em caracteres morfológicos reflete a separação genética entre as espécies *Montrichardia linifera* e *Montrichardia arborescens* (incluindo a variedade *aculeata*). A delimitação dos táxons pode desempenhar um importante papel no contexto das discussões sobre a grande diversidade vegetal nas zonas úmidas. Se uma espécie pode ser duas espécies ou mais, os cálculos de número de espécies, índices de diversidade e planos relacionados para gestão e conservação deve ser corrigido e considerados de uma forma mais maneira crítica.

Materiais e Métodos

1. Área de estudo, material biológico e delineamento experimental

Para a caracterização genética das populações de *Montrichardia* spp. foram coletadas amostras de folhas de 288 indivíduos pertencentes a 18 populações localizadas em áreas alagáveis na Amazônia brasileira (Tabela 1; Figura 1). Foram amostrados 16 indivíduos por população.

As amostras coletadas compreenderam as populações de duas espécies e uma variedade de *Montrichardia*, *M. arborescens* (L.) Schott (Araceae), *M. linifera* (Arr.) Schott (Araceae) e *M. arborescens* var. *aculeata*, as quais apresentam diferenças morfológicas descritas no capítulo 2. As espécies, conhecidas como aninga ocorrem ao longo da calha de rios da Bacia Amazônica formando agrupamentos monoespecíficos. *M. linifera* possui mais registros de ocorrência na zona costeira, enquanto que *M. arborescens* possui uma distribuição maior no interior das áreas florestadas (ver Capítulo 1). Já *M. arborescens* var. *aculeata* tem sua distribuição relacionada com ambientes salobros na foz no rio Amazonas (Lins 1994). Entretanto, as espécies podem também ser encontradas em altas densidades na América Central e em pontos isolados em Minas Gerais e Bahia (BR) (ver Capítulo 1). Na Amazônia podem ser encontradas em ambientes ricos nutricionalmente, como os rios de água branca, mas também em ambientes pobres, como os rios de água preta e clara, e em ambientes salobros na foz no rio Amazonas (CRIA 2014; ver Capítulo 1). As espécies foram identificadas pela morfologia, com base na diferença no número de nervuras secundárias apicais; *M. linifera* possui entre 6 e 9 nervuras, enquanto *M. arborescens* e *M. arborescens* var. *aculeata* possuem entre 3 a 5 nervuras, porém esta última variedade possui um grande número de acúleos no caule enquanto que em MA e ML esse número é reduzido (Figura 2).

As amostras de folhas coletadas foram acondicionadas em sacos plásticos contendo sílica gel e posteriormente armazenadas a - 20°C até a extração do DNA. As análises genéticas foram realizadas no Laboratório de Genética e Biologia Reprodutiva de Plantas (LABGEN) do INPA.

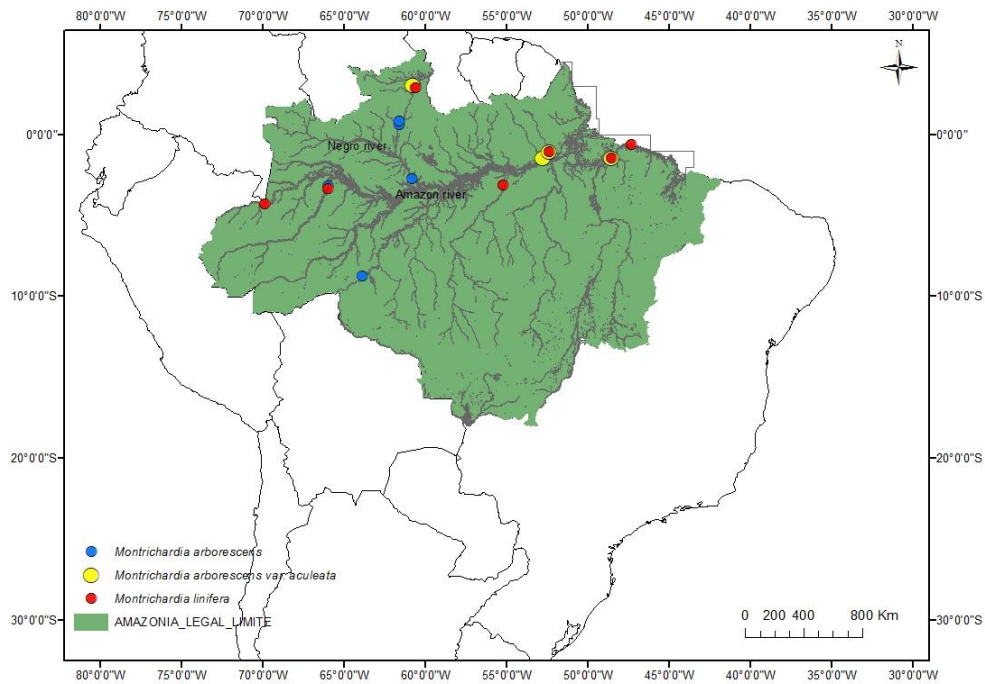


Fig.1 Localização das áreas de amostragem das populações de *Montrichardia* spp. Em verde observa-se a delimitação da Amazônia Legal Brasileira.

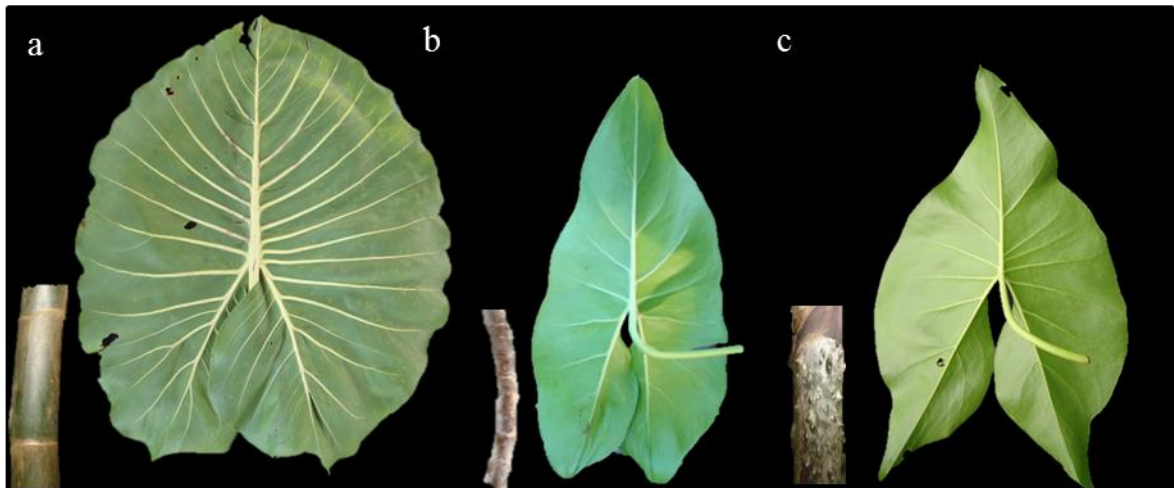


Fig. 2 Diferenças morfológicas nas folhas e caule de: a) *Montrichardia linifera*; b) *Montrichardia arborescens*; c) *Montrichardia arborescens* var. *aculeata*.

Extração e quantificação do DNA

O DNA genômico total foi extraído seguindo o protocolo CTAB (Doyle & Doyle 1987), modificado por Ferreira & Grattapaglia (1998), com auxílio de um macerador (Bio Savant 101 Corporation). Após a extração, o DNA foi ressuspensão em tampão TE (Tris-HCl pH 8,0, Na₂ EDTA pH 8.0) contendo ribonuclease [RNase] (10 µg.ml⁻¹). A quantificação do DNA extraído foi feita por comparação com padrões de massa molecular conhecida, utilizando-se DNA do bacteriófago Lambda, após eletroforese em gel de agarose 1% corado com Gel Red (Biotium Inc.). Em seguida, os géis foram analisados em transiluminador sob luz ultravioleta e fotodocumentados. Após a quantificação, as amostras foram diluídas em água ultra-pura e padronizadas a uma concentração de 2,5 ng/µl e estocadas a -20°C.

1.1.1. Amplificação e análise de locos microssatélites do genoma do cloroplasto (cpDNA)

Foram testados 12 pares de iniciadores com uma repetição (*primers*) previamente desenvolvidos para tabaco (Weising & Gardner 1999) e eucalipto (Steane *et al.* 2005), os quais amplificam locos microssatélites do genoma do cloroplasto (cpSSR) (Tabela 01). Segundo os autores, tais *primers*, considerados universais, também amplificam os mesmos locos microssatélites para a maioria das espécies de angiospermas dicotiledôneas.

Tabela 1. Características dos locos microssatélites do genoma do cloroplasto (cpSSR) utilizados nas análises genéticas das populações de *Montrichardia* spp. (T_A) = Temperatura de anelamento, N_A = número de alelos (Weisigner & Gardner 1999).

Locus cpSSR	Sequência dos <i>primers</i> 5' – 3'	T_A (°C)	N_A	Tamanho dos fragmentos (pb)
<i>ccmp01</i>	CAGGTAAACTTCTCAACGGA CCGAAGTCAAAAGAGCGATT	60	8	85-92
<i>ccmp02</i>	GATCCCGGACGTAATCCTG ATCGTACCGAGGGTTCGAAT	58	3	211-214
<i>ccmp03</i>	CAGACCAAAGCTGACATAG GTTTCATTTCGGCTCCTTTAT	52	3	150-152
<i>ccmp04</i>	AATGCTGAATCGAYGACCTA CCAAAATATTBGGAGGACTCT	58	12	72-83
<i>ccmp05</i>	TGTTCCAATATCTTCTTGICATTT AGGTTCATCGGAACAATTAT	54	12	83-95
<i>ccmp06</i>	CGATGCATATGTAGAAAGCC CATTACGTGCGACTATCTCC	54	5	111-131
<i>ccmp07</i>	CAACATATAACCACTGTCAAG ACATCATTATGTATACTCTTTC	58	15	67-81
<i>ccmp09</i>	GGTTTGTACATATAGGACA CTCAACTCTAAGAAATACTTG	58	8	70-77
<i>ccmp10</i>	TTTTTTTTTAGTGAACGTGTCA TTCGTCGDCGTAGTAAAT G	56	4	123-126

A amplificação dos locos microssatélites do DNA do cloroplasto (cpSSR) foi realizada via PCR (Reação da Polimerase em Cadeia) utilizando-se um termociclador Veriti com gradiente de temperatura (Life Technologies Inc.) nas seguintes condições: (1) desnaturação inicial a 94°C/5 min, seguida de 30 ciclos de (2) desnaturação a 94°C/1 min; (3) anelamento na temperatura específica de cada par de *primer*/1 min; e (4) extensão a 72°C/1 min, e uma etapa de extensão final a 72°C/45 min. As reações de amplificação contiveram tampão de PCR 1X (10 mM Tris-HCl, pH 8,3, 50 mM KCl, 1,5 mM MgCl₂), 200 µM de cada DNTP, 3,25 µg de BSA, 1,0 U de Taq polimerase, 0,4 µM de cada *primer*, 5,0 a 7,5 ng de DNA e água ultra-purificada para um total de 10 µL de reação final. Os produtos amplificados foram analisados em gel de agarose 2% corado com Gel Red e comparados a padrão *Ladder* 1 Kb.

Após a otimização das condições de amplificação dos locos cpSSR, os produtos amplificados foram analisados por eletroforese capilar, em um sequenciador ABI 3130 XL (Life Technologies, Inc.), seguindo as instruções do fabricante. Para estimar os tamanhos dos fragmentos amplificados foi utilizado o padrão interno GeneScan 500 ROX (Life Technologies, Inc.) e, para tal, um dos *primers* de cada par utilizado na amplificação de cada loco cpSSR foi marcado com um fluoróforo específico (TET, HEX ou FAM). Os alelos detectados foram analisados usando o software *GeneMapper 4.1* (Life Technologies, Inc.).

Análise dos dados

As populações de cada espécie foram consideradas independentes e serviram como réplicas para comparação entre as espécies. Os parâmetros de diversidade genética estimados para cada população foram: número de alelos (A), número de haplótipos (N_h) e índice de diversidade genética de Nei (H_E) (Nei 1987) inferidos por meio do programa *Arlequin 3.5* (Excoffier *et al.* 2005).

Para determinar os padrões de distribuição da variabilidade genética e diferenciação genética entre as populações de *Montrichardia* spp. foi realizada uma análise de variância molecular (AMOVA) implementada pelo programa *Arlequin 3.5* (Excoffier *et al.* 2005). O índice de diferenciação genética (R_{ST}) entre as populações foi estimado por meio da AMOVA, cuja significância foi testada por meio de 1023 permutações (Slatkin 1995).

A hipótese de isolamento por distância foi testada utilizando o teste de Mantel (Mantel 1967), por meio do programa *Arlequin 3.5* (Excoffier *et al.* 2005). Essa análise correlaciona medidas de distância genética e distância geográfica (Km), entre os pares das populações analisadas.

As relações entre os haplótipos foram estimadas por meio de uma análise de rede (“network”) pelo método “*Median-Joining*” (Bandelt *et al.* 1999) implementada pelo

programa *Network* 4.6.1.2 (*Fluxus Technology* Ltd. www.Fluxus-engineering.com; Forster *et al.* 2001). Para a construção da rede foi necessária a redução do número de haplótipos utilizando o método de contração e, em seguida, buscando diminuir o efeito de homoplasia comum nos locos cpSSR, foi executada a rotina de redução da média referente aos haplótipos com frequência maior que um. Aos alelos com maior número de mutações foram atribuídos pesos inversos de 9 a 2 para diminuir ainda mais a possibilidade de homoplasias na rede, conforme sugerido por Bandelt *et al.* (1999).

Com base em uma matriz de distâncias genéticas de Nei (1972) foi construído um dendrograma utilizando o método de agrupamento de distância média (UPGMA), o qual infere sobre o relacionamento entre os pares de populações (Swofford & Olsen 1990). Esta análise foi realizada utilizando-se o programa “Tools for Population Genetic Analyses – TFPGA” (Miller 1997). A significância estatística observada nos nós do dendrograma foi estimada por meio de análise *bootstrapping* com base em 1000 permutações, também implementada no programa TFPGA.

Resultados

Diversidade genética

Dos 12 pares de *primers* universais de cpSSR testados (Weising & Gardner 1999; Steane *et al.*, 2005), nove tiveram suas condições de amplificação otimizadas (anexo I), confirmando assim a transferibilidade desses marcadores para *Montrichardia* spp.. Todos os locos de cpSSR (*ccmp1*, *ccmp2*, *ccmp3*, *ccmp4*, *ccmp5*, *ccmp6*, *ccmp7*, *ccmp9* e *ccmp10*) utilizados mostraram-se polimórficos e foram analisados para caracterizar a variabilidade genética dos 288 indivíduos coletados nas 18 populações de *Montrichardia* spp. amostradas (Tabela 2).

No total foram identificados 70 alelos para os nove locos cpSSR considerando todas as populações amostradas para os três táxons de *Montrichardia*, sendo que o número de alelos observados por loco variou de 3 a 15. O número total de alelos observado para cada espécie foi de 65 para MA, 54 para ML e 43 para MAA. O índice médio de diversidade genética (H_E) observado para o conjunto das populações foi 0,400, variando de 0,319 a 0,586 (Tabela 2). As populações que apresentaram a maior diversidade genética, considerando-se os índices de diversidade de Nei (H_E) e o número de alelos analisados em conjunto foram as populações MA Igarapé do Rosário, PA e MAA Rio Piramanha, PA, ambas situadas na região do baixo Amazonas (Tabela 2).

A partir da análise conjunta dos alelos detectados nos nove locos cpSSR foram definidos 262 haplótipos (Apêndice 1), cujas frequências variaram de 0,38 a 1,53%. Após a contração dos haplótipos, por meio de rotina implementada pelo programa *Network*, foram obtidos 234 haplótipos, e após a redução pela média dos haplótipos com frequência acima de um foram determinados 36 haplótipos os quais foram utilizados para estimar a diversidade e relações entre os haplótipos (Apêndice 2). A diversidade haplotípica (N_h) média foi de 4,9 variando de 2 a 9 haplótipos observados por população, considerando apenas os haplótipos com frequência de ocorrência superior a 1.

Tabela 2. Diversidade genética em populações de *Montrichardia* ssp. da Amazônia com base na análise de nove locos de cpSSR. *N*- número de indivíduos amostrados; *Nh*- número de haplótipos (frequência > 1); *H*- diversidade genética; *A*- número de alelos; *H_E*- índices de diversidade gênica (Nei, 1989).

Pop	Esp.	Local	latitude	longitude	<i>N</i>	<i>A</i>	<i>H_E</i>	<i>Nh</i>
1	MA	Anavilhanas - AM (lago S/N)	-2.7169	-60.8358	16	28	0.481	6
3	MA	Igarapé do Carapato - RR	2.8809	-60.6791	16	25	0.369	7
6	MA	Igarapé do Rosário - PA	-3.108467	-55.2428	16	37	0.582	2
5	MA	Porto Velho - RO (riacho S/N)	-8.7678	-63.9237	16	33	0.539	3
2	MA	Rio Água Boa do Univini -RR	0.5763	-61.6558	16	26	0.450	0
18	MA	Rio Água Boa do Univini -RR (2)	0.8422	-61.6220	13	20	0.319	7
4	MA	Rio Juruá - AM	-3.2045	-66.0189	16	30	0.422	7
9	MAA	Lagoa Azul -RR	3.0475	-60.7931	16	27	0.480	9
10	MAA	Rio Jari - AP	-1.0451	-52.4095	16	31	0.440	6
7	MAA	Rio Parú - AP	-1.4357	-52.7902	16	26	0.497	3
8	MAA	Rio Piramanha - PA	-1.4462	-48.5417	14	32	0.586	4
16	ML	Igarapé do Rosário - PA	-3.1084	-55.2428	16	28	0.484	8
12	ML	Rio Cauamé - RR	-2.8657	-60.6407	14	25	0.352	5
13	ML	Rio Jari - AP	-1.0438	-52.4095	15	29	0.448	3
14	ML	Rio Juruá - AM	-3.3425	-66.0249	16	28	0.513	3
11	ML	Rio Piramanha - PA	-1.4335	-48.5477	15	33	0.540	6
17	ML	Rio Solimões (Tabatinga - AM)	-4.3107	-69.9238	16	32	0.539	2
15	ML	Salinópolis - PA (riacho S/N)	-0.5971	-47.3260	16	26	0.363	8
Média					15.5	28.7	0.467	4.9

Estrutura genética e análise filogeográfica

A análise da distribuição da variabilidade genética inferida pela AMOVA foi feita considerando os morfotipos de *Montrichardia* (MA, MAA e ML) como grupos distintos. A AMOVA mostrou que a maior parte da variabilidade genética encontrada (55,4%) é explicada pela variação contida entre as populações, 7,5% da variação se deve à diferenciação entre os grupos (espécies) e os 37,1% restantes encontra-se dentro das populações, evidenciando assim a alta estruturação genética detectada nas populações de *Montrichardia* spp. na Amazônia brasileira ($R_{ST} = 0,63$; Tabela 3). Este padrão de estruturação genética também foi corroborado pela análise de agrupamento (UPGMA) feita a partir de estimativas das distâncias genéticas de Nei entre as populações, a qual mostrou distâncias genéticas

significativas entre grupos de populações de *Montrichardia* spp. ao longo da Bacia Amazônica, não havendo, no entanto, uma relação clara de proximidade (agrupamento) genética entre as populações de uma mesma espécie, tampouco com suas localizações geográficas (Fig. 3). Destaca-se, porém, na análise UPGMA a população MA Água Boa, Rio Uvini, RR, a qual encontra-se bastante distante geneticamente (*bootstrapping* de 100%) do grupo maior formado pelo conjunto dos demais sub-grupos de populações agrupadas no dendrograma (Fig. 3).

Tabela 3. Distribuição da variabilidade genética em 18 populações de *Montrichardia* spp. na Amazônia brasileira, com base na análise de variância molecular (AMOVA) de nove locos cpSSR. MA = *M. arborescens*, ML = *M. linifera* e MAA = *M. arborescens* var. *aculeata*

Fonte de variação	Grau de liberdade	Soma dos quadrados	Componentes da variação	% da variação	Índice de diferenciação genética
Entre grupos (MA, ML e MAA)	2	2865,94	6,63 Va	7,54	
Entre as populações	15	12200,25	48,79 Vb	55,38	($R_{ST} = 0,63$)*
Dentro das populações	270	8820,87	32,661 Vc	37,08	
Total	287	23887,07	88,10		

*Teste de significância (1023 permutações): $P < 0.001$

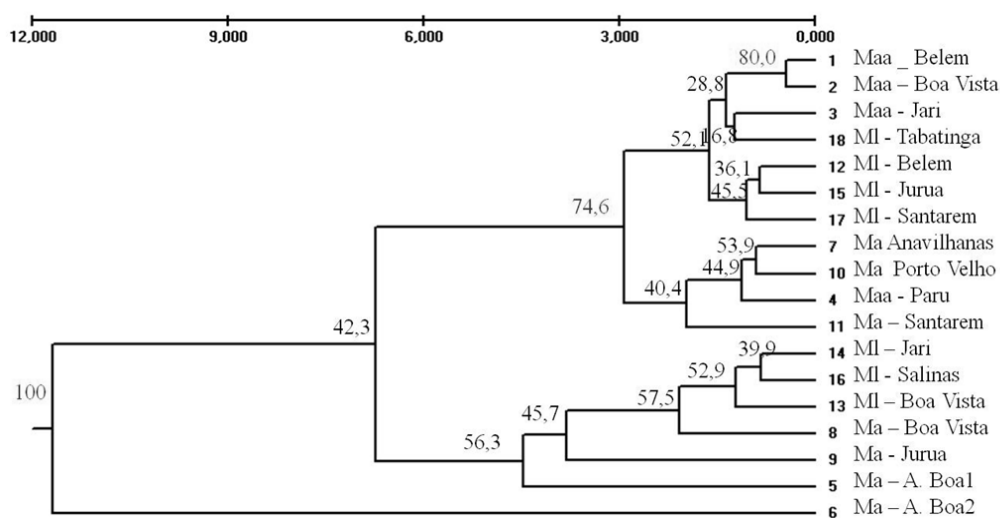


Fig. 3 Dendrograma mostrando a relação entre as amostras de *Montrichardia* na Amazônia brasileira, gerada por pares de grupos não ponderados por análise de parâmetro das distâncias genéticas (Nei, 1972; UPGMA).

O teste da hipótese de isolamento por distância por meio do teste de Mantel não evidenciou correlação significativa entre as variáveis analisadas, indicando não haver uma relação direta entre as distâncias genéticas observadas e as distâncias geográficas entre os pares de populações de *Montrichardia* spp. ($r = -0,16$; $p = 0,05$; Fig. 4).

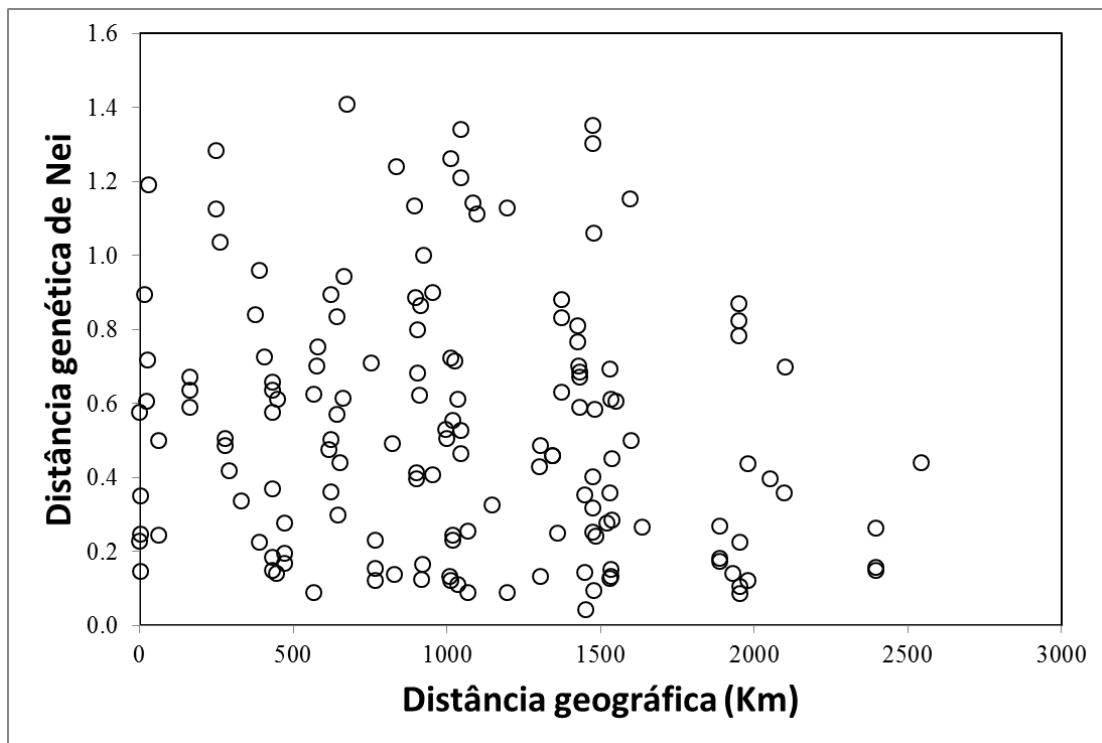


Fig. 4 Correlação entre a distância genética (Nei, 1989) e geográfica (Km) das população de *Montrichardia* spp.

As relações entre os 36 haplótipos multilocos de cpSSR, inferidas pelo método *Median Joining* mostram a ocorrência de quatro haplogrupos oriundos de um haplótipo mais frequente, provavelmente ancestral (haplótipo 66), a partir do qual se originaram os demais haplótipos (Fig. 5). Os quatro haplogrupos são constituídos de 3 a 13 haplótipos cada. Em geral os haplótipos na rede encontram-se diferenciados por 1 a 6 passos mutacionais, ocorrendo, no entanto, maior numero de mutações na separação entre os haplogrupos. Três haplogrupos apresentam alta diversidade haplotípica e ampla ocorrência na bacia Amazônica. Em contraste, o quarto haplogrupos, composto por três haplótipos exclusivos da população

MA Água Boa, situada no rio Água Boa do Univini, RR, que se apresentou bastante separado dos demais com 38 passos mutacionais (Fig. 6). O padrão de distribuição dos três haplogrupos mais diversificados sugere a ocorrência de extensivo fluxo gênico histórico materno de *Montrichardia* na bacia Amazônica.

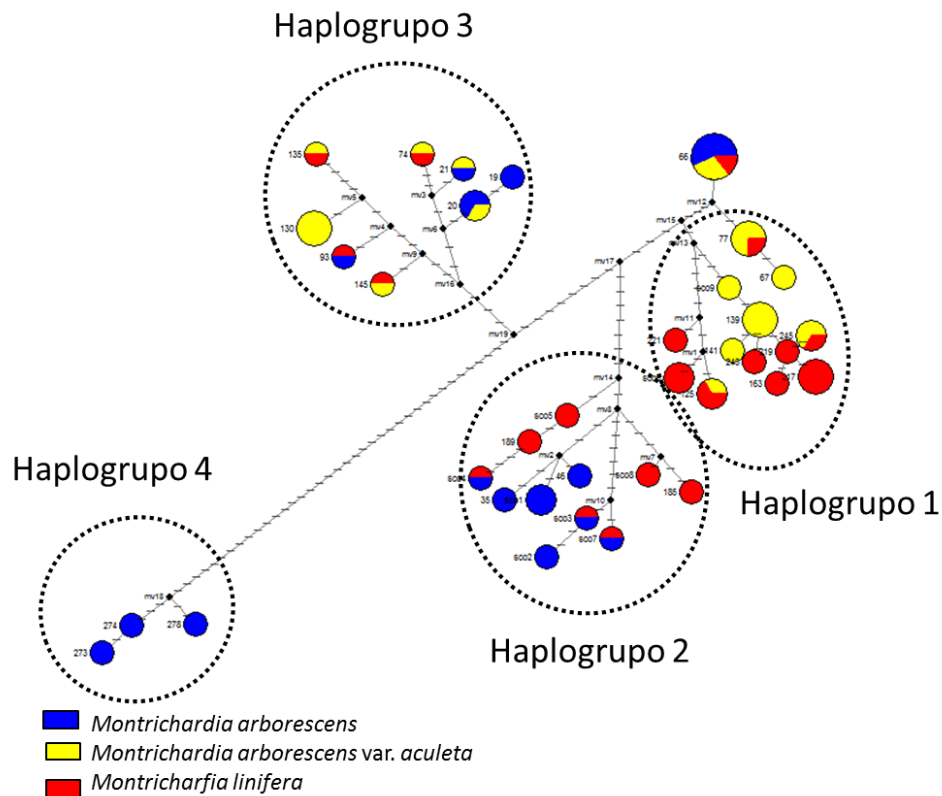


Fig. 5 Relações entre haplótipos inferida a partir da análise *Median-Joining* implementada pelo programa *Network*, com base na análise de nove locos de cpSSR de *Montrichardia* spp. Cada círculo corresponde a um haplótipo e sua área é proporcional à frequência do haplótipo. Cada traço observado nas linhas que unem os haplótipos representa um evento mutacional. O ponto mv representa um haplótipo hipotético (*median vector*). As cores representam as espécies.

Das 18 populações amostradas somente três [Anavilhanas, Juruá (AM) e Igarapé Carrapato (PA)] apresentaram haplótipos pertencentes a apenas um haplogrupo. As demais populações possuem haplótipos compartilhados entre 2 a 3 haplogrupos distintos, sugerindo eventos de colonização múltiplos e independentes nestas populações.

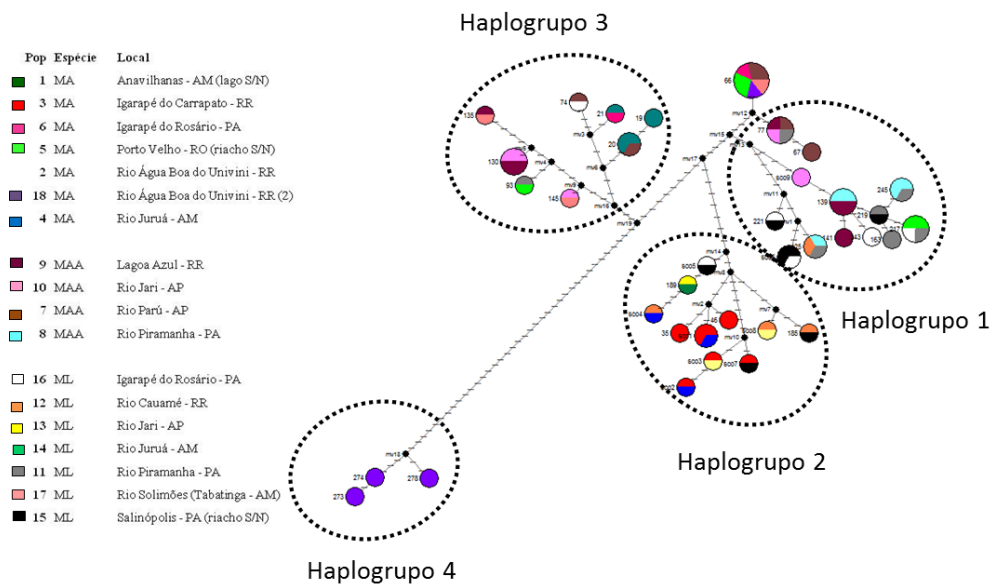


Fig. 6 Relações entre haplótipos inferida a partir da análise *Median-Joining* implementada pelo programa *Network*, com base na análise de nove locos de cpSSR de *Montrichardia* spp. Cada círculo corresponde a um haplótipo e sua área é proporcional à frequência do haplótipo. Cada traço observado nas linhas que unem os haplótipos representa um evento mutacional. O ponto mv representa um haplótipo hipotético (*median vector*). As cores representam as populações.

A maior diversidade de haplótipos encontra-se na população de Salinópolis (7), no estuário do rio Amazonas, além da população de Igarapé do Rosário (7), próxima à foz do rio Tapajós, PA, na região do baixo Amazonas. Este resultado mostra um acúmulo de haplótipos nesta região (estuário + baixo Amazonas) sugerindo a influência do fluxo dos rios para o acúmulo de riqueza haplotípica nesta região. As populações encontradas na bacia do rio Branco também apresentaram alta riqueza de haplótipos (Igarapé do carrapato (5); Igarapé Lagoa Azul (5), Rio Cauamé (5)) (Fig. 7).

Os três morfotipos de *Montrichardia* estão representados no haplótipo de maior frequência (66), considerado como o haplótipo ancestral na rede. No entanto, a ocorrência dos três morfotipos nos diferentes haplogrupos mostra padrões distintos. No haplogrupo 1 observa-se que o morfotipo MA não está representado em nenhum dos 13 haplótipos, sendo este haplogrupo composto apenas por haplótipos que expressam os fenótipos dos morfotipos ML e MAA. Este haplogrupo apresenta ampla distribuição em toda a Bacia Amazônica. Neste

haplogrupo encontra-se a maioria das populações amostradas na região próxima ao estuário e no baixo Amazonas. Além disso, todos os indivíduos da população MAA do rio Piramanha, PA, estão concentrados neste haplogrupo. O mesmo ocorre para os indivíduos de ML na mesma população, com exceção de um indivíduo encontrado no haplogrupo 3. No haplogrupo 2 o fenótipo correspondente ao morfotipo MAA não foi registrado, observando-se apenas os morfotipos MA e ML. Neste haplogrupo encontram-se representados todos os indivíduos da população MA do igarapé do Carrapato, PA, bem como todos os indivíduos da população ML do rio Jarí, PA. O haplogrupo 3 apresenta haplótipos compartilhados entre os três morfotipos (MA, MAA e ML) e também é amplamente distribuído na Bacia, no entanto, com menor número de populações representadas que os dois haplogrupos anteriores. Ressalta-se que todos os indivíduos de *Montrichardia* amostrados em Anavilhanas, AM, fazem parte de dois haplótipos exclusivos deste haplogrupo. Já o haplogrupo 4, isolado na rede, é formado por três haplótipos exclusivos do morfotipo MA ocorrendo em uma única população no rio Univini - RR.

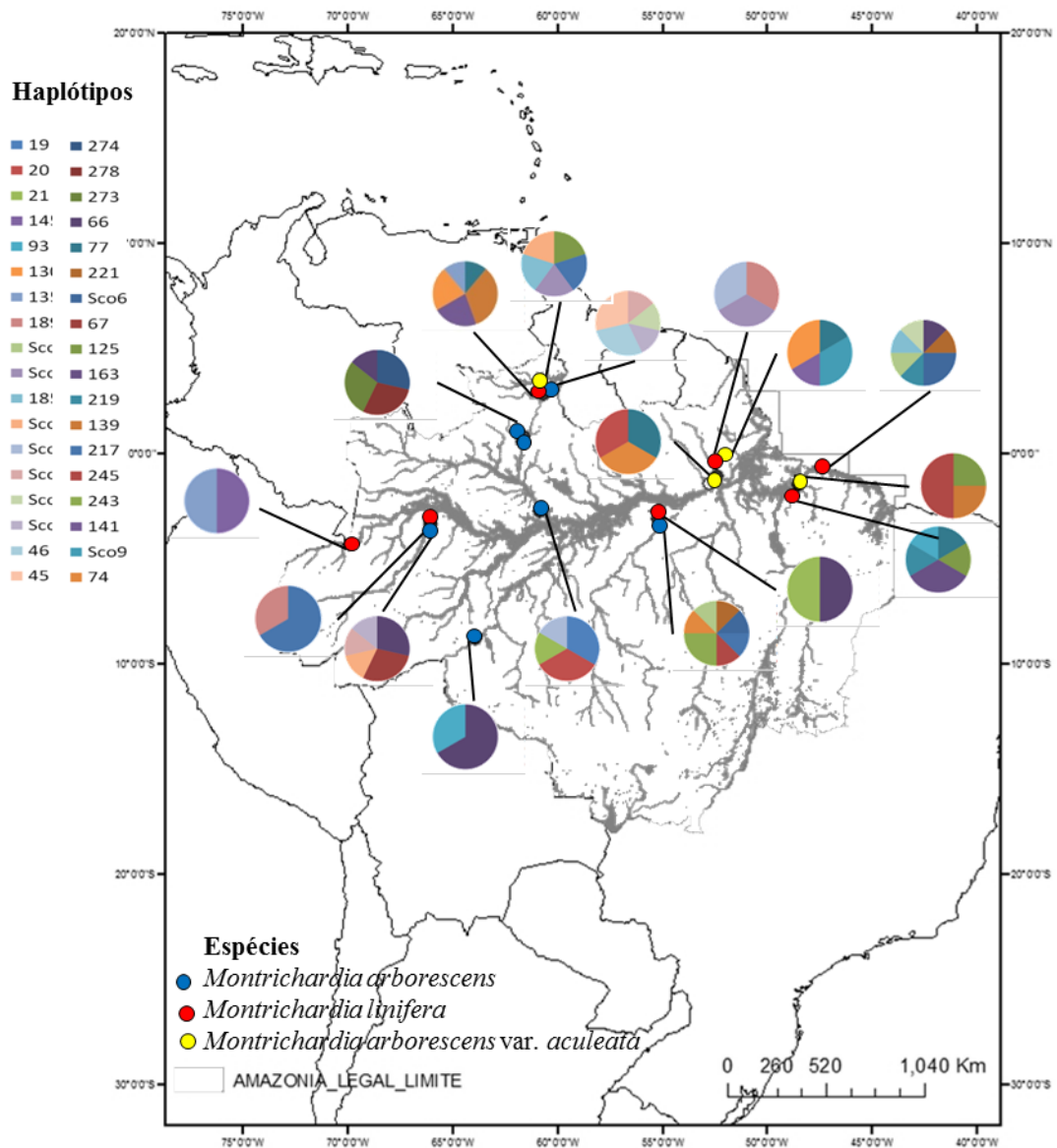


Fig. 7 Distribuição geográfica de haplótipos observados em 18 populações de *Montrichardia* spp. para nove locos cpSSR. Os tamanhos dos círculos são proporcionais ao tamanho amostral e as cores representam os haplótipos, conforme legenda à esquerda da figura.

Discussão

No presente estudo os microssatélites do cpDNA proporcionaram variação genética suficiente para a realização de análises populacionais das espécies de *Montrichardia* estudadas, permitindo inferir sobre os padrões de fluxo gênico e distribuição histórica das populações. Os dados indicam a ocorrência de fluxo genético histórico entre as populações e

entre as espécies, evidenciada pelo alto número de haplótipos de cpDNA compartilhados, o que sugere pouco isolamento geográfico das populações no tempo evolutivo.

Como a herança uniparental de gametas faz com que a variação no cloroplasto seja mais sensível à deriva genética, o fluxo gênico aqui medido reflete apenas a dispersão de sementes ou de propágulos vegetativos de *Montrichardia*, excluindo o fluxo gênico promovido pela polinização (Birky 1995). A presença de apenas duas espécies descritas no gênero *Montrichardia* é, provavelmente, resultado da baixa velocidade de especiação do gênero resultante da falta de barreiras entre as populações que possuem dispersão hidrocórica, diminuindo assim as chances de isolamento reprodutivo (Herrera *et al.* 2008). Há relatos ainda de que o gênero *Montrichardia* é consumido por peixes, tartarugas, búfalos e pelo peixe-boi (Portal *et al.* 2002; Amarante *et al.* 2010), podendo portando apresentar, além da hidrocoria, dispersão por ictiocoria e zoocoria (Lucas 2008; Parolin 2013). Esse tipo de dispersão permite também o fluxo gênico contra as correntes dos rios (em direção às nascentes), aumentando assim a possibilidade de fluxo gênico entre as populações.

O isolamento por distância não parece ser uma força motriz relevante para a estruturação genética das populações de *Montrichardia* na Bacia Amazônica. Não foi encontrado padrão filogeográfico claro na distribuição dos haplótipos, sugerindo fluxos gênicos históricos de longa distância e eventos múltiplos de colonização por diferentes linhagens maternas em ampla escala geográfica. Este padrão é consistente com as reconstruções paleoambientais, com base em dados de paleomorfologias, paleontologia e paleopalinologia, que indicam a existência na bacia amazônica, ao final do Mioceno, de extensivas regiões recobertas por variedades de ambientes lacustres, ripários e aquáticos, com pântanos, lagos rasos e deltas interiores (Latrubesse *et al.* 2010; Hoorn 1994a; 1994b).

A população de Água Boa do Univini (RR) parece, no entanto, ser uma exceção a este padrão de grande mistura de linhagens. A ocorrência de muitos passos mutacionais entre os

haplótipos desta população e o restante da network haplotípica sugerem um evento único de colonização e o isolamento em relação ao fluxo gênico na Bacia Amazônica. Esta população pode ter ficado isolada durante os longos períodos de introgressão marinha com a formação do lago amazônico no Pleistoceno (Klammer 1984). Além disso, o Rio Água Boa do Univini provavelmente tem sua origem relacionada com eventos tectônicos que modificaram a estrutura dessa região, que se assemelha mais com a formação vulcânica que aflora em Apoteri (Guiana) e no Rio Branco (Boa Vista) (RadamBrasil 1975; Santos-Costa 2005).

As demais populações encontradas na bacia do rio Branco apresentaram alta riqueza de haplótipos (Igarapé do carrapato (5); Igarapé Lagoa Azul (5), Rio Cauamé (5)). Essa Bacia constitui um sistema hídrico com águas ricas em sedimentos em suspensão, que se interliga ao sistema Rio Solimões/Amazonas pelo rio Negro, cujas águas são pobres em sedimentos em suspensão (Irion *et al.* 1997). Acredita-se que bacia do rio Branco passou por processo eólicos no período quaternário, provavelmente durante a última glaciação máxima, que resultaram na formação de dunas nas proximidades dos rios Cauamé e Branco (Latrubesse & Nelson 2001). Essas dunas cobertas por vegetação poderiam contribuir para o fluxo gênico entre as populações. Além disso, a população de MA Boa Vista parece estar mais relacionada com ML já que 4 de 6 haplótipos dessa população foram compartilhadas com populações de ML. Boa Vista (RR) foi uma das poucas localidades onde foram encontrados os três morfotipos. Embora esses morfotipos tenham sido coletados em corpos hídricos distintos, a proximidade entre eles e a conectividade hídrica podem contribuir para o fluxo gênico interespecífico. A polinização de *M. arborescens* é feita por besouros (Gibernau *et al.*, 2003) que poderiam transportar pólen entre populações de espécies diferentes, resultando na hibridização das espécies, no entanto como no presente estudo analisamos apenas o genoma do cloroplasto não podemos inferir sobre a contribuição de fluxo gênico via pólen, o qual sugerimos como objeto de investigações futuras. Cabe ressaltar, no entanto, que a ocorrência de hibridização natural

é relatada para outros gêneros da família Araceae como *Arisaema* (Maki & Murata 2001; Hayakawa *et al.* 2011), *Dieffenbachia* (Schatz 1990) e *Symplocarpus*, (Wen *et al.* 1996) e artificial em *Philodendron* (McColley & Miller 1965), gênero filogeneticamente próximo de *Montrichardia* (Henriquez *et al.* 2014).

O processo de especiação se dá pela divisão, dentro de populações, em unidades evolutivas independentes, envolvendo a separação genética e diferenciação fenotípica (Coyne & Orr 2004; Savolainen *et al.* 2006). O alto índice R_{ST} entre as populações, aliado às relações entre os haplótipos permitem inferir que as espécies de *Montrichardia*, apesar de apresentarem fenótipos diferentes, apresentam fluxo gênico entre si. A ocorrência de dois morfotipos em 12 dos 36 haplótipos, além da presença dos três morfotipos no haplótipo ancestral são fortes evidências da troca gênica entre morfotipos via introgressão. O processo de especiação pode ser desencadeado por alterações geográficas, ecológicas, morfológicas ou comportamentais, tendo os mecanismos de seleção natural e deriva gênica forte atuação (Petit & Excoffier 2009; Stearns & Hoekstra 2000). A separação de MA de ML se mostra compatível com a separação morfológica possível com base no número de nervuras apicais secundárias. Entretanto a posição de MAA no dendrograma (UPGMA), assim como pela distribuição dos haplótipos relacionados aos três morfotipos demonstra que esta variedade esta mais relacionada com ML, contrariando a classificação feita com base no número de nervuras. A presença de fluxo gênico interespecífico indica que as barreiras do isolamento reprodutivo são incompletas para as espécies estudadas (Mayr 1942).

Conclusão

O estudo mostrou que os marcadores genéticos de herança materna utilizados são úteis para reconstruir os padrões de fluxo gênico e colonização observados em populações de *Montrichardia* spp. na bacia Amazônica. Os dados genéticos com base na análise do genoma

do cloroplasto mostraram que as populações dos três morfotipos analisados na realidade constituem um sistema aberto no qual provavelmente estão ocorrendo trocas gênicas, e não mostram correspondência direta com a delimitação taxonômica das espécies feitas com base apenas em caracteres morfológicos. Não foi encontrado padrão filogeográfico claro na distribuição dos haplótipos, sugerindo fluxos gênicos históricos de longa distância e eventos múltiplos de colonização, indicadores de metapopulação, por diferentes linhagens maternas em ampla escala geográfica. Este padrão é consistente com reconstruções paleoambientais as quais indicam a ocorrência de extensos ambientes aquáticos durante o final do Mioceno na bacia Amazônica (Hoorn 2006). Recomenda-se no futuro análises que incluam marcadores do genoma nuclear para melhor compreender a influência da introgressão nos diferentes padrões morfológicos de observados na natureza, bem como a viabilidade de polinização entre os três táxons.

Agradecimentos

Este trabalho foi financiado pelo INCT ADAPTA – MCTI (CNPq/FAPEAM), e pelos projetos Universal CNPq (14/2009; 14/2011); PELD MAUA (CNPq/FAPEAM); Pronex “áreas alagáveis” (CNPq/FAPEAM) e SEEDSOURCE (União Européia/INPA). Gostaríamos de agradecer à Doriane Picanço (UFAM), Paulo E. Kamisnk (INPA), Carla Sardelli (Unesp) pela ajuda com os protocolos laboratoriais e na análise dos dados e à Pia Parolin (University of Hamburg) pelos comentários no manuscrito. Agradecemos ainda ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela bolsa de doutorado de Aline Lopes; ao Grupo de Pesquisa MAUA e ao Laboratório de Genética de Plantas (LABGEN/INPA) pelo apoio técnico e logístico.

Referências

- Amarante, C. B.; Müller, R.C.S.; Dantas, K.G.F.; Alves, C.N.; Müller, A.H.; Palheta, D.C. 2010. Composição química e valor nutricional para grandes herbívoros das folhas e frutos de aninga (*Montrichardia linifera*, Araceae). *Acta Amazonica*, 40: 729 – 736.
- Avise, J. C. 1994. Molecular markers, natural history and evolution. New York, Chapman and Hall.
- Bandelt, H. J.; Forster, P., Roehl, A. 1999. Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies. *Molecular Biology and Evolution*, 16:37–48.
- Birky, C. W. 1995. Uniparental inheritance of mitochondrial and chloroplast genes: mechanisms and evolution. *Proceedings of the National Academy of Science* 92:11331-11338.
- Cavers, S.; Navarro, C.; Lowe, A.J. 2003. Chloroplast DNA phylogeography reveals colonization history of a neotropical tree, *Cedrela odorata* L., Mesoamerica *Molecular Ecology*, 12: 1451-1460.
- Chambers, P. A.; Lacoul, P.; Murphy, K. J.; Thomaz S. M. 2008. Global diversity of aquatic macrophytes in freshwater. *Hydrobiologia*, 595: 9-26.
- Cook, C.D.K. 1985. Range extensions of aquatic vascular plant species. *Journal of Aquatic Plant Management*, 23:1-6.
- Coyne, J. A.; Orr, H.A. 2004. Speciation. Sinauer Associates, Sunderland, MA.
- CRIA- Centro de Referência em Informação Ambiental. Species links. Disponível em: http://smlink.cria.org.br/centralized_search?criaLANG=pt Acesso em: 14 jan. 2014.
- Croat, T.B.; Fernández-Concha, G.C.; González, L.I. 2005. *Montrichardia arborescens* (L.) Schott (Araceae) newly reported for Mexico. *Aroideana*, 28: 86–87.

Cuenca, A.; Escalante, A.E.; Piñero, D. 2003. Long-distance colonization, isolation by distance, and historical demography in a relictual Mexican pinyon pine (*Pinus nelsonii* Shaw) as revealed by paternally inherited genetic markers (cpSSRs). *Molecular Ecology*, 12: 2087-2097.

de Carvalho, J. F.; Chelaifa, H.; Boutte, J.; Poulain, J.; Couloux, A.; Wincker, P., *et al.* 2013. Exploring the genome of the salt-marsh *Spartina maritima* (Poaceae, Chloridoideae) through BAC end sequence analysis. *Plant Molecular Biology*, 83(6):591-606.

Doyle, J.J.; Doyle, J. L. 1987. Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus*, 12: 13-15.

Doyle, J.J.; Morgante, M.; Tingey, S.V.; Powel, W. 1998. Size homoplasy in chloroplast microsatellites of wild perennial relatives of soybean (*Glycine* subgenus *Glycine*). *Molecular Biology and Evolution*, 15: 215-218.

Ennos, R.A.; Sinclair, W.T.; Hu, X.-S.; Langdon, A. 1999 Using organelle markers to elucidate the history, ecology and evolution of plant populations. In: Hollingsworth, P.M.; Bateman, R.M.; Gornall, R. J. (Eds). *Molecular Systematics and Plant Evolution*. The Systematics Association Special Volume Series. p.1-19.

Excoffier, L.; Estoup, A.; Cornuet, J-M. 2005. Bayesian Analysis of an Admixture Model With Mutations and Arbitrarily Linked Markers. *Genetics*, 169:1727-1738.

Ferreira, M. E.; Grattapaglia, D. 1998. Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética. 3ª edição. Brasília (EMBRAPA-CENARGEN). 222p.

Forster, P.; Bandelt, H. J.; Rohlf, A. 2000. NETWORK 3.1.1.0. *Software free available at: www.fluxus-engineering.com*. Fluxus Technology Ltd., Cambridge.

- Gibernau M.; Barabé D.; Labat D.; Cerdan P.; Dejean A. 2003. Reproductive biology of *Montrichardia arborescens* (Araceae) in French Guiana. *Journal of Tropical Ecology*, 19: 103–107.
- Hale, M.L.; Borland, A.M.; Gustafsson, M.H.; Wolff, K. 2004. Causes of size homoplasy among chloroplast microsatellites in closely related *Clusia* species. *Journal of Molecular Evolution*, 58: 182-190.
- Hamrick, J. L. 1982. Plant population genetics and evolution. *American Journal of Botany*, 1685-1693.
- Hayakawa, H.; Hamachi, H.; Matsuyama, K.; Muramatsu, Y.; Minamiya, Y.; Ito, K.; et al. 2011. Introgressive Hybrids of *Arisaema sikokianum* and *A. tosaense* (Araceae) Confirmed through Nuclear and Chloroplast DNA Comparisons. *American Journal of Plant Sciences*, 2: 303-307
- Herrera, F. A.; Jaramillo, C. A.; Dilcher D. L.; Wing, S. L.; Gomez-N. C. 2008. Fossil Araceae from a Paleocene neotropical rainforest in Colombia. *American Journal of Botany*, 95:1569–1583.
- Horn, C. 1994a. An environmental reconstruction of the paleo-Amazon River system (Middle-late Miocene, NW Amazonia), *Palaeogeography Palaeoclimatology Palaeoecology*, 112:187–238.
- Horn, C. 2006. The birth of the mighty Amazon. *Scientific American*, 294(5), 52-59.
- Horn, C., 1994b. Fluvial palaeoenvironments in the Amazonas Basin (Early Miocene-early Middle Miocene, Colombia). *Palaeogeography Palaeoclimatology Palaeoecology*, 109: 1-54.

Huotari, T.; Korpelainen, H. 2012. Complete chloroplast genome sequence of *Elodea canadensis* and comparative analyses with other monocot plastid genomes. *Gene*, 508(1): 96-105.

Huotari, T.; Korpelainen, H. 2013. Comparative Analyses of Plastid Sequences between Native and Introduced Populations of Aquatic Weeds *Elodea canadensis* and *E. nuttallii*. *PloS one*, 8(4): e58073.

Irion, G.; Junk, W.J.; Mello, J.A.S.N. 1997. The large central Amazonian river floodplains near Manaus: geological, climatological, hydro- logical and geomorphological aspects. In: Junk WJ, ed. *The Central Amazon floodplain: ecology of a pulsing system*. Ecological Studies 126. Heidelberg: Springer, 23–46.

Junk, W. J.; Piedade, M. T. F. 1997. Plant life in the floodplain with special reference to herbaceous plants. In: Junk, W. J., (ed.) *The Central Amazon floodplain: Ecological Studies* Berlin: Springer, 126:147-185.

Klammer, G. 1984. The relief of the extra-Andean Amazon basin. In: Sioli, H. (Ed). *The Amazon: Limnology and landscape ecology of a mighty tropical river and its basin*. Dr. W. Junk Publishers, Dordrecht.

Latrubesse, E. M.; Cozzuol, M.; da Silva-Caminha, S. A.; Rigsby, C. A.; Absy, M. L.; Jaramillo, C. 2010. The Late Miocene paleogeography of the Amazon Basin and the evolution of the Amazon River system. *Earth-Science Reviews*, 99(3), 99-124.

Latrubesse, E.M. Nelson, B.W. 2001. Evidence for Late Quaternary aeolian activity in the Roraima–Guyana region. *Catena* 43, 63–80.

- Lins, A.L.F.A. 1994. Aspectos morfológicos e anatômicos de raízes do gênero *Montrichardia* Crueg. (Araceae). Dissertação de mestrado, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.
- Lucas, C. 2008. Within flood season variation in fruit consumption and seed dispersal by two characin fishes of the Amazon. *Biotropica*, 40: 581–589.
- Maki, M.;Murata, J. 2001. Allozyme analysis of the hybrid origin of *Arisaema ehimense* (Araceae). *Heredity*, 86: 87-93.
- Mantel, N. 1967. The detection of disease clustering and a generalized regression approach. *Cancer Researcher*, 27:209-220.
- Martins, D.; Cardoso, L.R.; Mori, E.S.; Tanaka, R.H.. 2003. Caracterização genética de acessos de egéria (*Egeria* spp.) coletados no Estado de São Paulo. *Planta Daninha*, 21: 1-6.
- Martins, P.S. 1987. Estrutura populacional, fluxo gênico e conservação *in situ*. *IPEF*, 35:71-78.
- Mayo, S. J.; Bogner, J.; Boyce. P.C. 1997 . The genera of Araceae. Royal Botanic Gardens, Kew, UK.
- Mayr, E. 1942. Systematics and the origin of species. Columbia Univ. Press, New York, USA.
- McCauley, D.E. 1994. Contrasting the distribution of chloroplast DNA and allozyme polymorphism among local populations of *Silene alba*: implications for studies of gene flow in plants. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 91: 8127-8131.

- Meekins, J. F.; Ballard Jr, H. E.;McCarthy, B. C. 2001. Genetic variation and molecular biogeography of a North American invasive plant species (*Alliaria petiolata*, Brassicaceae). *International Journal of Plant Sciences*, 162(1), 161-169.
- Miller, M. P. 1997. Tools for population genetic analyses (TFPGA) 1.3: A Windows program for the analysis of allozyme and molecular population genetic data. *Computer software distributed by author*, 4, 157.
- Mirouze, E.; Staquet A.; Vezy R. 2012. Morphometric and morphological analyses of leaves in two species of Araceae: *Montrichardia linifera* and *Montrichardia arborescens* among different French Guiana populations. *Journal of Ecofog*, 3: 1-15.
- Navascués, M.; Emerson, B.C. 2005. Chloroplast microsatellites: measures of genetic diversity and the effect of homoplasy. *Molecular Ecology*, 14: 1333-1341.
- Nei, M. 1972. Genetic distance between populations. *American Naturalist*, 106: 283-292.
- Nei, M., 1987 *Molecular Evolutionary Genetics*. Columbia University Press, New York, NY, USA.
- Parolin, P. 2013. Take me to the river—seed dispersal in Amazonian floodplain. *New Frontiers in Tropical Biology: The Next 50 Years (A Joint Meeting of ATBC and OTS)*. Atbc.
- Petit, R. J.; Excoffier, L. 2009. Gene flow and species delimitation. *Trends in Ecology and Evolution*, 24 (7): 386-393.
- Petit, R.J.; Duminil, J.; Fineschi, S.; Hampe, A.; Salvini, D.; Vendramin, G.G. 2005. Comparative organization of chloroplast, mitochondrial and nuclear diversity in plant populations. *Molecular Ecology*, 14: 689-701.

Portal, R. R.; Lima, M.A.S.; Luz, V.L.F.; Bataus, Y.S.L.; Reis, J dos. 2002. Espécies vegetais utilizadas na alimentação de *Podocnemis unifilis*, Troschel 1948 (Reptila, Testudinae, Pelomedusidae) na região do Pracauba - Amapá – Brasil. *Ciência Animal Brasileira*, 3(1); 11-19.

RadamBrasil, Departamento Nacional da Produção Mineral. Projeto RADAMBRASIL. 1975. Folha NA.21 Tumucumaque e parte da folha NB.21: geologia, geomorfologia, solos, vegetação e uso potencial da terra. Ministério de Minas e Energia. DNPM/Projeto RADAMBRASIL. Rio de Janeiro. Vol. 9. 370p. 6 mapas

Santamaría, L., 2002. Why are most aquatic plants widely distributed? Dispersal, clonal growth and small-scale heterogeneity in a stressful environment. *Acta Oecologica*, 23: 137–154.

Santos-Costa, S. (2005). Delimitação do arcabouço tectônico do Cinturão Guiana Central, Estado de Roraima, com base na análise integrada dos dados geofísicos, geológicos, isotópicos e imagens de satélite. Tese (doutorado) Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Geociências.

Savolainen, V.; Anstett, M. C.; Lexer, C.; Hutton, I.; Clarkson, J.; Norup, M.; Powell, M.P.; Spriggate, D.; Salamin, N.; Baker, W.J. 2006. Sympatric speciation in palms on an oceanic island. *Nature*, 441: 210-213.

Schatz, G. E. 1990. Some aspects of pollination biology in Central American forests. *Reproductive Ecology of Tropical Forest Plants*, 7:69-84.

Sculthorpe, C. D. 1967. The biology of aquatic vascular plants. London: Belhaven Press.

Silva M.F.S.; De Andrade I.M.; Mayo S.J. 2012. Geometric morphometrics of leaf blade shape in *Montrichardia linifera* (Araceae) populations from the Rio Parnaíba Delta, north-east

Brazil. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 170: 554 – 572.

Silvertown J. W. J.; Doust, L. 1993 Introduction to plant population biology. Blackwell Scientific, Oxford, UK

Slatkin, M. 1995 A measure of population subdivision based on microsatellite allele frequencies. *Genetics* 139: 457-462.

Steane, D.A.; Jones, R.C.; Vaillancourt, R.E. 2005. A set of chloroplast microsatellite primers for *Eucalyptus* (Myrtaceae). *Molecular Ecology Notes*, 5: 538-541.

Stearns, S. C.: Hoekstra, R. F. 2000. Evolution: an introduction. Oxford University Press Inc., New Work, 381p.

Swofford, D. L.; Olsen, G. J.; Waddell, P. J.: Hillis, D. M. 1990. Phylogeny reconstruction. *Molecular systematics*, 3: 407-514.

Tang, S. Q.; Wei, F.; Zeng, L. Y.; Li, X. K.; Tang, S. C.; Zhong, Y.; GENG, Y. P. 2009. Multiple introductions are responsible for the disjunction distributions of invasive *Parthenium hysterophorus* in China: evidence from nuclear and chloroplast DNA. *Weed research*, 49(4): 373-380.

Weisinger, K.; Gardner, R. C. 1999. A set of conserved PCR primers for the analysis of simple sequence repeat polymorphisms in chloroplast genomes of dicotyledonous angiosperms. *Genome*, 42: 9 – 19.

Wen, J.; Jansen, R. K.; Kilgore, K. 1996. Evolution of the Eastern Asian and Eastern North American disjunction genus *Symplocarpus* (Araceae): insights from chloroplast DNA restriction site data. *Biochemical systematics and ecology*, 24(7):735-747.

Woodward, F.I. 1988. Temperature and the distribution of plant species. In: Long, S.P., Woodward, F.I. (Eds.) *Plants and Temperature*. The Company of Biologists Ltd. University of Cambridge, Cambridge, 59–75.

Woodward, F.I.; Williams, B.G. 1987. Climate and plant distribution at global and local scales. *Vegetatio*, 69:189-197.

Wright, S. 1932. The roles of mutation, inbreeding, cross-breeding, and selection in evolution. *Proceedings of the 6th International Congress of Genetics*, 1:356-366.

Wright, S. 1969. Evolution and the genetics of populations. v.2. *The theory of gene frequencies*. The University of Chicago Press, Chicago.

Xue, H., Xiao, Y., Jin, Y., Li, X., Fang, Y., Zhao, H., *et al.* 2012. Genetic diversity and geographic differentiation analysis of duckweed using inter-simple sequence repeat markers. *Molecular Biology Reports*, 39(1):547-554.

Zhang, J.; Nielsen, R.; Yang, Z. 2005. Evaluation of an improved branch-site likelihood method for detecting positive selection at the molecular level. *Molecular Biology and Evolution*, 22:2472–2479.

Apêndice

Apêndice1. Haplótipos encontrados em 18 populações de *Montrichardia* spp. com base na análise de oito locos de cpSSR. N = n° de indivíduos.

Haplótipo	ccmp1	ccmp2	ccmp3	ccmp4	ccmp5	ccmp6	ccmp7	ccmp9	ccmp10	População	N
1	89	211	151	78	91	112	69	71	124	MA-Água Boa	1
2	89	211	151	78	90	112	68	70	124	MA-Água Boa	1
3	87	211	151	78	90	111	68	75	125	MA-Água Boa	1
4	88	211	151	78	90	111	68	76	125	MA-Água Boa	1
5	89	211	152	78	91	111	69	75	125	MA-Água Boa	1
6	89	211	152	78	90	111	69	75	124	MA-Água Boa	1
7	88	211	151	78	91	111	68	73	125	MA-Água Boa	1
8	88	211	151	81	90	111	70	70	125	MA-Água Boa	1
9	88	211	151	78	90	111	68	71	125	MA-Água Boa	1
10	89	211	151	78	91	112	69	74	124	MA-Água Boa	1
11	89	211	151	78	91	112	69	72	124	MA-Água Boa	1
12	89	211	151	78	90	112	68	71	124	MA-Água Boa	1
13	89	211	152	77	90	111	68	71	124	MA-Água Boa	1
14	89	211	151	78	91	111	68	75	125	MA-Água Boa	1
15	89	211	152	77	87	111	68	70	125	MA-Água Boa	1
16	89	211	152	78	90	112	69	71	124	MA-Água Boa	1
17	90	211	151	72	92	129	77	72	124	MA-Anavilhanas	1
18	90	211	151	77	92	129	77	75	124	MA-Anavilhanas	1
19	90	211	152	83	85	130	78	72	123	MA-Anavilhanas	1
20	90	211	152	82	84	130	79	72	123	MA-Anavilhanas	1
21	90	211	151	72	91	129	76	72	124	MA-Anavilhanas	1
22	90	211	151	72	90	129	72	71	124	MA-Anavilhanas	1
23	90	211	151	72	91	129	77	75	124	MA-Anavilhanas	1
24	90	211	151	72	90	129	74	72	124	MA-Anavilhanas	1
25	90	211	151	77	91	129	77	76	124	MA-Anavilhanas	1
26	90	211	152	82	85	130	78	72	123	MA-Anavilhanas	2
27	87	211	152	76	85	129	72	71	124	MA-Anavilhanas	1
28	87	211	152	82	85	130	78	72	123	MA-Anavilhanas	1
29	88	211	152	78	91	129	69	72	123	MA-Boa Vista	1
30	88	211	151	78	91	129	67	72	124	MA-Boa Vista	1
31	88	212	151	77	90	129	68	72	124	MA-Boa Vista	1
32	88	211	151	78	91	129	69	73	124	MA-Boa Vista	1
33	88	211	151	78	91	129	69	75	124	MA-Boa Vista	1
34	87	211	152	78	91	129	68	75	124	MA-Boa Vista	1
35	88	211	152	78	91	129	68	72	124	MA-Boa Vista	2
36	88	211	151	78	89	129	68	75	123	MA-Boa Vista	1
37	88	211	151	78	91	129	68	75	124	MA-Boa Vista	1
38	88	211	152	78	91	129	69	75	124	MA-Boa Vista	1
39	88	211	151	77	85	129	69	71	124	MA-Boa Vista	1
40	88	211	151	77	90	129	68	71	124	MA-Boa Vista	1
41	88	211	151	78	91	129	68	72	124	MA-Boa Vista	1

... continuação

Haplótipo	ccmp1	ccmp2	ccmp3	ccmp4	ccmp5	ccmp6	ccmp7	ccmp9	ccmp10	População	N
42	87	211	152	76	89	129	70	71	124	MA-Boa Vista	1
43	88	211	152	78	90	129	69	76	124	MA-Boa Vista	1
44	87	211	152	77	88	129	75	71	126	MA-Jurua	1
45	87	211	152	77	89	129	68	71	126	MA-Jurua	1
46	87	211	152	76	89	129	69	71	126	MA-Jurua	1
47	85	211	152	76	85	129	68	70	126	MA-Jurua	1
48	87	211	151	76	89	129	69	70	126	MA-Jurua	1
49	87	211	151	77	89	129	68	71	126	MA-Jurua	1
50	86	211	152	77	85	129	69	71	126	MA-Jurua	1
51	86	211	151	77	89	129	68	71	126	MA-Jurua	1
52	87	211	152	76	85	129	68	71	126	MA-Jurua	1
53	87	211	152	76	85	129	73	70	126	MA-Jurua	1
54	87	211	152	78	85	129	68	70	124	MA-Jurua	1
55	87	211	152	78	87	129	79	70	124	MA-Jurua	1
56	87	211	152	76	85	129	69	71	124	MA-Jurua	1
57	87	211	151	78	91	129	70	73	126	MA-Jurua	1
58	87	211	151	77	90	129	68	73	124	MA-Jurua	1
59	87	211	152	77	91	129	68	75	126	MA-Jurua	1
60	91	211	151	73	85	129	70	73	124	MAA-Paru	1
61	91	211	151	73	86	129	70	73	124	MAA-Paru	1
62	90	211	152	82	85	129	78	72	123	MAA-Paru	3
63	89	211	152	82	85	130	78	72	123	MAA-Paru	1
64	90	211	151	82	85	129	78	70	123	MAA-Paru	1
65	89	211	152	82	85	129	78	73	123	MAA-Paru	1
66	89	211	152	82	85	130	78	76	123	MAA-Paru	1
67	90	211	152	82	85	129	78	73	123	MAA-Paru	1
68	90	211	152	82	85	130	78	75	123	MAA-Paru	1
69	90	211	152	72	84	129	70	72	124	MAA-Paru	1
70	90	211	151	72	91	129	70	72	124	MAA-Paru	1
71	91	211	151	73	83	129	70	73	124	MAA-Paru	2
72	89	211	151	82	85	130	78	73	123	MA-Porto Velho	1
73	90	211	152	73	90	129	72	73	124	MA-Porto Velho	1
74	90	211	151	72	91	129	75	72	124	MA-Porto Velho	1
75	90	211	151	72	88	129	70	72	124	MA-Porto Velho	1
76	89	211	152	72	89	129	74	72	124	MA-Porto Velho	1
77	90	211	152	72	91	129	76	72	124	MA-Porto Velho	1
78	89	211	152	82	84	130	78	74	123	MA-Porto Velho	1
79	91	211	151	72	87	129	70	72	124	MA-Porto Velho	1
80	90	211	152	72	90	129	74	72	124	MA-Porto Velho	1
81	89	211	151	82	85	130	78	72	123	MA-Porto Velho	1
82	89	211	152	82	84	129	78	76	123	MA-Porto Velho	1
83	89	211	151	82	85	129	78	74	123	MA-Porto Velho	1
84	88	211	152	82	84	130	78	76	123	MA-Porto Velho	1

... continuação

Haplótipo	ccmp1	ccmp2	ccmp3	ccmp4	ccmp5	ccmp6	ccmp7	ccmp9	ccmp10	População	N
87	87	212	152	82	85	129	78	76	123	MA-Santarem	1
88	89	211	151	82	85	130	78	76	123	MA-Santarem	1
89	89	211	151	82	85	129	78	72	123	MA-Santarem	2
90	89	211	151	82	85	130	78	75	123	MA-Santarem	1
91	89	211	151	83	84	130	78	75	123	MA-Santarem	1
92	89	211	152	82	85	131	78	74	124	MA-Santarem	1
93	90	211	151	80	89	131	80	71	124	MA-Santarem	1
94	90	211	151	73	91	131	75	73	124	MA-Santarem	1
95	91	211	151	73	89	131	80	73	124	MA-Santarem	1
96	89	214	151	82	84	130	78	74	123	MA-Santarem	1
97	89	211	152	82	84	131	78	75	123	MA-Santarem	1
98	90	211	151	72	88	130	70	72	124	MA-Santarem	1
99	90	211	151	73	88	130	80	73	124	MA-Santarem	1
100	90	211	151	72	89	131	81	72	124	MA-Santarem	1
101	89	211	151	72	90	131	80	72	124	MA-Santarem	1
102	91	211	151	73	86	130	70	73	124	MA-Santarem	1
103	87	212	151	81	84	129	78	73	124	MAA-Belem	1
104	88	211	152	81	85	129	77	76	123	MAA-Belem	1
105	89	211	152	81	84	129	78	76	124	MAA-Belem	1
106	91	211	151	74	84	130	70	74	123	MAA-Belem	1
107	88	211	150	81	84	130	77	76	0	MAA-Belem	1
108	90	211	152	74	83	130	70	74	123	MAA-Belem	1
109	89	214	152	81	92	129	78	75	123	MAA-Belem	1
110	90	211	151	74	84	129	70	74	123	MAA-Belem	2
111	91	212	152	74	83	130	70	75	124	MAA-Belem	1
112	89	214	151	81	84	129	78	72	124	MAA-Belem	1
113	91	211	152	74	84	130	70	74	0	MAA-Belem	1
114	88	211	151	83	84	130	77	72	123	MAA-Belem	1
115	88	211	152	81	84	130	77	75	123	MAA-Belem	1
116	89	211	151	81	84	130	78	71	123	MAA-Boa Vista	1
117	89	211	151	81	84	129	78	76	123	MAA-Boa Vista	2
118	89	211	151	81	85	129	77	75	123	MAA-Boa Vista	1
119	88	211	152	81	84	129	78	70	123	MAA-Boa Vista	1
120	88	211	152	81	84	129	78	75	124	MAA-Boa Vista	1
121	89	211	152	81	84	130	78	76	123	MAA-Boa Vista	1
122	91	211	152	74	84	129	70	74	123	MAA-Boa Vista	1
123	91	211	151	73	84	129	70	73	123	MAA-Boa Vista	1
124	91	211	151	74	85	129	70	74	124	MAA-Boa Vista	1
125	91	211	151	74	85	129	70	74	123	MAA-Boa Vista	1
126	91	211	151	74	84	129	70	74	123	MAA-Boa Vista	2
127	90	211	152	73	84	129	70	73	124	MAA-Boa Vista	1
128	91	211	152	75	85	130	70	75	124	MAA-Boa Vista	1
129	88	211	151	80	84	129	78	73	123	MAA-Jari	1

... continuação

Haplótipo	ccmp1	ccmp2	ccmp3	ccmp4	ccmp5	ccmp6	ccmp7	ccmp9	ccmp10	População	N
132	89	211	151	80	84	129	78	76	123	MAA-Jari	2
133	88	211	152	80	84	130	77	77	123	MAA-Jari	1
134	88	211	151	80	84	129	78	72	123	MAA-Jari	1
135	91	211	151	73	84	129	71	73	124	MAA-Jari	1
136	91	211	152	73	84	129	74	73	123	MAA-Jari	1
137	91	211	152	75	84	129	70	74	123	MAA-Jari	1
138	90	211	152	73	83	129	70	73	123	MAA-Jari	1
139	91	211	151	75	84	129	70	75	123	MAA-Jari	1
140	91	211	151	73	84	129	70	73	124	MAA-Jari	4
141	91	211	151	81	91	129	81	77	123	ML-Belem	1
142	90	211	151	74	83	130	79	77	124	ML-Belem	1
143	90	211	151	74	83	129	70	74	123	ML-Belem	1
144	89	211	151	82	84	129	78	75	123	ML-Belem	2
145	89	211	151	82	84	129	78	77	123	ML-Belem	1
146	89	211	151	82	85	129	78	77	123	ML-Belem	1
147	89	211	151	82	84	129	78	74	123	ML-Belem	1
148	89	211	151	74	83	129	70	74	123	ML-Belem	1
149	89	211	152	82	85	129	78	75	123	ML-Belem	1
150	91	212	151	74	83	130	70	74	123	ML-Belem	1
151	88	211	152	82	84	130	78	75	123	ML-Belem	1
152	88	211	152	82	84	130	77	72	123	ML-Belem	1
153	91	211	150	74	83	129	70	74	0	ML-Belem	1
154	89	214	152	82	84	130	78	72	123	ML-Belem	1
155	90	211	151	73	83	130	81	73	124	ML-Belem	1
156	91	211	151	73	83	129	69	73	123	ML-Belem	3
157	85	211	151	79	90	129	69	72	124	ML-Boa Vista	1
158	87	211	152	79	89	129	67	71	124	ML-Boa Vista	1
159	88	211	152	78	90	129	69	71	124	ML-Boa Vista	1
160	88	211	152	79	90	129	69	71	124	ML-Boa Vista	1
161	88	211	152	79	91	129	68	71	124	ML-Boa Vista	1
162	89	214	152	78	90	129	69	72	124	ML-Boa Vista	1
163	85	211	152	79	83	129	68	71	124	ML-Boa Vista	1
164	85	211	152	79	89	129	69	71	124	ML-Boa Vista	1
165	85	211	152	78	90	129	69	72	0	ML-Boa Vista	1
166	85	211	152	79	90	129	69	72	124	ML-Boa Vista	1
167	90	211	151	79	90	129	69	72	0	ML-Boa Vista	1
168	89	211	152	78	89	129	69	77	124	ML-Boa Vista	1
169	87	211	152	79	89	129	69	71	124	ML-Boa Vista	1
170	90	211	152	78	88	129	69	70	124	ML-Boa Vista	1
171	89	211	152	78	90	129	69	72	124	ML-Boa Vista	1
172	85	211	151	79	90	129	73	72	124	ML-Jari	1
173	85	211	151	78	89	129	68	71	124	ML-Jari	1
174	89	211	152	78	90	129	68	74	125	ML-Jari	1

... continuação

Haplótipo	ccmp1	ccmp2	ccmp3	ccmp4	ccmp5	ccmp6	ccmp7	ccmp9	ccmp10	População	N
177	89	211	151	79	89	129	68	72	124	ML-Jari	1
178	88	212	151	78	89	129	69	71	124	ML-Jari	1
179	87	211	152	80	89	129	69	71	125	ML-Jari	1
180	85	211	151	79	89	129	68	72	124	ML-Jari	1
181	89	211	151	79	90	129	69	74	124	ML-Jari	1
182	89	211	151	79	90	129	70	71	124	ML-Jari	1
183	89	211	152	78	89	129	69	71	124	ML-Jari	2
184	90	214	151	78	89	129	68	74	0	ML-Jari	1
185	85	211	151	78	89	129	68	74	124	ML-Jari	1
186	85	211	152	78	88	129	68	70	124	ML-Jari	1
187	85	211	152	79	90	129	69	75	124	ML-Jari	1
188	89	211	151	82	84	129	78	73	124	ML-Jurua	1
189	88	211	151	81	84	129	77	75	123	ML-Jurua	1
190	89	211	151	82	84	129	78	76	123	ML-Jurua	1
191	88	211	151	82	84	129	78	77	124	ML-Jurua	1
192	89	211	151	81	84	129	78	77	123	ML-Jurua	1
193	89	211	151	81	84	129	78	71	124	ML-Jurua	1
194	88	211	151	81	84	130	77	77	124	ML-Jurua	1
195	88	212	151	82	84	129	77	76	124	ML-Jurua	1
196	91	211	151	74	83	129	70	74	123	ML-Jurua	1
197	90	211	151	73	83	131	70	74	123	ML-Jurua	1
198	90	211	151	73	83	130	70	73	123	ML-Jurua	1
199	91	211	151	74	83	130	70	74	124	ML-Jurua	1
200	85	211	152	78	90	129	69	72	124	ML-Salinas	1
201	89	211	152	78	90	129	70	72	124	ML-Salinas	1
202	87	211	152	78	89	129	68	72	124	ML-Salinas	1
203	89	211	151	78	90	129	68	75	124	ML-Salinas	1
204	89	211	151	78	91	129	68	71	124	ML-Salinas	1
205	89	211	151	78	89	129	69	72	124	ML-Salinas	1
206	88	211	152	78	91	129	73	70	124	ML-Salinas	1
207	89	211	152	78	90	129	68	71	124	ML-Salinas	1
208	87	211	151	78	89	129	69	72	124	ML-Salinas	1
209	89	211	151	78	88	129	69	71	124	ML-Salinas	1
210	89	211	152	79	90	129	68	74	124	ML-Salinas	1
211	89	211	152	78	90	129	68	75	124	ML-Salinas	1
212	90	211	152	78	89	129	68	74	124	ML-Salinas	1
213	88	211	152	78	90	129	68	70	124	ML-Salinas	1
214	89	211	151	77	89	129	69	70	124	ML-Salinas	1
215	89	211	152	78	89	129	68	71	124	ML-Salinas	1
216	89	211	151	82	85	130	78	72	124	ML-Santarem	2
217	88	211	152	82	84	129	77	77	123	ML-Santarem	1
218	91	211	151	74	83	130	70	74	123	ML-Santarem	3
219	91	211	152	74	83	130	70	74	123	ML-Santarem	1

... continuação

Haplótipo	ccmp1	ccmp2	ccmp3	ccmp4	ccmp5	ccmp6	ccmp7	ccmp9	ccmp10	População	N
222	88	211	151	82	84	130	78	77	123	ML-Santarem	1
223	91	211	151	74	84	131	70	74	123	ML-Santarem	2
224	90	211	151	73	83	131	69	73	123	ML-Santarem	2
225	90	211	151	74	84	131	70	74	124	ML-Santarem	1
226	89	211	151	82	84	130	78	77	123	ML-Santarem	1
227	88	211	152	82	84	131	78	77	123	ML-Santarem	1
228	88	211	151	81	84	131	78	76	123	ML-Santarem	1
229	89	211	151	82	84	131	78	77	123	ML-Santarem	1
230	88	211	152	81	84	130	77	77	123	ML-Santarem	2
231	89	211	151	81	84	129	78	72	123	ML-Tabatinga	1
232	91	211	152	73	86	129	70	73	124	ML-Tabatinga	1
233	89	214	151	81	85	129	78	76	123	ML-Tabatinga	1
234	89	211	151	81	84	129	78	77	124	ML-Tabatinga	1
235	90	211	152	73	88	129	69	73	124	ML-Tabatinga	1
236	89	211	151	81	84	129	78	73	123	ML-Tabatinga	2
237	90	211	151	73	83	129	70	73	123	ML-Tabatinga	1
238	89	211	151	72	83	129	69	72	124	ML-Tabatinga	1
239	88	211	151	81	91	129	78	77	123	ML-Tabatinga	1
240	91	211	151	72	87	129	70	72	123	ML-Tabatinga	1
241	91	211	152	72	83	129	70	73	123	ML-Tabatinga	1
242	90	211	151	72	89	129	69	72	124	ML-Tabatinga	1
243	90	211	151	72	86	129	69	72	124	ML-Tabatinga	2
244	88	211	151	81	84	130	77	76	123	ML-Tabatinga	1
245	88	211	152	81	84	130	77	73	123	ML-Tabatinga	1
246	89	211	152	82	84	129	78	77	123	ML-Tabatinga	1
247	87	211	152	81	0	111	81	77	125	MA-Água Boa2	1
248	87	211	152	81	94	111	81	76	125	MA-Água Boa2	1
249	92	211	152	81	94	111	81	74	125	MA-Água Boa2	1
250	87	211	152	74	94	111	81	76	125	MA-Água Boa2	1
251	87	211	152	81	0	111	81	76	125	MA-Água Boa2	1
252	92	211	152	81	0	111	81	76	125	MA-Água Boa2	1
253	92	211	152	81	94	111	81	76	125	MA-Água Boa2	1
254	87	211	152	81	94	111	81	77	125	MA-Água Boa2	1
255	91	211	152	83	92	111	68	77	125	MA-Água Boa2	1
256	92	211	152	83	94	112	68	77	125	MA-Água Boa2	1
257	92	211	152	83	94	112	67	74	125	MA-Água Boa2	1
258	87	211	152	83	94	111	68	76	125	MA-Água Boa2	1
259	92	211	152	83	95	111	68	76	125	MA-Água Boa2	1
260	92	211	152	81	94	111	67	76	125	MA-Água Boa2	1
261	92	211	152	83	94	111	67	76	125	MA-Água Boa2	1
262	87	211	152	83	94	112	68	77	125	MA-Água Boa2	1

Capítulo 4

Lopes *et al.*, (submetido) Effect of elevated CO₂ and temperature on germination and initial growth of *Montrichardia arborescens* (L.) Schott (Araceae): a microcosm experiment, Environmental Science and Pollution Research.

Effect of elevated CO₂ and temperature on germination and initial growth of *Montrichardia arborescens* (L.) Schott (Araceae): a microcosm experiment

Aline Lopes¹, Aurélia Bentes Ferreira², Pauline Pantoja de Oliveira³, Pia Parolin⁴, Maria Teresa Fernandez Piedade²

¹ Graduate Program in Ecology. Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia/ Grupo MAUA “Ecologia, Monitoramento e Uso Sustentável de Áreas Úmidas Amazônicas”, Av. André Araújo, 2.936 - Petrópolis Cx. Postal 2223 - CEP 69080-971 Manaus, Amazonas, Brasil. Telephone /fax+55 92 36421503 alopesmga@gmail.com

²Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, CDAM/ Grupo MAUA “Ecologia, Monitoramento e Uso Sustentável de Áreas Úmidas Amazônicas” Av. André Araújo, 2.936 - Petrópolis Cx. Postal 2223 - CEP 69080-971 Manaus, Amazonas, Brasil. bonnie.ferreira12@gmail.com, maitepp@inpa.gov.br

³Biological & Environmental Science, University of Stirling, Stirling, UK, FK9 4LA , paulineop@gmail.com

⁴Dept of Plant Diversity, Univ. of Hamburg, Germany, piaparolin@gmx.de

Abstract

IPCC predictions for the Amazon Basin indicate an increase in temperatures by ca. 1.5-7°C coupled with a reduction in precipitation by ca. 10-20% in some regions over the twenty-first century. Estimated increases in mean temperature are expected to disrupt present patterns of the distribution of organisms, including wetland species. The aim of this work was to determine the effects of changes in temperature and atmospheric [CO₂] on the germination and initial growth of the common Amazonian aquatic macrophyte *Montrichardia arborescens* as a model organism in order to understand how climatic changes can affect Amazonian wetland plants. Infructescences were collected from individuals of the Negro River and germination was followed. The produced seedlings were then monitored over a period of 5 months. The treatments consisted of four microcosms: Control: current ambient temperature and CO₂; Mild: Control + 1.5 ° C and + 200 ppm of CO₂; Intermediate: Control + 2.5 ° C and + 400 ppm of CO₂; Extreme: Control + 4.5 ° C and + 850 ppm of CO₂. The treatments did not cause effects on germination parameters and leaf chlorophyll concentrations. Rapid light

response curves showed a decrease in electron transportation rate with the elevation of CO₂ and temperature. Fv/Fm values showed the same trend. Total biomass followed a different pattern between treatments. While Mild and Intermediate treatments stimulated growth, in the most CO₂-enriched microcosm plant growth was limited. Given our results, we postulate that climatic changes to be expected in future will influence the initial growth of *M. arborescens*. If these responses are similar in other aquatic macrophytes too, this indicates important implications for Amazonian wetlands, and wetlands worldwide.

Key-words: Amazonian floodplains, nutrient poor black water, igapó, aquatic macrophytes, physiology, climate change.

Introduction

Average global surface temperatures are projected to increase by 1.5 to 5.8° C, and the Amazon Basin is predicted to experience an increase in temperatures by ca. 1.5-7°C coupled with a reduction in precipitation by ca. -10-20% in some areas over the twenty-first century (Houghton *et al.*, 2001; IPCC, 2013). Over the decade 1984–93 the rate of CO₂ increase was in average 1.5 μ mol mol⁻¹ year⁻¹ (Schimel *et al.*, 2000) and that trend will probably continue in the century XXI, resulting in concentrations approaching 560 μ mol mol⁻¹, twice the pre-industrial value by the middle or second half of the twenty-first century (Schimel *et al.*, 2000). The steadily increasing human population and economic activities are likely to lead to even higher CO₂ concentrations (approximately 700 μ mol mol⁻¹) by the end of the XXI century. Projected increases in mean temperature are expected to greatly disrupt present patterns of plant and animal distributions. These climatic changes would reduce plant water availability and thereby increase drought stress for many Amazonian species (Grandis *et al.*, 2010). Moreover, large changes in the patterns of heating, wind and rainfall, which will entail extreme weather events, will directly affect the duration and intensity of flooding and of the dry season, and of fire events in Amazonian wetlands (Cochrane and Laurance, 2002, IPCC 2007, 2013 (<http://www.ipcc.ch>), Nobre *et al.*, 2007).

The Amazonian rainforest is one of the main storage compartments of terrestrial carbon (Turcq *et al.*, 2002), with estimated values between 74 and 127 Mg C ha⁻¹ yr⁻¹ in soil stock and 148 and 180 Mg C ha⁻¹ yr⁻¹ in above ground biomass (Malhi *et al.*, 2009b). The region is also responsible for the annual variations in rates of carbon sequestration (Turcq *et al.*, 2002), since it is influenced by climate variations, especially during the rainy season when the occurrence of El Niño may reduce the radiation quantity during dry years, due to the

elevation of the temperature of the Atlantic Tropical North Ocean, impacts relate to more fire events occurring and contributing to the increase of carbon emissions (Tian *et al.*, 1998; Lewis *et al.* 2011; Vasconcelos *et al.*, 2013). Extrapolated over the whole basin, CO₂ flux from flooded areas was found to be of comparable magnitude to some estimates of carbon sequestration in upland forests (Hess *et al.*, 2003). Net primary production (NPP) of aquatic herbaceous plants in Amazonian floodplains vary between 30-50 t ha⁻¹ year⁻¹ (Junk and Piedade, 1993), contributing substantially to the carbon budget of the region (Piedade *et al.*, 2001; 2010). The decomposition of herbaceous plants promotes the enrichment of the aquatic system and associated floodplains, both during the aquatic and terrestrial phases of the hydrologic cycle (Piedade *et al.*, 2001; 2010).

Temperature is one of the most important climatic factors affecting the range of distribution of many species, including aquatic and wetland plants. It affects their physiology, the germination of seeds, the periodicity and rate of seasonal growth, and the onset of dormancy (Short and Neckles, 1999). On the other hand, rising levels of atmospheric CO₂ are predicted to have significant direct effects on global vegetation (Bowes, 1993), including aquatic plant communities (Wetzel and Grace, 1983, Edwards, 1995). Plant responses vary with species, but typical responses to short-term CO₂ enrichment include increases in photosynthesis, growth, total biomass, root/shoot ratio, and tissue carbon/nitrogen ratio (Short and Neckles, 1999). The effect of interaction of increased temperature and [CO₂] in plants has been discussed by many authors (see Morison and Lawlor, 1999), but its effect on aquatic macrophytes is poorly investigated.

In the Amazonian floodplains there is a great diversity of aquatic plants, estimated at 388 species alone for central Amazonia (Junk and Piedade, 1997). Rooted aquatic macrophytes like *Montrichardia arborescens* (L.) Schott are subject to stresses typical of the aquatic environment, such as waves, oxygen shortage, instability of the substrate, and also the periodic variation of the water level which causes drastic changes in the environment (Piedade and Junk, 2000). The occurrence of *M. arborescens* includes the fertile white water várzea and the poor acidic igapó flooded forests (Lopes and Piedade, 2012). Although being an aquatic emergent macrophyte, *M. arborescens* occupies a position along the floodplain more related to the first succession stage of pioneer trees and shrubs with which it may compete due to its arboreal habit (Lins and Oliveira, 1994). The climate change studies on emergent macrophytes can be justified with their crucial role in the ecosystem functioning in aquatic

habitats (Ojala *et al.*, 2002). Furthermore, this species was chosen to understand the effects of stressors in nutritionally poor areas such as igapó.

The nature of the physiological adaptations may vary greatly among species according to the genetic load as a function of the availability of environmental resources (Pepper *et al.*, 1998). This will influence parameters directly responsible for obtaining daily carbon as the photosynthetic capacity and quantum efficiency and the uptake and use of nutrients in soil, which influences the primary metabolism (Parolin, 2001, De Simone *et al.*, 2002). Thus, the studies of the ecophysiological behavior of plant species that colonize floodplain ecosystems are important tools for understanding the potential effects of environmental changes. Analyzing the combined effects of CO₂ and temperature on plants is important because changes in CO₂ concentrations are global, and different ecosystems in very different temperature regimes will be affected, irrespective of any past or future changes in temperature (Morison and Lawlor, 1999). The aim of this paper was to determine the responses of an Amazonian aquatic macrophyte in scenarios with significant changes in temperature and atmospheric CO₂ concentrations according to the predictions of the IPCC (2007). In order to characterize the potential effect of CO₂ enriched atmosphere over seedling establishment, our experiment was designed to evaluate the responses of seedlings to four scenarios of CO₂ concentrations and temperatures. We aimed at understanding whether climatic changes would interfere with the responses of growth parameters and photosynthesis. Our hypothesis is that moderate elevation of temperature and CO₂ stimulates seed germination and seedling growth, while high concentrations can inhibit the germination and growth of seedlings.

Methods

Species investigated

Montrichardia arborescens, known as Aninga, has a broad distribution along the river shores in the Amazon Basin, forming monospecific stands in the edges of the floodplain forests. The species can also be found in high densities in Central America and in isolated spots in the states of Minas Gerais and Bahia (Brazil). In the Amazon Basin, *M. arborescens* may be found in nutritionally rich environments, such as the white water rivers (várzeas), but especially in poor environments, such as black water rivers (igapós) and in the brackish estuarine areas of the Amazon River (<http://smlink.cria.org.br>).

Infructescences of *M. arborescens* were collected from eight individuals separated between them approximately by 100 m away at the Negro River, the biggest black water river in Central Amazonia (Sioli, 1984), in the locality of Praia Grande, Iranduba (Amazonas, Brazil) in April 2012. The fruits were pulped and 200 similar healthy seeds were chosen for the experiment which included the monitoring of germination, seedlings growth and physiology. The seeds were placed in plastic pots (8cm of height and 8 cm of diameter) with a vermiculite substrate, one seed per pot. Trays with water were placed beneath the vessels to maintain a high humidity level in the substrate. Each treatment had 50 replicates. The experiment was conducted from 4th of April to 13th September 2012 (162 days).

Microcosm Experiment

The microcosm was mounted at the Laboratory of Genetics and Molecular Evolution – LEEM, INPA/Manaus (AM, Brazil). The microcosm itself consists of four climatic chambers subjected to a daily photoperiod regime of 12 h (12 h light and 12 h dark), and environmental (Control), Mild, Intermediate and Extreme conditions of CO₂ concentration; humidity and temperature were independently controlled. The climatic conditions of the rooms as above described were programmed according to the scenarios forecasted for 2100 by the IPCC (2007). Since in the natural ambient temperature and CO₂ vary throughout the day, the rooms were designed to simulate these fluctuations in the enriched rooms over 24 hours. Therefore, the control room monitored in real time the current conditions of CO₂, temperature and humidity in the surrounding forested environment (Table 1).

Table 1- Programmed values of CO₂ concentration, temperature, and humidity for the microcosm.

Treatment	CO ₂ (ppm)	Temperature (°C)	Humidity (%)	IPCC Scenario
Control	± 400	± 30	±75	-
Mild	Control +200	Control + 1.5	±75	B1
Intermediate	Control + 400	Control + 2.5	±75	B2
Extreme	Control +850	Control +4.5	±75	A2

Parameters measured

Germination, considered as the radicle protrusion, was evaluated daily from the beginning of the experiment, and the number of seedlings produced was calculated for each treatment at the end of the experiment. We calculated the percentage of germination (G%), initial time of germination (ITG), final time of germination (FTG), median time of

germination (t) $\bar{t} = \sum_{i=1}^k n_i t_i / \sum_{i=1}^k n_i$, where t_i : time from the start of the experiment to the i^{th} observation (day); n_i : number of seeds germinated in the time i (not the accumulated number, but the number correspondent to the i^{th} observation), and k : last time of germination (Labouriau 1983); the velocity of germination (VGI) $VGI = (G1/N1) + (G2/N2) + (G3/N3) + \dots + (Gn/Nn)$, where: $G1, G2, G3, \dots, Gn$ = number of germinated seeds in the first, second, third and last count; $N1, N2, N3, \dots, Nn$ = number of days at first, second, third and last count Maguire (1962) and the number of seeds germinated.

In the seedlings produced in the microcosms at the end of the experiment, morphological and physiological traits were measured as follows:

1) *Morphological traits*: number of leaves, length of roots and shoot (cm), total biomass (shoot plus root; g); seed biomass of germinated and non-germinated plants.

2) *Physiological traits*:

2.1 The content of chlorophyll a, chlorophyll b and total of leaves was measured with a portable Clorofilog (Falker, Brazil). The chlorophyll was measured on the abaxial and adaxial surface of one leaf per plant. The chlorophyll index was converted to chlorophyll [$\mu\text{mol}/\text{mm}^2$] by equations: total chlorophyll = $1.6429 \cdot \text{clorofilog index} + 17$, $R^2 = 0.8775$; chlorophyll a = $y = 0.81 \cdot \text{clorofilog index} - 11.655$, $R^2 = 0.7173$; chlorophyll b = $0.2491 \cdot \text{clorofilog index} + 1.38$, $R^2 = 0.905$ (Pantoja, 2011);

2.2 The maximal photochemical yield of PSII was measured in ten plants in each room. The ‘current photochemical capacity’ of PSII (Bolhár-Nordenkamp and Öquist, 1993) or ‘intrinsic efficiency’ (Maxwell and Johnson, 2000) was assessed with a Mini-PAM (Walz, Effeltrich, Germany). The maximal photochemical yield ($Y=Fv/Fm$) was measured in dark-adapted leaves (10 min), when a saturation pulse induces maximal fluorescence yield (Fm) and maximal variable fluorescence (Fv), which are considered as reliable measures of the

potential quantum yield of Photosystem II. In dark-adapted leaves (all reaction centers of the electron transport chain oxidized) F_v/F_m is a parameter for measuring the maximum relative electron transport rate of PSII (Krause and Weis, 1991). Healthy leaves usually show F_v/F_m values between 0.66 and 0.80, lower values indicate intracellular or physiological changes (calculated according to Bolhár-Nordenkampf and Götzl, 1992, for several common floodplain species in Waldhoff *et al.*, 2000).

2.3 Rapid light curves (RLC) in three plants in each treatment were additionally carried. This measure shows the photosynthetic electron transport rate (ETR). Responses to short-term irradiances were measured using increasing irradiation in nine steps within 3 minutes, each irradiation period lasting 10 s.

Statistical analyses

ANCOVA was used to analyze the effect of the treatments on morphological traits, with the time available for plant's growth as co-variable. ANOVA was used to analyze the effect of the treatments on physiological traits and germination parameters. The differences between the factors were estimated by Tukey test a posteriori. The non-parametric Kruskal-Wallis-Test was applied when the assumption of ANOVA was not met, followed by of Dunnett test. The statistical analyses were performed with Systat 12 (SYSTAT, 2007).

Results

During the experimental period, the climatic conditions in the microcosms varied in response to outside-room ambient changes. The $[CO_2]$ varied between 350 and 500 ppm in treatment Control, 550 to 680 in treatment Mild, 770 to 890 in treatment Intermediate and 1200 to 1330 in treatment Extreme (Table 1). The temperature varied between 26 and 28°C in the Control treatment, 28 to 30°C in treatment Mild, 29 to 31°C in treatment Intermediate and 31 to 33°C in treatment Extreme (Table 2). The humidity varied between 69 and 77% in all treatments during the experiment period (Table 2).

Table 2 – Average values of microcosm climatic conditions per month in the experiment period

Month	CO ₂ (ppm)				Temperature (°C)				Humidity (%)			
	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
Apr	507.26	682.94	888.83	1331.47	26.77	28.31	29.26	31.15	75.30	76.96	76.50	76.05
May	498.86	628.32	821.60	1272.03	26.84	28.76	29.36	31.19	75.47	79.05	76.51	76.73
Jun	437.03	596.12	807.00	1258.43	27.24	28.93	29.81	31.51	74.88	76.38	75.09	74.45
Jul	402.13	571.75	795.52	1227.45	27.42	28.97	30.05	31.55	73.67	74.43	74.28	72.95
Aug	371.14	567.96	798.18	1225.32	28.09	29.67	30.80	32.53	70.03	69.31	69.73	69.79
Sep	345.60	557.76	775.32	1205.49	28.35	29.93	30.97	32.75	71.78	70.27	69.37	70.47

The elevation of CO₂ together with elevated temperature did not cause significant effects in any germination parameters analyzed (Table 3). The median time of germination showed a tendency in reduce with treatment but is not significant ($F_{15\ 3} = 2.82$, $p=0.075$). The maximum time to germination was 163 days in treatment Control and the minimum was 44 days in treatments Control, Intermediate and Extreme.

Table 3 – Index of germination (median) of *Montrichardia arborescens*: percentage of germination (G%), initial time of germination (ITG), final time of germination (FTG), median germination time (*t*), the velocity of germination index (VGI).

Treatment	G%	ITG (days)	<i>t</i> (days)	FTG (days)	VGI
Control	44.00	63.00	94.27	135.20	0.05
Mild	38.00	67.60	86.99	114.20	0.05
Intermediate	34.00	61.40	82.69	108.60	0.05
Extreme	42.00	58.40	72.67	105.40	0.06

The seedlings' morphology did not change with CO₂ and temperature elevation. The number of leaves was similar between the treatments with averages ranging from 1.7 and 2.0 leaves. A higher number of leaves occurred in the control, 4 leaves, and the remaining treatments showed a maximum of 3 leaves, but this difference occurred in response to the time of growing of each individual. There was an effect in elongation of the roots in response to the elevation of CO₂ together with temperature and the time of growth (Table 4; Fig. 1), although this effect was not reflected in root biomass (Table 4). There were no effects of the

treatments on shoot length (Table 4) but there was an increase of shoot biomass with the elevation of CO₂ and temperature (Table 4). The root/shoot ratio did not change with treatments (Table 4). Total biomass was influenced by the treatments and time (Table 4, Fig. 2). The treatment with mild and intermediate conditions showed higher values of total biomass than the control ($p < 0.05$) whereas the treatment with extreme conditions showed values similar to the control ($p < 0.05$).

Table 4 - Results of the ANCOVA to effect of temperature and CO₂ elevation (variable) and growth time (co-variable) of *Montrichardia arborescens* seedlings.

Source	df	F-ratio	p-value
Roots elongation			
Treatment	3	5.081	0.003
Growth time	1	27.270	0.000
Error	63		
Roots biomass			
Treatment	3	2.005	0.122
Growth time	1	25.037	0.000
Error	68		
Shoot length			
Treatment	3	0.431	0.731
Growth time	1	20.956	0.000
Error	66		
Shoot biomass			
Treatment	3	3.390	0.023
Growth time	1	35.922	0.000
Error	65		
Root/shoot biomass			
Treatment	3	0.807	0.495
Growth time	1	6.259	0.015
Error	65		
Total Biomass			
Treatment	3	3.496	0.020
Growth time	1	40.960	0.000
Error	66		
Fv/Fm			
Treatment	3	3.555	0.025
Growth time	1	0.025	0.876
Error	32	3.555	

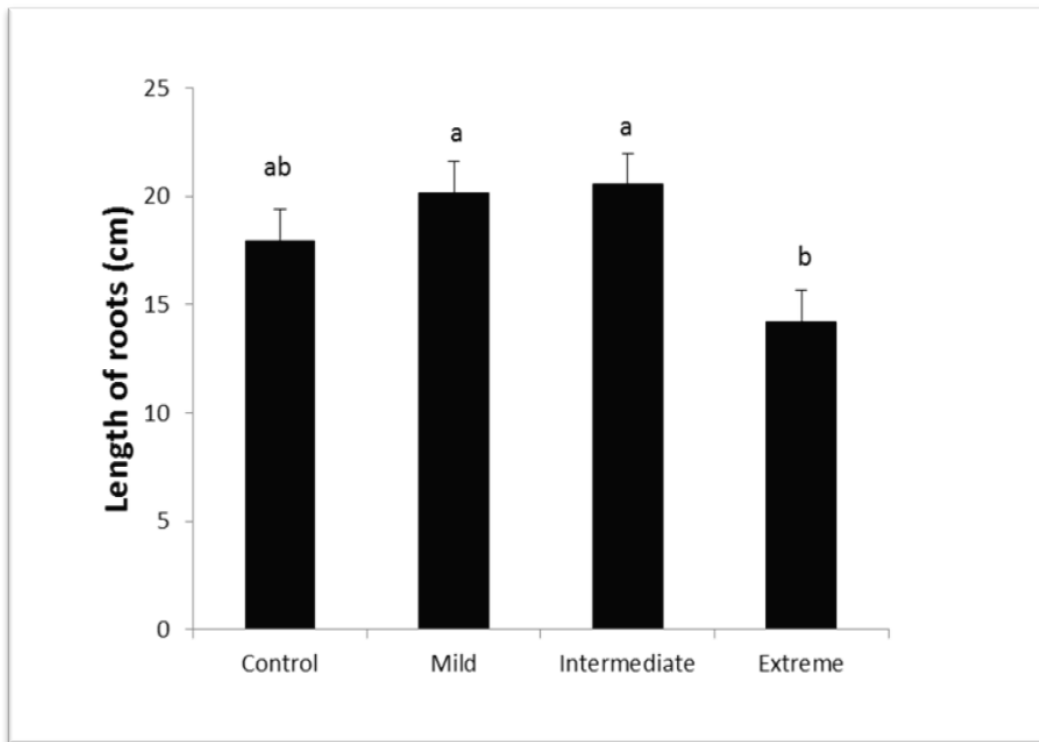


Figure 1. Length of roots of *M. arborescens* in each treatment. Medians with standard error.

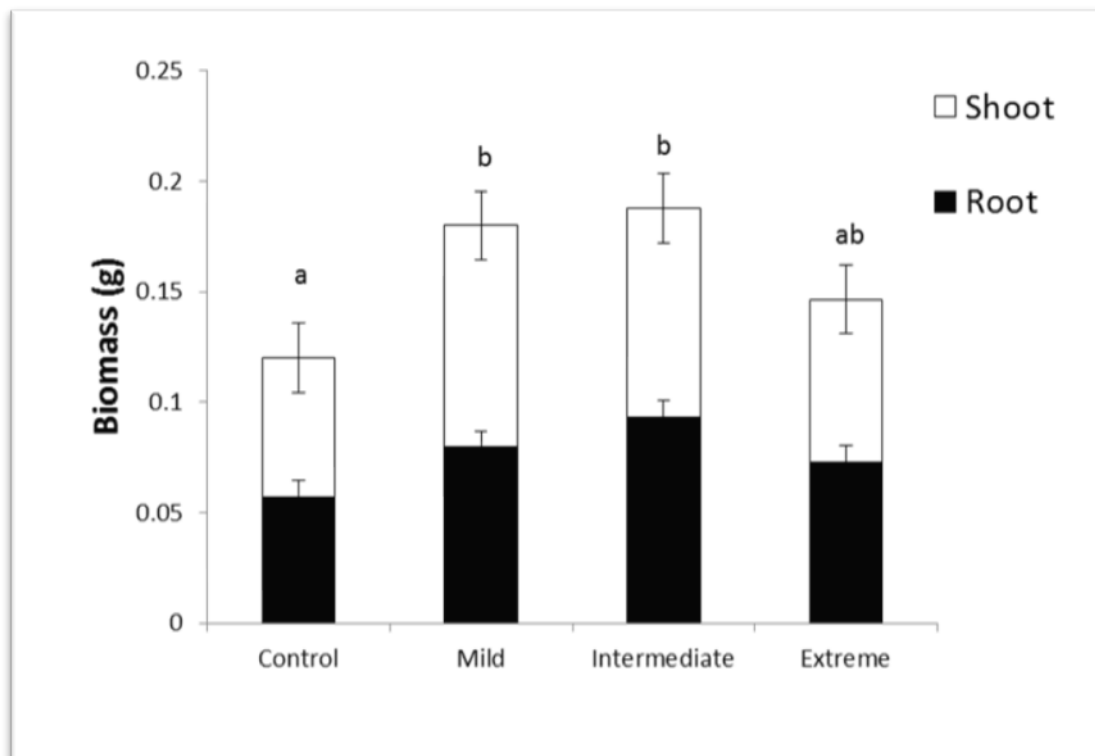


Figure 2. Total biomass (shoot plus root) of *M. arborescens* in each treatment. Medians with standard error

The physiological parameters were affected by CO₂ and temperature. Fv/Fm was lower in Extreme than in the Control (Table 4; Fig. 3), the growth time did not influence this parameter. RLC of leaves in treatment Control, Mild and Intermediate showed a maximum ETR of 6.3, 6.5 and 5.0 μmol respectively at approximately 200 PPFD and treatment Extreme showed a maximum ETR of 4.5 at approximately 100 PPFD and slightly decreasing ETR at higher light intensities (Fig. 4). The ETR was related with treatment (ANCOVA; $F= 6.16$, $p<0.001$), with the treatment Extreme showing lower values than the other treatments.

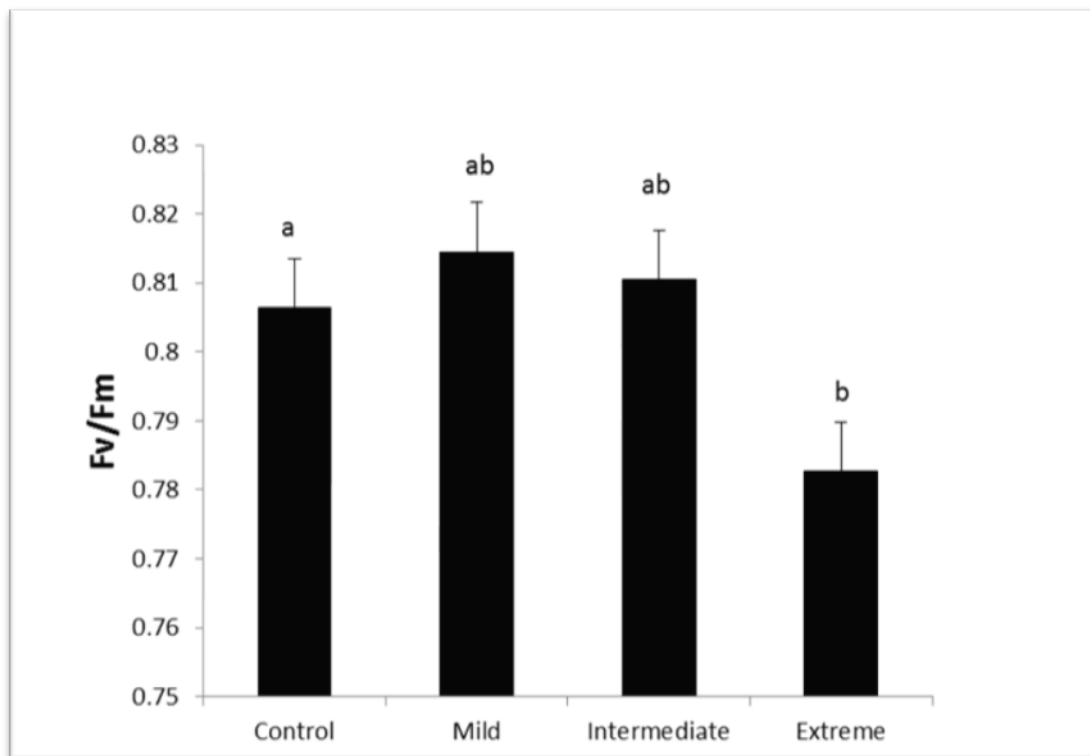


Figure 3. Fv/Fm values of *Montrichardia arborescens* from each CO₂/temperature conditions. Medians with standard error.

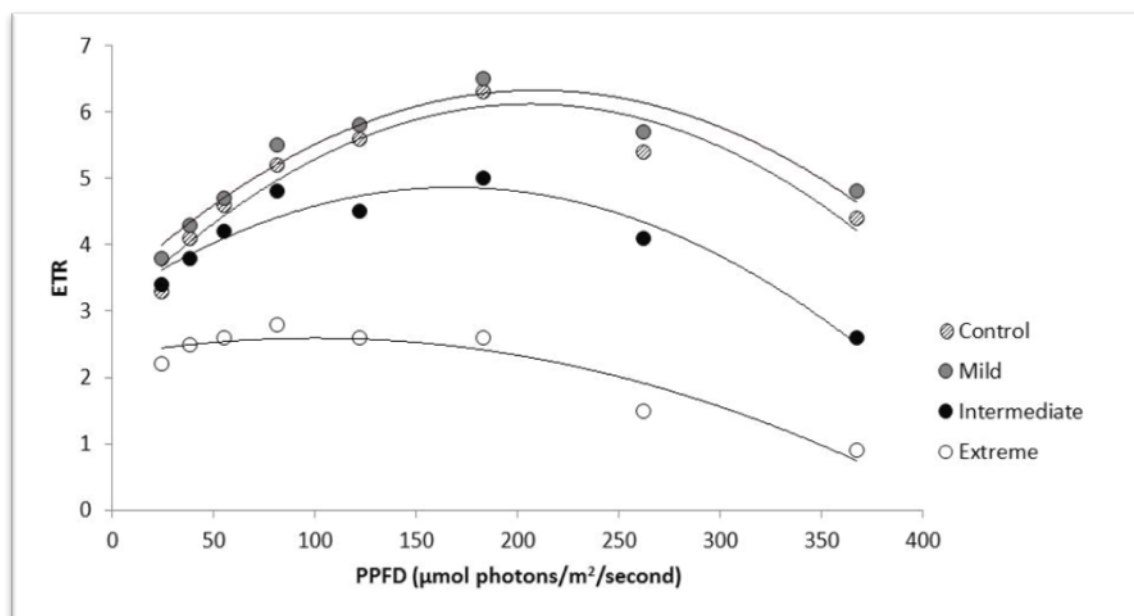


Figure 4. Rapid light curves in the leaves of *M. arborescens* submitted to different temperatures and CO₂ concentrations. PPFD=photosynthetic photon flux density (μmol photons/m²/second).

The total chlorophyll measured on the abaxial and adaxial sides of the leaf did not show significant differences between the treatments ($p>0.05$), as well as the ratio Chl a/ Chl b ($p>0.05$). The minimum value of total chlorophyll on the adaxial side was 19.9 μmol.mm⁻² in treatment intermediate, and the maximum was 42.7 μmol.mm⁻² in the control (Table 5).

Table 5 – Average values of Chlorophyll (μmol.mm⁻²) at adaxial side of the leaf of *Montrichardia arborescens*

Treatment	Chlorophyll a	Chlorophyll b	Total chlorophyll
Control	24.7 ± 4.9	4.2 ± 1.3	28.9 ± 5.3
Mild	26.7 ± 5.0	4.7 ± 2.4	31.5 ± 7.2
Intermediate	23.7 ± 4.6	3.4 ± 1.0	27.2 ± 4.6
Extreme	24.5 ± 4.0	4.1 ± 1.2	28.6 ± 5.0

Discussion

The elevation of CO₂ and temperature influenced the initial growth of *M. arborescens* in our experiment. When exposed to extreme higher CO₂ concentrations and temperatures, the plants showed a lower accumulation of biomass and electron transportation.

The faster development of plants in warmer temperatures may result in substantial shortening of the growth period in some annual species. This results in less time for carbon fixation and biomass accumulation (Rawson 1992, Wheeler *et al.*, 1996, Bowes, 1996). Most studies of terrestrial plants revealed that a CO₂ elevation generally caused greater increases in growth at higher temperatures, beyond the optimal temperatures (Chen *et al.*, 1994). In the present study the exposure of *M. arborescens* to extreme conditions of temperature and CO₂ showed a higher time and velocity of germination than the Control treatment; however the total biomass was similar to that of the Control. Plant ontogeny and morphogenesis are strong functions of temperature, and the relationships are often conveniently summarized in terms of thermal time (Morison and Lawlor, 1999).

Studies with aquatic macrophytes analyzing the effects of the interaction of CO₂ elevation and temperature are still scant. Idso *et al.* (1987) demonstrated that the relative increase in net photosynthesis of *Azolla pinnata* var. *pinnata* and *Eichhornia crassipes* due to CO₂ enrichment was higher during the spring and fall than during winter. Allen *et al.* (1990) reported that there were significant interactive effects of CO₂ and temperature on photosynthesis of *Nymphaea marlic*. Chen *et al.* (1994) showed that the relative increase in *Hydrilla verticillata* growth by 700 ppm was less at 32°C than 15 °C and 25°C. *M. arborescens* showed similar results with a decline in total biomass at 31-33 °C and around 1200 ppm of CO₂ than in treatments with lower temperatures and CO₂ concentration indicating that the analyses of the scenario considering both CO₂ and temperature is more appropriated. Indeed, Idso *et al.* (1987) and Chen *et al.* (1994) demonstrated that the effect of CO₂ enrichment is strongly temperature-dependent.

The rise in temperature leads to the increase in respiration rates, thus affecting the capacity of germination. According to Perez-Garcia and Gonzalez-Benito (2006) temperature accelerates biochemical reactions and metabolism of seeds. This increases the velocity of breakdown of the reserves stored in the supporting tissues which are more rapidly transported and resynthesized in the embryonic axis. As a result the rise of CO₂ reduces the metabolic activity and favors the conservation of seeds of tropical forest species and crops for longer

periods (Khurana and Singh, 2001). This occurs because increasing of CO₂ reduces the metabolic activity and sharply reduces the deterioration and aging of seeds, favoring the maintenance of quality during storage as stated for soybean seeds by several authors (Schmidt 2007; Aguiar, 2010). On the other hand, higher temperatures increase metabolic rates in early germination (Carvalho and Nakagawa, 2000). Aidar *et al.* (2002) noted that when there was a mobilization of the reserves in *Hymenaea courbaril* L. seedlings, and growth occurred primarily at the expense of an internal source of carbon (cotyledons), the effect of elevated CO₂ in the external environment was significantly lower. The cotyledons of monocotyledons like *M. arborescens* are highly modified leaves with a scutellum, specialized to absorb stored reserves from the endosperm, and a coleoptile that serves as a protective cap that covers the part that will become the stem and leaves of the plant. This could influence the effect of CO₂ on the growth of *M. arborescens* since in plants germinated at the all microcosm the seeds remained fixed to the seedlings, eventually mitigating the effect of the external elevation of CO₂.

In contrast with the literature where higher CO₂ concentrations result in the increase of the height of plants in comparison to the control (Poorter, 1993), in the present study *M. arborescens* did not show differences in this parameter between treatments and Control. Ojala *et al.* (2002) found a reduction on shoot length of the emergent macrophyte *Equisetum fluviatile* in response to CO₂ elevation, an enhancing in response of temperature elevation, and a non-significant effect when evaluated the interaction between temperature and CO₂ concentration. Therefore it is recommended to consider the joint effect of factors such as temperature and enrichment CO₂ on plant growth in future climate scenarios.

Effects of elevated CO₂ on carbon allocation between roots and shoots are variable (Bazzaz, 1990, Rogers *et al.*, 1983). In our experiment undetectable changes in carbon allocation by elevated CO₂ might be attributed to relative low nutrient resources present in vermiculite media. The general conclusion of studies on root growth under elevated CO₂ is that the root mass increases (Norby, 1994). Like described for *E. fluviatile* during 5 months of observation (Ojala *et al.*, 2002), in *M. arborescens* a discrete increase in root growth took place when CO₂ concentration was between 600-800 ppm, coupled with elevated temperature, but the response was not pronounced.

The measurements of RLC in leaves exposed to different levels of CO₂ and temperature showed that the potential for photosynthetic activity of PSII decreased when the

CO₂ concentration and temperature were very high, as occurred in the treatment Extreme. Relative ETR is an approximation of the rate of electrons pumped through the photosynthetic chain (Beer *et al.*, 2001), and can provide a reliable assessment of photosynthetic activity, by integrating the leaf's ability to tolerate light fluctuation, as well as reflecting its immediate short-term light history (Schreiber *et al.*, 1997, White and Critchley, 1999). Therefore it may be assumed that the rates of *M. arborescens* photosynthesis are also reduced in the treatments. Wang *et al.* (2012) concluded with a meta-analysis study that the increasing in Fv/Fm of herbaceous and crop species on elevated [CO₂] only occur in elevated temperature, but no effect on woody and non-crop species is related. The Fv/Fm values of *M. arborescens* were between 0.69 and 0.86, indicating that the leaves were healthy, using the standard values established for aquatic macrophytes (Koch *et al.*, 2007). However, the treatment Extreme showed a significant reduction of approximately 3.0% in Fv/Fv values together with the reduction about 60% in ETR indicating that the photosynthetic apparatus may be damaged under such conditions. This tendency probably could be confirmed with increasing time of exposure of plants to treatments.

The elevation of temperature and CO₂ influenced the velocity of germination and the initial development of *M. arborescens*, affecting total biomass and length of roots. Although plants responded more intensively to Mild and Intermediate (600-800 ppm of CO₂), the Extreme treatment (1200 ppm) did not show the same effect. These results are consistent with observations of Hartz-Rubin and DeLucia (2001) studying 14 species of herbaceous plants. The authors noted that increasing CO₂ between 370 and 800 ppm promoted the increase of biomass. Our results are similar to other studies with CO₂ enrichment above 900 ppm that have shown a decrease in plant biomass of wheat (Grotenhuis *et al.*, 1997), and a decline in the photosynthesis rate of cotton (Reddy *et al.*, 1995) and rice (Baker *et al.*, 1990). However, this response is in contrast of the emergent macrophyte *Equisetum fluviatile* in which maximum biomass was influenced by increasing in temperature and not by CO₂ (600-700 ppm) nor the increasing in temperature together with CO₂. The different responses between *M. arborescens* and *E. fluviatile* may be explained by morphology because *M. arborescens* is a tree-like plant, tall and with big leaves, and *E. fluviatile* has slender side branches with scale leaves.

In the Amazon floodplain with low nutrient levels the quantity of floating plants and herbaceous shoreline vegetation is low. In extremely nutrient-poor and acid rivers aquatic macrophytes may only be represented by small patchy stands of *Montrichardia arborescens*

along the margins of the floodplain forest (Junk and Howard-Williams, 1984). Climate models predict that from the middle of this century on, the Amazon rainforest may give place to a *cerrado-type* vegetation (Oyama and Nobre, 199; Jenkins *et al.*, 2005) or semi-deciduous forest (Malhi *et al.*, 2009a). Under such conditions the Amazonian wetlands may become a refuge for species of humid forest lowering the effects of decreased precipitation (Piedade *et al.*, 2013). However, our results with *M. arborescens* indicate that the elevation of CO₂ to 1200 ppm and temperature may result in extreme reductions of aquatic macrophytes in these areas, since this is the most abundant species in the igapó system (Lopes *et al.*, 2014). This could result in a drastic change in the whole floristic composition of these areas.

Conclusions

The elevation of CO₂ and temperature influenced the initial growth of *M. arborescens*, resulting in a lower accumulation of biomass and electron transport. If this result was a standard for other aquatic macrophytes, this would indicate important implications for Amazonian wetlands, and also for wetlands worldwide. Aquatic macrophytes are the main primary producers in this environment, and they are pioneers in the constant successional processes in wetlands. In extremely nutrient-poor and acid water like igapó, the aquatic macrophyte vegetation may be reduced to few species. An elevation of CO₂ concentrations to 1,200 ppm and higher temperatures may result in a drastic reduction of these plants. This implies that a reduction of carbon sequestration by the herbaceous vegetation may be expected, leading to an alteration in the local and regional carbon cycles.

The aquatic herbaceous plants are very important in the carbon and nutrient budgets of wetlands. The igapó ecosystem is an important area for the regional economy owing to activities in fisheries, forestry, and tourism. The reduction of the biomass of aquatic macrophytes could certainly have a negative impact on the biota and the whole ecosystem, since these plants are very productive and provide shelter and food for many animals. Therefore, long-term investigations of interactions of CO₂ and temperature effects, like the proposed IPCC scenarios, are needed to clarify the effects on Amazonian aquatic macrophytes and the whole ecosystem.

Acknowledgments

This work is supported by INCT ADAPTA - Brazilian Ministry of Science, Technology and Innovation (CNPq/FAPEAM), and the Universal CNPq (14/2009; 14/2011). The authors thank the Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) for Aline Lopes Doctor's Grant; MAUA Research Group, Laboratório de Ecofisiologia e Evolução (LEEM) for logistical and technical support.

References

- Aguiar RW, Faroni LRA, Guedes RN, Sousa AH, Rozado AF. 2010. Toxicidade da combinação de dióxido de carbono e fosfina sob diferentes temperaturas para *Tribolium castaneum*. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental* 14:881-886.
- Aidar MPM, Martinez CA,; Costa AC, Costa PMF, Dietrich SMC, Buckeridge MS. 2002. Effect of Atmospheric CO₂ Enrichment on The Establishment of Seedlings of Jatobá, *Hymenaea courbaril* L. *Biota Neotropica* 2(1):1-10.
- Allen SG, Idso SB, Kimball B A. 1990. Interactive effects of CO₂ and environment on net photosynthesis of Water-Lily. *Agriculture, Ecosystems & Environment* 30:81-88.
- Baker JT, Allen LH Jr, Boote KJ. 1990. Growth and yield responses of rice to carbon dioxide concentration. *Journal of Agricultural Science* 115:313-320.
- Bazzaz, FA. 1990. The response of natural ecosystems to the rising global CO₂ levels. *Annual Review of Ecology and Systematics* 21:67-96.
- Beer S, Björk M, Gademann R, Ralph PJ. 2001. Measurement of photosynthesis in seagrasses. In: Short, FT, Coles, R. eds., *Global Seagrass Research Methods*. Elsevier Publishers: The Netherlands, pp.183- 198.
- Bolhár-Nordenkampf HR, Götzl M. 1992. Chlorophyllfluoreszenz als Indikator der mit Seehöhe zunehmenden Streßbelastung von Fichtennadeln. *FBVA Berichte Schriftenreihe der Forstlichen Bundesveranstaltungen*. 67:119-131.
- Bolhár-Nordenkampf HR, Öquist G. 1993. Chlorophyll fluorescence as a tool in photosynthesis research. In: Hall DO, Scurlock JMO, Bolhár-Nordenkampf HR, Leegood

RC, Long SP eds. *Photosynthesis and Production in a Changing Environment*. Chapman and Hall, pp.193–206.

Bowes G. 1993. Facing the Inevitable: Plants and Increasing Atmospheric CO₂ Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology 44:309-332.

Bowes G. 1996. Photosynthetic responses to changing atmospheric carbon dioxide concentration. In: Baker NR ed. *Photosynthesis and the environment*. Kluwer Academic Publisher. Dordrecht. pp.387-407.

Carvalho NM, Nakagawa J. 2000. *Sementes: ciência, tecnologia e produção*. Jaboticabal: FUNEP. 588.

Chen DX, Coughenour MB, Eberts D, Thullen JS. 1994. Interactive effects of CO₂ enrichment and temperature on the growth of dioecious *Hydrilla verticillata*. Environmental and Experimental Botany 34:345–353.

Cochrane MA, Laurance WF. 2002. Fire as a large-scale edge effect in Amazonian forests. Journal of Tropical Ecology 18(3):311-325.

De Simone O, Müller E, Junk WJ, Schmidt W. 2002. Adaptations of Central Amazon tree species to prolonged flooding: root morphology and leaf longevity. Plant Biology 4:515–522.

Edwards AJ. 1995. Impact of climatic change on coral reefs, mangroves, and tropical seagrass ecosystems. In: Eisma, D. ed. *Climate Change: Impact on Coastal Habitation*. CRC Press, Boca Raton. 209-234.

Grandis A, Godoi S, Buckeridge S. 2010. Respostas fisiológicas de plantas amazônicas de regiões alagadas às mudanças climáticas globais. Revista Brasileira de Botânica 33:1–12.

Grotenhuis TP, Bugbee B. 1997. Super-optimal CO₂ reduces seed yield but not vegetative growth in wheat. Crop Science 37:1215–1222.

Hartz-Rubin JS, DeLucia EH. 2001. Canopy development of a model herbaceous community exposed to elevated atmospheric CO₂ and soil nutrients. Physiologia Plantarum 113: 258-266.

- Hess LL, Melack JM, Novo E M, Barbosa CC, Gastil M. 2003. Dual-season mapping of wetland inundation and vegetation for the central Amazon basin. *Remote Sensing of Environment* 87(4):404-428.
- Houghton JT, Ding Y, Griggs DJ, Nogueira M, van der Linden PJ, Xiaosu D, eds. 2001. *Climate Change 2001. The Scientific basis*. Cambridge, UK: Cambridge University Press.
- Idso SB, Kimball BA, Anderson MG, Mauney J R. 1987. Effects of Atmospheric CO₂ enrichment on plant growth: the interactive role of air temperature. *Agriculture, ecosystems & environment* 20:1-10.
- IPCC. 2007. Summary for Policymakers of the Synthesis Report of the IPCC Fourth Assessment Report DRAFT COPY 16 NOVEMBER 2007 23:04 – Subject to final copyedit
- Jenkins G, Betts R, Collins M, Griggs D, Lowe J, Wood R. 2005. *Stabilizing climate to avoid dangerous climate change – a summary of relevant research at the Hadley Centre*. Exeter, UK: Department for Environment Food and Rural Affairs, Met Office Hadley Centre, 16.
- Junk W J, Howard-Williams C. 1984. Ecology of aquatic macrophytes in Amazonia. In: Sioli H. ed. *The Amazon: limnology and landscape ecology of a mighty tropical river and its basin*. Dordrecht: Dr. W. Junk Publishers 10:269-293.
- Junk WJ, Piedade MT. 1997. Plant life in the floodplain with special reference to herbaceous plants. In: Junk WJ, ed. *The Central Amazon Floodplain*. Berlin:Springer-Verlag. pp.147–81.
- Junk WJ, Piedade MTF. 1993. Biomass and primary production of herbaceous plants communities in the Amazon floodplain. *Hydrobiologia* 263:155-162.
- Khurana E, Singh JS. 2001. Ecology of seed and seedling growth for conservation and restoration of tropical dry forest: a review. *Conservation Biology* 28 (1): 39-52.
- Koch MS, Schopmeyer SA, Kyhn-Hansen C, Madden CJ, Peters JS. 2007. Tropical seagrass species tolerance to hypersalinity stress *Aquatic Botany* 86:14–24
- Krause GH, Weis E. 1991. Chlorophyll fluorescence and photosynthesis: The Basics. *Annual review of plant biology* 42:313–349.

Labouriau, L.G. 1983. A germinação das sementes. Organização dos Estados Americanos. Programa Regional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico. Série de Biologia. Monografia 24.

Lewis, S. L., Brando, P. M., Phillips, O. L., van der Heijden, G. M., & Nepstad, D. (2011). The 2010 amazon drought. *Science*, 331(6017), 554-554.

Lins ALFA, Oliveira PL. 1994. Origem, aspectos morfológicos e anatômicos das raízes embrionárias de *Montrichardia linifera* (arruda) Schott (Araceae). B. Museu Paraense Emílio Goeldi, Série Bot. 10(2):221-236.

Lopes A. Piedade MTF. 2012. Distribuição, biomassa e variação morfológica entre populações do gênero *Montrichardia* Crueg (Araceae) na Bacia Amazônica. In: *I Congresso Brasileiro de Áreas Úmidas*, Cuiabá: Anais do I Congresso Brasileiro de Áreas Úmidas.

Lopes, A. Wittmann, F. Schöngart, J., Piedade, M.T.F. 2014. Herbáceas aquáticas em seis igapós na amazônia central: composição e diversidade de gêneros. *Revista Geográfica Acadêmica* (in press).

Maguire, J. D. Speed of germination-aid in selection and evaluation of seedling emergence and vigour. *Crop Science*, Madison, v. 2, n. 1, p. 176-177, 1962.

Malhi Y, Aragão L E, Galbraith D, Huntingford C, Fisher R, Zelazowski P, ... & Meir P. 2009a. Exploring the likelihood and mechanism of a climate-change-induced dieback of the Amazon rainforest. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 106(49):20610-20615.

Malhi, Y., Aragão, L. E. O., Metcalfe, D. B., Paiva, R., Quesada, C. A., Almeida, S., ... & Teixeira, L. M. 2009b. Comprehensive assessment of carbon productivity, allocation and storage in three Amazonian forests. *Global Change Biology*, 15(5), 1255-1274.

Maxwell, K., & Johnson, G. N. (2000). Chlorophyll fluorescence--a practical guide. *Journal of Experimental Botany*, 51(345), 659-68.

Morison J, Lawlor D. 1999. Interactions between increasing CO₂ concentration and temperature on plant growth. *Plant, Cell and Environment* 44:659-682.

- Nobre CA, Sampaio G, Salazar L. 2007. Mudanças climáticas e Amazônia. *Ciência e Cultura* 59:22-27.
- Norby RJ. 1994. Issues and perspectives for investigating root responses to elevated atmospheric carbon dioxide. *Plant and Soil* 165:9–20.
- Ojala A, Kankaala P, Tulonen T. 2002. Growth response of *Equisetum fluviatile* to elevated CO₂ and temperature. *Environmental and Experimental Botany* 47:157–171
- Oyama M D, Nobre CA. 1999. A new climate-vegetation equilibrium state for tropical South America. *Geophysical Research Letters* 30(23):2199-2203.
- Pantoja PO. 2011. Comparação ecofisiológica e de atributos de crescimento das herbáceas aquáticas *Montrichardia linifera* (Arruda.) Schott e *M. Arborescens* (L.) Schott em tipologias alagáveis contrastantes na Amazônia central. (Master thesis in Ecology) INPA: Manaus 70p.
- Parolin, P. 2001. Morphological and physiological adjustments to waterlogging and drought in seedlings of Amazonian floodplain trees. *Oecologia*, 128: 326-335.
- Pepper WJ, Barbour W, Sankovski A, Braaz B. 1998. No-policy greenhouse gas emission scenarios: revisiting IPCC 1992. *Environmental Science & Policy* 1(4):289-311.
- Perez-Garcia F, Gonzalez-Benito M E. 2006. Seed germination of five *Helianthemum* species: Effect of temperature and presowing treatments, *Journal of Arid Environments* 65(01):688-693.
- Piedade MTF, Junk W, D'Ângelo SA, Wittmann F, Schöngart J., Barbosa, KMDN, Lopes A. 2010. Aquatic herbaceous plants of the Amazon floodplains: state of the art and research needed. *Acta Limnologica Brasiliensia* 22(2):165-178.
- Piedade MTF, Junk WJ. 2000. Natural herbaceous plant communities in the Amazon floodplains and their use. In Junk WJ, Ohly J, Piedade MTF, Soares MGM. eds. *The Central Amazon Floodplain: actual use and options for a sustainable management*. [S.l.]: Backhuys Publishers b. pp.269-290.
- Piedade MTF, Schöngart J, Wittmann F, Parolin, P., Junk, W. 2013. Impactos da inundação e seca na vegetação de áreas alagáveis amazônicas. In: Borma LS, Nobre C. org. *Secas na Amazônia: causas e consequências*. São Paulo: Oficina de Textos pp.268-305.

Piedade MTF, Worbes M, Junk WJ. 2001. Geo-ecological controls on elemental fluxes in communities of higher plants in Amazonian floodplains. In: McClain ME, Victoria RL, Richey J. org. *The Biogeochemistry of the Amazon Basin*. Oxford: Oxford University Press. pp.209-233.

Poorter H, 1993. Interspecific variation in the growth reduction to long-term elevated CO₂ in winter wheat. *Vegetatio* 104/105:77–97.

Rawson HM. 1992. Plant responses to temperature under conditions of elevated CO₂. *Australian Journal of Botany* 40(5):473–490.

Reddy VR, Reddy KR, Hodges HF. 1995. Carbon-dioxide enrichment and temperature effects on cotton canopy photosynthesis, transpiration, and water-use efficiency. *Field Crops Research* 41: 13–23.

Rogers HH, Heck WW, Heagle AS. 1983. A field technique for the study of plant responses to elevated carbon dioxide concentrations. *Journal of the Air Pollution Control Association* 33:42–44.

Schimel D, Enting IG, Heimann M, Wigley TML, Raynaud D, Alves D, Siegenthaler U. 2000. CO₂ and the Carbon Cycle (Extracted from the Intergovernmental Panel on Climate Change (IPCC) Report, “Climate Change, 1994”). In: Wigley TML, Schimel DS, eds. *The Carbon Cycle*. Cambridge: Cambridge University Press, pp.1–37.

Schmidt, L. 2007. Tropical forest seed. Dinamarca: DFSC, pp.421.

Schreiber U, Gademann R, Ralph PJ, Larkum AWD. 1997. Assessment of photosynthetic performance of *Prochloron* in *Lissoclinum patella* by in situ and in hospite chlorophyll fluorescence measurements. *Plant Cell Physiol* 38:945–951.

Short F, Neckles H. 1999. The effects of global climate change on seagrasses. *Aquatic Botany* 63:169–196.

Sioli H. 1984. The Amazon and its main affluents: hydrography, morphology of the river courses, and river types. In: *The Amazon*. Netherlands:Springer pp.127-165.

Systat Inc. 2007. SYSTAT 12 SYSTAT Software Inc.

Tian H, Mellilo JM, Kicklighter DW, McGuire AD, Helfrich III JVK, Moore III B, Vörösmarty CJ. 1998. Effect of interannual climate variability on carbon storage in Amazonian ecosystems. *Nature* 396:664–667.

Turcq B, Cordeiro RC, Sifeddine A, Simoes Filho FF, Abrao JJ, Oliveira FBO, Silva AO, Capitaneo JL, Lima FAK. 2002. Carbon storage in Amazonia during the LGM: data and uncertainties. *Chemosphere* 49:821–835

Vasconcelos, S. S. D., Fearnside, P. M., Graça, P. M. L. D. A., Nogueira, E. M., Oliveira, L. C. D., & Figueiredo, E. O. (2013). Forest fires in southwestern Brazilian Amazonia: Estimates of area and potential carbon emissions. *Forest Ecology and Management*, 291, 199-208

Wahid A, Gelani S, Ashraf M, Foolad MR. 2007. Heat tolerance in plants: an overview. *Environmental and Experimental Botany* 61:199–223.

Waldhoff D, Junk W, Furch B. 2000. Fluorescence Measurements as Indicator of Adaptation Strategies in an Abundant Tree Species from Central Amazonian Floodplain Forests. In: Lieberei R, Bianchi H, Boehm V, Reisdorff C. eds. *Neotropical Ecosystems: Proceedings of the German-Brazilian Workshop*, Hamburg Geesthacht: GKSS-Forschungszentrum pp.573-577

Wang D, Heckathorn SA, Wang X, Philpott SM. 2012. A meta-analysis of plant physiological and growth responses to temperature and elevated CO₂. *Oecologia* 169:1–13.

Wetzel RG, Grace JB, 1983. Aquatic plant communities. In: Lemon ER ed. CO₂ and Plants: The Response of Plants to Rising Levels of Atmospheric Carbon Dioxide. AAAS Selected Symposium 83, Boulder, Colorado pp. 223–280.

Wheeler TR, Batts G, Ellis R, Hadley P, Morison J, 1996. Growth and yield of winter wheat (*Triticum aestivum*) crops in response to CO₂ and temperature *The Journal of Agricultural Science* 127(01):37-48.

White AJ, Critchley C, 1999. Rapid light curves: a new fluorescence method to assess the state of the photosynthetic apparatus. *Photosynthesis Research* 59(1):63-72.

SÍNTESE

Os diversos parâmetros ambientais e caracteres biológicos aferidos demonstraram a clara separação das espécies *M. linifera* e *M. arborescens*, contradizendo recentes estudos morfológicos pontuais (Lins, 1994; Lins & Oliveira, 1995; Silva *et al.* 2012) e corroborando Mirouze *et al.* (2012). Entretanto, não foi possível determinar a exata relação entre a variedade *M. arborescens* var. *aculeata* e as outras duas espécies. O alto índice de diferenciação genética (RST) entre as espécies *M. linifera* e *M. arborescens* aliado à interpretação da rede de haplótipos, permitiu confirmar a separação destas duas espécies, o que se mostrou compatível com a separação morfológica propiciada pela análise do número de nervuras apicais secundárias (Mayo, 1987).

Os fatores hidroquímicos parecem influenciar a distribuição das espécies de *Montrichardia* em escala regional (Amazônia). Enquanto *M. linifera* ocorre principalmente em rios de água branca (várzeas), *M. arborescens* ocorre em rios de água preta (igapós) e riachos de terra-firme. As variações nas características morfológicas intraespecíficas em resposta à transparência da água e ao pH, juntamente com os valores de Fv/Fm e o nível de inundação das parcelas, sugerem a ocorrência de plasticidade fenotípica ao nível morfológico e fisiológico, que permite que as espécies ocupem corpos hídricos com diferentes características físico-químicas. Além disso, o gradiente longitudinal de fertilidade do solo da Amazônia Ocidental para a Amazônia Oriental influenciou a densidade de *M. arborescens*, de forma similar ao padrão descrito para espécies de árvores na Floresta Amazônica (Ter Steege *et al.*, 2006).

Em uma macro-escala (Neotropical), a precipitação e temperatura foram os fatores que mais influenciaram a distribuição das espécies. Na Bacia Amazônica estes dois parâmetros são apontados com os principais fatores que serão alterados devido às mudanças climáticas decorrentes da elevação da concentração de CO₂ na atmosfera (Houghton *et al.*, 2001). A simulação da elevação de temperatura e CO₂ nos microcosmos permitiram inferir os efeitos das mudanças climáticas sobre *M. arborescens*. Esta espécie apresentou uma menor acumulação de biomassa e menor taxa de transporte de elétrons quanto exposta a níveis extremos de temperatura e CO₂. Caso esse resultado seja um padrão para outras macrófitas aquáticas, ele indica importantes implicações para as áreas alagáveis, não somente Amazônicas, já que as macrófitas aquáticas possuem uma ampla distribuição em todos os continentes.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Allendorf, F. W.; Luikart, G. 2007. Conservation and the genetics of populations Malden: Blackwell Publishing.
- Barendregt, A.; Bio, A.M.F. 2003. Relevant variables to predict macrophytes communities in running waters. *Ecological Modelling*, 160: 205-217.
- Bawa, K. 1990. Plant-pollinator interactions in tropical rain forests. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 21: 399-422.
- Bellard, C.; Bertelsmeier, C.; Leadley, P.; Thuiller, W.; Courchamp, F. 2012. Impacts of climate change on the future of biodiversity. *Ecology letters*, 15(4), 365-377.
- Boeger, M.R.T.; Poulson, M.E. 2003. Morphological adaptations and photosynthetic rates of amphibious *Veronica anagallisaquatica* L.(Scrophulariaceae) under different flow regimes. *Aquatic Botany*, 75(2): 123-135.
- Bradshaw, A. D. 1965. Evolutionary significance of phenotypic plasticity in plants. *Advances in Genetics*, 13, 115-155.
- Brauner, C. J.; Ballantyne, C. L.; Vijayan, M. M; Val, A. L. 1999. Crude oil affects air-breathing frequency, blood phosphate levels and ion regulation in an air-breathing teleost fish, *Hoplosternum littorale*. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 123C, 127- 134.
- Camargo, A.F.M.; Pezzato, M.M.; Henry-Silva, G.G. 2003. Fatores limitantes à produção primária. In: Thomaz SM, Bini LM. eds. *Ecologia e manejo de macrófitas aquáticas*. Maringá: Eduem pp.59-83.
- Cancian, L. F.; Camargo, A. F. M.; Silva, G. G. 2009. Crescimento de *Pistia stratiotes* em diferentes condições de temperatura e fotoperíodo. *Acta Botanica Brasilica*, 23(2):552-557.
- Cardoso, L. R.; Martins, D.; Mori, E.S.; Terra, M.A. 2005. Variabilidade genética entre populações de *Pistia stratiotes*. *Planta Daninha*, 23(2):181-185.
- Cardoso, L. R.; Martins, D.; Terra, M. A. 2003. Sensibilidade a herbicidas de acessos de aguapé coletados em reservatórios do Estado de São Paulo. *Planta Daninha*, 21:61-67.

Chambers, P. A.; Lacoul, P.; Murphy, K. J.; Thomaz S. M. 2008. Global diversity of aquatic macrophytes in freshwater. *Hydrobiologia*, 595: 9-26.

Cícero, E.A.S.; Pitelli, R.A.; Sena, J.A.D.; Ferraudo, A.S. 2007. Variabilidade genética e sensibilidade de acessos de *Pistia stratiotes* ao herbicida glyphosate. *Planta daninha*, 25(3): 579-587.

Cook, C.D.K. 1985. Range extensions of aquatic vascular plant species. *Journal of Aquatic Plant Management*, 23:1-6.

CRIA- Centro de Referência em Informação Ambiental. Species links. Disponível em: http://sblink.cria.org.br/centralized_search?criaLANG=pt Acesso em: 14 jan. 2014.

Crispo, E.; Moore, J. S.; Lee-Yaw, J. A.; Gray, S. M.; Haller, B. C. 2011. Broken barriers: Human-induced changes to gene flow and introgression in animals. *BioEssays*, 33(7):508-518.

Croat, T.B.; Fernández-Concha, G.C.; González, L.I. 2005. *Montrichardia arborescens* (L.) Schott (Araceae) newly reported for Mexico. *Aroideana*, 28: 86–87.

D'Angelo, S. A. 2009. *Colonização Vegetal Em Áreas De Sedimentação Recente Na Várzea Da Amazônia Central*. Dissertação de Mestrado, Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia/ Fundação Universidade do Amazonas, Manaus, Amazonas.

Darwin, C. 1859. *The Origin of Species by Means of Natural Selection*, 1st edn. John Murray, London.

De Simone, O.; Müller, E.; Junk, W.J.; Schmidt, W. 2002. Adaptations of Central Amazon tree species to prolonged flooding: Root morphology and leaf longevity. *Functional Plant Biology*, 29: 1025-1035.

Dias-Filho, M.B. 2005. Opções forrageiras para áreas sujeitas a inundação ou alagamento temporário. In: Pedreira, C.G.S.; Moura, J.C. de; da Silva, S.C.; Faria, V.P. de (Ed.). 22º Simpósio sobre manejo de pastagem. *Teoria e prática da produção animal em pastagens*. Piracicaba: FEALQ, p.71-93.

Dobzhansky, T. 1950. Evolution in the tropics. *American Scientist*, 38(2):209-221.

Eguiarte, L.E., Perez-Nasser, L.; Piñero, D. 1992. Genetic structure, outcrossing rate and heterosis in *Astrocaryum mexicanum* (tropical palm): implications for evolution and conservation. *Heredity*, 69:217-228.

Esteves, F.A. 1998. *Fundamentos de limnologia. Interciência*. 2ª ed., Rio de Janeiro, 602p.

Fedorov, A.A. 1966. The structure of the tropical rain forest and speciation in the humid tropics. *Journal of Ecology*. 54:1-11.

Feeley, K. J.; Malhi, Y.; Zelazowski, P.; Silman, M. R. 2012. The relative importance of deforestation, precipitation change, and temperature sensitivity in determining the future distributions and diversity of Amazonian plant species. *Global Change Biology*, 18(8): 2636-2647.

Frankham, R., Ballou, J. D.; Briscoe, D. A. 2002. *Introduction to Conservation Genetics*. Cambridge: Cambridge University Press.

Fuzeto, A.P.; Lomônaco, C. 2000. Potencial plástico de *Cabrlea canjerana* subsp. *polytricha* (Adr. Juss.) Penn. (Meliaceae) e seu papel na formação de ecótipos em área de cerrado e vereda, Uberlândia, MG. *Revista Brasileira de Botânica*, 23:169-176.

Guichoux, E.; Lagache, L.; Wagner, S.; Léger, P.; Petit, R. J. 2011. Two highly validated multiplexes (12-plex and 8-plex) for species delimitation and parentage analysis in oaks (*Quercus* spp.). *Molecular Ecology Resources*, 11(3):578-585.

Guisan, A.; Thuiller, W.; 2005. Predicting species distribution: offering more than simple habitat models. *Ecological letters* 8: 993-1009.

Hamrick, J. L. 1982. Plant population genetics and evolution. *American Journal of Botany*, 1685-1693.

Henry-Silva, G. G.; Camargo, A. F. M. 2005. Interações ecológicas entre as macrófitas aquáticas flutuantes *Eichhornia crassipes* e *Pistia stratiotes*. *Hoehnea*, 32(3), 445-452.

Herendeen, P.; Crepet, W.; Dilcher, D., 1992. The fossil history of the Leguminosae: Phylogenetic and biogeographic implications. In: Herendeen P, Dilcher, D. (Eds.), *Advances in Legume Systematics, Part 4. The Fossil Record*, Kew Publishing, Surrey, UK, pp. 303–316.

- Herrera, F. A.; Jaramillo, C. A.; Dilcher, D. L.; Wing, S. L.; Gomez-N. C. 2008. Fossil Araceae from a Paleocene neotropical rainforest in Colombia. *American Journal of Botany*, 95:1569–1583.
- Hewitt, G. 2000. The genetic legacy of the Quaternary ice ages. *Nature*, 405(6789), 907-913.
- Hoffmann, A. A.; Sgrò, C. M. 2011. Climate change and evolutionary adaptation. *Nature*, 470(7335), 479-485.
- Hoorn, C. 2006. The birth of the mighty Amazon. *Scientific American*, 294(5), 52-59.
- Hoorn, C.; Wesselingh, F. P.; Ter Steege, H.; Bermudez, M. A.; Mora, A.; Sevink, J. *et al.* 2010. Amazonia through time: Andean uplift, climate change, landscape evolution, and biodiversity. *Science*, 330(6006), 927-931.
- Houghton, J.T.; Ding, Y.; Griggs, D.J; Noguera, M.; van der Linden, P.J.; Xiaosu, D. 2001. *Climate Change 2001. The Scientific basis*. Cambridge, UK: Cambridge University Press.
- Humphries, P. 1996. Aquatic macrophytes, macroinvertebrate associations and water levels in a lowland Tasmanian river. *Hydrobiologia*, 321(3), 219-233.
- IPCC, 2013: Climate Change 2013: The Physical Science Basis. Contribution of Working Group I to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change [Stocker, T. F., D. Qin, G.-K. Plattner, M. Tignor, S. K. Allen, J. Boschung, A. Nauels, Y. Xia, V. Bex and P. M. Midgley (eds.)]. Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom and New York, NY, USA. http://www.climatechange2013.org/images/report/WG1AR5_TS_FINAL.pdf
- Junk, W. J. ; Piedade, M. T. F. ; Lourival, R. ; Wittmann, F. ; Kandus, P. ; Lacerda, L. D. *et al.* 2014. Brazilian wetlands: their definition, delineation, and classification for research, sustainable management, and protection. *Aquatic Conservation* (Print), 24:5-22.
- Junk, W. J.; Piedade, M. T. F. 1997. Plant life in the floodplain with special reference to herbaceous plants. In: Junk, W. J., (Ed.) *The Central Amazon floodplain: Ecological Studies* Berlin: *Springer*, 126:147-185.
- Junk, W. J.; Mello, J. A. S. N. 1990. Impactos ecológicos das represas hidrelétricas na bacia amazônica brasileira. *Estudos avançados*, 4(8); 126-143 .

Junk, W.J. 1989. Flood tolerance and tree distribution in central Amazonian floodplains. In: Holm-Nielsen LB, Nielsen IC, Balslev H (Ed.) *Tropical Forests: botanical dynamics, speciation and diversity*. Academic Press, London, 47-64.

Junk, W.J. 1997. Structure and function of the large Central Amazonian river-floodplains: Synthesis and discussion. In: Junk, W. J., (Ed.) *The central Amazon Floodplain: Ecology of a pulsing System*. Berlin: *Springer*, 126:455-472.

Junk, W.J.; Bayley, P.B.; Sparks, R.E. 1989. The flood pulse concept in river-floodplain systems. In: DOGE, D.P.(Ed.). *Proc. Int. Large River Symp (LARS) – Can. Spec. Publ. Fish. Aquat. Sci.*, 106:110-127.

Junk, W.J.; Piedade, M. T.F.; Schöngart, J; Cohn-Haft, M.; Adeney, J. M.; Wittmann, F. 2011 A Classification of Major Naturally-Occurring Amazonian Lowland Wetlands. *Wetlands*, 31:623-640

Kasuga, M.; Liu, Q.; Miura, S.; Yamaguchi-Shinozaki, K.; Shinozaki, K. 1999. Improving plant drought, salt, and freezing tolerance by gene transfer of a single stress-inducible transcription factor. *Nature biotechnology*, 17(3), 287-291.

Kozlowski, T.T. 1997. Responses of woody plants to flooding and salinity. *Tree Physiology Monograph*, 1: 1-29.

Larcher, W. 2000. *Ecofisiologia Vegetal*, São Carlos: Rima, 531pp.

Lins, A.L. 1994. Aspectos morfológicos e anatômicos de raízes do gênero *Montrichardia* Crueg (Araceae). M.Sc. dissertation, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 93 pp. Porto Alegre.

Lins, A.L.F.A.; Oliveira, P.L. 1994. Origem, aspectos morfológicos e anatómicos das raízes embrionárias de *Montrichardia linifera* (Arruda) Schott (Araceae). *Boletim do Museu Paraense Emílio Goeldi, Série Botânica*; 10: 221–236.

Lopes, A.; Piedade, M.T.F. 2012. Distribuição, biomassa e variação morfológica entre populações do gênero *Montrichardia* Crueg (Araceae) na Bacia Amazônica. In: *I Congresso Brasileiro de Áreas Úmidas*, Cuiabá: Anais do I Congresso Brasileiro de Áreas Úmidas.

- Lopes, A.; Rosa-Osman, SM.; Piedade, MTF. 2009. Effects of crude oil on survival, morphology, and anatomy of two aquatic macrophytes from the Amazon floodplains. *Hydrobiologia*, 639(1); 295-305.
- Lortie, C.J.; Aarssen, L.W. 1996. The specialization hypothesis for phenotypic plasticity in plants. *International Journal of Plant Science*, 157:484-487.
- Lytle, D. A.; Poff, N. L. 2004. Adaptation to natural flow regimes. *Trends in Ecology and evolution*, 16(2): 94-100.
- Madsen, T.V.; Hahn, P.; Johansen, J. 1998. Effect of inorganic carbon supply on the nitrogen requirement of two submerged macrophytes, *Elodea Canadensis* and *Callitriche cophocarpa*. *Aquatic Botany*, 62: 95-106.
- Martins, D.; Cardoso, L.R.; Mori, E.S.; Tanaka, R.H.. 2003. Caracterização genética de acessos de egéria (*Egeria* spp.) coletados no Estado de São Paulo. *Planta Daninha*, 21: 1-6.
- Matesanz, S.; Horgan-Kobelski, T.; Sultan, S. E. 2012. Phenotypic plasticity and population differentiation in an ongoing species invasion. *PloS one*, 7(9), e44955.
- Mayo, S.J.; J. Bogner, Boyce, P.C. 1997 . The genera of Araceae. Royal Botanic Gardens, Kew, UK.
- Meffe, G. K.; Carroll, C. R. 1997. *Principles of Conservation Biology*. Sunderland: Sinauer.
- Melack, J.; Forsberg, G. B. R. 2001. Biogeochemistry of Amazon floodplain lakes, p 235-276. In: Mcclain, .M. E.; Victoria, R.; Richey, J. E. (eds.). *The Biogeochemistry of the Amazon Basin and its Role in a Changing World*. Oxford University Press, New York.
- Mirouze, E.; Staquet, A.; Vezy, R. 2012. Morphometric and morphological analyses of leaves in two species of Araceae: *Montrichardia linifera* and *Montrichardia arborescens* among different French Guiana populations, *Journal of Ecofog*, 3:1–15.
- Murphy, K.J. 2002. Plant communities and plant diversity in softwater lakes if northern Europe. *Aquatic Botany*, 73:287-324.
- Nanson, A. 1993. Gestion des ressources génétiques forestières. *Annales de Gembloux*, 99:13-36.

- Neiff, J.J.; Poi de Neiff, A.S.G. 2003. Connectivity processes as a basis for the management of aquatic plants. In: Thomaz, S.; Bini, L.M. *Ecologia e Manejo de Macrófitas Aquáticas*. Nupélia - Maringá (SC). Eduem, Maringá, 39-58.
- Nogueira, F.; Couto, E.G. 2004. Amostragem em planícies de inundação. In: C.E. de M. Bicudo & D. de C. Bicudo (Ed.). *Amostragem em Limnologia*. São Carlos, RIMA, 281-293.
- Parolin, P. 2001. Morphological and physiological adjustments to waterlogging and drought in seedlings of Amazonian floodplain trees. *Oecologia*, 128: 326-335.
- Pauls, S. U.; Nowak, C.; Bálint, M.; Pfenninger, M. 2013. The impact of global climate change on genetic diversity within populations and species. *Molecular Ecology*, 22(4), 925-946.
- Piedade, M.F.F.; Junk, W. J.; Long, S.P. 1991. The productivity of the C4 grass *Echinochloa polystachya* on the Amazon floodplain. *Ecology*, 72:1456–1463.
- Piedade, M.T.F.; Junk, W.; D'Ângelo, S.A.; Wittmann, F.; Schöngart, J.; Barbosa, K.M.D.N.; Lopes, A. 2010. Aquatic herbaceous plants of the Amazon floodplains: state of the art and research needed. *Acta Limnologica Brasiliensia*, 22(2), 165-178.
- Piedade, M.T.F.; Schöngart, J.; Wittmann, F.; Parolin, P.; Junk, W. 2013. Impactos da inundação e seca na vegetação de áreas alagáveis amazônicas. In: Borma, L.S.; Nobre, C. (Org.). *Secas na Amazônia: causas e consequências*. 1ed. São Paulo: Oficina de Textos, p. 268-305
- Piedade, M.T.F.; Worbes, M.; Junk, W.J. 2001. Geo-ecological controls on elemental fluxes in communities of higher plants in Amazonian floodplains. In: McClain, M.E., Victoria, R.L., and Richey, J.E. (Ed.) *The Biogeochemistry of the Amazon Basin*. Oxford University Press. p. 209-234.
- Pimenta, J.A.; Bianchini, E.; Medri, M.F. 1998. Adaptações to flooding by tropical trees: morphological and anatomical modifications. In: F.R. Scarano & A.C. Franco (Ed.). *Ecophysiological strategies of xerophytic and amphibious plants in the Neotropics*. *Série Oecologia Brasiliensis*, 4:154-176.

- Reed, T. E.; Schindler, D. E.; Waples, R. S. 2011. Interacting effects of phenotypic plasticity and evolution on population persistence in a changing climate. *Conservation Biology*, 25(1), 56-63.
- Riis, T; Sand-Jensen, K.; Vestergaard, O. 2000. Plant communities in lowland Danish streams: species composition and environmental factors. *Aquatic Botany*. 66: 255-172.
- Rodella, R.A.; Costa, N.V.; Costa, L.D.N.C.; Martins, D.. 2006. Diferenciação entre *Egeria densa* e *Egeria najas* pelos caracteres anatômicos foliares. *Planta daninha* 24(2): 211-220 .
- Santamaría, L., 2002. Why are most aquatic plants widely distributed? Dispersal, clonal growth and small-scale heterogeneity in a stressful environment. *Acta Oecologica*, 23: 137–154.
- Scheiner, S. M. 1993. Genetics and evolution of phenotypic plasticity. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 24: 35–68.
- Scheiner, S.M.; Callahan, H.S. 1999. Measuring natural selection on phenotypic plasticity. *Evolution*,53:1704-1713.
- Schlichting, C. D. 1986. The Evolution of Phenotypic Plasticity in Plants. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 17: 667-693.
- Schlichting, C.D.; Pigliucci, M. 1993. Control of phenotypic plasticity via regulatory genes. *The American Naturalist*, 142:367-371.
- Sculthorpe, C. D. 1967. *The biology of aquatic vascular plants*. London: Belhaven Press.
- Silva M.F.S.; De Andrade I.M.; Mayo S.J. 2012. Geometric morphometrics of leaf blade shape in *Montrichardia linifera* (Araceae) populations from the Rio Parnaíba Delta, north-east Brazil. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 170: 554 – 572.
- Silvertown, J.W.J.; Doust, L. 1993 *Introduction to plant population biology*. Blackwell Scientific, Oxford, UK.
- Simpson, D. A. 1988. Phenotypic plasticity of *Elodea nuttallii* (Planch.) H. St John and *Elodea canadensis* Michx in the British Isles. *Watsonia*, 17(2), 121-132.
- Sioli, H. 1954. Betrachtungen über den Begriff der “Fruchtbarkeit” eines Gebietes anhand der Verhältnisse in Böden und Gewässern Amazoniens. *Forsch. Fortscin. Berlin* 28(3):65–72.

- Slatkin, M. 1987. Gene flow and the geographic structure of natural populations. *Science*, 236(4803), 787-792.
- Stearns, A.D. 1989. The evolutionary significance of phenotypic plasticity. *Bioscience*, 39:436-445.
- Sultan, S. E. 2000. Phenotypic plasticity for plant development, function and life history. *Trends in plant science*, 5(12), 537-542.
- Taiz, L; Zeiger, E. 2004. *Fisiologia Vegetal*, 3ª ed. Artmed. Porto Alegre. 719p.
- Templeton, A. R.; Robertson, R. J.; Brisson, J.; Strasburg, J. 2001. Disrupting evolutionary processes: the effect of habitat fragmentation on collared lizards in the Missouri Ozarks. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 98:5426-5432.
- Thibert-Plante, X.; Hendry, A. P. 2011. The consequences of phenotypic plasticity for ecological speciation. *Journal of Evolutionary Biology*, 24(2), 326-342.
- Thomaz, S. M.; Bini, L. M.; Pagioro, T. A. 2003. Macrófitas Aquáticas Em Itaipu: Ecologia E Perspectivas Para O Manejo. In: Thomaz, S.M.; Bini, L.M. (Org.). *Ecologia E Manejo De Macrófitas Aquáticas*. EDUEM Maringá, 319-341.
- Thomaz, S. M.; Esteves, F. A. 1986. Valores energéticos da biomassa de algumas espécies de macrófitas aquáticas tropicais. *Ciência e Cultura*, 38(10): 1691 - 1695
- Thomaz, S.M.; Bini, L.M. 2003. *Ecologia e Manejo de Macrófitas Aquáticas*. Eduem, Maringá.
- Thompson, J.D. 1991. Phenotypic plasticity as a component of evolutionary change. *Trends in Ecology and Evolution*, 6:246-249.
- Val, A. L.; Almeida-Val, V. M. F. 2004. Crude oil, copper and fish of the Amazon. In: Sloman, K. A., Wood, C. M. & Mac Kinlay, D., (Ed.) *Behavior, Physiology and Toxicology Interactions in Fish*. VI International Congress on the Biology of Fish. Manaus, AM: American Fisheries Society, 1-6.
- Via, S. 1993. Adaptive phenotypic plasticity: target or byproduct of selection in a variable environment. *The American Naturalist*, 142:352-365.

- Via, S.; Gomulkiewicz, R.; Dejong, G.; Scheiner, S.M.; Schlichting, C.D.; Van Tienderen, P.H. 1995. Adaptive phenotypic plasticity: consensus and controversy. *Trends in Ecology and Evolution*, 19:212-217.
- Via, S.; Lande, R. 1985. Genotype-environment interaction and the evolution of phenotypic plasticity. *Evolution*, 39: 505–523.
- Wang, Q.; YU, Q.-S.; LIU, J.-Q. 2011. Are nuclear loci ideal for barcoding plants? A case study of genetic delimitation of two sister species using multiple loci and multiple intraspecific individuals. *Journal of Systematics and Evolution*, 49.3: 182-188.
- Wang, W.; Vinocur, B.; Altman, A. 2003. Plant responses to drought, salinity and extreme temperatures: towards genetic engineering for stress tolerance. *Planta*, 218(1), 1-14.
- Woodward, F.I. 1988. Temperature and the distribution of plant species. In: Long, S.P., Woodward, F.I. (Ed.) *Plants and Temperature*. The Company of Biologists Ltd. University of Cambridge, Cambridge, 59–75.
- Woodward, F.I.; Williams, B.G. 1987. Climate and plant distribution at global and local scales. *Vegetatio*, 69:189-197.
- Wright, S. 1932. The roles of mutation, inbreeding, cross-breeding, and selection in evolution. *Proceedings of the 6th International Congress of Genetics*, 1:356-366.
- Wright, S. 1969. *Evolution and the genetics of populations*. v.2. The theory of gene frequencies. The University of Chicago Press, Chicago.
- Zhang, J.; Nielsen, R.; Yang, Z. 2005. Evaluation of an improved branch-site likelihood method for detecting positive selection at the molecular level. *Molecular Biology and Evolution*, 22:2472–2479.

ANEXOS

Anexo A – Ata da Aula de Qualificação



AULA DE QUALIFICAÇÃO

PARECER

Aluno(a): ALINE LOPES
 Curso: ECOLOGIA
 Nível: DOUTORADO
 Orientador(a): MARIA TERESA FERNANDEZ PIEDADE

Título

"Capacidade adaptativa de macrófitas aquáticas a ambientes naturais e antropizados em planícies inundáveis brasileiras".

BANCA JULGADORA:

TITULARES:

Alexandre Kemenes (INPA/LBA)
 Charles Clement (INPA)
 Jansen Zuanon (INPA)
 Lourdes Soares (INPA)
 Vera Almeida Val (INPA)

SUPLENTES:

Bruce Forsberg (INPA)
 Jorge Porto (INPA)

	PARECER	ASSINATURA
Alexandre Kemenes (INPA/LBA)	() Aprovado () Reprovado	
Charles Clement (INPA)	(✓) Aprovado () Reprovado	<i>CC</i>
Jansen Zuanon (INPA)	(X) Aprovado () Reprovado	<i>JZ</i>
Lourdes Soares (INPA)	(X) Aprovado () Reprovado	<i>LS</i>
Vera Almeida Val (INPA)	(X) Aprovado () Reprovado	<i>VA</i>
Bruce Forsberg (INPA)	(X) Aprovado () Reprovado	<i>BF</i>
Jorge Porto (INPA)	() Aprovado () Reprovado	<i>JP</i>

Manaus(AM), 25 de junho de 2010

OBS: *A banca recomenda que o título da tese seja modificado de modo a refletir mais adequadamente o conteúdo do trabalho a ser realizado. Além disso, a banca sugere um redimensionamento do trabalho, que parece algo superdimensionado em relação ao tempo disponível para a execução do mesmo.*

INSTITUTO NACIONAL DE PESQUISAS DA AMAZÔNIA INPA
 PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ECOLOGIA PPG-ECO/INPA

Av. Efigênio Sales, 2239 – Bairro: Adrianópolis – Caixa Postal: 478 – CEP: 69.011-970, Manaus/AM.
 Fone: (+55) 92 3643-1909 site: <http://pg.inpa.gov.br>

Fax: (+55) 92 3643-1909
 e-mail: pgeco@inpa.gov.br

Anexo B – Pareceres da banca examinadora do trabalho escrito



Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia - INPA
Programa de Pós-graduação em Ecologia



Avaliação de tese de doutorado

Título: DISTRIBUIÇÃO, ECOFISIOLOGIA E CAPACIDADE ADAPTATIVA DO GÊNERO *Montrichardia* H. CRÜEG NA BACIA AMAZÔNICA

Aluno: **ALINE LOPES**

Orientadora: Dra. MARIA TERESA FERNANDEZ PIEDADE

Co-orientador: Dr. Sidinei Magela Thomaz

Avaliador: ANTONIO FERNANDO MONTEIRO CAMARGO

Por favor, marque a alternativa que considerar mais apropriada para cada item abaixo, e marque seu parecer final no quadro abaixo

	Muito bom	Bom	Necessita revisão	Reprovado
Relevância do estudo	(X)	()	()	()
Revisão bibliográfica	(X)	()	()	()
Desenho amostral/experimental	(X)	()	()	()
Metodologia	(X)	()	()	()
Resultados	(X)	()	()	()
Discussão e conclusões	(X)	()	()	()
Formatação e estilo texto	(X)	()	()	()
Potencial para publicação em periódico(s) indexado(s)	()	(X)	()	()

PARECER FINAL

Aprovada (indica que o avaliador aprova o trabalho sem correções ou com correções mínimas)

Aprovada com correções (indica que o avaliador aprova o trabalho com correções essenciais, mas que não precisa retornar ao avaliador para reavaliação)

Necessita revisão (indica que há necessidade de reformulação do trabalho e que o avaliador quer reavaliar a nova versão antes de emitir uma decisão final)

Reprovada (indica que o trabalho não é adequado, nem com modificações substanciais)

Rio Claro, 27 de maio de 2014,

Local

Data

Assinatura

Comentários e sugestões podem ser enviados como uma continuação desta ficha, como arquivo separado ou como anotações no texto impresso ou digital da tese. Por favor, envie a ficha assinada, bem como a cópia anotada da tese e/ou arquivo de comentários por e-mail para pgecologia@gmail.com e flaviacoستا001@gmail.com ou por correio ao endereço abaixo. O envio por e-mail é preferível ao envio por correio. Uma cópia digital de sua assinatura será válida.

Endereço para envio de correspondência:

|

Flávia Costa
INPA/CBIO/PPG-Ecologia
Av. André Araújo n° 2936
690.067-375, Manaus, AM
Brazil



Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia - INPA
Programa de Pós-graduação em Ecologia



Avaliação de tese de doutorado

Título: DISTRIBUIÇÃO, ECOFISIOLOGIA E CAPACIDADE ADAPTATIVA DO GÊNERO *Montrichardia* H. CRÜEG NA BACIA AMAZÔNICA

Aluno: **ALINE LOPES**

Orientador: Dra. MARIA TERESA FERNANDEZ PIEDADE

Co-orientador: Dr. Sidinei Magela Thomaz

Avaliador: Vera Maria Fonseca de Almeida e Val

Por favor, marque a alternativa que considerar mais apropriada para cada item abaixo, e marque seu parecer final no quadro abaixo

	Muito bom	Bom	Necessita revisão	Reprovado
Relevância do estudo	(X)	()	()	()
Revisão bibliográfica	(X)	()	()	()
Desenho amostral/experimental	(X)	()	()	()
Metodologia	(X)	()	()	()
Resultados	(X)	()	()	()
Discussão e conclusões	(X)	()	()	()
Formatação e estilo texto	()	()	(X*)	()
Potencial para publicação em periódico(s) indexado(s)	(X)	()	()	()

*Qualidade das figuras.

PARECER FINAL

(X) **Aprovada** (indica que o avaliador aprova o trabalho sem correções ou com correções mínimas)

() **Aprovada com correções** (indica que o avaliador aprova o trabalho com correções extensas, mas que não precisa retornar ao avaliador para reavaliação)

() **Necessita revisão** (indica que há necessidade de reformulação do trabalho e que o avaliador quer reavaliar a nova versão antes de emitir uma decisão final)

() **Reprovada** (indica que o trabalho não é adequado, nem com modificações substanciais)

Manaus, 06/06/2011
 Local Data

Vera M. F. Almeida - Val, Dra.
 INPA - LEEM
 Av. André Araújo, 2936 - Petrópolis
 CEP: 69067-375 - Manaus - AM - Brasil
 Assinatura

Comentários e sugestões podem ser enviados como uma continuação desta ficha, como arquivo separado ou como anotações no texto impresso ou digital da tese. Por favor, envie a ficha assinada, bem como a cópia anotada da tese e/ou arquivo de comentários por e-mail para pgecologia@gmail.com e flaviacosta001@gmail.com ou por correio ao endereço abaixo. O envio por e-mail é preferível ao envio por correio. Uma cópia digital de sua assinatura será válida.

Endereço para envio de correspondência:

Flávia Costa
 PPG-ECO/CBIO/INPA
 Av. André Araújo nº 2936
 69.067-375 - Manaus-AM
 Brazil



Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia - INPA
Programa de Pós-graduação em Ecologia



Avaliação de tese de doutorado

Título: DISTRIBUIÇÃO, ECOFISIOLOGIA E CAPACIDADE ADAPTATIVA DO GÊNERO *Montrichardia* H. CRÜEG NA BACIA AMAZÔNICA

Aluno: ALINE LOPES

Orientadora: Dra. MARIA TERESA FERNANDEZ PIEDADE

Co-orientador: Dr. Sidinei Magela Thomaz

Avaliador: DORIANE PIKANÇO RODRIGUES

Por favor, marque a alternativa que considerar mais apropriada para cada item abaixo, e marque seu parecer final no quadro abaixo

	Muito bom	Bom	Necessita revisão	Reprovado
Relevância do estudo	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Revisão bibliográfica	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Desenho amostral/experimental	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Metodologia	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Resultados	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Discussão e conclusões	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Formatação e estilo texto	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Potencial para publicação em periódico(s) Indexado(s)	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

PARECER FINAL

Aprovada (indica que o avaliador aprova o trabalho sem correções ou com correções mínimas)

Aprovada com correções (indica que o avaliador aprova o trabalho com correções extensas, mas que não precisa retornar ao avaliador para reavaliação)

Necessita revisão (indica que há necessidade de reformulação do trabalho e que o avaliador quer reavaliar a nova versão antes de emitir uma decisão final)

Reprovada (indica que o trabalho não é adequado, nem com modificações substanciais)

MANAUS, 13 DE JUNHO DE 2014,

DORIANE PIKANÇO RODRIGUES

Comentários e sugestões podem ser enviados como uma continuação desta ficha, como arquivo separado ou como anotações no texto impresso ou digital da tese. Por favor, envie a ficha assinada, bem como a cópia anotada da tese e/ou arquivo de comentários por e-mail para ppecologia@gmail.com e flaviacosta001@gmail.com ou por correio ao endereço abaixo. O envio por e-mail é preferível ao envio por correio. Uma cópia digital de sua assinatura será válida.

Endereço para envio de correspondência:

Flávia Costa
INPA/CBIO/PPG-Ecologia
Av. André Araújo nº 2336
690.067-375, Manaus, AM
Brazil



Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia - INPA
Programa de Pós-graduação em Ecologia



Avaliação de tese de doutorado

Título: DISTRIBUIÇÃO, ECOFISIOLOGIA E CAPACIDADE ADAPTATIVA DO GÊNERO *Montrichardia* H. CRÜEG NA BACIA AMAZÔNICA

Aluno: ALINE LOPES

Orientadora: Dra. MARIA TERESA FERNANDEZ PIEDADE

Co-orientador: Dr. Sidinei Magela Thomaz

Avaliador: AUGUSTO CESAR FRANCO

Por favor, marque a alternativa que considerar mais apropriada para cada item abaixo, e marque seu parecer final no quadro abaixo

	Muito bom	Bom	Necessita revisão	Reprovado
Relevância do estudo	(X)	()	()	()
Revisão bibliográfica	()	()	(X)	()
Desenho amostral/experimental	()	()	(X)	()
Metodologia	()	()	(X)	()
Resultados	()	()	(X)	()
Discussão e conclusões	()	()	(X)	()
Formatação e estilo texto	()	()	(X)	()
Potencial para publicação em periódico(s) indexado(s)	(X)	()	()	()

PARECER FINAL

() **Aprovada** (indica que o avaliador aprova o trabalho sem correções ou com correções mínimas)

(X) **Aprovada com correções** (indica que o avaliador aprova o trabalho com correções externas, mas que não precisa retornar ao avaliador para reavaliação)

() **Necessita revisão** (indica que há necessidade de reformulação do trabalho e que o avaliador quer revisar a nova versão antes de emitir uma decisão final)

() **Reprovada** (indica que o trabalho não é adequado, nem com modificações substanciais)

Brasília, 29 de março de 2014
Local Data Assinatura Augusto Cesar Franco

Comentários e sugestões podem ser enviados como uma continuação desta ficha, como arquivo separado ou como anotações no texto impresso ou digital da tese. Por favor, envie a ficha assinada, bem como a cópia anotada da tese e/ou arquivo de comentários por e-mail para pgecologia@gmail.com e flaviacosta001@gmail.com ou por correio ao endereço abaixo. O envio por e-mail é preferível ao envio por correio. Uma cópia digital de sua assinatura será válida.

Endereço para envio de correspondência:

Flávia Costa
INPA/CBIO/PPG-Ecologia
Av. André Araújo nº 2936
690.067-375, Manaus, AM
Brazil



Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia - INPA
Programa de Pós-graduação em Ecologia



Avaliação de tese de doutorado

Título: DISTRIBUIÇÃO, ECOFISIOLOGIA E CAPACIDADE ADAPTATIVA DO GÊNERO *Montrichardia* H. CRÜEG NA BACIA AMAZÔNICA

Aluno: **ALINE LOPES**

Orientador: Dra. MARIA TERESA FERNANDEZ PIEDADE

Co-orientador: Dr. Sidinei Magela Thomaz

Avaliador: Dr. Jochen Schongart

Por favor, marque a alternativa que considerar mais apropriada para cada item abaixo, e marque seu parecer final no quadro abaixo

	Muito bom	Bom	Necessita revisão	Reprovado
Relevância do estudo	(X)	()	()	()
Revisão bibliográfica	(X)	()	()	()
Desenho amostral/experimental	()	(X)	()	()
Metodologia	()	(X)	()	()
Resultados	()	(X)	()	()
Discussão e conclusões	()	(X)	()	()
Formatação e estilo texto	()	()	(X)	()
Potencial para publicação em periódico(s) Indexado(s)	()	(X)	()	()

PARECER FINAL

() **Aprovada** (indica que o avaliador aprova o trabalho sem correções ou com correções mínimas)

(X) **Aprovada com correções** (indica que o avaliador aprova o trabalho com correções extensas, mas que não precisa retornar ao avaliador para reavaliação)

() **Necessita revisão** (indica que há necessidade de reformulação do trabalho e que o avaliador quer reavaliar a nova versão antes de emitir uma decisão final)

() **Reprovada** (indica que o trabalho não é adequado, nem com modificações substanciais)

Manaus, 27 de maio de 2014

Local

Data


Assinatura

Comentários e sugestões podem ser enviados como uma continuação desta ficha, como arquivo separado ou como anotações no texto impresso ou digital da tese. Por favor, envie a ficha assinada, bem como a cópia anotada da tese e/ou arquivo de comentários por e-mail para pgeecologia@gmail.com e flaviacosta001@gmail.com ou por correio ao endereço abaixo. O envio por e-mail é preferível ao envio por correio. Uma cópia digital de sua assinatura será válida.

Endereço para envio de correspondência:

Flávia Costa
PPG-ECO/CBIO/INPA
Av. André Araújo nº 2936
69.067-375 - Manaus-AM
Brazil



Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia - INPA
Programa de Pós-graduação em Ecologia



Avaliação de tese de doutorado

Título: DISTRIBUIÇÃO, ECOFISIOLOGIA E CAPACIDADE ADAPTATIVA DO GÊNERO *Montrichardia* H. CRÜEG NA BACIA AMAZÔNICA

Aluno: ALINE LOPES

Orientadora: Dra. MARIA TERESA FERNANDEZ PIEDADE

Co-orientador: Dr. Sidinei Magela Thomaz

Avaliador: Evlyn Márica Leão de Moraes Novo

Por favor, marque a alternativa que considerar mais apropriada para cada item abaixo, e marque seu parecer final no quadro abaixo

	Muito bom	Bom	Necessita revisão	Reprovado
Relevância do estudo	(x)	()	()	()
Revisão bibliográfica	(x)	()	()	()
Desenho amostral/experimental	()	(x)	()	()
Metodologia	()	(x)	()	()
Resultados	()	()	(x)	()
Discussão e conclusões	()	()	(x)	()
Formatação e estilo texto	()	()	(x)	()
Potencial para publicação em periódico(s) Indexado(s)	(x)	()	()	()

PARECER FINAL

- () **Aprovada** (indica que o avaliador aprova o trabalho sem correções ou com correções mínimas)
- (x) **Aprovada com correções** (indica que o avaliador aprova o trabalho com correções extensas, mas que não precisa retornar ao avaliador para reavaliação)
- () **Necessita revisão** (indica que há necessidade de reformulação do trabalho e que o avaliador quer reavaliar a nova versão antes de emitir uma decisão final)
- () **Reprovada** (indica que o trabalho não é adequado, nem com modificações substanciais)

____ São José dos Campos, ____ 08 de maio de 2014, ____
Local Data Assinatura

Comentários e sugestões podem ser enviados como uma continuação desta ficha, como arquivo separado ou como anotações no texto impresso ou digital da tese. Por favor, envie a ficha assinada, bem como a cópia anotada da tese e/ou arquivo de comentários por e-mail para pgecologia@gmail.com e flaviacosta001@gmail.com ou por correio ao endereço abaixo. O envio por e-mail é preferível ao envio por correio. Uma cópia digital de sua assinatura será válida.

Endereço para envio de correspondência:

Flávia Costa
INPA/CBIO/PPG-Ecologia
Av. André Araújo nº 2336
690.067-375, Manaus, AM
Brazil



Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia - INPA
Programa de Pós-graduação em Ecologia



Avaliação de tese de doutorado

Título: DISTRIBUIÇÃO, ECOFISIOLOGIA E CAPACIDADE ADAPTATIVA DO GÊNERO *Montrichardia* H. CRÜEG NA BACIA AMAZÔNICA

Aluno: ALINE LOPES

Orientadora: Dra. MARIA TERESA FERNANDEZ PIEDADE

Co-orientador: Dr. Sidinei Magela Thomaz

Avaliador: Christine Lucas

Por favor, marque a alternativa que considerar mais apropriada para cada item abaixo, e marque seu parecer final no quadro abaixo

	Muito bom	Bom	Necessita revisão	Reprovado
Relevância do estudo	(x)	()	()	()
Revisão bibliográfica	()	(x)	()	()
Desenho amostral/experimental	(x)	()	()	()
Metodologia	(x)	()	()	()
Resultados	()	x	()	()
Discussão e conclusões	()	(x)	()	()
Formatação e estilo texto	()	()	(x)	()
Potencial para publicação em periódico(s) Indexado(s)	()	()	(x)	()

PARECER FINAL

() **Aprovada** (indica que o avaliador aprova o trabalho sem correções ou com correções mínimas)

(x) **Aprovada com correções** (indica que o avaliador aprova o trabalho com correções extensas, mas que não precisa retornar ao avaliador para reavaliação)

() **Necessita revisão** (indica que há necessidade de reformulação do trabalho e que o avaliador quer reavaliar a nova versão antes de emitir uma decisão final)

() **Reprovada** (indica que o trabalho não é adequado, nem com modificações substanciais)

Montevideo

22/05/2014

Local

Data

Assinatura

Comentários e sugestões podem ser enviados como uma continuação desta ficha, como arquivo separado ou como anotações no texto impresso ou digital da tese. Por favor, envie a ficha assinada, bem como a cópia anotada da tese e/ou arquivo de comentários por e-mail para pgeecologia@gmail.com e flaviacosta001@gmail.com ou por correio ao endereço abaixo. O envio por e-mail é preferível ao envio por correio. Uma cópia digital de sua assinatura será válida.

Endereço para envio de correspondência:

Flávia Costa
INPA/CBIO/PPG-Ecologia
Av. André Araújo n° 2936
690.067-375, Manaus, AM
Brazil

Anexo C – Ata da defesa pública da tese



ATA DA DEFESA PÚBLICA DA TESE DE DOUTORADO DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ECOLOGIA DO INSTITUTO NACIONAL DE PESQUISAS DA AMAZÔNIA

Aos 03 dias do mês de setembro do ano de 2014, às 14:00 horas, no Auditório da Biblioteca do INPA, Campus I, INPA/Aleixo, reuniu-se a Comissão Examinadora de Defesa Pública, composta pelos seguintes membros: o(a) Prof(a). Dr(a). **Vera Maria Fonseca de Almeida Val**, do Instituto Nacional De Pesquisas Da Amazônia – INPA, o(a) prof(a). Dr(a). **Jefferson da Cruz**, da Universidade Federal do Amazonas - UFAM, e o(a) Prof(a). Dr(a). **Cristiane Ferreira**, da Universidade de Brasília – UnB, tendo como suplentes o(a) Prof(a). Dr(a). Jochen Schöngart, do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia - INPA, e o(a) Prof(a). Dr(a). **Doriane Picanço Rodrigues**, da Universidade Federal do Amazonas - UFAM, sob a presidência do(a) primeiro(a), a fim de proceder a arguição pública do trabalho de **TESE DE DOUTORADO** de **ALINE LOPES**, intitulado “**DISTRIBUIÇÃO, ECOFISIOLOGIA E CAPACIDADE ADAPTATIVA DO GÊNERO *Montrichardia* H. CRUEG NA BACIA AMAZÔNICA**”, orientado pelo(a) Prof(a). Dr(a). **Maria Teresa Fernandez Piedade**, do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia – INPA e co-orientado pelo(a) Prof.(a) Dr(a). **Sidinei Magela Thomaz**, da Universidade Estadual de Maringá – UEM.

Após a exposição, o(a) discente foi argüido(a) oralmente pelos membros da Comissão Examinadora, tendo recebido o conceito final:

- APROVADO(A) REPROVADO(A)
 POR UNANIMIDADE POR MAIORIA

Nada mais havendo, foi lavrada a presente ata, que, após lida e aprovada, foi assinada pelos membros da Comissão Examinadora.

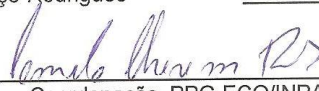
Prof(a).Dr(a). Vera Maria F. de Almeida Val

Prof(a).Dr(a). Jefferson da Cruz

Prof(a).Dr(a). Cristiane Ferreira

Prof(a).Dr(a). Jochen Schöngart

Prof(a).Dr(a). Doriane Picanço Rodrigues


 Coordenação PPG-ECO/INPA