



unesp

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Campus de Botucatu



INFLUÊNCIA DA DISPONIBILIDADE HÍDRICA, FOTOPERÍODO E TEMPERATURA NA ATIVIDADE CAMBIAL EM *Cordia concolor* (RUBIACEAE)

NATÁLIA OLIVEIRA TOTTI DE LARA

Tese apresentada ao Instituto de Biociências, Campus de Botucatu, UNESP, para obtenção do título de Doutor no Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas (Botânica), Área de concentração: Morfologia e Diversidade de Plantas.

BOTUCATU

2016



unesp

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
Campus de Botucatu



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“Júlio de Mesquita Filho”
INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS DE BOTUCATU

**Influência da disponibilidade hídrica, fotoperíodo e
temperatura na atividade cambial em *Cordia concolor*
(Rubiaceae)**

NATÁLIA OLIVEIRA TOTTI DE LARA

PROF^a DR^a CARMEN REGINA MARCATI
ORIENTADORA

PROF^a DR^a MAGALI RIBEIRO DA SILVA
COORIENTADORA

Tese apresentada ao Instituto de
Biotecnologia, Campus de Botucatu,
UNESP, para obtenção do título de
Doutor no Programa de Pós-Graduação
em Ciências Biológicas (Botânica),
Área de concentração: Morfologia e
Diversidade de Plantas.

BOTUCATU

2016

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE-CRB 8/5651

Lara, Natália Oliveira Totti de.

Influência da disponibilidade hídrica, fotoperíodo e temperatura na atividade cambial em *Cordia* *concolor* (Rubiaceae) / Natália Oliveira Totti de Lara. - Botucatu, 2016

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Instituto de Biociências de Botucatu

Orientador: Carmen Regina Marcati
Coorientador: Magali Ribeiro da Silva
Capes: 20302037

1. Rubiácea - Temperatura. 2. Cerrados. 3. Estresse vegetal. 4. Câmbio vascular. 5. Balanço hidrológico.

Palavras-chave: Câmbio vascular; Cerrado; Comprimento do dia; Regime hídrico controlado; Temperatura.

“Success is not final, failure is not fatal: it is the courage to continue that counts”
(Winston Churchill).

À minha mãe Wanda, à minha avó Maria
Helena (*in memoriam*) e ao meu noivo Marcos,
minhas fontes de motivação, esperança e amor,

Dedico.

Agradecimentos

- À **Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP)**, pela bolsa de doutorado concedida (Processo 2013/05700-0).
- À minha orientadora, Prof^a Dr^a **Carmen Regina Marcati**, pela forma com que me conduziu e me ensinou pelos meus caminhos até aqui. Pela compreensão ao entender minhas limitações e pela confiança em acreditar nas minhas qualidades. Agradeço por ter aprendido com seu entusiasmo pela Ciência e muito obrigada por ter acreditado neste trabalho! Você é uma grande mestre! Devo muito a você e sou/serei eternamente grata!
- À minha coorientadora, Prof^a Dr^a **Magali Ribeiro da Silva**, que me ajudou em todo o delineamento experimental deste trabalho. Por toda ajuda e disponibilidade sempre, pela paciência, serenidade e todo aprendizado que me passou! Muito obrigada!
- Ao Prof. Dr. **Anselmo Nogueira**, pela paciência, pelas conversas e discussões enriquecedoras que tanto melhoraram a escrita e o desenvolvimento do trabalho, pelo seu tempo dedicado, além da enorme ajuda nas análises estatísticas. Muito obrigada!
- A todo o **corpo docente e discente** do Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas (Botânica), que fizeram parte da minha caminhada. Especialmente aos professores: Prof^a Dr^a **Elza Guimarães** e Prof. Dr. **Marco Antônio Batalha**, docentes da disciplina de ‘Projetos’, na qual sob suas críticas, o meu projeto nasceu; Prof^a Dr^a **Gisela Ferreira**, pela autorização em utilizar o Laboratório de Germinação e Dormência de Sementes. Ao Prof. Dr. **Antonio Evaldo Klar**, do Departamento de Engenharia Rural, por tirar muitas dúvidas no início do projeto. Às Prof.^{as} Dr.^{as} **Tatiane Maria Rodrigues** e **Silvia Rodrigues Machado**, pela pronta ajuda sempre que precisei! Agradeço também ao **Conselho do Programa** pelo tempo em que participei das reuniões enquanto representante discente, foi um período muito produtivo. À Prof. Dra. **Carmen Silvia Fernandes Boaro**, pela disponibilidade sempre que necessário.
- A todos os **funcionários** dos Departamentos: de Botânica do Instituto de Biociências de Botucatu, especialmente à **Maria Helena Godoy**; de Ciência Florestal e de Bioprocessos da Faculdade de Ciências Agrônomicas de Botucatu. Em especial aos técnicos do Viveiro de Produção de Mudas da Faculdade de Ciências Agrônomicas, onde tive condições de realizar os dois experimentos: **Claudinho, Sr. Martinelli, Seu João**, agradeço. Também agradeço ao **Sr. Gilberto** do Departamento de Engenharia Rural da Faculdade de Ciências Agrônomicas por realizar a curva de retenção hídrica e ao Setor de Ciência do Solo, da Faculdade de Ciências Agrônomicas, na pessoa de **Adriana Ramos**, que me deu todas as instruções para a coleta de solo.
- À **Seção de Pós-Graduação** do Instituto de Biociências de Botucatu e seus funcionários, sempre prontos a me ajudar e resolver minhas dúvidas.
- Aos funcionários da **Biblioteca Central** e principalmente da **Biblioteca do Lageado** onde estive mais tempo, por manterem um bom espaço de estudo e concentração.
- A todos do Laboratório de Anatomia da Madeira, aos que já passaram e ainda estão aqui: **Ana Tereza, Jane, Marcela, Olívia** e **Paula**, pela convivência e pronta ajuda. Especialmente agradeço ao amigo **Fabio Bosio**, que sempre esteve ao meu lado me incentivando, pela sua ampla disponibilidade que lhe é peculiar, por compartilhar

comigo os desafios, um irmão que levarei pra vida, um ombro amigo sempre; e à amiga **Liliane Catarina Pereira**, pela sua amizade, por termos muita coisa em comum; esteve sempre pronta a me ouvir e me ajudar, você é muito especial! Também agradeço às amigas **Juliana Iassia Gimenez** e **Jaqueline Malagutti Corsato**, pela enorme ajuda com conselhos e auxílio nas etapas iniciais da germinação.

Aos meus **familiares** que me ajudaram nos bastidores da tese, me dando suporte emocional. Em especial, meus pais, **Wanda** e **Silvio**, que nunca duvidaram do meu potencial, minha avó **Maria Helena** (*in memoriam*) por ter me dado carinho até onde pode.

Minha mãe, meu eterno porto seguro, que acredita cegamente em mim, me apoia, vibra com minhas vitórias e me ama incondicionalmente e me recebe de braços abertos sempre com o amor mais puro do mundo! Obrigada por tudo, obrigada por ser minha mãe... Eu te amo muito!

Aos meus sogros, por me receberem tão bem em sua casa e sua família, **Maria Helena** e **José Eduardo**, obrigada!

*Ao meu noivo Marcos, pela excepcional paciência e pelo amor constante. Você é a pessoa que me faz confiar quando eu mesma não acredito. Obrigada por não medir esforços em me ajudar, pelo amor, companheirismo, por ser meu melhor amigo e confidente, por 'segurar a barra' nos momentos mais difíceis, por me amparar, por me fazer descobrir o amor, pelo seu suporte, enfim... fico sem palavras para agradecer! Além disso, pela enorme ajuda nas coletas de solo e pesagens de vaso em todo o experimento. Amo você! À nossa "filhota" felina **Greta**, pela paz e meditação, por me fazer perceber que os felinos amam sim, e quem diz o contrário é porque não os conhece!*

À **Deus**, essa força suprema e forte que me carrega no colo quando eu preciso, sei que hoje ainda não sou quem o Senhor gostaria que eu fosse, mas com certeza, já não sou mais quem eu era ontem.

A tudo o que me aconteceu nestes anos, sou grata!

Natália.

Sumário

| | |
|---|----|
| Resumo | 06 |
| Abstract | 08 |
| | |
| 1. Introdução geral | 11 |
| 2. Revisão de Literatura | 14 |
| 2.1 O papel da água na planta | 14 |
| 2.2 O papel do fotoperíodo e da temperatura na planta | 17 |
| 2.3 Atividade cambial em espécies tropicais: trabalhos não manipulativos realizados em campo | 18 |
| 2.4 Trabalhos experimentais sobre atividade cambial | 23 |
| 2.5 A savana brasileira: Cerrado | 27 |
| | |
| Apresentação do capítulo | 30 |
| | |
| Capítulo único: | |
| “ <i>Cambial activity is day length-dependent: an experimental study of a Brazilian evergreen species</i> ” (em inglês) | 31 |
| Abstract | 31 |
| Introduction | 33 |
| Material and methods | 35 |
| Results | 44 |
| Discussion | 58 |
| Concluding remarks | 64 |
| Cited references | 65 |
| Supplementary material | 73 |
| | |
| 3. Considerações finais | 77 |
| Apêndices | 79 |
| Referências bibliográficas | 82 |

LARA, N.O.T. **Influência da disponibilidade hídrica, fotoperíodo e temperatura na atividade cambial em *Cordia concolor* (Rubiaceae)**. 2016. TESE (DOUTORADO) – INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS, UNESP – UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA, BOTUCATU.

Resumo - Em ambientes tropicais, a disponibilidade hídrica é um dos principais fatores que interferem na atividade cambial das espécies vegetais. Estudos recentes, em campo, indicam também o comprimento do dia e a temperatura como sinalizadores importantes da atividade cambial nestas espécies. Este estudo experimental visa contribuir para o entendimento da influência dos fatores abióticos, água, comprimento do dia e temperatura, na atividade cambial em plantas com um ano de idade de *Cordia concolor* (Cham.) Kuntze (Rubiaceae). A espécie, sempre-verde e arbustiva, é nativa, comum no cerrado paulista, e possui camadas de crescimento demarcadas por faixas marginais de parênquima axial. Realizamos dois experimentos (n=45 plantas cada um), sob regime hídrico controlado e sob comprimento do dia e temperatura naturais, um no início da primavera, quando o fotoperíodo aumenta de 11 para 12 horas e a temperatura média é de 19,9°C e outro no final do verão, quando o fotoperíodo diminui de 12 horas para 11 horas e a temperatura média é de 23,9°C, ambos durante cinco semanas. Cada experimento continha os mesmos três tratamentos hídricos, com 15 plantas cada, obtidos a partir de uma curva de retenção hídrica de solo de cerrado *sensu stricto*: saturação hídrica (21% de umidade), capacidade de campo (8% de umidade) e deficiência hídrica (3% de umidade). Ao final de cada semana, sorteamos três plantas de cada tratamento e coletamos a região mais desenvolvida do eixo caulinar. Obtivemos secções transversais e longitudinais tangenciais e radiais seriadas para análise da atividade cambial. Atribuímos presença/ausência da atividade cambial através da visualização de figuras mitóticas e paredes recém-formadas observadas na zona cambial. Para a avaliação das paredes recém-formadas, amostramos quinze fileiras sequenciais radiais na zona cambial e contamos todas as paredes recém-formadas localizadas nesta região. Analisamos os dados a partir de modelos lineares generalizados (GLM) o que nos permitiu observar que no início da primavera, independentemente da quantidade de água, a atividade cambial é intensificada com o aumento do fotoperíodo. No final do verão, a quantidade de água influencia na atividade cambial, onde observamos que (i) as plantas submetidas à saturação hídrica apresentaram atividade cambial que se prolongou ao longo das semanas; (ii) as plantas em capacidade de campo entraram em dormência ao longo das semanas e (iii) as plantas em deficiência

hídrica apresentaram dormência cambial desde a primeira semana. A temperatura não foi um sinalizador importante para a atividade cambial em nenhum dos dois períodos. Adicionalmente observamos a formação e a diferenciação das células parenquimáticas que compõem a faixa marginal no início do período de atividade cambial, sendo esta, portanto, inicial. Concluímos que a disponibilidade hídrica não influencia a atividade cambial no período em que o comprimento do dia aumenta ao longo das semanas. Já, no período em que o comprimento do dia diminui, a água tem maior influência nas plantas, modificando a relação da dormência cambial com o comprimento do dia.

Palavras-chave: câmbio vascular, Cerrado, comprimento do dia, regime hídrico controlado, temperatura.

LARA, N.O.T. **Influence of water availability, day length and temperature on cambial activity in *Cordia concolor* (Rubiaceae)**. 2016. THESIS (DOCTORATE) – INSTITUTE OF BIOSCIENCES, UNESP – SÃO PAULO STATE UNIVERSITY, BOTUCATU.

Abstract - In tropics, the water availability is one of the main factors interfering in the cambial activity of plants. Recent studies, in the field, also indicate that day length and temperature are important signals of the cambial activity in tropical plants. This experimental study aims to contribute for understanding the role of these abiotic factors (water, day length and temperature) on cambial activity in 1-year-old plants of *Cordia concolor* (Cham.) Kuntze (Rubiaceae). This species, evergreen and shrubby, is native and common in Cerrado of São Paulo, and have growth layers demarcated by axial parenchyma marginal bands. We conducted two experiments (n = 45 plants, each), under controlled water regimes and under natural day length and temperature, one in early spring, when the day length increases from 11 hours to 12 hours and mean temperature is 19,9°C and another in late summer, when day length decreases from 12 hours to 11 hours and mean temperature is 23,9°C, both for five weeks. Each experiment contained the same three water treatments, obtained from a water retention curve of cerrado soil, with 15 plants each: waterlogging (21% moisture), field capacity (8% moisture) and water deficit (3% moisture). At the end of each week, we randomly selected three plants of each treatment and collected the most developed region of the main stem. We obtained transverse and tangential and radial sections for cambial activity analyses. We identified cambial activity by mitotic figures and the presence of recently formed periclinal cell walls. We used fifteen sequential radial rows in the cambial zone to count the newly formed periclinal cell walls. We analyzed the data using generalized linear models (GLM) which allowed us to observe that in early spring, regardless of the amount of water, the cambial activity is increased by day length. In late summer, the amount of water influences the cambial activity, which we observed that (i) plants subjected to waterlogging had their cambial activity prolonged throughout the weeks; (ii) the plants in field capacity had their cambium dormant over the weeks and (iii) the plants in water deficit presented cambial dormancy since the first week. The temperature was not an important signal for cambial activity in both periods. Additionally, we observed, in the beginning of cambial activity, the production and differentiation of the parenchyma cells that compound the marginal bands, which means that the bands are initial. We conclude that water availability does not

influence the cambial activity in the period when the day length increases over the weeks. In the period when the day length decreases, the water has greater influence on plants, modifying the relation of the cambial dormancy with the day length.

Key words: Cerrado, controlled water regime, day length, temperature, vascular cambium.



1. *Introdução geral*

A atividade cambial, sendo um processo dinâmico, é sensivelmente influenciada por diversos fatores, tanto internos quanto externos à planta. Fatores internos como os hormônios (Little e Savidge 1987; Lachaud 1999) e externos como precipitação, fotoperíodo e temperatura (Borchert 1999) são considerados os principais condicionantes da atividade do câmbio vascular. Entre os hormônios vegetais, destaca-se a auxina, que é produzida nas gemas e transportada basipetamente para o câmbio vascular (Sundberg et al. 2000), e que é essencial para a atividade do câmbio, pois participa da reativação do câmbio em fase dormente, além de atuar na intensidade da atividade cambial em relação à sensibilidade das células iniciais a este hormônio (ver Larson 1994; Ugglá et al. 1996; 1998; Lachaud 1999; Sorce et al. 2013). Entre os fatores externos, a atividade cambial está geralmente relacionada à temperatura e ao comprimento do dia em regiões temperadas (Borchert 1999) e à sazonalidade pluviométrica em regiões tropicais (Worbes 1995).

Dos ambientes tropicais com sazonalidade pluviométrica, podemos destacar o Cerrado, um complexo de biomas pertencentes a um gradiente de formações que vai de campo limpo a cerradão (Coutinho 2006). O clima predominante é o tropical sazonal de inverno seco (Coutinho 2002) com radiação solar intensa. O Cerrado possui temperatura média anual em torno de 22 a 23°C, e as médias mensais têm pequena sazonalidade; a precipitação média anual fica entre 1.200 a 1.800 mm e, ao contrário da temperatura, a média mensal de precipitação possui uma ampla sazonalidade, com chuvas concentradas nos meses de outubro a março (Coutinho 2002). Maio a setembro são os meses mais secos do ano, onde os índices pluviométricos reduzem-se bastante, podendo chegar à zero. Nesse panorama, o Cerrado apresenta uma estação seca marcante que varia de três a cinco meses de duração (ver Coutinho 2002).

Períodos secos do ano em ambientes tropicais têm sido relacionados com dormência cambial, enquanto que os chuvosos relacionam-se com a atividade do câmbio (Aljaro et al. 1972; Dave e Rao 1982a; Paliwal e Paliwal 1990; Rao e Rajput 1999; Rajput e Rao 2000; 2001; 2002; Marcati et al. 2006; Marcati et al. 2008; Dié et al. 2012; Giantomassi et al. 2012; Trouet et al. 2012; Aref et al. 2014). O início das chuvas favorece o início da atividade cambial (Borchert 1994; 1999), pois o teor de água presente no solo auxilia na retomada dessa atividade nas células iniciais. Em contrapartida, em casos de estresse hídrico há a inibição das divisões celulares devido a redução da pressão de turgor das células iniciais (Rao e Rajput 2001).

Contudo, são poucos os trabalhos experimentais que manipulam os fatores abióticos para avaliar sua influência sobre a atividade cambial (Wareing e Roberts, 1956; Waisel e Fahn, 1965; Mellerowicz et al. 1992a; Mellerowicz et al. 1992b; Oribe e Kubo, 1997; Oribe et al. 2001; Oribe et al. 2003; Rossi et al. 2009; de Luis et al. 2011; Balducci et al. 2013; Begum et al. 2013), sendo estes realizados majoritariamente em espécies temperadas. Informações sobre a atividade cambial e sua relação com a disponibilidade hídrica para as plantas, em trabalhos experimentais com espécies tropicais, são ainda necessários.

Trabalhos experimentais que manipulam o fator água em espécies tropicais justificam-se se considerarmos as recentes descobertas sobre mudanças climáticas (IPCC, 2014). As alterações climáticas podem alterar drasticamente os recursos hídricos disponíveis (Zeppel et al. 2014), por meio tanto de mudanças na duração dos eventos de chuva quanto na sequência desses eventos, sendo essas alterações fortes condicionantes de processos ecológicos (Schwinning e Sala 2004; Zeppel et al. 2008). Além do regime hídrico, as mudanças climáticas induzidas pela atividade humana podem afetar também os padrões fenológicos levando a dissociação das relações entre as espécies (Körner e Basler

2010); além de afetar a distribuição das espécies, visto que segundo Hughes (2000), uma alteração de 3°C na temperatura média anual nas zonas temperadas, por exemplo, pode corresponder a uma mudança de cerca de 300-400 km em latitude ou 500 m de altitude. Sendo assim, investigar os potenciais efeitos de diferenças na disponibilidade hídrica, além de fatores como temperatura e comprimento do dia em relação à atividade cambial fornece dados importantes para compreender a dinâmica de crescimento das espécies tropicais.

Diante do exposto, o objetivo geral deste trabalho foi estudar experimentalmente a influência de diferentes regimes hídricos na atividade cambial em *Cordia concolor* (Cham.) Kuntze (Rubiaceae), sob comprimento do dia e temperatura naturais. A espécie *C. concolor* foi escolhida por possuir marcador de crescimento no lenho, o que mostra que a espécie exibe periodicidade de crescimento. Especificamente, buscou-se responder às seguintes questões:

- 1) A disponibilidade hídrica influencia a atividade cambial?
- 2) A atividade cambial das plantas de *C. concolor* se altera em duas estações do ano (início da primavera e final do verão)?
- 3) A variação natural de fotoperíodo e temperatura se relaciona com a atividade cambial?
- 4) A formação do marcador de crescimento no lenho é inicial, terminal, ou inicial e terminal?

2. *Revisão de Literatura*

2.1 O papel da água na planta

A água na célula é de vital importância para a manutenção da turgescência celular. A turgescência celular, ou pressão de turgescência ocorre em resposta ao aumento de volume da célula, sendo esta pressão devido à resistência imposta pela parede celular a este volume (Kramer e Boyer 1995).

Quando a planta está sob condição de hidratação, isto é, na presença de chuvas ou irrigação, a água na célula mantém-se (i) associada aos íons ou dissolvendo substâncias orgânicas e macromoléculas, (ii) no interior de compartimentos celulares, conhecida assim como água de estoque, (iii) como via de transporte no apoplasto atuando a curtas distâncias e (iv) a longas distâncias, chamada água vascular, presente nos elementos condutores de xilema e de floema (Larcher 2000).

O transporte de água na planta forma um *continuum* entre solo-planta-atmosfera (Lambers et al. 2008; Reichardt e Timm 2012), onde a água move-se ao longo de um gradiente de potencial hídrico. A baixa concentração de vapor de água no ar, em comparação com o que há no interior das folhas, é a principal força motriz para a perda de água pela transpiração (Lambers et al. 2008). Nos espaços intercelulares, a água primeiramente passa da fase líquida para a fase gasosa e depois escapa para o exterior pelo aparato estomático (Larcher 2000). A diminuição da turgescência causa uma diferença de potencial hídrico que leva ao movimento de água em direção às células e tecidos mais secos e, a regulação desta turgescência é a chave para a resposta da planta às mudanças ambientais (Pritchard 2001).

O solo é o reservatório de água para as plantas, e todas as práticas de manejo de água visam a manutenção de seu nível hídrico em condições ideais para o

desenvolvimento das plantas (Reichardt 1988), sendo o tipo de solo resultado da interação entre clima, topografia, vegetação, tempo e tipo de rocha que lhe deu origem (Klar 1984). De um modo geral, desde que as condições de solo permitam, as raízes das árvores tendem a penetrar grandes profundidades, embora a maior proporção do sistema radicular tende a concentrar-se nas camadas superficiais do solo (Lima 1979).

São discutidas na literatura três diferentes condições de disponibilidade de água no solo – a saturação hídrica, a capacidade de campo e a deficiência hídrica (ver Veihmeyer e Hendrickson 1949; Reichardt 1988; Pimentel 2004). Essas condições são as mais utilizadas em trabalhos que tratam de desvendar os efeitos da água no corpo vegetal.

A condição de saturação hídrica do solo envolve principalmente a inundação do solo e da rizosfera (Colmer e Pedersen 2008; Parolin e Wittman 2010). As ferramentas experimentais para se obter a saturação hídrica em vasos plásticos (em condições de casa de vegetação) variam, desde manter as plantas com um nível de água cobrindo o vaso até a superfície do solo (ver Joly e Crawford 1982; Kolb e Joly 2009; Oliveira et al. 2015) ou com lâmina d'água para manter uma subirrigação (Copini et al. 2016). Os efeitos da saturação hídrica do solo sobre as plantas variam dependendo da espécie, da intensidade e tipo do alagamento e da variedade das condições locais (ver Kozłowski 1982; 1984).

A condição de capacidade de campo *in situ* de um solo refere-se ao teor de água no solo após a drenagem, até este teor tornar-se relativamente estável (Veihmeyer e Hendrickson 1949; Kramer e Boyer 1995). Essa definição mostra claramente que a capacidade de campo refere-se a um comportamento dinâmico do perfil do solo no que concerne à distribuição de água (Reichardt 1988). Em campo, esta situação ocorre após

vários dias de chuva ou irrigação e o tipo de solo interfere no processo de equilíbrio do teor de água (Kramer e Boyer 1995). A capacidade de campo aumenta na seguinte sequência: areia, silte, argila e solo orgânico e uma grande capacidade de armazenamento de água no solo representa um aspecto favorável para a vegetação, pois proporciona melhores condições de sobrevivência durante períodos sem precipitação (Larcher 2000).

Diferentemente da condição de capacidade de campo, a desidratação diminui o potencial hídrico da célula e, assim, aumenta a força que provoca a absorção de água. Quando a deficiência hídrica atinge um determinado conteúdo de água no solo em que as plantas permanecem murchas até o período em que forem re-irrigadas, por chuvas ou irrigação, ocorre o que é conhecido como ponto de murcha permanente (PMP) (Kramer e Boyer 1995). Richards e Wadleigh (1952) constataram que o potencial de água no solo nesta situação variou de -1,5 a -2,0 MPa para muitas plantas, com a maioria dos valores próximos de -1,5 MPa, que hoje é geralmente usado como o potencial hídrico do solo próximo ao ponto de murcha permanente. Isso significa dizer que, quanto mais negativo for o potencial hídrico da célula ou compartimentos celulares, por exemplo, menor será a disponibilidade de água nesse sistema (Larcher 2000).

Portanto, o papel importante da água na manutenção da turgescência celular e a capacidade das plantas de superar condições adversas de disponibilidade hídrica no solo, são características importantes a serem consideradas em espécies tropicais, e que influenciam no crescimento vegetal.

2.2 O papel do fotoperíodo e da temperatura na planta

A duração da luz do dia muda com as estações, e embora outros fatores ambientais como temperatura e regime de chuvas possam variar de ano para ano, as mudanças de comprimento do dia seguem um padrão previsível (Imaizumi e Kay 2006), sendo para muitas plantas o fator determinante de crescimento (Gardner e Allard 1920).

Em 1920, os autores Gardner e Allard trabalhando com plantas de tabaco cultivar 'Maryland', perceberam que as plantas não floresciam nos campos de Maryland, Estados Unidos. Os autores testaram algumas hipóteses como má nutrição do solo, o transplântio das plantas e mudança de luz. Alterando o comprimento do dia através da cobertura do campo com uma estrutura à prova de luz, as plantas floresceram e confirmaram a hipótese dos autores de que o comprimento do dia é o fator que mais influenciava no florescimento dessas plantas (Gardner e Allard 1920). Os autores introduziram o termo fotoperíodo como sendo “um padrão recorrente de luz com períodos de escuridão” e fotoperiodismo como “resposta ou capacidade de resposta ao fotoperíodo (Imaizumi e Kay 2006). Segundo a revisão feita por Imaizumi e Kay (2006), os autores também foram os primeiros a classificar as plantas de acordo com as respostas fotoperiódicas com relação à floração em plantas de dias longos e plantas de dias curtos. No caso, as plantas de tabaco foram classificadas como plantas de dias curtos.

Além do fotoperíodo, outra mudança sazonal que influencia o desenvolvimento de espécies vegetais é a temperatura. A temperatura está entre os fatores ambientais mais importantes que controlam o desenvolvimento, o crescimento e a produção vegetais e as respostas das plantas podem ser resumidas em termos de três temperaturas

cardinais, isto é, (i) a temperatura máxima, (ii) de base ou mínima e (iii) a ótima (Yan e Hunt 1999).

Os trabalhos que investigam o efeito da temperatura no corpo vegetal geralmente são experimentais (Büntgen et al. 2015; Schmitz et al. 2015; Zhang et al. 2015; Begum et al. 2013). Com relação às consequências de mudança destas temperaturas, o efeito pode ser severo, causando danos celulares e até morte celular (Shabala 2012), porém o efeito de uma temperatura limite varia entre os climas do planeta.

Nesse contexto, uma característica fundamental das plantas sob variações extremas de temperatura, por exemplo, é a sazonalidade de divisão celular nos meristemas, ora em atividade e ora em dormência, na estação favorável e desfavorável de crescimento, respectivamente (ver Rohde e Bhalerao 2007). As plantas possuem os meristemas apicais localizados no ápice de ramos principais e laterais de caules e raízes, e os meristemas laterais (o câmbio vascular e o felogênio) dispostos em paralelo no eixo de caules e raízes (Sajo 2013). Assim, é muito importante conhecer os fatores que levam às condições favoráveis e desfavoráveis de sazonalidade desta atividade, o que neste trabalho é o principal objetivo.

2.3 Atividade cambial em espécies tropicais: trabalhos não manipulativos realizados em campo

Em ambientes tropicais, a sazonalidade pluviométrica tem sido tratada como fator determinante da atividade cambial (Worbes 1995; Borchert 1999; Evert 2006; Pumijumng e Buajan 2012). Condições de seca estão associadas à redução ou interrupção da atividade cambial em determinadas espécies e a precipitação está relacionada com o início da atividade do câmbio vascular (Aljaro et al. 1972). Worbes

(1995), trabalhando na região Amazônica, afirmou que precipitação menor que 60 mm durante dois ou três meses pode induzir a dormência cambial. Aljaro et al. (1972) compararam a atividade cambial em duas espécies da região semi-árida do Chile, *Proustia cuneifolia* D. Don (Asteraceae), arbusto decíduo, que teve atividade cambial sensível à precipitação, com ritmo sazonal em períodos de precipitação adequada, enquanto que *Acacia caven* Molina (Fabaceae), árvore sempre-verde, exibiu atividade cambial durante todo o ano. Os autores relacionaram a atividade contínua de *A. caven* à estratégia de adaptação, que consiste no desenvolvimento de raízes profundas capazes de resgatar água subterrânea. Dave e Rao (1982a) estudando *Gmelina arborea* Roxb. ex Sm. (Lamiaceae) observaram que a pluviosidade é o principal fator da atividade cambial nesta espécie e que a dormência, por sua vez, é observada nos meses mais secos do ano.

No Brasil, *Paubrasilia echinata* (Lam.) Gagnon, H.C. Lima & G.P. Lewis (Fabaceae) apresentou câmbio com um período ativo e outro inativo e a duração da atividade foi influenciada pelas chuvas em duas áreas de estudo, em Ilhéus (Bahia) e Mogi Guaçu (São Paulo) (Amano 2008). Os indivíduos coletados em Ilhéus apresentaram atividade cambial por dez meses enquanto que aqueles em Mogi Guaçu, por seis meses. A autora argumenta que em Ilhéus o período de déficit hídrico no solo foi curto, com apenas dois meses de duração e que as chuvas foram frequentes. Assim, segundo a autora, o período de inatividade do câmbio correspondeu ao período de perda de água no solo. Já, em Mogi Guaçu, o período inativo do câmbio foi observado em abril, julho e setembro e a retomada da atividade em outubro, quando se iniciou a estação de chuvas. Assim, Amano (2008) conclui que há sazonalidade na atividade cambial nas duas regiões, embora com duração diferente, principalmente relacionada à disponibilidade hídrica no solo. Marcati (2000), Marcati et al. (2006) e Marcati et al.

(2008) estudaram quatro espécies tropicais: *Citharexylum myrianthum* Cham. (Verbenaceae), *Cedrela fissilis* Vell. (Meliaceae), *Copaifera langsdorffii* Desf. (Fabaceae) e *Schizolobium parahyba* (Vell.) S.F. Blake (Fabaceae) em Botucatu, São Paulo, e verificaram que a atividade cambial foi correlacionada positivamente com o período chuvoso e presença de folhas. Em *C. fissilis*, por exemplo, o período de atividade cambial foi em setembro, novembro e dezembro, meses correspondentes à estação chuvosa e à presença de folhas maduras na espécie (Marcati et al. 2006). Para *S. parahyba*, a atividade cambial intensa foi observada com a chegada da estação chuvosa e na presença de folhas maduras, enquanto que a redução da atividade cambial ocorreu com a chegada da estação seca e a queda de folhas (Marcati et al. 2008).

Algumas espécies apresentam relação positiva da atividade cambial com a precipitação, como em *Proustia cuneifolia* (Aljaro et al. 1972), *Gmelina arborea* (Dave e Rao 1982a), *Rhododendron arboreum* Sm. (Ericaceae) (Paliwal e Paliwal 1990), *Tectona grandis* L. f. (Lamiaceae) em dois ambientes (Rao e Rajput, 1999; Dié et al. 2012), *Acacia nilotica* (L.) Willd. ex Delile (Fabaceae) (Rajput e Rao 2000), *Tamarindus indica* L. (Fabaceae) (Rajput e Rao, 2001), *Azadirachta indica* A. Juss. (Meliaceae) (Rajput e Rao 2002), *C. fissilis* (Marcati et al. 2006), *S. parahyba* (Marcati et al. 2008), *Prosopis flexuosa* DC. (Fabaceae) (Giantomassi et al. 2012), *Brachystegia spiciformis* Benth. (Fabaceae) (Trouet et al. 2012) e *Acacia ehrenbergiana* Hayne (Fabaceae) (Aref et al. 2014). Outras espécies mostram que há uma interação de fatores relacionados à atividade cambial como em *Acacia caven* (Aljaro et al. 1972), *Lithraea caustica* (Molina) Hook. & Arn. (Anacardiaceae), *Rhus ovata* S. Watson (Anacardiaceae) (Avila et al. 1975) e *Mangifera indica* L. (Anacardiaceae) (Dave e Rao, 1982b), *Mimusops elengi* L. (Sapotaceae) (Ghouse e Hashmi 1983), *Aphananthe*

monoica (Hemsl.) J.-F. Leroy (Cannabaceae), *Pleuranthodendron lindenii* (Turcz.) Sleumer (Salicaceae), *Psychotria costivenia* Griseb. (Rubiaceae) (Yañez-Espinosa et al. 2006), *Dillenia indica* L. (Dilleniaceae) (Venugopal e Liangkuwang, 2007) e *Parkia nitida* Miq. (Fabaceae) e *P. velutina* Benoist (Fabaceae) (Morel et al. 2015). Por exemplo, no trabalho de Avila et al. (1975), os autores amostraram oito espécies e as parearam por similaridade morfológica em dois ambientes áridos bem parecidos, no Chile e na Califórnia. Das oito espécies, duas delas (*L. caustica* e *R. ovata*) mantiveram câmbio ativo durante todo o ano, sendo uma do Chile e a outra da Califórnia. Já, os autores Rao e Rajput (2001) estudando *A. indica* observaram que os espécimes responderam de maneiras diferentes em três ambientes distintos: floresta decídua úmida, floresta decídua seca e savana. Assim, a atividade cambial foi sazonal nos espécimes de floresta úmida e seca, com reativação no período de intensa precipitação.

Embora a inibição do crescimento radial nas plantas pelo estresse hídrico esteja bem aceito e estabelecido para árvores tropicais em ambientes sazonais, as respostas das plantas à seca sazonal variam entre as espécies e não são sincronizadas pela sazonalidade pluviométrica (Borchert 1999). Para os autores Avila et al. (1975), é difícil pensar que um único fator isoladamente possa regular a atividade do câmbio. Esau (1965) e Rao e Dave (1983) concluíram que a atividade cambial é resultado de fatores, tanto internos quanto externos, que trabalham juntos no funcionamento do câmbio.

Trabalhos com espécies tropicais mostram que a temperatura (Yañez-Espinoza et al. 2006; Venugopal e Liangkuwang 2007; Bosio et al. 2016; Marcati et al. 2016) e o fotoperíodo (Yañez-Espinoza et al. 2006; Bosio et al. 2016; de Lara e Marcati 2016; Marcati et al. 2016) afetam a atividade cambial tanto quanto a pluviosidade. Em florestas pluviais subtropicais do México, Yañez-Espinoza e colaboradores (2006)

observaram em três espécies sempre-verdes que os períodos de atividade cambial estão mais estritamente relacionados com comprimento do dia e temperatura máxima do que com a precipitação (Yañez-Espinoza et al. 2006). Em floresta subtropical úmida da Índia, Venugopal e Liangkuwang (2007) discutem que a temperatura mínima mensal desempenha um papel mais importante para o funcionamento do câmbio do que a precipitação e a umidade relativa em *Dillenia indica*.

Com espécies brasileiras, trabalhos recentes (Bosio et al. 2016; de Lara e Marcati 2016; Marcati et al. 2016) relatam que um conjunto de fatores climáticos e ambientais está relacionado com o crescimento sazonal em espécies nativas de áreas sob domínio de Cerrado. Para a espécie arbórea decídua, *Kielmeyera grandiflora* (Wawra) Saddi (Calophyllaceae), o fotoperíodo e as temperaturas mínima e máxima foram os fatores de maior influência na atividade cambial (Bosio et al. 2016); para a espécie arbustiva sempre-verde *Cordia concolor* o fotoperíodo foi o único fator relacionado à atividade cambial, entre temperatura (média, mínima e máxima) e fenologia (de Lara e Marcati 2016) e em outras dez espécies de cerrado, o fotoperíodo foi o fator ambiental que melhor explicou a variação da atividade cambial nas espécies, mesmo apesar de haver relação da atividade cambial com precipitação e temperatura (Marcati et al. 2016).

Estudos da atividade cambial normalmente são realizados em espécies com marcadores de crescimento no lenho, pois esta é uma característica que demonstra a periodicidade de crescimento da planta. Os marcadores de crescimento podem ser formados no início e/ou no final da atividade do câmbio vascular. Um exemplo é a espécie *Cedrela fissilis* que apresenta camadas de crescimento distintas, demarcadas por faixas marginais de parênquima axial e maior dimensão dos vasos no lenho inicial (anéis semi-porosos) (Mainieri e Chimelo 1989). A atividade cambial e a formação dos

marcadores de crescimento nesta espécie foram estudados por Marcati et al. (2006) que observaram que a faixa de células parenquimáticas era formada tanto no início quanto no término do período da atividade cambial, e por este motivo os autores recomendam o uso do termo ‘marginal’ para a faixa parenquimática do marcador nessa espécie. Portanto, os estudos podem abordar tanto o efeito de diferentes variáveis ambientais na atividade cambial (disponibilidade hídrica, fotoperíodo e temperatura) quanto o período de formação do marcador de crescimento, para tentar explicar o papel de cada um desses fatores no funcionamento do câmbio.

2.4 Trabalhos experimentais sobre atividade cambial

A fim de tentar entender o funcionamento do câmbio vascular, estudos experimentais vêm sendo realizados com espécies de regiões temperadas. Estudos experimentais com espécies tropicais ainda são necessários, pois todos os trabalhos experimentais levantados nesta revisão foram realizados com espécies de regiões temperadas.

Para estas espécies, é aceito, de forma geral, que a atividade cambial seja influenciada principalmente pelo fotoperíodo e temperatura. Os trabalhos experimentais tentam elucidar justamente os efeitos desses dois fatores, juntos ou separadamente (Wareing e Roberts 1956; Waisel e Fahn 1965; Mellerowicz et al. 1992a; Oribe e Kubo 1997; Oribe et al. 2001; Oribe et al. 2003; Gričar et al. 2006; Kudo et al. 2014).

No trabalho de Wareing e Roberts (1956), os autores testaram dias longos (18 horas de luz) e dias curtos (9 horas de luz) na atividade cambial em plantas de um e dois anos após a remoção do ápice caulinar de plantas de *Robinia pseudoacacia* L. (Fabaceae). Na condição de dias longos, a maioria das plantas apresentava câmbio

ativo. Para explicar o motivo de algumas plantas não apresentarem câmbio ativo em dias longos como era o esperado, os autores explicam que, provavelmente, a atividade cambial já tinha cessado antes delas serem expostas a outras condições no experimento. Na condição de dias curtos, todas as plantas apresentaram câmbio dormente (Wareing e Roberts 1956).

Em 1965, os autores Waisel e Fahn (1965) utilizaram quatro combinações de temperatura e fotoperíodo e fizeram um experimento com plantas de três anos também em *R. pseudoacacia*. Sob temperaturas baixas (18°C/dia e 12°C/noite), o câmbio permanecia dormente, independente se a planta estava sob dias longos (17 horas de luz) ou curtos (7 horas de luz). O câmbio manteve-se ativo na presença de temperaturas altas (28°C/dia e 20°C/noite) e dias longos. Os autores discutem os resultados à luz da influência das altas temperaturas e da influência hormonal na atividade do câmbio, como o hormônio auxina, por exemplo (ver Waisel e Fahn 1965).

O mesmo padrão de dependência de temperatura foi encontrado em outro estudo, com plantas de seis anos de idade de *Abies balsamea* (L.) Mill. (Pinaceae) submetidas a quatro combinações de temperatura e fotoperíodo (Mellerowicz et al. 1992a). Sob temperaturas altas (24°C/dia e 20°C/noite), o câmbio estava ativo, enquanto sob temperaturas baixas (9°C/dia e 5°C/noite) estava dormente.

Para continuar investigando experimentalmente o efeito da temperatura, vários pesquisadores adotaram o método de instalação de uma fita elétrica ao redor do tronco das árvores, fornecendo calor na temperatura desejada, num total de sete espécies, a saber: *Cryptomeria japonica* (Thunb. ex L. f.) D. Don (Cupressaceae) (Oribe e Kubo 1997; Begum et al. 2012), *Larix leptolepis* (Siebold & Zucc.) Gordon (Pinaceae) (Oribe e Kubo 1997), *Abies sachalinensis* (F. Schmidt) Mast. (Pinaceae) (Oribe et al. 2001;

2003), *Picea abies* (L.) H. Karst. (Pinaceae) (Gričar et al. 2006), *Populus sieboldii* x *P. grandidentata* (Salicaceae) (Begum et al. 2007), *Abies firma* Siebold & Zucc. (Pinaceae) (Begum et al. 2012) e *Quercus serrata* Thunb. (Fagaceae) (Kudo et al. 2014). Com estes estudos foi possível observar que a reativação do câmbio foi induzida pelo aumento da temperatura em períodos de dormência cambial no inverno para seis das espécies mencionadas, exceto para *Larix leptolepis* (Siebold & Zucc.) Gordon (Oribe e Kubo 1997). Os autores explicam que possivelmente para esta espécie a reativação do câmbio seja regulada por hormônios endógenos, como auxina, e não pela temperatura do ar (Oribe e Kubo 1997). Por outro lado, alguns destes mesmos pesquisadores investigaram o efeito do resfriamento de uma parte do tronco das árvores no período de atividade do câmbio no verão nas coníferas *P. abies* (Gričar et al. 2006), *C. japonica* e *Chamaecyparis obtusa* (Siebold & Zucc.) Endl. (Begum et al. 2016). Esses trabalhos mostraram que a temperatura baixa induz a dormência cambial mais cedo que o natural em *P. abies* (Gričar et al. 2006), e em *C. japonica* e *C. obtusa* resultou ainda numa maior porção de lenho tardio, pela diminuição do diâmetro e espessamento da parede das traqueídes formadas (Begum et al. 2016).

Os estudos experimentais com espécies de região temperada incluíram mais uma variável nos trabalhos: a água. Trabalhos como os de Rossi et al. (2009), de Luis et al. (2011) e Balducci et al. (2013), trazem informações sobre a atividade cambial de diferentes espécies sob regimes hídricos controlados.

O efeito da água foi avaliado no crescimento apical e lateral em plantas de sete anos de idade de *Abies balsamea* (Pinaceae) em dois regimes hídricos por 20 dias (Rossi et al. 2009): (i) plantas mantidas sob 80% da capacidade de campo e (ii) plantas mantidas sem irrigação e depois reirrigadas. Os autores observaram que não houve

diferença entre os dois regimes hídricos, nem para o crescimento apical nem para o lateral, havendo somente uma redução do diâmetro das traqueídes nas plantas expostas à seca. Dessa forma, concluem que uma seca intensa e curta não afeta seriamente o crescimento de *A. balsamea*, tendo essa espécie plasticidade e resistência ao período imposto de seca.

Uma outra espécie, o *Pinus halepensis* Mill. (Pinaceae), mostrou-se sensível a uma seca prolongada (de Luis et al. 2011). Os autores utilizaram plantas de 3 anos de idade da espécie em dois regimes hídricos: (i) plantas irrigadas com uma lâmina d'água de 10mm diariamente e (ii) plantas não irrigadas durante 3 meses, correspondentes a primavera (março a maio), verão (junho a agosto) e outono (setembro a novembro). A dormência do câmbio foi observada nas plantas não irrigadas nos períodos de primavera e verão (mais quentes), sendo a dormência mais acentuada nos meses de maio e junho. Já, a atividade do câmbio foi observada nas plantas irrigadas na primavera, verão e outono. Os autores concluem que as plantas dessa espécie estão ameaçadas se houver um aumento da estiagem em períodos secos do ano, especialmente primavera e verão.

Tanto a disponibilidade hídrica quanto a temperatura foram investigadas por Balducci et al. (2013) em plantas de quatro anos de idade de *Picea mariana* (Mill.) Britton, Sterns & Poggenb. (Pinaceae). Os autores dividiram três grupos de temperaturas distintas: (i) T0, com temperaturas iguais as da temperatura externa; (ii) T+2 com dois graus acima da temperatura externa e (iii) T+5, com cinco graus acima da temperatura externa. Em cada grupo, dois regimes hídricos foram instalados: (i') controle, com as plantas submetidas à capacidade de campo e (ii') déficit hídrico, sem irrigação por 32 dias. Os autores observaram que a retomada da atividade cambial com irrigação, após déficit hídrico severo, foi dependente da temperatura, e que a mais

indicada foi T+2, entre 15 a 20°C. Acima dessas temperaturas a reativação do câmbio vascular foi lenta. Os autores concluíram que *P. mariana* é uma espécie resistente ao déficit hídrico sob temperaturas elevadas, porém o aumento da temperatura pode comprometer o crescimento da espécie e que a espécie foi mais sensível à mudança de temperatura do que as mudanças no regime hídrico (Balducci et al. 2013).

Portanto, visto que tanto fotoperíodo quanto temperatura e a água são fatores que influenciam a atividade cambial em espécies de região temperada, para espécies tropicais estudos experimentais ainda necessitam ser realizados. Estes fatores, fotoperíodo, temperatura e água, também podem conjuntamente influenciar o crescimento de espécies tropicais, principalmente quando consideramos espécies de ambientes conhecidamente sazonais, como o Cerrado.

2.5 A savana brasileira: Cerrado

As savanas recobrem um quinto da superfície terrestre (Sankaran et al. 2005), são ecossistemas comumente associados às zonas tropicais do planeta (Hoffman e Jackson 2000; Hoffmann et al. 2002; Staver et al. 2011) e são caracterizadas pela dominância de plantas lenhosas e herbáceas que variam na densidade e na cobertura vegetal (ver Hoffman e Jackson 2000; Hoffmann et al. 2002; Sankaran et al. 2011; Hirota et al. 2011; Staver et al. 2011).

A vegetação do Cerrado apresenta uma ampla diversidade fisionômica, desde campos até florestas altas, mas suas principais fisionomias se encaixam na definição de savana tropical (Sarmiento 1983). Nesse sentido, devido a essa variedade de fitofisionomias, o Cerrado é conhecido como um mosaico complexo de biomas (Coutinho 2000; Batalha e Martins 2002). Considerando a flora vascular, o Cerrado

brasileiro é a savana neotropical mais rica, com mais de 400 espécies lenhosas (Sarmiento 1996).

O Cerrado é o segundo maior domínio fitogeográfico do Brasil (Batalha e Martins 2002), e ocupava originalmente 23% da área total do país (Ratter et al. 1997). A palavra ‘domínio’ deve ser entendida como uma área do espaço geográfico onde predominam certas características morfoclimáticas e fitogeográficas, distintas daquelas predominantes nas demais áreas (Coutinho 2000). Dessa forma, outras feições morfológicas ou condições ecológicas podem ocorrer em um mesmo domínio, além daquelas predominantes (Coutinho 2000). A área central do Cerrado cobre o Planalto Central do Brasil, e as áreas disjuntas ocorrem, por exemplo, no estado de São Paulo (Ratter et al. 1997). O clima é marcadamente sazonal, com um período seco de maio a setembro e chuvas concentradas no verão de dezembro a março, com precipitação anual de 800 a 2000 mm e temperatura anual média de 20°C a 26°C (Eiten 1972; Coutinho 2000).

Solos típicos de Cerrado são normalmente profundos, uniformes, arenosos, submetidos a profundo intemperismo, ácidos, pobres em bases trocáveis e ricos em óxidos de ferro e alumínio (Goodland e Ferri 1979). No que diz respeito a capacidade de retenção de água, solos de Cerrado tendem a apresentar baixa capacidade de armazenamento e serem bem drenados, justamente por serem porosos (ver Goodland e Ferri 1979).

O Cerrado é um local promissor para estudos de sazonalidade de crescimento em espécies tropicais onde as plantas são fortemente influenciadas pelas limitações do regime de chuvas, altas temperaturas, altas irradiâncias, e os solos são pobres em nutrientes com altos níveis de alumínio (Franco et al. 2002). O déficit de água nas

camadas superficiais do solo e a alta demanda evaporativa da atmosfera são fatores que devem ser levados em consideração para as plantas que crescem no Cerrado, considerando a sazonalidade das chuvas desse ambiente.

Portanto, sabendo da importância ecológica de um ambiente tão complexo e bem distribuído no Brasil, além dos fatores causais já apresentados nesta revisão, que implicam em sazonalidade na atividade cambial em diversas espécies, estudamos os referenciais bibliográficos para respaldar nosso trabalho experimental, a fim de compreender melhor quais fatores afetam a atividade cambial em uma espécie sempre-verde tropical. Assim, buscamos desvendar o efeito da disponibilidade hídrica controlada na atividade cambial em *Cordia concolor*; se a atividade cambial é somente influenciada pela quantidade de água disponível no solo ou se há uma interação entre o efeito da água e dos fatores abióticos, fotoperíodo e temperatura.

Conforme estabelecido pelo Conselho do Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas (Botânica), expresso na portaria N° 02/2011-SPG/IBB/UNESP, os resultados obtidos durante a execução desta tese foram redigidos como um manuscrito segundo as normas da revista “*Planta*”.

1 **Cambial activity is day length-dependent: an experimental study of a Brazilian**
2 **evergreen species***

3 *This manuscript had contribution of Drs. Magali Ribeiro da Silva and Anselmo
4 Nogueira

5
6 **Main conclusions:** The cambial activity is day length-dependent in early spring while
7 its extension is determined by water availability in the soil in late summer for *Cordia*
8 *concolor*.

9
10 **Abstract**

11 Experimental manipulative approaches are essential in studies investigating the causal
12 factors related to the plant growth and cambial activity, especially in tropical species.
13 Here, we studied the potential effect of different water regimes and the natural variation
14 of day length and temperature on the cambial activity in *Cordia concolor* (Cham.)
15 Kuntze, an evergreen tropical species. Experimental procedure was performed in a
16 greenhouse using ninety 1-year-old plants divided in two intervals of five weeks each
17 (early spring and late summer, n=45 plants, each). The plants were submitted to three
18 distinct water regimes (waterlogging, field capacity and water deficit, n=15 plants
19 each). Temperature and day length were sampled daily and stem samples weekly during
20 both sampling intervals. In the laboratory, plant anatomical procedures were used to
21 describe the cambial activity in each stem sampled. Cambial activity and abiotic factors
22 relationships were tested by using generalized linear models (GLM). In the early spring,
23 independently of water supply, cambial activity increased along the weeks followed by
24 the increase of day length. In contrast, in the late summer, cambial dormancy was
25 delayed in plants under waterlogging and advanced in plants under water deficit,
26 followed by decrease of day length. Our results suggest that the water content in the soil

27 and its influence on cambial activity depend on the period of the year, and seems to be
28 day length-dependent to the cambial activity. Additionally, we concluded that the
29 marginal bands of axial parenchyma in wood are initial.

30

31 **Key words:** *Cordia concolor*, early spring, late summer, tropical species, water
32 availability.

33

34

35

36

37

38

39

40

41

42

43

44

45

46

47

48

49

50

51

52 **Introduction**

53 Cambial activity in woody plants is influenced by extrinsic factors such as
54 precipitation, day length and temperature (Borchert 1999) and by intrinsic factors as the
55 plant hormones (Little and Savidge 1987). The variation of these factors through year
56 may lead to the cambial seasonality, which depends on the environment in which the
57 tree grows. Among the extrinsic factors influencing cambial activity, in cold temperate
58 environments, the temperature has been considered as the most important factor (Begum
59 et al. 2013; Rossi et al. 2013). In tropical environments, cambial activity has been
60 attributed mainly to precipitation, as was earlier reported for several tropical species
61 studied by Worbes (1995) and more recently in five tropical species of Thailand
62 (Pumijumnong and Buajan 2012). For Brazilian species, the active period coincides
63 with the wet season and the dormant period coincides with the dry season (Marcati et al.
64 2006; Marcati et al. 2008).

65 Most studies on cambial activity in tropical species were carried out in plants
66 from the field, providing information about the temporal patterns of cambial activity
67 throughout the year (see Aljaro et al. 1972; Avila et al. 1975; Dave and Rao 1982;
68 Worbes 1995; Rao and Rajput 1999; Rajput and Rao 2000; 2001; 2002; Dié et al. 2012;
69 Pumijumnong and Buajan 2012; Trouet et al. 2012). For instance, Chilean and
70 Californian evergreen shrubs species revealed an absence of correlation between rainfall
71 and cambial activity, and in two of these species the cambial activity was observed in
72 early spring while cambial dormancy in late summer (Avila et al. 1975). In Mexican
73 evergreen species, the maximum temperature and day length were the most important
74 factors explaining the cambial activity (Yañez-Espinosa et al. 2006). Recently, for
75 Brazilian evergreen species of Cerrado, a savanna-like ecosystem, it was found that day
76 length (de Lara and Marcati 2016) and temperature (Marcati et al. 2016) were important

77 signals to the cambial activity. Thus, questions regarding to the relationship among the
78 abiotic factors (water, day length and temperature) and the cambial activity can only be
79 solved by manipulative studies that modify experimentally these factors.

80 In relation to experimental approaches, research on cambial activity has been
81 limited to temperate species, either investigating the effects of temperature and/or day
82 length (Wareing and Roberts 1956; Waisel and Fahn 1965; Mellerowicz et al. 1992a;
83 Mellerowicz et al. 1992b; Oribe and Kubo 1997; Oribe et al. 2001; Begum et al. 2013),
84 or the effects of water availability (Rossi et al. 2009; de Luis et al. 2011; Balducci et al.
85 2013) to cambial activity. Under limited water availability, cell divisions and expansion
86 of newly produced cells can be reduced or ceased (Abe and Nakai 1999; Abe et al.
87 2003). Long dry period during summer may affect the cambial activity in seedlings 3-
88 year-old (de Luis et al. 2011) and two different water regimes, after severe drought,
89 affect the resumption of cambial activity in saplings 4-year-old (Balducci et al. 2013).
90 Thus, recent studies have shown the relevance of water availability for cambial activity
91 in temperate species (Rossi et al. 2009; de Luis et al. 2011; Balducci et al. 2013). For
92 tropical species, experimental researches that would provide a comprehensive view of
93 the aspects of cambial variation remain to be done.

94 Taking into account that, for tropical species: (i) precipitation has been
95 considered the main extrinsic factor related to cambial activity; (ii) day length and
96 temperature seem to be important signals to cambial activity and (iii) experimental
97 studies still remain unexplored, we experimentally investigate the effects of distinct
98 water regimes and the natural variation of abiotic factors (day length and temperature)
99 on cambial activity in a tropical evergreen species widely distributed in Brazil, *Cordia*
100 *concolor* (Cham.) Kuntze (Rubiaceae). Given that there is an increase in the frequency
101 and severity of droughts (IPCC 2014) and that the water is a limited resource, we test

102 the effect of water availability (including water deficit) in association with temperature
103 and day length on cambial activity, addressing four main questions for an evergreen
104 tropical species, *Cordia concolor*: (i) How cambial activity changes over weeks? (ii)
105 What is the effect of the soil water availability on the cambial activity? (iii) Is the
106 natural variation of day length and temperature related to the cambial activity? (iv) Are
107 the formation of axial parenchyma bands initial, terminal or initial and terminal?

108

109 **Material and Methods**

110 *Species and study area*

111 *Cordia concolor* (Cham.) Kuntze (Rubiaceae) is an evergreen shrub (see
112 Supplementary Fig. S1b-d) that occurs in the Brazilian central plateau (Zappi 2015) and
113 different environments: seasonal forest, gallery forest and cerrado *sensu stricto*
114 (Medeiros 2011; Zappi 2015). Because *C. concolor* has seasonal cambial activity (de
115 Lara and Marcati 2016), and growth markers in its wood (marginal bands of axial
116 parenchyma) (Sonsin et al. 2014), we chosen this species for this experimental study.

117 The adult individuals of *C. concolor* selected to obtain seeds were growing in
118 area of cerrado *sensu stricto* (savanna-like ecosystem) (see Supplementary Fig. 1a) in
119 Rubião Jr., Botucatu, São Paulo, Brazil (S22°53'29,5'', W48°29'21''). The area is
120 composed by herbaceous-shrub layer in association with sparse trees (Bosio et al.
121 2016). In São Paulo state, which includes our study site, the remnants of the Cerrado are
122 in scattered patches covering < 1% of the state (Durigan et al. 2004; Sonsin et al. 2012).
123 Cerrado *sensu stricto* is one of the vegetation types from this tropical savanna (Oliveira-
124 Filho and Ratter 2002), and it is dominated by tortuous treelets often 3–8 m tall and
125 shrubs giving more than 30% crown cover but with still a fair amount of herbaceous
126 vegetation between them (Oliveira-Filho and Ratter 2002).

127 *Sources of plant material and seed germination*

128 We collected seeds from mature fruits (see Supplementary Fig. S1d) of three
129 individuals of *Cordia concolor*. The seeds were germinated in wet filter paper inside
130 acrylic boxes under fluorescent lamps in a germination chamber at $25^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ under
131 alternated day length (12h of dark and 12h of light). After primary root protrusion, we
132 replaced the wet filter paper by vermiculite adding Hoagland and Arnon (1950)
133 solution. Here, the term “seedling” refers to the developmental stages from primary
134 root protrusion to the expansion of the first eophyll pair, and the term “plant” refers to
135 the developmental stages beginning with the expansion of the first metaphyll pair (*sensu*
136 Oliveira 2001); we characterized the metaphylls by analyzing the leaf matrices.

137

138 *Experimental design*

139 We selected ninety plants of relatively uniform size (15.0 ± 0.6 cm of height and
140 2.3 ± 0.2 mm of diameter at the collar) for the experiment manipulating the water
141 availability. After complete 1-year-old, we transferred these plants to plastic pots
142 (volume of one liter) filled with the same soil from the cerrado *sensu stricto* where the
143 matrices of *C. concolor* occur. We conducted the experiment twice in plants with the
144 same age, in the early spring, from September 12th to October 17th (see Supplementary
145 Tab. S1), and in the late summer, from March 1st to April 5th (see Supplementary Tab.
146 S2). Forty-five plants were used in each sampling interval. We selected these two
147 intervals (early spring and late summer) based on Brazilian literature (Bosio et al. 2016;
148 Marcati et al. 2016) that indicates that the early spring could be associated with the
149 onset of cambial activity, when the day length increases from 11 hours to 12 hours and
150 mean temperature is $19,9^{\circ}\text{C}$, and late summer with the cambial ending, when day length
151 decreases from 12 hours to 11 hours and mean temperature is $23,9^{\circ}\text{C}$.

152 To establish the different water treatments in the experiment, we use a water
 153 retention curve according to Richards (1948) (Tab. 1). In addition, we analyzed physical
 154 and chemically the soil of the cerrado area (Supplementary Tab. S3). We divided the
 155 forty-five plants at random into three treatments (Fig. 1), 15 plants each, and transferred
 156 to a greenhouse. The treatments were: (i) waterlogged with 21 % humidity in the soil
 157 (T1) with plants placed in a tank (Fig. 1a), where the water level was maintained by the
 158 addition of water in a level of 5 cm; (ii) plants kept close to field capacity with 8 %
 159 humidity in the soil (T2) (Fig. 1b); (iii) dry regime with 3 % humidity in the soil (T3)
 160 with plants kept with soil water content at the wilting point (Fig. 1b). In the last two
 161 treatments, we put water in each pot every day. To assess the cambial activity, three
 162 plants per treatment were sampled during five weeks. All plants were exposed to the
 163 same day light and temperature depending on each sampling interval.

164

165 **Tab. 1** Water content in cerrado soil

| | Soil water retention tension (KPa) | | | | | | | |
|--------------|------------------------------------|---------|-----|-----|-----|-----|-----|-----------|
| | ↓ 0 | ↓ 10 | 30 | 50 | 100 | 300 | 500 | ↓ 1500 |
| Humidity (%) | 21 | 8,4 | 5,8 | 4,4 | 4,2 | 3,8 | 3,5 | 3,3 |

166 The arrows indicate the points selected in the experiment.

167

168 The maintenance of each water treatment over weeks were evaluated by the
 169 weighing method (Klar et al. 1966). This method is based on daily weighing plastic pot
 170 to determine when we had to irrigate each pot. Also, we determined the initial soil
 171 moisture by gravimetric method (Blake 1965). For each treatment, we determined the
 172 weight of plastic pot, the weight of the plant and the weight of the soil. From the sum of
 173 the weights, we determined the weight corresponding to the amount of water for each
 174 pot. The same procedure was done for both sampling intervals.

Fig. 1. Experimental set-up of controlled water regimes. **a** Experimental procedure showing the tank with waterlogging plants. **b** Experimental procedure were performed by a completely randomized design with field capacity and water deficit treatments.



175 *Meteorological data*

176 We obtained daily minimum and maximum temperatures from the
177 Meteorological Station at Faculdade de Ciências Agrônômicas at UNESP, Botucatu, SP
178 for both intervals. The Meteorological Station is 1 km far from the nursery at Faculdade
179 de Ciências Agrônômicas where the experiments were conducted. The day length data
180 were obtained from the website Time and Date (2015) (Tab. 2; Tab. 3).

181

182

183

184

185

186

187

188

189

190

191

192

193

194

195

196

197

198

199

200 **Tab. 2** Temperature and day length of sampling weeks (early spring)

| Weeks | Days | Minimum temperature (°C) | Maximum temperature (°C) | Day length (hours) |
|----------------------|------------|--------------------------|--------------------------|--------------------|
| 1 st week | 12/09/2013 | 15,8 | 28,8 | 11:53:16 |
| | 13/09/2013 | 11,4 | 29,4 | 11:54:36 |
| | 14/09/2013 | 17,4 | 31,0 | 11:55:56 |
| | 15/09/2013 | 18,8 | 29,0 | 11:57:17 |
| | 16/09/2013 | 19,8 | 28,6 | 11:58:38 |
| | 17/09/2013 | 16,2 | 19,4 | 11:59:58 |
| | 18/09/2013 | 14,2 | 17,0 | 12:01:19 |
| 2 nd week | 19/09/2013 | 14,0 | 26,0 | 12:02:40 |
| | 20/09/2013 | 16,0 | 25,0 | 12:04:02 |
| | 21/09/2013 | 19,0 | 32,2 | 12:05:23 |
| | 22/09/2013 | 19,4 | 29,2 | 12:06:44 |
| | 23/09/2013 | 15,2 | 25,0 | 12:08:06 |
| | 24/09/2013 | 15,0 | 19,0 | 12:09:28 |
| | 25/09/2013 | 6,8 | 19,2 | 12:10:49 |
| 3 rd week | 26/09/2013 | 9,0 | 21,0 | 12:12:11 |
| | 27/09/2013 | 9,0 | 24,6 | 12:13:33 |
| | 28/09/2013 | 10,4 | 29,6 | 12:14:55 |
| | 29/09/2013 | 13,2 | 24,4 | 12:16:16 |
| | 30/09/2013 | 15,2 | 20,2 | 12:17:38 |
| | 01/10/2013 | 16,0 | 24,0 | 12:19:00 |
| | 02/10/2013 | 16,0 | 21,8 | 12:20:22 |
| 4 th week | 03/10/2013 | 11,2 | 23,8 | 12:21:43 |
| | 04/10/2013 | 15,6 | 20,0 | 12:23:05 |
| | 05/10/2013 | 16,0 | 25,4 | 12:24:27 |
| | 06/10/2013 | 11,0 | 24,2 | 12:25:48 |
| | 07/10/2013 | 12,2 | 22,0 | 12:27:10 |
| | 08/10/2013 | 11,0 | 23,0 | 12:28:31 |
| | 09/10/2013 | 12,6 | 25,2 | 12:29:52 |
| 5 th week | 10/10/2013 | 13,0 | 25,8 | 12:31:13 |
| | 11/10/2013 | 15,0 | 26,0 | 12:32:34 |
| | 12/10/2013 | 16,0 | 23,0 | 12:33:55 |
| | 13/10/2013 | 16,4 | 29,4 | 12:35:16 |
| | 14/10/2013 | 21,0 | 31,0 | 12:36:36 |
| | 15/10/2013 | 19,0 | 29,8 | 12:37:56 |
| | 16/10/2013 | 11,2 | 18,8 | 12:39:16 |
| 17/10/2013 | 16,0 | 25,0 | 12:40:35 | |

201

202

203

204

205 **Tab. 3** Temperature and day length of sampling weeks (late summer)

| Weeks | Days | Minimum temperature (°C) | Maximum temperature (°C) | Day length (hours) |
|----------------------|------------|--------------------------|--------------------------|--------------------|
| 1 st week | 01/03/2014 | 18,0 | 28,0 | 12:33:24 |
| | 02/03/2014 | 18,8 | 29,4 | 12:32:02 |
| | 03/03/2014 | 18,8 | 29,2 | 12:30:40 |
| | 04/03/2014 | 19,0 | 29,6 | 12:29:17 |
| | 05/03/2014 | 18,8 | 23,8 | 12:27:55 |
| | 06/03/2014 | 19,0 | 30,6 | 12:26:32 |
| | 07/03/2014 | 19,0 | 27,8 | 12:25:10 |
| | 08/03/2014 | 16,2 | 27,0 | 12:23:47 |
| 2 nd week | 09/03/2014 | 17,2 | 28,6 | 12:22:24 |
| | 10/03/2014 | 22,4 | 31,0 | 12:21:01 |
| | 11/03/2014 | 20,0 | 31,0 | 12:19:38 |
| | 12/03/2014 | 19,6 | 25,4 | 12:18:15 |
| | 13/03/2014 | 19,0 | 25,0 | 12:16:52 |
| | 14/03/2014 | 19,0 | 31,0 | 12:15:29 |
| | 15/03/2014 | 20,0 | 32,0 | 12:14:06 |
| | 16/03/2014 | 20,0 | 32,0 | 12:12:43 |
| 3 rd week | 17/03/2014 | 20,0 | 31,4 | 12:11:20 |
| | 18/03/2014 | 20,6 | 31,6 | 12:09:57 |
| | 19/03/2014 | 18,6 | 30,0 | 12:08:34 |
| | 20/03/2014 | 20,0 | 29,4 | 12:07:12 |
| | 21/03/2014 | 19,0 | 30,0 | 12:05:49 |
| | 22/03/2014 | 19,6 | 26,0 | 12:04:26 |
| | 23/03/2014 | 17,2 | 24,0 | 12:03:04 |
| | 24/03/2014 | 15,8 | 26,8 | 12:01:41 |
| 4 th week | 25/03/2014 | 16,0 | 28,6 | 12:00:19 |
| | 26/03/2014 | 18,0 | 27,6 | 11:58:57 |
| | 27/03/2014 | 17,2 | 29,0 | 11:57:35 |
| | 28/03/2014 | 17,4 | 30,8 | 11:56:13 |
| | 29/03/2014 | 18,0 | 30,0 | 11:54:51 |
| 5 th week | 30/03/2014 | 19,4 | 27,0 | 11:53:30 |
| | 31/03/2014 | 19,8 | 28,4 | 11:52:09 |
| | 01/04/2014 | 19,4 | 30,4 | 11:50:47 |
| | 02/04/2014 | 19,2 | 30,4 | 11:49:27 |
| | 03/04/2014 | 18,4 | 30,6 | 11:48:06 |
| | 04/04/2014 | 19,2 | 28,4 | 11:46:46 |
| | 05/04/2014 | 17,2 | 31,0 | 11:45:26 |

206

207

208

209 *Light microscopy and cambial activity definition*

210 We obtained stem samples containing the cambial zone and the secondary
211 tissues (xylem and phloem) at the end of each week and immediately fixed in CRAF III
212 (10% chromic acid, glacial acetic acid, 37% formaldehyde and distilled water) (Berlyn
213 and Miksche 1976), where they remained for one week. We trimmed small samples of
214 the stems and dehydrated in ethanolic sequence, embedded in plastic resin according to
215 Bennett et al. (1976), and sectioned (transversally and longitudinally) of about 4 μm in
216 thickness using a semi-automated rotary microtome. We stained the sections with
217 toluidine blue in acetate buffer, pH 4.7, producing a metachromatic stain (O'brien et al.
218 1964). For transversal sections, we also sectioned free-hand samples and stained with a
219 safranin/astra blue solution. We obtained images under a light microscope equipped
220 with a digital camera.

221 We identified cambial activity by mitotic figures and the presence of recently
222 formed periclinal cell walls (Esau 1977; Evert 2006). Fifteen sequential radial rows in
223 the cambial zone in transverse sections were used to count the recently formed
224 periclinal cell walls. We used the term “cambial zone” to describe the radial rows of
225 fusiform cells and ray initials, which are initial cells plus their derivatives (between
226 differentiating or differentiated xylem and phloem cells).

227 *Data analyses*

228 We analyzed the dataset of cambial activity separately between the two sampling
229 periods (early spring and late summer). For each period, we explored the relationship
230 between cambial activity and time (weeks), a statistical test not related with any causal
231 hypothesis; and then we explored the relationship between the cambial activity and
232 water availability in the soil, temperature and day length in accordance to previous
233 causal hypothesis available in the literature (Bosio et al. 2016; de Lara and Marcati

234 2016; Marcati et al. 2016). In both cases, we used generalized linear models (GLM),
235 when the variance is not constant, and or when the errors are not normally distributed
236 (Crawley 2007a). Two different descriptors of cambial activity as dependent variables
237 were used: presence/absence of cambial activity and the number of recently formed
238 periclinal cell walls. For presence (1) or absence (0) of cambial activity, we used a
239 model with a binomial distribution, which explain the factors that are associated with an
240 individual being in one class or the other (Crawley 2007a). For the number of recently
241 formed periclinal cell walls (count data), we used a negative binomial distribution
242 (Crawley 2007b). After each analysis, we verified the overdispersion before interpreting
243 any conclusions about the significance of effects. We used the scale parameter to
244 describe the overdispersion that is an unexplained variation in the response, which the
245 residual deviance is larger than residual degrees of freedom (Crawley 2007a). If the
246 error distribution used in each model is appropriate, then both residuals assume similar
247 values and the scale parameter (the ratio of the residual deviance by the residual degree
248 of freedom) will be around 1 with an excellent best-fit (Crawley 2007a). We performed
249 all analyses using the R statistical platform (R Core Team 2015), AICcmodavg package
250 (Mazerolle 2015) for the non-count data, and MASS package (Vernables and Ripley
251 2002) for count data.

252

253 **Results**

254 The cambial activity occurred when recently formed periclinal cell walls (Fig.
255 2a-c) and signs of cell division in the cambial zone were observed in terms of mitotic
256 figures (Fig. 2d-f). The cambial dormancy was observed when no signs of cell division
257 were observed in both, transverse and radial sections (Fig. 3a, b) and when the radial
258 walls of fusiform initial cells were thick with numerous pit fields, providing the wall a

259 “beaded” aspect in tangential section (Fig. 3c). These characteristics of the vascular
260 cambium were seen in both intervals, early spring and late summer.

261 *Cambial activity and variation through early spring and late summer*

262 The number of plants with active cambium increased along the weeks in early
263 spring (Fig. 4a), while the number of plants with active cambium decreased along the
264 weeks in late summer (marginal significance in the statistical analyses; Fig. 4b).

265 The pattern of variation of the number of recently formed periclinal cell walls
266 through time (weeks) was not clear either in the early spring or in late summer (Tab. 4).

267 *Effect of water availability on cambial activity*

268 In early spring, we did not detect the direct effect of water availability on
269 cambial activity, independent of the cambial descriptors used (Fig. 5a, c, Tab. 5).

270 In late summer, we detected a positive effect of water availability on cambial
271 activity, in which most plants in the waterlogging treatment remained with the active
272 cambium during the experiment, and most plants of dry regime treatment had dormant
273 cambium (Fig. 5b; Tab. 5). The same effect was detected on the number of recently
274 formed periclinal cell walls, in which waterlogged plants had the highest number of thin
275 walls among treatments (Fig. 5d, Tab. 5).

276 *Relationship between day length and temperature with cambial activity*

277 In early spring, day length reached 12 hours and 40 minutes, increasing 47
278 minutes from the first to the fifth week (Tab. 2). Most plants had their cambium active
279 already in the third week (Fig. 4a) when day length reached more than 12 hours (Fig.
280 5a; Tab. 3). The greater the day length the more likely the cambium to be active in *C.*
281 *concolor* plants (Fig. 5a; Tab. 5).

282 In late summer, day length reached 11 hours and 45 minutes, decreasing 48
283 minutes from the first to the fifth week (Tab. 3). Day length was also positively

284 correlated with the cambial activity, in which the decrease of day length was associated
285 with the decrease in the number of plants with active cambium (Fig. 5b). This pattern
286 was clearly detected in plants under field capacity (Fig. 5b; Tab. 5), and less evident in
287 the dry regime and waterlogged plants. In the fifth week most plants had their cambium
288 dormant (Fig. 4b), when day length decreased 20 minutes from the 12 hours (Fig. 5b).
289 Variation of the number of recently formed periclinal cell walls among plants was not
290 explained by the day length in both intervals of sampling (Tab. 5).

291 Additionally, we did not have evidences of the relationship between temperature
292 (maximum or minimum) and cambial activity in all analyzes performed (Tab. 5).

293 *Formation of axial parenchyma band*

294 Axial parenchyma bands (Fig. 6a, b) were seen in the wood of *Cordia*
295 *concolor* demarcating growth increments. As we observed that no overwintering cells
296 were adjacent to the dormant cambial zone (Fig. 3a; 6a, c, d), and all xylem cells were
297 fully differentiated in this period, the layers of immature axial parenchyma cells seen
298 when cambium was active indicated that these bands were produced in the beginning of
299 cambial activity (in transverse, Fig. 6b, and in radial sections, Fig. 6e).

Fig. 2 Cambial activity for *Cordia concolor*. **a, b** Active cambium evidenced by the recently formed periclinal cell walls (*black arrows*) in transverse section and **c** in radial section. **d-f** Mitotic figures in the active cambial zone (*white arrows*). **Labels:** Cz: cambial zone; Ph: secondary phloem; Xy: secondary xylem.

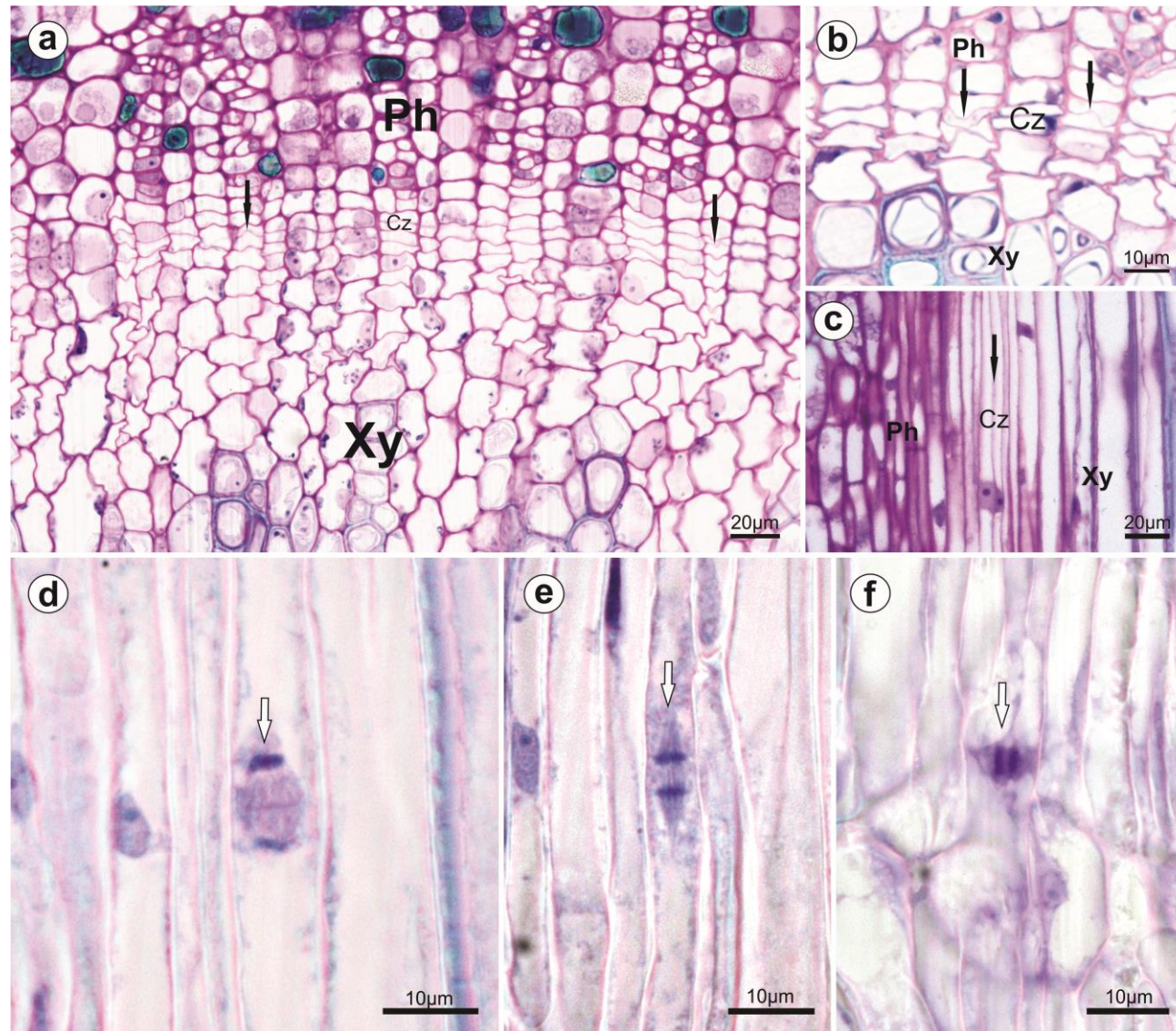
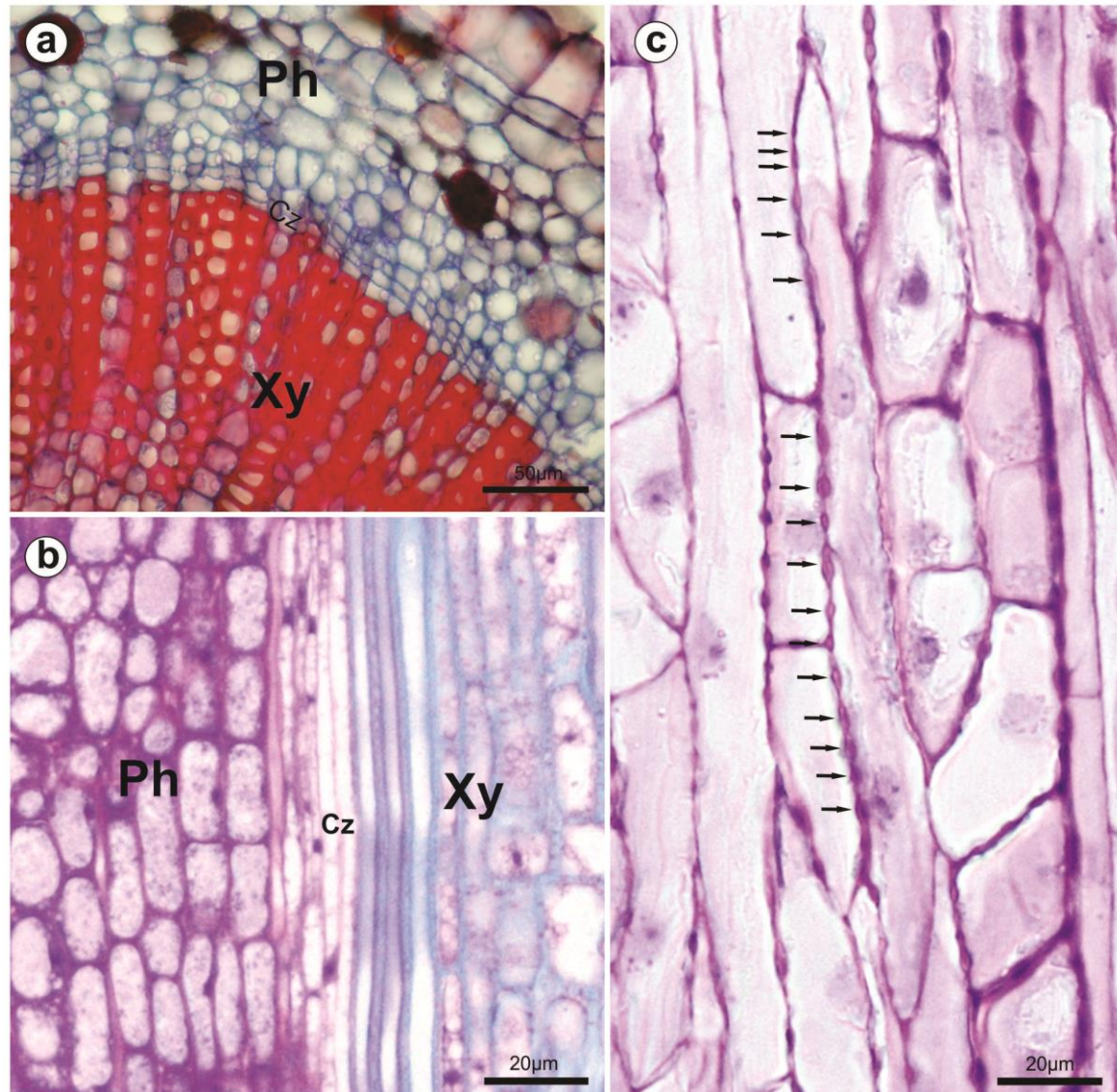


Fig. 3 Cambial dormancy for *Cordia concolor*. **a** Dormant cambial zone in transverse section, with thick cell walls and no evidence of cell divisions. **b** Dormant cambial zone in radial section. **c** Beaded appearance of the radial walls due to the presence of deeply depressed primary pit-fields (*arrows*). **Labels:** Cz: cambial zone; Ph: secondary phloem; Xy: secondary xylem.



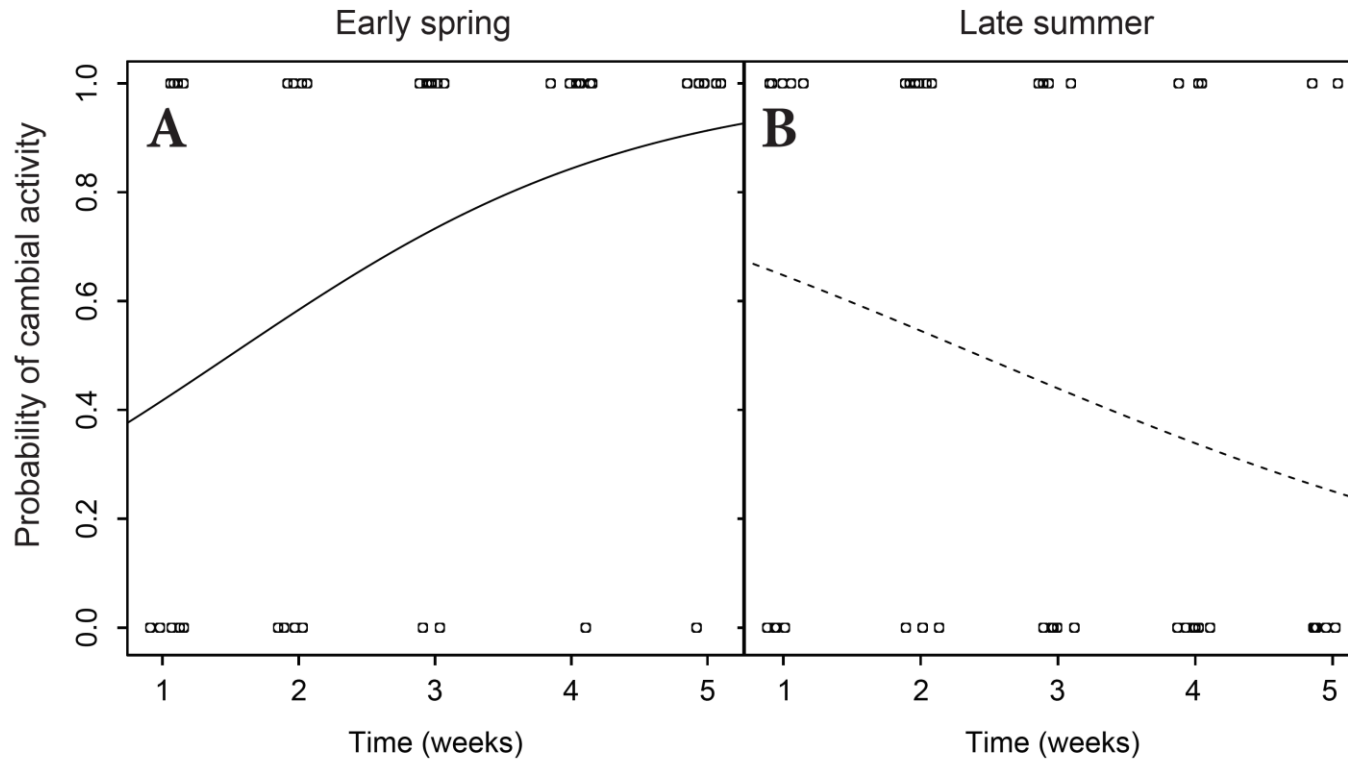


Fig. 4 Correlations between time (weeks) and cambial activity for both intervals.

Tab. 4 Statistical models for both intervals describing the probability of cambial activity of *Cordia concolor* plants and the number of recently formed periclinal cell walls (RFPCW), in relation to time (weeks). *GLM*: generalized linear models; *BN*: binomial negative; *RFPCW*: recently formed periclinal cell wall

| Sampling Period | Response | Model | Distribution | Fixed effects | Estimate | SE | z | p | n | Overdispersion | Graphs |
|---------------------|----------------------------------|-------|--------------|---------------|---------------|---------------|--------------|---------------|----|----------------|---------|
| Early spring | Cambial activity Number of RFPCW | GLM | Binomial | Time | 0.6722 | 0.2809 | 2.393 | 0.0167 | 43 | 1.12 | Fig. 4A |
| | | | BN | | 0.02376 | 0.10957 | 0.217 | 0.82833 | 43 | 1.28 | - |
| Late summer | Cambial activity Number of RFPCW | GLM | Binomial | Time | -0.4255 | 0.2286 | -1.862 | 0.0626 | 45 | 1.35 | Fig. 4B |
| | | | BN | | -0.09123 | 0.16938 | -0.539 | 0.590 | 45 | 0.99 | - |

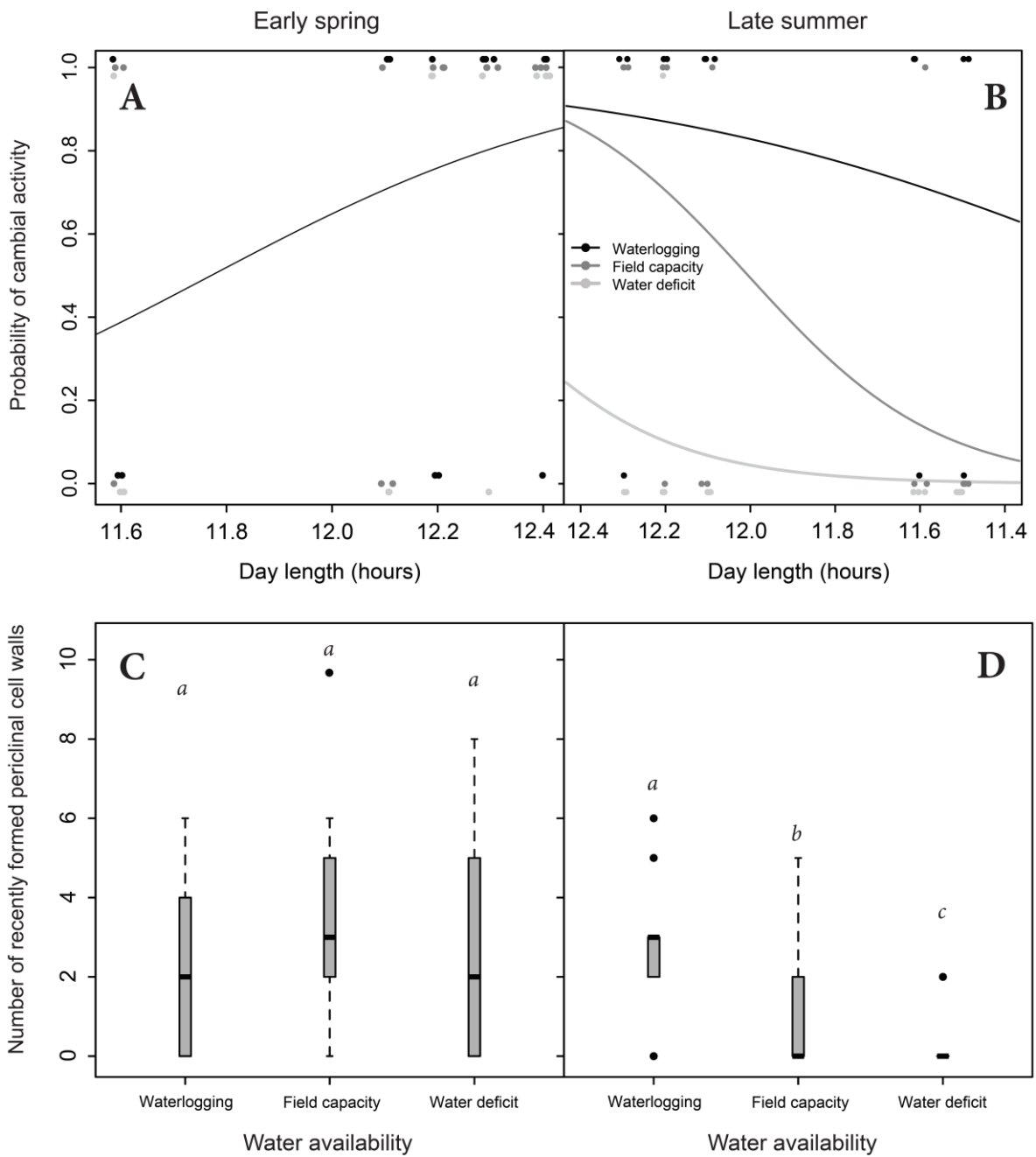


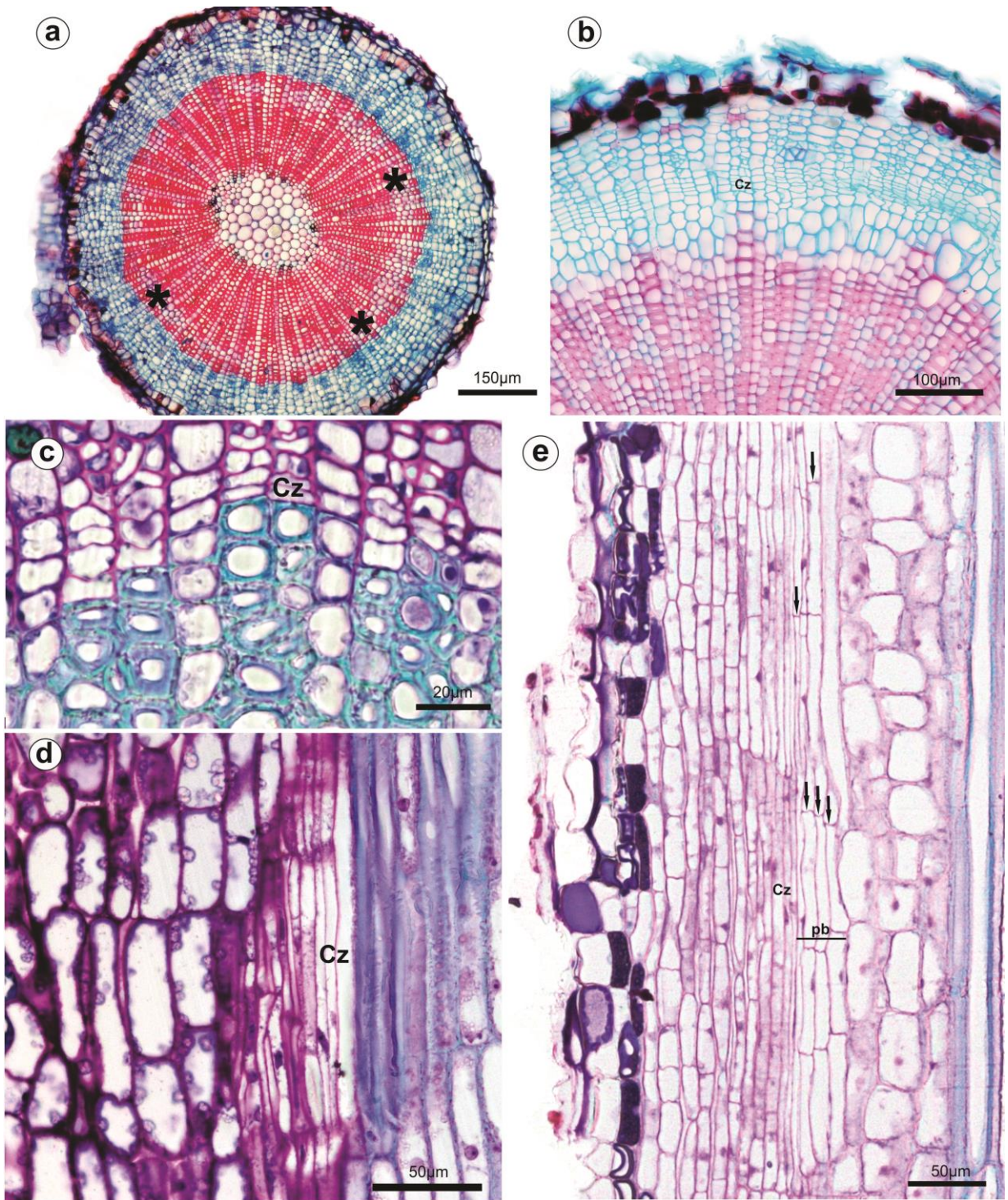
Fig. 5 Correlations between day length, cambial activity and number of recently formed periclinal cell walls for both intervals.

Tab. 5 Statistical models for both intervals describing the probability of cambial activity of *Cordia concolor* plants and the number of recently formed periclinal cell walls (RFPCW), in relation to abiotic factors, in which water availability was experimentally manipulated, and day length and temperature were not. GLM: generalized linear models; BN: binomial negative; T°C: temperature in Celsius; T1: waterlogging soil; T2: field capacity; T3: water deficit

| Sampling Period | Response | Model | Distribution | Fixed effects | Estimate | SE | z | p | n | Overdispersion | Graphs |
|-----------------|------------------|-------|--------------|----------------|-------------|-------------|-------------|-------------|----|----------------|---------|
| Early spring | Cambial activity | GLM | Binomial | Intercept (T2) | -31.77 | 14.78 | -2.14 | 0.03 | 15 | 1.179 | Fig. 5A |
| | | | | Water T1 | -0.79 | 0.91 | -0.87 | 0.38 | 15 | | |
| | | | | T3 | -1.01 | 0.93 | -1.08 | 0.27 | 13 | | |
| | | | | Day length | 2.74 | 1.23 | 2.23 | 0.02 | 43 | | |
| | | | | Intercept (T2) | 7.48 | 7.49 | 0.99 | 0.31 | 15 | | |
| | | | | Water T1 | -0.70 | 0.85 | -0.82 | 0.40 | 15 | | |
| | | | | T3 | -0.89 | 0.86 | -1.03 | 0.30 | 13 | | |
| | | | | Maximum t°C | -0.24 | 0.29 | -0.81 | 0.41 | 43 | | |
| | | | | Intercept (T2) | 4.62 | 3.81 | 1.21 | 0.22 | 15 | | |
| | Water T1 | -0.70 | 0.85 | -0.82 | 0.40 | 15 | | | | | |
| | T3 | -0.90 | 0.86 | -1.04 | 0.29 | 13 | | | | | |
| | Minimum t°C | -0.22 | 0.25 | -0.86 | 0.38 | 43 | | | | | |
| | Number of RFPCW | GLM | BN | Intercept (T2) | 0.56 | 6.64 | 0.08 | 0.93 | 15 | 1.34 | Fig. 5C |
| | Water T1 | | | -0.32 | 0.37 | -0.87 | 0.38 | 15 | | | |
| | T3 | | | -0.20 | 0.38 | -0.54 | 0.58 | 13 | | | |
| | Day length | | | 0.05 | 0.54 | 0.09 | 0.92 | 43 | | | |
| | Intercept (T2) | | | 2.22 | 3.37 | 0.66 | 0.50 | 15 | | | |
| | Water T1 | | | -0.33 | 0.37 | -0.89 | 0.37 | 15 | | | |
| | T3 | | | -0.21 | 0.38 | -0.55 | 0.57 | 13 | | | |
| | Maximum t°C | | | -0.04 | 0.13 | -0.29 | 0.76 | 43 | | | |
| | Intercept (T2) | | | 1.83 | 1.69 | 1.08 | 0.27 | 15 | | | |
| Water T1 | -0.33 | 0.37 | -0.89 | 0.36 | 15 | | | | | | |
| T3 | -0.21 | 0.38 | -0.57 | 0.56 | 13 | | | | | | |
| Minimum t°C | -0.04 | 0.11 | -0.35 | 0.71 | 43 | | | | | | |

| Cambial activity | | GLM | Binomial | | | | | | | |
|--------------------|-----------------|----------------|----------------|--------------|--------------|--------------|--------------|------|---------|---------|
| Late summer | Water | Intercept (T2) | -38.29 | 17.07 | -2.24 | 0.02 | 15 | 0.89 | Fig. 5B | |
| | | T1 | 1.90 | 0.97 | 1.95 | 0.05 | 15 | | | |
| | | T3 | -2.83 | 1.22 | -2.30 | 0.02 | 15 | | | |
| | Day length | | 3.19 | 1.42 | 2.24 | 0.02 | 45 | | | |
| | Water | Intercept (T2) | 4.79 | 14.33 | 0.33 | 0.73 | 15 | 1.04 | - | |
| | | T1 | 1.52 | 0.82 | 1.83 | 0.06 | 15 | | | |
| | | T3 | -2.51 | 1.15 | -2.16 | 0.03 | 15 | | | |
| | Maximum t°C | | -0.17 | 0.49 | -0.34 | 0.73 | 45 | | | |
| | Water | Intercept (T2) | -8.72 | 7.83 | -1.11 | 0.26 | 15 | 1.02 | - | |
| | | T1 | 1.58 | 0.85 | 1.86 | 0.06 | 15 | | | |
| | | T3 | -2.56 | 1.17 | -2.19 | 0.02 | 15 | | | |
| | Minimum t°C | | 0.45 | 0.41 | 1.10 | 0.27 | 45 | | | |
| | Number of RFPCW | Water | Intercept (T2) | -6.43 | 6.80 | -0.94 | 0.34 | 15 | 1.08 | Fig. 5D |
| | | | T1 | 0.70 | 0.38 | 1.86 | 0.06 | 15 | | |
| | | | T3 | -2.29 | 0.79 | -2.90 | 0.003 | 15 | | |
| Day length | | | 0.56 | 0.56 | 0.98 | 0.32 | 45 | | | |
| Water | | Intercept (T2) | 2.90 | 6.90 | 0.42 | 0.67 | 15 | 1.09 | - | |
| | | T1 | 0.68 | 0.38 | 1.80 | 0.07 | 15 | | | |
| | | T3 | -2.29 | 0.78 | -2.91 | 0.003 | 15 | | | |
| Maximum t°C | | | -0.09 | 0.23 | -0.38 | 0.70 | 45 | | | |
| Water | | Intercept (T2) | 0.58 | 3.61 | 0.16 | 0.87 | 15 | 1.10 | - | |
| | | T1 | 0.66 | 0.37 | 1.76 | 0.07 | 15 | | | |
| | | T3 | -2.30 | 0.78 | -2.92 | 0.003 | 15 | | | |
| Minimum t°C | | | -0.01 | 0.19 | -0.08 | 0.93 | 45 | | | |

Fig. 6 Growth markers in the wood. **a** Band of axial parenchyma (*asterisks*) in T1R5 plant. **b** Immature axial parenchyma cells adjacent to cambial zone in the period of cambial activity in T1R1 plant. **c** Dormant cambial zone and xylem cells adjacent to the cambial zone completely differentiated in T2R13 plant. **d** Radial section in T1R5 plant (**a**) showing complete differentiation of xylem cells. **e** Differentiating axial parenchyma cells (*arrows*) in radial section in T1R1 plant (**b**). These differentiating cells are precursors of the initial axial parenchyma cells. **Labels:** Cz: cambial zone; Pb: parenchyma band.



300 Discussion

301 Our study provides evidence that the effect of water availability on cambial
302 activity in *Cordia concolor* is dependent on the period of year. In early spring,
303 cambial divisions increased along the weeks in most plants following the increase in
304 day length without being affected by changes in water availability. In contrast, in late
305 summer, plants have the cambium dormant over the weeks simultaneously with the
306 decrease in day length on plants under the field capacity and water deficit, being highly
307 affected by the increase or decrease of water availability at this moment. This
308 unexpected pattern in which water availability can affect the extension of cambial
309 activity through time in *C. concolor*, but not its stimulus that is only day length-
310 dependent is discussed below in detail.

311

312 *Day length and water availability as causal factors determining the seasonal cambial*
313 *activity*

314 A seasonal cambial activity was observed in plants of *C. concolor*, an evergreen
315 species, in which the process of cambial stimulus was noticeable in early spring and the
316 deactivation, decrease of cell divisions to dormancy in late summer, similar to previous
317 descriptions of cambial activity for many tropical tree species. In the literature, for
318 tropical species, we find that the cambial initiation was in early spring (Dave and Rao
319 1982; Marcati et al. 2006; Marcati et al. 2008; Paliwal and Paliwal 1990) and early
320 summer (Ghouse and Hashmi 1983; Rao and Dave 1981; Venugopal and Liangkuwang
321 2007), however the ending of cambial activity has been more variable (late summer,
322 Marcati et al. 2006; Giantomasi et al. 2012; Trouet et al. 2012; Morel et al. 2015; de
323 Lara and Marcati 2016; Marcati et al. 2016; late autumn, Marcati et al. 2008; Bosio et
324 al. 2016; and early winter, Paliwal and Paliwal 1990; Venugopal and Liangkuwang

2007). Thus, it seems that the initiation of cambial activity is more predictable than ending.

In this study, we detected a contrasting pattern of water availability effect on cambial activity, in which the water availability variation seems to have small importance to the initiation of cambial activity, while day length seems to be the most important factor in this first moment of cambial activity happening in the early spring for *C. concolor*. Indeed, at this moment, we observed that independently of the water treatment, there was an increase in the number of *C. concolor* plants with active cambium. We are able to presume that the cambial activity was stimulated by increasing of day length. From three species in subtropical forest in Mexico, a positive relationship between cambial activity and day length was reported by Yañez-Espinosa et al. (2006) in a system with seasonal drought.

In the late summer, the water availability seemed to adjust the cambium functioning, given that in this period the water supply in the waterlogged soil treatment prolonged the number of plants with active cambium against dormancy; the field capacity was the most evident treatment that predicted the decreasing of cambial activity related to the shortening day length; and the dry regime accelerated the cambium dormancy in most plants. Thus, under late summer condition, cambial dormancy could be advanced (dry regime) or delayed (waterlogging) when compared with the field capacity regime. According to Creber and Chaloner (1984), plants will not continue growing into the late summer if the water supply is not adequate. In our study, in plants under field capacity, which corresponds to water content in the soil after draining, the water supply was not enough to maintain the cambial activity with a decrease of day length. Using day length as a cue, species may change their growth, physiology, and development in accordance with anticipated future changes in climate

350 (Lagercrantz 2009). In relation to dry regime, in our study, the cambial dormancy was
351 accelerated since the first week in the late summer. Induction of cambial dormancy
352 mediated by dry conditions have already been reported by other experimental studies
353 with temperate species (see Rossi et al. 2009; de Luis et al. 2011; Balducci et al. 2013)
354 and with different water regimes, which were tested in 3-old-year plants of *Pinus*
355 *halepensis*, and the cambial dormancy was observed in non-irrigated plants in the
356 warmest period of the year, summer (de Luis et al. 2011).

357 In our study in late summer, a warmer period than early spring, the water deficit
358 accelerated the cambial dormancy since the first week. The cambial dormancy in the
359 late summer seems to be a defense mechanism against severe environmental conditions
360 during summer season. This result supports the findings of Vieira et al. (2015), which
361 revealed that during summer the cambial cells remain in minimum of activity in a
362 maritime pine on sand dunes in Portugal, where the climate is typically Mediterranean,
363 showing that some species have a capacity to adjust the cambial activity to the current
364 environmental conditions (Vieira et al. 2015). In our study, the water supply determines
365 the variation of vascular cambium activity with the potential to break the link between
366 the dormancy and shortening day length.

367 If the increase of day length seems to be of great importance to stimulate the
368 initiation of cambial activity in the early spring for *C. concolor*, the reduction of day
369 length in the late summer seems to stimulate the cambial dormancy (clearly described
370 under the field capacity regime), as we found a positive correlation between cambial
371 activity and day length in both intervals, that is, in early spring the higher the day
372 length, the greater the cambial activity; in late summer the lower the day length, the
373 lowest the cambial activity. From an ecophysiological perspective, Rivera et al. (2002)
374 reported that the perception of light by plants indicates that an increase of 30 minutes or

375 less in day length induced sprouting of new leaves, and the critical day length for the
376 induction of bud break ranges from 11.5 to 12.5 hours in the subtropics. From that
377 perspective and making a parallel of day length for cambial activity for *C. concolor*, the
378 20-minute difference to more could stimulate cambial activity in the early spring while
379 the same 20-minute difference to less stimulate cambial dormancy in the late summer.

380 In both sampling intervals, the limit of 12 hours in day length seems to indicate a
381 fine-scale in cambial functioning for *Cordia concolor*. In recent years (Yañez-
382 Espinoza et al. 2006; Bosio et al. 2016; de Lara and Marcati 2016; Marcati et al. 2016),
383 researchers have demonstrated that day length seems to be the best predictor for cambial
384 activity, confronting the idea that precipitation was the main extrinsic factor related to
385 cambial activity in tropical species. Day length varies in a predictable annual cycle
386 during the year, and it is a more reliable indicator of season than, for example,
387 temperature or precipitation (Lagercrantz 2009). Thus, day length could determine
388 many biological cycles in plants as the timing of reproduction (Amasino 2010), and the
389 rhythm of cambial activity (Marcati et al. 2016). Earlier studies from 70s and 80s
390 (Waisel and Fahn 1965; Avila et al. 1975; Creber and Chaloner 1984; Liphschitz and
391 Lev-Yadun 1986) already indicated that the rhythm of cambial activity is conservative;
392 and more recent studies have pointed out that cambial activity is under strong genetic
393 control (see Du et al. 2009; Liu et al. 2015). In this experiment we are able to presume
394 that the cambial activity is predictable for plants under increasing of day length, and the
395 cambial dormancy is predictable under decreasing of day length. The change in this
396 predictable pattern can be expected when we look the cambial activity and plant
397 secondary growth duration (or span) that can be strongly modified under different
398 conditions of water availability. In this case, the water supply is much less predictable
399 among years in the tropical systems, and could explain the huge variation of plant

400 growth among species not sampled in the same year and under similar hydrological
401 conditions.

402 The minimum and maximum temperature did not explain the cambial activity
403 variation in *C. concolor*. Although the temperature has been recognized as an important
404 environmental factor for cambial activity in temperate species, it has a relative effect on
405 tropical species. Temperature was not related to cambial activity in four species from a
406 mountain forest in southeastern Ethiopia where the mean temperature is rather constant
407 (Krepkowski et al. 2011), while temperature was positively related to cambial activity
408 where the mean temperature is not constant: three species of subtropical forests in
409 Mexico (Yañez-Espinosa et al. 2006); *Dillenia indica* (Dilleniaceae) from a subtropical
410 wet forest of northeast India (Venugopal and Liangkuwang 2007); and Cerrado species
411 from southeastern Brazil (Bosio et al. 2016; Marcati et al. 2016). However, the
412 temperature does not act independently, and other factors, such as day length (Yañez-
413 Espinosa et al. 2006, Bosio et al. 2016, Marcati et al. 2016) and precipitation (Yañez-
414 Espinosa et al. 2006, Pumijumng and Buajan 2012, Bosio et al. 2016, Marcati et al.
415 2016), are required to regulate cambial activity.

416 *Formation of axial parenchyma bands*

417 In this study, layers of undifferentiated axial parenchyma cells were seen
418 adjacent to the active cambial zone, to the xylem side, in *C. concolor* at the beginning of
419 the growing season. As there was no overwintering cells adjacent to the dormant
420 cambium in this species, the immature axial parenchyma cells were produced by the
421 cambium at the beginning of the growing season. It is appropriated to refer as initial to
422 these parenchyma bands.

423 The report of axial parenchyma bands as initial or terminal increases the
424 accuracy of determining the limits of growth rings (Callado et al. 2014) and also clarify

425 the periodicity of formation of growth markers. For instance, in *Cedrela fissilis*, the
426 investigations about wood periodicity have already been reported that the axial
427 parenchyma bands were initial (Boninsegna et al. 1989; Détienne 1989). Afterward, a
428 study on the formation of growth rings in the wood of *C. fissilis* showed that these axial
429 parenchyma bands consisting of both terminal and initial parenchyma cells, referring to
430 these parenchyma bands as marginal (Marcati et al. 2006). Thus, it is possible to
431 provide data useful for dendrochronological investigations (see Worbes 1989; 1999;
432 Dunisch et al. 2002), indicating the period of wood production and helping to
433 interpretation on forest dynamics.

434 The occurrence of initial axial parenchyma bands has been reported in tropical
435 species, such as deciduous trees: *Cedrela odorata* (Dunisch et al. 2002), *Schizolobium*
436 *parahyba* (Marcati et al. 2008), and *Centrolobium robustum* (de Vasconcellos et al.
437 2016), and in a liana *Tynanthus cognatus* (Lima et al. 2010). The initial axial
438 parenchyma bands represents a minimal investment of photoassimilates in cell wall
439 material because there is less investment in these wall material in earlywood than
440 latewood (Carlquist 1980). Although the rays are available for radial transport of
441 photoassimilates, the initial bands of axial parenchyma could serve as a storage site for
442 production of new shoots (Carlquist 1980). High portions of parenchyma tissue (total
443 ray and axial parenchyma) benefit plants in dry conditions by (i) conferring high
444 hydraulic capacitance that could prevent embolism formation and (ii) facilitate
445 embolism refilling (Morris et al. 2016). *C. concolor* studied here naturally occurs in a
446 seasonally dry ecosystem, such as Brazilian Cerrado; the high portions of axial
447 parenchyma, as bands, seems gives to species certain resilience to damage in dry sites,
448 not only because stores an amount of water, but also by provides symplastic
449 connections in axial movement (Morris et al. 2016).

450 Concluding remarks

451 Our study indicates that the influence of different water regimes on cambial
452 activity depends on the period of year. In fact, previous works stated that the main
453 external factor influencing the cambial activity was precipitation for tropical species
454 (Worbes 1995). Our results are in accordance with this proposition, but highlight a more
455 complex scenario of plant functioning and growth for the tropical system. We
456 demonstrated for an evergreen tropical species that only day length predicts the cambial
457 stimulus. During the early spring, the cambial activity was not clearly affected by
458 variations in the water availability in the soil. However, in late summer cambial activity
459 was strongly affected by water supply, evidencing the essential role of water in the
460 duration of cambial activity through the year, and ultimately in plant secondary growth.
461 More water extends the cambial activity and less water shortens. If water is less
462 predictable among years and decades, plant growth can follow this uncertain pattern
463 throughout time. This may be an important insight in seasonally dry areas, where
464 increase of drought is expected in the future and could shortening plant growth periods.
465 Further studies by using manipulative experiments on cambial activity of others tropical
466 tree species may test the generality of our results.

467

468 Acknowledgements

469 This work was supported by Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de São
470 Paulo (FAPESP – No. 2013/05700-0, grants to the first author; and No. 2015/14954-1,
471 funds to the last author). We thank to Marcos T. Geraldo for their assistance in soil
472 collects and in the practical experiment procedures. The nursery of the Faculdade de
473 Ciências Agrônômicas at UNESP - Univ Estadual Paulista, Botucatu, São Paulo,
474 provide facilities to conduct this research.

475 **Cited references**

- 476 Abe H, Nakai T (1999) Effect of the water status within a tree on tracheid
477 morphogenesis in *Cryptomeria japonica* D-Don. *Trees* 14: 124-129
- 478 Abe H, Nakai T, Utsumi Y, Kagawa A (2003) Temporal water deficit and wood
479 formation in *Cryptomeria japonica*. *Tree Physiol* 23: 859-863
- 480 Aljaro ME, Avila G, Hoffmann A, Kummerow J (1972) Annual rhythm of cambial
481 activity in 2 woody species of Chilean matorral. *Am. J. Bot.* 59: 879-885
- 482 Amasino R (2010) Seasonal and developmental timing of flowering. *The Plant Journal*
483 61: 1001-1013
- 484 Avila G, Aljaro ME, Araya S, Montenegro G, Kummerow J (1975) Seasonal cambium
485 activity of Chilean and Californian shrubs. *Am. J. Bot.* 62: 473-478
- 486 Balducci L, Deslauriers A, Giovannelli A, Rossi S, Rathgeber CBK (2013) Effects of
487 temperature and water deficit on cambial activity and woody ring features in *Picea*
488 *mariana* saplings. *Tree Physiol* 33: 1006-1017
- 489 Begum S, Nakaba S, Yamagishi Y, Oribe Y, Funada R (2013) Regulation of cambial
490 activity in relation to environmental conditions: understanding the role of
491 temperature in wood formation of trees. *Physiol. Plant.* 147: 46-54
- 492 Bennett HS, Wyrick AD, Lee SW, Mcneil JH (1976) Science and art in preparing
493 tissues embedded in plastic for light-microscopy, with special reference to glycol
494 methacrylate, glass knives and simple stains. *Stain Technol* 51: 71-97
- 495 Berlyn GP, Miksche JP (1976) *Botanical Microtechnique and Cytochemistry*. The Iowa
496 State University Press, Ames.
- 497 Blake GR (1965) Bulk density. In: Black CA (ed) *Methods of soil analysis: Part 1,*
498 *Physical and mineralogical properties, including statistics of measurement and*
499 *sampling*. American Society of Agronomy, Madison, WI, pp 374–390
- 500 Boninsegna J, Villalba R, Amarilla L, Ocampo J (1989) Studies on tree rings, growth
501 rates and age-size relationships of tropical tree species in Misiones, Argentina.
502 *IAWA Bull* 10: 161-169
- 503 Borchert R (1999) Climatic periodicity, phenology and cambial activity in tropical dry
504 forest trees. *IAWA J* 20: 239-247

- 505 Bosio F, Rossi S, Marcati CR (2016) Periodicity and environmental drivers of apical
506 and lateral growth in a Cerrado woody species. *Trees*: 1495-1505
- 507 Callado CH, Vasconcellos TJ, Costa MS, Barros CF, Roig FA, Tomazello-Filho M
508 (2014) Studies on cambial activity: advances and challenges in the knowledge of
509 growth dynamics of Brazilian woody species. *An Acad Bras Cienc* 86: 277-284
- 510 Carlquist S (1980) Further concepts in ecological wood anatomy, with comments on
511 recent work in wood anatomy and evolution. *Aliso* 9: 499-553
- 512 Crawley MJ (2007a) Generalized Linear Models. The R Book. John Wiley & Sons,
513 Chichester, pp 513-526
- 514 Crawley MJ (2007b) Binary Response Variables. The R Book. John Wiley & Sons,
515 Chichester, pp 593-609
- 516 Creber G, Chaloner WG (1984) Influence of environmental factors on the wood
517 structure of living and fossil trees. *The Botanical Review* 50: 357-448
- 518 Dave YS, Rao KS (1982) Seasonal activity of the vascular cambium in *Gmelina*
519 *arborea* Roxb. *IAWA Bull* 3: 59-65
- 520 de Lara NOT, Marcati CR (2016) Cambial dormancy lasts 9 months in a tropical
521 evergreen species. *Trees* 30: 1331-1339
- 522 de Luis M, Novak K, Raventos J, Gricar J, Prislán P, Cufar K (2011) Cambial activity,
523 wood formation and sapling survival of *Pinus halepensis* exposed to different
524 irrigation regimes. *For. Ecol. Manage.* 262: 1630-1638
- 525 de Vasconcellos TJ, Costa MS, Barros CF, Da Cunha M, Callado CH (2016) Growth
526 dynamics of *Centrolobium robustum* (Vell.) Mart. ex Benth. (Leguminosae-
527 Papilionoideae) in the Atlantic Forest. *Brazilian Journal of Botany* 39: 925-934
- 528 Détienne P (1989) Appearance and periodicity of growth rings in some tropical woods.
529 *IAWA J* 10: 123-132
- 530 Dié A, Kitin P, Kouamé FN, Bulcke JV, Acker JV, Beeckman H (2012) Fluctuations of
531 cambial activity in relation to precipitation result in annual rings and intra-annual
532 growth zones of xylem and phloem in teak (*Tectona grandis*) in Ivory Coast. *Ann.*
533 *Bot.* 110: 13

- 534 Du J, Mansfield SD, Groover AT (2009) The *Populus* homeobox gene ARBORKNOX2
535 regulates cell differentiation during secondary growth. *The Plant Journal* 60: 1000-
536 1014
- 537 Dunisch O, Bauch J, Gasparotto L (2002) Formation of increment zones and intraannual
538 growth dynamics in the xylem of *Swietenia macrophylla*, *Carapa guianensis*, and
539 *Cedrela odorata* (Meliaceae). *IAWA J* 23: 101-119
- 540 Durigan G, Franco GADC, Siqueira MF (2004) A vegetação dos remanescentes de
541 cerrado no Estado de São Paulo. In: Bitencourt M, RR M (eds) Variedade de
542 conservação dos remanescentes de cerrado no Estado de Sao Paulo. Annablume, Sao
543 Paulo, pp 29-56
- 544 Esau K (1977) *Anatomy of seed plants*, New York
- 545 Evert RF (2006) *Esau's Plant Anatomy: meristems, cells and tissues of the plant body -*
546 *their structure, function and development*. Wiley, New Jersey
- 547 Ghouse AKM, Hashmi S (1983) Periodicity of cambium and the formation of xylem
548 and phloem in *Mimusops elengi* L, an evergreen member of tropical India. *Flora* 173:
549 479-487
- 550 Giantomasi MA, Roig-Junent F, Paton-Dominguez D, Massaccesi G (2012)
551 Environmental modulation of the seasonal cambial activity in *Prosopis flexuosa* DC
552 trees from the Monte woodlands of Argentina. *J. Arid Environ.* 76: 17-22
- 553 Hoagland DR, Arnon DI (1950) The water-culture method for growing plants without
554 soil. *Calif. Agric. Exp. Stn. Cir* 347: 1-32
- 555 IPCC (2014) *Climate Change 2014: Impacts, Adaptation, and Vulnerability. Part A:*
556 *Global and Sectoral Aspects. Contribution of Working Group II to the Fifth*
557 *Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change*. In: Field CB,
558 V.R. Barros, D.J. Dokken, K.J. Mach, M.D. Mastrandrea, T.E. Bilir, M. Chatterjee,
559 K.L. Ebi, Y.O. Estrada, R.C. Genova, B. Girma, E.S. Kissel, A.N. Levy, S.
560 MacCracken, P.R. Mastrandrea, and L.L. White (ed), Cambridge, p 1132
- 561 Klar AE, Villa Nova NA, Marcos ZZ, Cervélini A (1966) Determinação da umidade do
562 solo pelo método das pesagens. *Anais da Escola Superior de Agricultura Luiz de*
563 *Queiroz* 23: 15-30

- 564 Krepkowski J, Bräuning A, Gebrekirstos A, Strobl S (2011). Cambial growth dynamics
565 and climatic control of different tree life forms in tropical mountain forest in
566 Ethiopia. *Trees*, 25: 59-70.
- 567 Lagercrantz U (2009) At the end of the day: a common molecular mechanism for
568 photoperiod responses in plants? *J. Exp. Bot.* 60: 2501-2515
- 569 Lima AC, Pace MR, Angyalossy V (2010) Seasonality and growth rings in lianas of
570 Bignoniaceae. *Trees* 24: 1045-1060
- 571 Liphshitz N, Lev-Yadun S (1986) Cambial activity of evergreen and seasonal
572 dimorphics around the Mediterranean. *IAWA Bull* 7: 145-153
- 573 Little CHA, Savidge RA (1987) The role of plant growth regulators in forest tree
574 cambial growth. *Plant Growth Regul* 6: 137-169
- 575 Liu L, Zinkgraf M, Petzold HE, Beers EP, Filkov V, Groover A (2015) The *Populus*
576 *ARBORKNOX1* homeodomain transcription factor regulates woody growth through
577 binding to evolutionarily conserved target genes of diverse function. *New Phytol.*
578 205: 682-694
- 579 Marcati CR, Angyalossy V, Evert RF (2006) Seasonal variation in wood formation of
580 *Cedrela fissilis* (Meliaceae). *IAWA J* 27: 199-211
- 581 Marcati CR, Machado SR, Podadera DS, de Lara NOT, Bosio F, Wiedenhoft AC
582 (2016) Cambial activity in dry and rainy season on branches from woody species
583 growing in Brazilian Cerrado. *Flora* 223: 1-10
- 584 Marcati CR, Milanez CRD, Machado SR (2008) Seasonal development of secondary
585 xylem and phloem in *Schizolobium parahyba* (Vell.) Blake (Leguminosae:
586 Caesalpinioideae). *Trees* 22: 3-12
- 587 Mazerolle MJ (2015) AICcmodavg: Model selection and multimodel inference based on
588 (Q)AIC(c). R package version 2.0-3, pp [http://CRAN.R-](http://CRAN.R-project.org/package=AICcmodavg)
589 [project.org/package=AICcmodavg](http://CRAN.R-project.org/package=AICcmodavg)
- 590 Medeiros JD (2011) Guia de campo: vegetação do cerrado - 500 espécies, Brasília
- 591 Mellerowicz EJ, Coleman WK, Riding RT, Little CHA (1992a) Periodicity of cambial
592 activity in *Abies balsamea* .1. Effects of temperature and photoperiod on cambial
593 dormancy and frost hardiness. *Physiol. Plant.* 85: 515-525

- 594 Mellerowicz EJ, Riding RT, Little CHA (1992b) Periodicity of cambial activity in *Abies*
595 *balsamea*. 2. Effects of temperature and photoperiod on the size of the nuclear
596 genome in fusiform cambial cells. *Physiol. Plant.* 85: 526-530
- 597 Morel H, Mangenet T, Beauchene J, Ruelle J, Nicolini E, Heuret P, Thibaut B (2015)
598 Seasonal variations in phenological traits: leaf shedding and cambial activity in
599 *Parkia nitida* Miq. and *Parkia velutina* Benoist (Fabaceae) in tropical rainforest.
600 *Trees* 29: 973-984
- 601 Morris H, Plavcova L, Cvecko P, Fichtler E, Gillingham MA, Martinez-Cabrera HI,
602 McGlenn DJ, Wheeler E, Zheng J, Zieminska K, Jansen S (2016) A global analysis
603 of parenchyma tissue fractions in secondary xylem of seed plants. *New Phytol* 209:
604 1553-1565
- 605 O'brien TP, Feder N, Mccully ME (1964) Polychromatic staining of plant cell walls by
606 toluidine blue O. *Protoplasma* 59: 368-373
- 607 Oliveira-Filho AT, Ratter JA (2002) Vegetation physiognomies and woody flora of the
608 cerrado biome. *The Cerrados of Brazil: Ecology and natural history of a Neotropical*
609 *savanna*: 91-120
- 610 Oliveira DMT (2001) Morfologia comparada de plântulas e plantas jovens de
611 leguminosas arbóreas nativas espécies de Phaseoleae, Sophoreae, Swartzieae e
612 Tephrosieae. *Rev Bras Bot* 24: 85-97
- 613 Oribe Y, Funada R, Shibagaki M, Kubo T (2001) Cambial reactivation in locally heated
614 stems of the evergreen conifer *Abies sachalinensis* (Schmidt) Masters. *Planta* 212:
615 684-691
- 616 Oribe Y, Kubo T (1997) Effect of heat on cambial reactivation during winter dormancy
617 in evergreen and deciduous conifers. *Tree Physiol* 17: 81-87
- 618 Paliwal SP, Paliwal GS (1990) Influence of climatic variations on the seasonal
619 behaviour of the vascular cambium in some Himalayan trees. III. *Rhododendron*
620 *arboreum* Smith. *Phytomorphology* 40: 257-271
- 621 Pumijumnong N, Buajan S (2012) Seasonal cambial activity of five tropical tree species
622 in central Thailand. *Trees* 27: 409-417

- 623 R Core Team (2015) R: A language and environment for statistical computing. R
624 Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria, pp [https://www.R-](https://www.R-project.org/)
625 [project.org/](https://www.R-project.org/)
- 626 Rajput KS, Rao KS (2000) Cambial activity and development of wood in *Acacia*
627 *nilotica* (L.) DEL. growing in different forests of Gujarat State. *Flora* 195: 165-171
- 628 Rajput KS, Rao KS (2001) Cambial activity and development of xylem in *Tamarindus*
629 *indica* L. growing in different forests of Gujarat State. *Acta Botanica Hungarica* 43:
630 379-390
- 631 Rajput KS, Rao KS (2002) Cambial anatomy and annual rhythm of secondary xylem
632 development in the twigs of *Azadirachta indica* A. Juss. (Meliaceae) growing in
633 different forests of Gujarat state. *Journal of Sustainable Forestry* 14: 115-127
- 634 Rao K, Dave Y (1981) Seasonal variations in the cambial anatomy of *Tectona grandis*
635 (Verbenaceae). *Nord. J. Bot.* 1: 535-542
- 636 Rao KS, Rajput KS (1999) Seasonal behaviour of vascular cambium in teak (*Tectona*
637 *grandis*) growing in moist deciduous and dry deciduous forests. *IAWA J* 20: 85-93
- 638 Richards LA (1948) Porous plate apparatus for measuring moisture retention and
639 transmission by soil. *Soil Sci* 66: 105-110
- 640 Rivera G, Elliott S, Caldas LS, Nicolossi G, Coradin VTR, Borchert R (2002)
641 Increasing day-length induces spring flushing of tropical dry forest trees in the
642 absence of rain. *Trees* 16: 445-456
- 643 Rossi S, Anfodillo T, Čufar K, Cuny HE, Deslauriers A, Fonti P, Frank D, Gričar J,
644 Gruber A, King GM (2013) A meta-analysis of cambium phenology and growth:
645 linear and non-linear patterns in conifers of the northern hemisphere. *Ann. Bot.* 112:
646 1911-1920
- 647 Rossi S, Simard S, Rathgeber CBK, Deslauriers A, De Zan C (2009) Effects of a 20-
648 day-long dry period on cambial and apical meristem growth in *Abies balsamea*
649 seedlings. *Trees* 23: 85-93
- 650 Sonsin JO, Gasson PE, Barros CF, Marcatti CR (2012) A comparison of the wood
651 anatomy of 11 species from two cerrado habitats (cerrado s.s. and adjacent gallery
652 forest). *Bot. J. Linn. Soc.* 170: 257-276

- 653 Sonsin JO, Marcati CR, Gasson P, Machado SR, Caum C (2014) Atlas da diversidade
654 de madeiras do cerrado paulista - Atlas of wood diversity of Cerrado of Sao Paulo.
655 FEPAF - Fundação de estudos e pesquisas agrícolas e florestais, Botucatu
- 656 Time and Date. 2015. Time and Date. [http://www.timeanddate.com/sun/brazil/sao-](http://www.timeanddate.com/sun/brazil/sao-paulo)
657 paulo. Retrieved in 23 Apr.
- 658 Trouet V, Mukelabai M, Verheyden A, Beeckman H (2012) Cambial growth season of
659 brevi-deciduous *Brachystegia spiciformis* trees from South Central Africa restricted
660 to less than four months. PLoS ONE 7: e47364.
- 661 Venugopal N, Liangkuwang MG (2007) Cambial activity and annual rhythm of xylem
662 production of elephant apple tree (*Dillenia indica* Linn.) in relation to phenology and
663 climatic factor growing in sub-tropical wet forest of northeast India. Trees 21: 101-
664 110
- 665 Vernables WN, Ripley BD (2002) Modern Applied Statistics with S. Springer, New
666 York
- 667 Vieira J, Campelo F, Rossi S, Carvalho A, Freitas H, Nabais C (2015) Adjustment
668 capacity of maritime pine cambial activity in drought-prone environments. PLoS
669 ONE 10: e0126223
- 670 Waisel Y, Fahn A (1965) Effects of environment on wood formation and cambial
671 activity in *Robinia pseudacacia* L. New Phytol. 64: 436-443
- 672 Wareing PF, Roberts DL (1956) Photoperiodic control of cambial activity in *Robinia*
673 *pseudoacacia* L. New Phytol. 55: 356-366
- 674 Worbes M (1989) Growth rings, increment and age of trees in inundation forests,
675 savannas and a mountain forest in the Neotropics. IAWA J 10: 109-122
- 676 Worbes M (1995) How to measure growth dynamics in tropical trees - A review. IAWA
677 J 16: 337-351
- 678 Worbes M (1999) Annual growth rings, rainfall-dependent growth and long-term
679 growth patterns of tropical trees from the Caparo Forest Reserve in Venezuela. J.
680 Ecol. 87: 391-403
- 681 Yañez-Espinosa L, Terrazas T, Lopez-Mata L (2006) Integrated analysis of tropical
682 trees growth: A multivariate approach. Ann. Bot. 98: 637-645

683 Zappi D (2015) Cordiera. Lista de Espécies da Flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio
684 de Janeiro, Rio de Janeiro, p
685 <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB13891>

686

687

Supplementary material



Supplementary Fig S1. *Cordiera concolor* (Cham.) Kuntze (Rubiaceae). **a** General view of cerrado *sensu stricto*. **b** One specimen of *C. concolor* growing in the same area. **c** Flowers. **d** Mature fruit with violet pericarp about ca. 1 cm of diameter.

Supplementary Tab. S1 Experimental design of irrigation regime. Irrigation was applied during five weeks between September and October, 2013, in spring. Repetitions are the number of plants collected in each week. Treatment codes: T1= waterlogging; T2= field capacity; T3= water deficit

| | | September 2013 | | October 2013 | | |
|-----------------|--|-----------------------|----------------------|--------------|------------|------------|
| Collections | | Winter ↓ 09/19 | Spring ↓ 09/26 | ↓ 10/03 | ↓ 10/10 | ↓ 10/17 |
| Treatment codes | | Number of repetitions | | | | |
| T1 | | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 |
| T2 | | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 |
| T3 | | 3 | 2 | 3 | 2 | 3 |
| | | Total | | | | 43 |

Supplementary Tab. S2 Experimental design of irrigation regime. Irrigation was applied during five weeks between March and April, 2014, between summer and autumn. Repetitions are the number of plants collected in each week. Treatment codes: T1= waterlogging; T2= field capacity; T3= water deficit

| | | March 2014 | | April 2014 | | |
|-----------------|--|-----------------------|------------|----------------------|------------|------------|
| Collections | | Summer ↓ 03/08 | ↓ 03/15 | Autumn ↓ 03/22 | ↓ 03/28 | ↓ 04/05 |
| Treatment codes | | Number of repetitions | | | | |
| T1 | | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 |
| T2 | | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 |
| T3 | | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 |
| | | Total | | | | 45 |

Supplementary Tab. S3 Physico-chemical analysis of soil collected in cerrado area and utilized in experiment

| Physical | | | | | | | | | | | | | |
|-------------------------|-------------------|-------------------|--------------------|-----------------------|--------------|-------|-----------|----|------|-----|----|--------------------|--|
| Depth of soil collected | Sand (g/kg) | | Clay (g/kg) | Silt (g/kg) | Soil texture | | | | | | | | |
| 30 cm | --- | --- | 870 | 99 | 31 | Sandy | | | | | | | |
| Chemical | | | | | | | | | | | | | |
| | pH | O. M. | P _{resin} | Al ³⁺ | H+Al | K | Ca | Mg | SB | CEC | V% | S | |
| | CaCl ₂ | g/dm ³ | mg/dm ³ | mmolc/dm ³ | | | | | | | | mg/dm ³ | |
| | 4,1 | 6 | 4 | 5 | 30 | 1,4 | 3 | 2 | 7 | 37 | 18 | 17 | |
| Micronutrients | | | | | | | | | | | | | |
| | Boron | | Copper | | Iron | | Manganese | | Zinc | | | | |
| | 0,28 | | 1,6 | | 13 | | 18,5 | | 4,7 | | | | |

Kg = kilograms. pH = hydrogen potential. O. M. = organic matter. P_{resin} = phosphorus. Al³⁺ = aluminum. H+Al = potential acidity. K = potassium. Ca = calcium. Mg = magnesium. SB = sum of basic cations. CEC = capacity of exchanging cations. V% = base saturation. S = sulfur. CaCl₂ = calcium chloride. g/dm³ = gram per cubic decimeter. mg/dm³ = milligrams per cubic decimeter. Mmol_c/dm³ = millimoles of cargo per cubic decimeter.



Considerações finais

3 Considerações finais

Neste estudo utilizamos uma abordagem experimental, com regime hídrico controlado, buscando entender quais são os possíveis fatores causais que influenciam a atividade cambial em uma espécie sempre-verde tropical. A partir de um regime hídrico composto por três tratamentos de água em dois períodos – um no início da primavera, quando o fotoperíodo aumenta de 11 para 12 horas e a temperatura média é de 19,9°C e outro no final do verão, quando o fotoperíodo diminui de 12 horas para 11 horas e a temperatura média é de 23,9°C, procuramos analisar os resultados de forma a tentar desvendar o efeito da disponibilidade de água na atividade cambial de plantas de um ano de idade de *Cordia concolor*.

Os resultados deste trabalho reforçam a ideia de que a atividade cambial em espécies tropicais é influenciada tanto pela disponibilidade hídrica quanto pelo comprimento do dia e, especificamente para *Cordia concolor* deste estudo, não influenciada pela temperatura. Observamos uma relação positiva entre atividade cambial e comprimento do dia em ambos os experimentos, entretanto, o comprimento do dia teve maior efeito nas plantas no início da primavera, já que a atividade cambial ocorreu independentemente do regime hídrico. No final do verão, a disponibilidade hídrica interferiu na duração da atividade cambial, dependendo do regime hídrico adotado, evidenciando o papel essencial da água na extensão da atividade cambial.

Este trabalho mostrou que *Cordia concolor* foi um bom modelo de estudo, tanto por apresentar fácil processo de germinação, o que possibilitou a realização dos dois experimentos, quanto pelo efeito sazonal do ambiente no crescimento, que nos permitiu encontrar relação de comprimento do dia, disponibilidade hídrica e atividade cambial, relação que já foi encontrada em trabalhos recentes, realizados em campo, com espécies tropicais. Assim, foi possível verificar o quanto essa abordagem experimental

foi promissora e o quanto outros estudos futuros podem contribuir no que diz respeito ao crescimento das espécies tropicais.

O conjunto destes dados, aliado a estudos experimentais futuros sobre atividade cambial com fotoperíodo, temperatura e água em espécies com hábitos e deciduidade foliar diferentes, além de técnicas e abordagens ecofisiológicas em diferentes condições hídricas poderão trazer avanços significativos sobre a capacidade destas espécies em responder às mudanças do ambiente, principalmente se considerarmos ambientes sazonais, tais como o Cerrado.

Apêndices

Fig. A1 Obtenção das sementes e germinação das plantas de *Cordia concolor*. **a, b** Fruto maduro, caracterizado por coloração violácea a negra, com cerca de 1 cm de diâmetro. **c** Aeração *overnight* por meio de bombas de aquário das sementes extraídas dos frutos. **d** Repetições realizadas em gerbox sobre papel filtro umedecidos em água, em germinador a $25^{\circ}\text{C} \pm 1$ com fotoperíodo alternado. **e** Semente e fase transcorrida desde a germinação (visualizada através da emissão da raiz primária) até a emissão dos cotilédones foliáceos. **Fotos:** Lara, NOT.

Fig. A2 Coleta de solo e distribuição dos experimentos. **a** Coleta de solo em fragmento de cerrado a 30 cm de profundidade. **b** O solo foi trazido ao Viveiro de Mudas e colocado para secar à temperatura ambiente, permanecendo nesta condição até o preenchimento dos vasos. **c** Trinta vasos (distribuídos em tratamento 2 – capacidade de campo e 3 – deficiência hídrica, n= 15 cada) foram etiquetados e permaneceram na mesma estufa do tratamento 1, sendo pesados diariamente. **d** Tanque d'água elaborado para comportar 15 vasos do tratamento 1, correspondente a saturação hídrica. Notar a lâmina d'água constante que fazia a subirrigação. **e** Aparência do solo em uma repetição do tratamento sob saturação hídrica. **f** Aparência do solo em uma planta do tratamento sob capacidade de campo. **g** Aspecto do solo em uma planta do tratamento sob deficiência hídrica. **Fotos:** Lara, NOT.

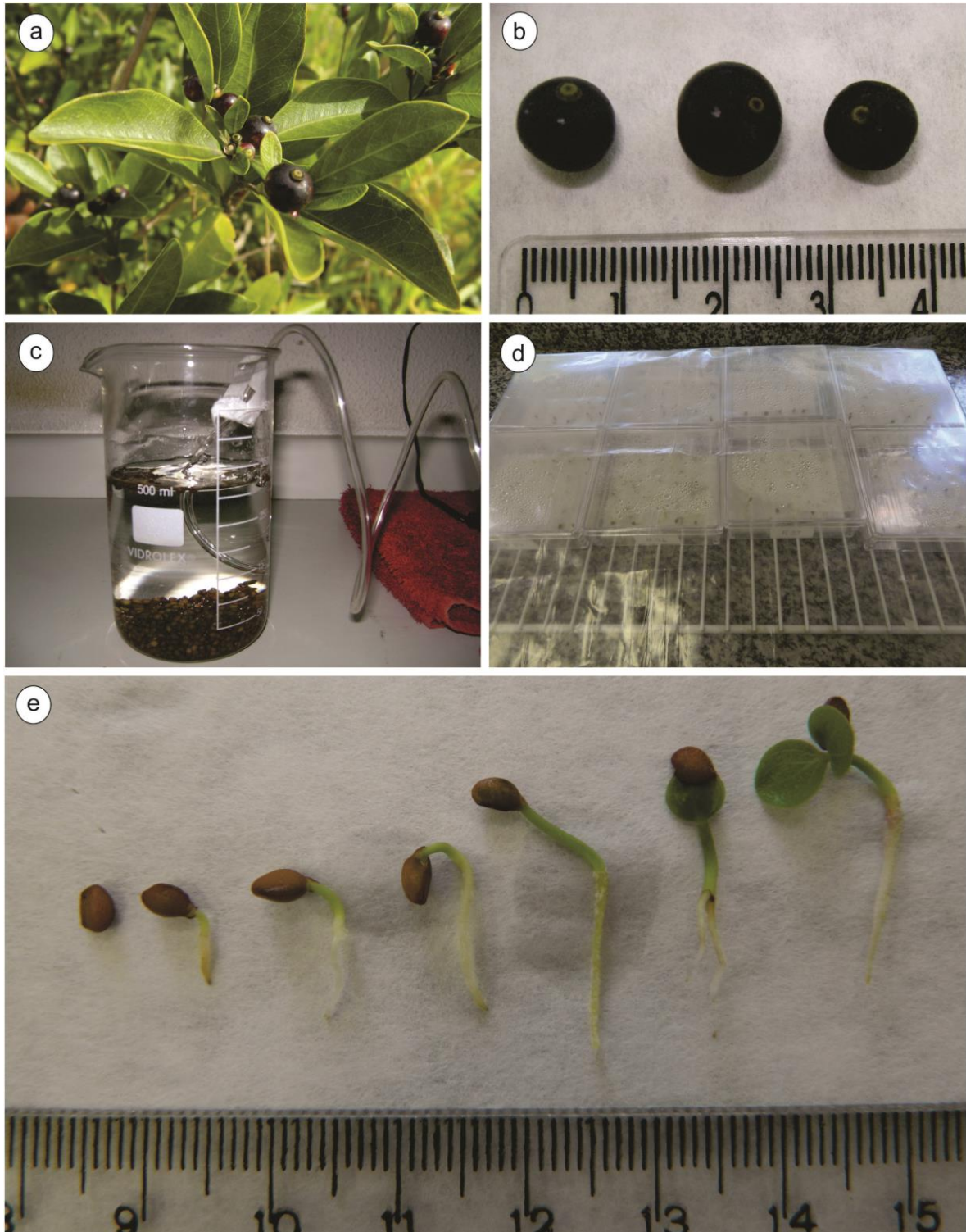


Fig. A1

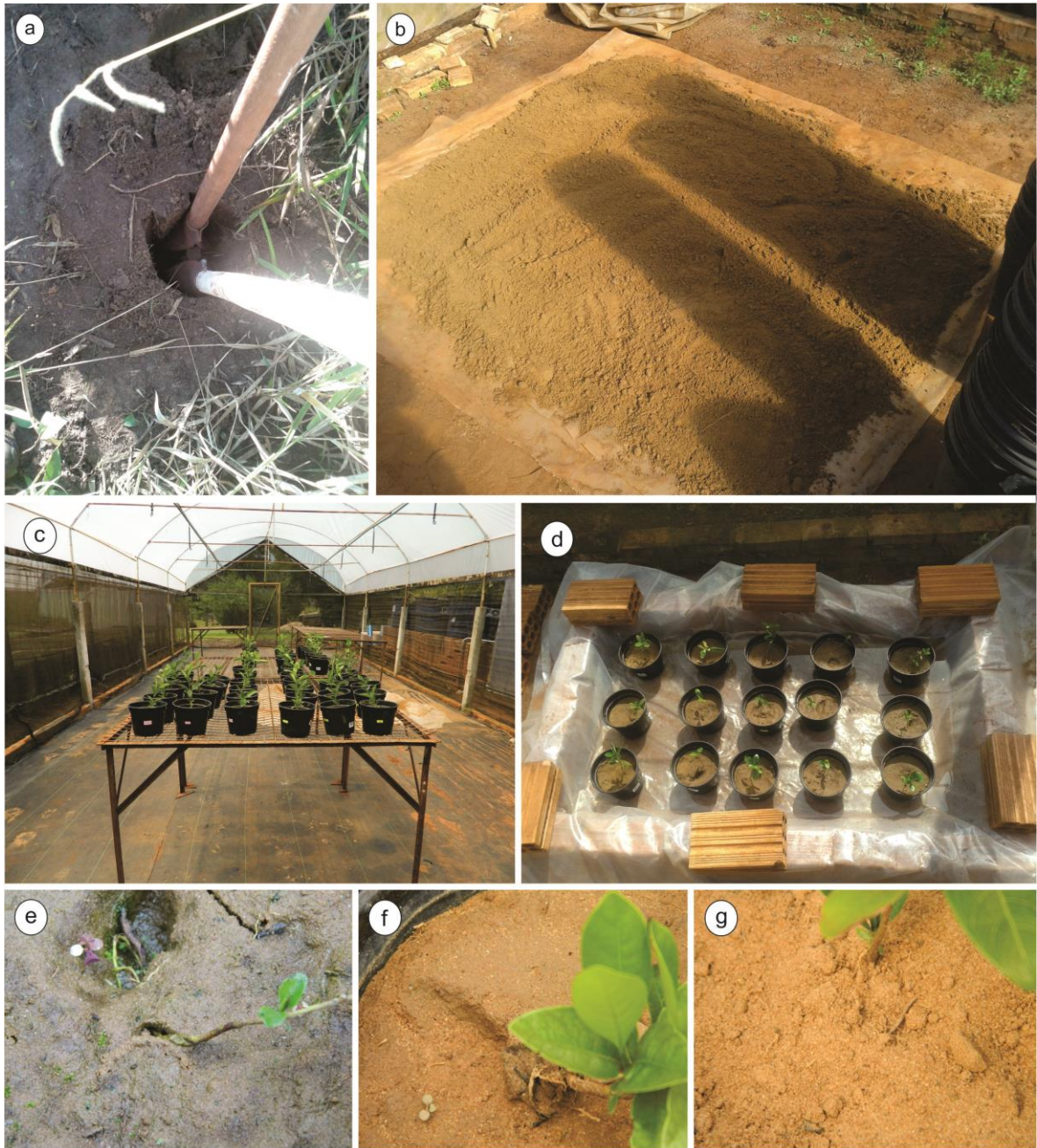


Fig. A2

Referências bibliográficas

- ALJARO, M. E.; AVILA, G.; HOFFMAN, A.; KUMMEROW, J. The annual rhythm of cambial activity in two woody species of the Chilean "Matorral". **American Journal of Botany**, Saint Louis, v. 59, n. 9, p. 879-885, 1972.
- AMANO, E. **Sazonalidade da atividade cambial de Pau-brasil (*Caesalpineia echinata* Lam., Leguminosae)**. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas - Botânica). Universidade de São Paulo, São Paulo, 110p, 2008.
- AREF, I. M.; KHAN, P. R.; AL-MEFARREJ, H.; AL-SHAHRANI, T.; ISMAIL, A.; IQBAL, M. Cambial periodicity and wood production in *Acacia ehrenbergiana* Hayne growing on dry sites of Saudi Arabia. **Journal of Environmental Biology**, Lucknow, v. 35, n. 2, p. 1-10, 2014.
- AVILA, G.; ALJARO, M. E.; ARAYA, S.; MONTENEGRO, G.; KUMMEROW, J. Seasonal cambium activity of Chilean and Californian shrubs. **American Journal of Botany**, Saint Louis, v. 62: 473-478, 1975.
- BALDUCCI, L.; DESLAURIERS, A.; GIOVANNELLI, A.; ROSSI, S.; RATHGEBER, C. B. K. Effects of temperature and water deficit on cambial activity and woody ring features in *Picea mariana* saplings. **Tree Physiology**, Oxford, v. 33, n. 10, p. 1006-1017, 2013.
- BATALHA, M. A.; MARTINS, F. R. Life-form spectra of Brazilian cerrado sites. **Flora**, v. 197, n. 6, 452-460, 2002.
- BEGUM, S.; NAKABA, S.; ORIBE, Y.; KUBO, T.; FUNADA, R. Induction of cambial reactivation by localized heating in a deciduous hardwood hybrid poplar (*Populus sieboldii* x *P. grandidentata*). **Annals of Botany**, Oxford, v. 100, n. 3, p. 439-447, 2007.
- BEGUM, S.; NAKABA, S.; YAMAGISHI, Y.; YAMANE, K.; ISLAM, M.; ORIBE, Y.; KO, J.; JIN, H.; FUNADA, R. A rapid decrease in temperature induces latewood formation in artificially reactivated cambium of conifer stems. **Annals of Botany**, Oxford, v. 110, n. 4, p. 875-885, 2012.
- BEGUM, S.; NAKABA, S.; YAMAGISHI, Y.; ORIBE, Y.; FUNADA, R. Regulation of cambial activity in relation to environmental conditions: understanding the role of temperature in wood formation of trees. **Physiologia Plantarum**, v. 147, n. 1, p. 46-54, 2013.

- BEGUM, S.; KUDO, K.; MATSUOKA, Y.; NAKABA, S.; YAMAGISHI, Y.; NABESHIMA, E.; RAHMAN, M.; NUGROHO, W.; ORIBE, Y.; JIN, H.; FUNADA, R. Localized cooling of stems induces latewood formation and cambial dormancy during seasons of active cambium in conifers. **Annals of Botany**, v. 117, n. 3, p. 465-477, 2016.
- BORCHERT, R. Water status and development of tropical trees during seasonal drought. **Trees**, Berlin, v. 8, n. 3, p. 115-125, 1994.
- BORCHERT, R. Climatic periodicity, phenology and cambial activity in tropical dry forest trees. **IAWA Journal**, Leuven, v. 20, n. 3, p. 239-247, 1999.
- BOSIO, F.; ROSSI, S.; MARCATI, C. R. Periodicity and environmental drivers of apical and lateral growth in a Cerrado woody species. **Trees**, Berlin, v. 30, n. 5, p. 1495-1505, 2016.
- BÜNTGEN, U.; HELLMAN, L.; TEGEL, W.; NORMAND, S.; MYERS-SMITH, I.; KIRDYANOV, A. V.; NIEVERGELT, D.; SCHWEINGRUBER, F. H. Temperature-induced recruitment pulses of Arctic dwarf shrub communities. **Journal of Ecology**, v. 103, n. 2, p. 489-501, 2015.
- COLMER, T. D., PEDERSEN, O. 2008. Underwater photosynthesis and respiration in leaves of submerged wetland plants: gas films improve CO₂ and O₂ exchange. **New Phytologist**, Lancaster, v. 177, n. 4, p. 918–926.
- COPINI, P.; DEN OUDEN, J.; ROBERT, E. M. R.; TARDIF, J. C.; LOESBERG, W. A.; GOUDZWAARD, L.; SASS-KLAASSEN, U. Flood-ring formation and root development in response to experimental flooding of young *Quercus robur* trees. **Frontiers in Plant Science**, v. 07, n. 775, p. 1-14, 2016.
- COUTINHO, L. M. O bioma do cerrado. In: **Eugen Warming e o cerrado brasileiro: um século depois** (A.L. Klein, ed.). São Paulo: Editora da Unesp, São Paulo, p.77-91, 2000.
- COUTINHO, L. M. O bioma do cerrado. In: KLEIN, A. L. (Org.). **Eugen Warming e o cerrado brasileiro**: Ed. UNESP. São Paulo, p. 72-92, 2002.
- COUTINHO, L. M. O conceito de bioma. **Acta Botânica Brasílica**, v. 20, n. 01, p. 13-23, 2006.
- DAVE, Y. S.; RAO, K. S. Seasonal activity of the vascular cambium in *Gmelina arborea* Roxb. **IAWA Bulletin**, Utrecht, v. 3, n. 1, p. 59-65, 1982a.

- DAVE, Y. S.; RAO, K. S. Cambial activity in *Mangifera indica* L. **Acta Botanica Academic Science**, Hungria, 28, 73-79, 1982b.
- DE LARA, N. O. T.; MARCATI, C. R. Cambial dormancy lasts 9 months in a tropical evergreen species. **Trees**, Berlin, v. 30, n. 4, p. 1331-1339, 2016.
- DE LUIS, M.; NOVAK, K.; RAVENTOS, J.; GRICAR, J.; PRISLAN, P.; CUFAR, K. Cambial activity, wood formation and sapling survival of *Pinus halepensis* exposed to different irrigation regimes. **Forest Ecology and Management**, v. 262, n. 8, p. 1630-1638, 2011.
- DIÉ, A.; KITIN, P.; KOUAMÉ, F. N.; BULCKE, J. V.; ACKER, J. V.; BEECKMAN, H. Fluctuations of cambial activity in relation to precipitation result in annual rings and intra-annual growth zones of xylem and phloem in teak (*Tectona grandis*) in Ivory Coast. **Annals of Botany**, Oxford, v. 110, n. 4, p. 861-873, 2012.
- EITEN, G. The Cerrado Vegetation of Brazil. **Botanical Review**, v. 38, n. 2, p. 201-341, 1972.
- ESAU, K. **Plant Anatomy**. New York: John Wiley and Sons, 767 p, 1965.
- EVERT, R. F. **Esau's Plant Anatomy: meristems, cells and tissues of the plant body: their structure, function and development**. 3 ed. New Jersey: John Wiley & Sons, 726p, 2006.
- FRANCO, A. C. Ecophysiology of cerrado woody plants. In: **The cerrados of Brazil**. Edited by P.S. Oliveira and R.J. Marquis. Columbia University Press, New York. pp. 178–197, 2002.
- GARDNER, W. W.; ALLARD, H. A. Effect of the relative length of day and night and other factors of the environment on growth and reproduction in plants. **Journal of Agricultural Research**, Washington, v. 18, n. 11, 1920.
- GHOUSE, A. K. M.; HASHMI, S. Periodicity of cambium and the formation of xylem and phloem in *Mimusops elengi* L., an evergreen member of tropical India. **Flora**, v. 173, p. 479-487, 1983.
- GIANTOMASI, M. A.; ROIG-JUÑENT, F.; PATÓN-DOMÍNGUEZ, D.; MASSACCESI, G. Environmental modulation of the seasonal cambial activity in *Prosopis flexuosa* DC trees from the Monte woodlands of Argentina. **Journal of Arid Environments**, v. 76, p. 17-22, 2012.

- GOODLAND, R. J. A.; FERRI, M. G. **Ecologia do cerrado**, Ed. Itatiaia: São Paulo, 193p.
- GRIČAR, J.; ZUPANČIČ, M.; ČUFAR, K.; KOCH, G.; SCHIMITT, U.; OVEN, P. Effect of local heating and cooling on cambial activity and cell differentiation in the stem of Norway spruce (*Picea abies*). **Annals of Botany**, Oxford, v. 97, n. 6, p. 943-951, 2006.
- HIROTA, M.; HOLMGREN, M.; VAN NES, E. H.; SCHEFFER, M. Global resilience of tropical forest and savanna to critical transitions. **Science**, Washington, v. 334, n. 6053, 232-235, 2011.
- HOFFMANN, W. A.; JACKSON, R. B. Vegetation–Climate feedbacks in the conversion of tropical savanna to grassland. **Journal of Climate**, Boston, v. 13, n. 9, p. 1593–1602, 2000.
- HOFFMANN, W. A.; SCHROEDER, W.; JACKSON, R. B. Positive feedbacks of fire, climate, and vegetation and the conversion of tropical savanna. **Geophysical Research Letters**, v. 29, n. 22, p. 9-1, 2002.
- HUGHES, L. Biological consequences of global warming: is the signal already. **Trends in Ecology and Evolution**, v. 15, n. 2, p. 56-61, 2000.
- IPCC **Climate Change 2014: Impacts, Adaptation, and Vulnerability. Part A: Global and Sectoral Aspects. Contribution of Working Group II to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change.** In: FIELD, C. B.; BARROS, V. R.; DOKKEN, D. J.; MACH, K. J.; MASTRANDREA, M. D.; BILIR, T. E.; CHATTERJEE, M.; EBI, K. L.; ESTRADA, Y. O.; GENOVA, R. C.; GIRMA, B.; KISSEL, E. S.; LEVY, A. N.; MACCRACKEN, S.; MASTRANDREA, P. R.; WHITE, L. L. (ed), Cambridge, p 1132, 2014.
- IMAIZUMI, T.; KAY, S. A. Photoperiodic control of flowering: not only by coincidence. **Trends in Plant Science**, v. 11, n. 11, p. 550-558, 2006.
- JOLY, C. A.; CRAWFORD, R. M. M. Variation in tolerance and metabolic responses to flooding in some tropical trees. **Journal of Experimental Botany**, v. 33, n. 4, p. 799-809, 1982.
- KLAR, A. E. **A água no sistema solo-planta-atmosfera**. São Paulo: Nobel, 408p, 1984.
- KOLB, R. M.; JOLY, C. A. Flooding tolerance of *Tabebuia cassinoides*: Metabolic, morphological and growth responses. **Flora**, v. 204, n. 7, p. 528-535, 2009.

- KÖRNER, C.; BASLER, D. Phenology under global warming. **Science**, Washington, v. 327, n. 5972, p. 1461-1462, 2010.
- KOZLOWSKI, T. T. **Water supply and tree growth**. Part II. Flooding. For. Abstr. 43: 145-161, 1982.
- KOZLOWSKI, T. T. Responses of woody plants to flooding. In: KOZLOWSKI, T. T. (ed). **Flooding and Plant Growth**. Academic Press, Orlando, p. 129-163, 1984.
- KRAMER, P. J.; BOYER, J. S. **Water relations of plants and soils**. San Diego: Academic Press, 495p, 1995.
- KUDO, K.; NABESHIMA, E.; BEGUM, S.; YAMAGISHI, Y.; NAKABA, S.; ORIBE, Y.; YASUE, K.; FUNADA, R. The effects of localized heating and disbudding on cambial reactivation and formation of earlywood vessels in seedlings of the deciduous ring-porous hardwood, *Quercus serrata*. **Annals of Botany**, Oxford, v. 113, n. 6, p. 1021-1027, 2014.
- LACHAUD, S.; CATESSON, A. M.; BONNEMAIN, J. L. Structure and functions of the vascular cambium. **Comptes Rendus de l'Académie des Sciences - Series III - Sciences de la vie/Life sciences**, Paris, v. 332, n. 8, 633-650, 1999.
- LAMBERS, H.; STUART CHAPIN III, F.; PONS, T. L. Plant Water Relations. In: **Plant physiological ecology**. New York: Springer Science Business Media, 623 p, 2008.
- LARCHER, W. **Ecofisiologia vegetal**. São Carlos, RiMa, 531 p. 2000.
- LARSON, P. R. **The vascular cambium: development and structure**. New York: Springer-Verlag, 400p, 1994.
- LIMA, W. P. **O regime da água do solo sob florestas de pinheiros tropicais e sob vegetação de cerrado**. Tese (Livre-docência). Universidade de São Paulo, Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiróz", 79p, 1979.
- LITTLE, C. H. A.; SAVIDGE, R. A. The role of plant growth regulators in forest tree cambial growth. **Plant Growth Regulators**, v. 6: 137-169, 1987.
- MAINIERI, C.; CHIMELO, J. P. **Fichas de características das madeiras brasileiras**. São Paulo: Instituto de Pesquisas Tecnológicas do Estado de São Paulo S.A. - IPT, 419p, 1989.
- MARCATI, C. R. **Sazonalidade cambial em espécies tropicais**. Tese (Doutorado em Ciências). Universidade de São Paulo, São Paulo, 147p, 2000.

- MARCATI, C. R.; ANGYALOSSY, V.; EVERT, R. F. Seasonal variation in wood formation of *Cedrela fissilis* (Meliaceae). **IAWA Journal**, Leuven, v. 27, n. 2, p. 199-211, 2006.
- MARCATI, C. R.; MILANEZ, C. R. D.; MACHADO, S. R. Seasonal development of secondary xylem and phloem in *Schizolobium parahyba* (Vell.) Blake (Leguminosae: Caesalpinioideae). **Trees**, Berlin, v. 22, n. 1, p. 3-12, 2008.
- MARCATI, C. R.; MACHADO, S. R.; PODADERA, D. S.; DE LARA, N. O. T.; BOSIO, F.; WIEDENHOEFT, A. C. Cambial activity in dry and rainy season on branches from woody species growing in Brazilian Cerrado. **Flora**, v. 223, p. 1-10, 2016.
- MELLEROWICZ, E. J.; COLEMAN, W. K.; RIDING, R. T.; LITTLE, C. H. A. Periodicity of cambial activity in *Abies balsamea*. 1. Effects of temperature and photoperiod on cambial dormancy and frost hardiness. **Physiologia Plantarum**, Lund, v. 85, n. 3, p. 515-525, 1992a.
- MELLEROWICZ, E. J.; RIDING, R. T.; LITTLE, C. H. A. Periodicity of cambial activity in *Abies balsamea*. 2. Effects of temperature and photoperiod on the size of the nuclear genome in fusiform initial cells. **Physiologia Plantarum**, Lund, v. 85, n. 3, p. 526-530, 1992b.
- MOREL, H.; MANGENET, T.; BEAUCHENE, J.; RUELLE, J.; NICOLINI, E.; HEURET, P.; THIBAUT, B. Seasonal variations in phenological traits: leaf shedding and cambial activity in *Parkia nitida* Miq. and *Parkia velutina* Benoist (Fabaceae) in tropical rainforest. **Trees**, Berlin, v. 29, p. 973-984, 2015.
- OLIVEIRA, A. S.; FERREIRA, C. S.; GRACIANO-RIBEIRO, D.; FRANCO, A. C. Anatomical and morphological modifications in response to flooding by six Cerrado tree species. **Acta Botanica Brasilica**, v. 29, n. 04, p. 478-488, 2015.
- ORIBE, Y.; KUBO, T. Effect of heat on cambial reactivation during winter dormancy in evergreen and deciduous conifers. **Tree Physiology**, Oxford, v. 17, n. 2, p. 81-87, 1997.
- ORIBE, Y.; FUNADA, R.; SHIBAGAKI, M.; KUBO, T. Cambial reactivation in locally heated stems of the evergreen conifer *Abies sachalinensis* (Schmidt) Masters. **Planta**, Freiburg, v. 212, n. 5/6, p. 684-691, 2001.
- ORIBE, Y.; FUNADA, R.; KUBO, T. Relationships between cambial activity, cell differentiation and the localization of starch in storage tissues around the cambium in

- locally heated stems of *Abies sachalinensis* (Schmidt) Masters. **Trees**, Berlin, v. 17, n. 3, p. 185-192, 2003.
- PALIWAL, S.P.; PALIWAL, G. S. Influence of climatic variations on the seasonal behaviour of the vascular cambium in some himalayan trees. III. *Rhododendron arboreum* smith. **Phytomorphology**, v. 40, p. 257-271, 1990.
- PAROLIN, P.; WITTMAN, F. Struggle in the flood: tree responses to flooding stress in four tropical floodplain systems. **AoB PLANTS**, Oxford, v. 2010: plq003, 2010.
- PIMENTEL, C. **A relação da planta com a água**. Seropédica, Rio de Janeiro: Edur, 191 p., 2004.
- PRITCHARD, J. Turgor pressure. **Encyclopedia of life sciences**, p. 1-3, 2001.
- PUMIJUMNONG, N.; BUAJAN, S. Seasonal cambial activity of five tropical tree species in central Thailand. **Trees**, Berlin, p. 1-9, 2012.
- RAJPUT, K. S.; RAO, K. S. Cambial activity and development of wood in *Acacia nilotica* (L.) DEL. growing in different forests of Gujarat State. **Flora**, v. 195, n. 2, p. 165-171, 2000.
- RAJPUT, K. S.; RAO, K. S. Cambial activity and development of xylem in *Tamarindus indica* L. growing in different forests of Gujarat State. **Acta Botanica Hungarica**, v. 43, n. 3, p. 379-390, 2001.
- RAJPUT, K. S.; RAO, K. S. Cambial anatomy and annual rhythm of secondary xylem development in the twigs of *Azadirachta indica* A. Juss. (Meliaceae) growing in different forests of Gujarat state. **Journal of Sustainable Forestry**, v. 14, n. 2, p. 115-127, 2002.
- RAO, K. S.; DAVE, Y. S. Ultrastructure of active and dormant cambial cells in teak (*Tectona grandis* L.f). **New Phytologist**, Lancaster, v. 93, p. 447-456, 1983.
- RAO, K. S.; RAJPUT, K. S. Seasonal behaviour of vascular cambium in teak (*Tectona grandis*) growing in moist deciduous and dry deciduous forests. **IAWA Journal**, Leuven, v. 20, p. 85-93, 1999.
- RAO, K. S.; RAJPUT, K. S. Relationship between seasonal cambial activity, development of xylem and phenology in *Azadirachta indica* growing in different forests of Gujarat State. **Annals of Forest Science**, Les Ulis, v. 58, n. 6, p. 691-698, 2001.

- RATTER, J.A.; RIBEIRO, J.F.; BRIDGEWATER, S. The Brazilian cerrado vegetation and threats to its biodiversity. **Annals of Botany**, Oxford, v.80, p.223–230, 1997.
- REICHARDT, K. Capacidade de campo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Campinas, v. 12: 211-216, 1988.
- REICHARDT, K.; TIMM, L. C. **Solo, planta e atmosfera: conceitos, processos e aplicações**. 2 ed. Barueri, SP: Manole, 500 p, 2012.
- RICHARDS, L. A.; WADLEIGH, C. H. Soil water and plant growth. In: SHAW, B. T. (ed.). **Soil physical conditions and plant growth**. Monograph 2, American Society of Agronomy, New York: Academic Press, v. 2, p. 73-251, 1952.
- ROHDE, A.; BHALERAO, R. Plant dormancy in the perennial context. **Trends in Plant Science**, v. 12, n. 5, p. 217-223, 2007.
- ROSSI, S.; SIMARD, S.; RATHGEBER, C. B. K.; DESLAURIERS, A.; DE ZAN, C. Effects of a 20-day-long dry period on cambial and apical meristem growth in *Abies balsamea* seedlings. **Trees**, Berlin, v. 23, n. 1, p. 85-93, 2009.
- SAJO, M. G. Meristemas e diferenciação. In: EVERT, R. F. **Anatomia das plantas de Esau**, meristemas, células e tecidos do corpo da planta: sua estrutura, função e desenvolvimento. Ed: Blucher, 3 ed, 2013.
- SANKARAN, M.; HANAN, N.P.; SCHOLLES, R.J.; RATNAM, J.; AUGUSTINE, D.J.; CADE, B.S.; GIGNOUX, J.; HIGGINS, S.I.; LE ROUX, X.; LUDWIG, F.; ARDO, J.; BANYIKWA, F.; BRONN, A.; BUCINI, G.; CAYLOR, K. K.; COUGHENOUR, M.B.; DIOUF, A.; EKAYA, W.; FERAL, C.J.; FEBRUARY, E.C.; FROST, P.G.H.; HIERNAUX, P.; HRABAR, H.; METZGER, K.L.; PRINS, H.H.T.; RINGROSE, S.; SEA, W.; TEWS, J.; WORDEN J.; ZAMBATIS, N. Determinants of woody cover in African savannas. **Nature**, London, v.438, n.8, p.846-849. 2005.
- SARMIENTO, G. The savannas of tropical america. In: GOODALL, D. W. (ed.): **Ecosystems of the world: tropical savannas**. Amsterdam: Elsevier, p. 245–288, 1983.
- SARMIENTO, G. Biodiversity and water relations in tropical savannas. In: SOLBRIG, O. T.; MEDINA, E.; SILVA, J. F. (eds). **Biodiversity and savanna ecosystem processes**. Berlin: Springer Verlag, p. 61-75, 1996.
- SCHMITZ, J. A.; BONHOMME, M.; COCHARD, H.; HERTER, F. G.; LEITE, G. B.; REGNARD, J. L.; LAURI, P. E. Are the effects of winter temperatures on spring budburst

- mediated by the bud water status or related to a whole-shoot effect? Insights in the apple tree. **Trees**, Berlin, v. 29, n. 3, p. 675-682, 2015.
- SCHWINNING, S.; SALA, O. E. Hierarchy of responses to resource pulses in arid and semi-arid ecosystems. **Oecologia**, v. 141, n. 2, p. 211-220, 2004.
- SHABALA, S. **Plant stress physiology**. Wallingford: CABI, 2012.
- SORCE, C.; GIOVANELLI, A.; SEBASTIANI, L.; ANFODILLO, T. Hormonal signals involved in the regulation of cambial activity, xylogenesis and vessel patterning in trees. **Plant Cell Reports**, v. 32, n. 6, p. 885-898, 2013.
- STAVER, A. C.; ARCHIBALD, S.; LEVIN, S. A. The global extent and determinants of savanna and forest as alternative biome states. **Science**, Washington, v. 334, n. 6053, p. 230-232, 2011.
- SUNDBERG, S.; UGGLA, C.; TUOMINEN, H. Cambial growth and auxin gradients. In: SAVIDGE, R. A.; BARNETT, J. R.; NAPIER, R. (eds). **Cell and Molecular Biology of wood formation**. Oxford: BIOS Scientific Publishers. p. 169-188, 2000.
- TROUET, V.; MUKELABAI, M.; VERHEYDEN, A.; BEECKMAN, H. Cambial growth season of brevi-deciduous *Brachystegia spiciformis* trees from South Central Africa restricted to less than four months. **PLoS ONE**, v. 7, n. 10, e47364, 2012.
- UGGLA, C.; MORITZ, T.; SANDBERG, G.; SUNDBERG, B. Auxin as a positional signal in pattern formation in plants. **Proceedings of the National Academy of Sciences, USA**, v. 93, n. 17, p. 9282–9286, 1996.
- UGGLA, C.; MELLEROWICZ, E. J.; SUNDBERG, B. Indole-3-acetic acid controls cambial growth in scots pine by positional signaling. **Plant Physiology**, v. 117, n. 1, 113–121, 1998.
- VEIHMEYER, F. J.; HENDRICKSON, A. H. Methods of measuring field capacity and permanent wilting percentage of soils. **Soil Science**, Baltimore, v. 68, p. 75-94, 1949.
- VENUGOPAL, N.; LIANGKUWANG, M. G. Cambial activity and annual rhythm of xylem production of elephant apple tree (*Dillenia indica* Linn.) in relation to phenology and climatic factor growing in sub-tropical wet forest of northeast India. **Trees**, Berlin, v. 21, n. 1, p. 101-110, 2007.

- WASEL, Y.; FAHN, A. The effects of environment on wood formation and cambial activity in *Robinia pseudoacacia* L. **New Phytologist**, Lancaster, v. 64, n. 3, p. 436-442, 1965.
- WAREING, P. F.; ROBERTS, D. L. Photoperiodic control of cambial activity in *Robinia pseudoacacia* L. **New Phytologist**, Lancaster, v. 55, n. 3, p. 356-366, 1956.
- WORBES, M. How to measure growth dynamics in tropical trees - a review. **IAWA Journal**, Leuven, v. 16, n. 4, p. 337-351, 1995.
- YAN, W.; HUNT, L. A. An equation for modelling the temperature response of plants using only the cardinal temperatures. **Annals of Botany**, Oxford, v. 84, p. 607-614, 1999.
- YAÑEZ-ESPINOSA, L.; TERRAZAS, T.; LÓPEZ-MATA, L. Integrated analysis of tropical trees growth: a multivariate approach. **Annals of Botany**, Oxford, v. 98, p. 637-645, 2006.
- ZEPPEL, M.; MACINNIS-NG, C.; FORD, C.; EAMUS, D. The response of sap flow to pulses of rain in a temperate Australian woodland. **Plant and Soil**, v. 305, n. 1, p. 121-130, 2008.
- ZEPPEL, M. J. B.; WILKS, J. V.; LEWIS, J. D. Impacts of extreme precipitation and seasonal changes in precipitation on plants. **Biogeosciences**, v. 11, p. 3083-3093, 2014.
- ZHANG, N.; BELSTERLING, B.; RASZEWSKI, J.; TONSOR, S. J. Natural populations of *Arabidopsis thaliana* differ in seedling responses to high-temperature stress. **AoB Plants**, Oxford, v. 7, p. 1-13, 2015.