

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
INSTITUTO DE GEOCIÊNCIAS
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM GEOCIÊNCIAS

**Um método eficiente para determinar a densidade de
venação nas *Glossopteris* e suas aplicações**

MÁRIO GILBERTO FERREIRA ESPERANÇA JÚNIOR

ORIENTADOR – Prof. Dr. Roberto Iannuzzi

Porto Alegre, 2022

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
INSTITUTO DE GEOCIÊNCIAS
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM GEOCIÊNCIAS**

**Um método eficiente para determinar a densidade de
venação nas *Glossopteris* e suas aplicações**

MÁRIO GILBERTO FERREIRA ESPERANÇA JÚNIOR

ORIENTADOR – Prof. Dr. Roberto Iannuzzi

BANCA EXAMINADORA:

Prof. Dr. Fernando Erthal

Profa. Dra. Esther R. S. Pinheiro

Profa. Dra. Juliane Marques-de-Souza

Dissertação de Mestrado apresentada como
requisito parcial para a obtenção do Título de
Mestre em Geociências.

Porto Alegre, 2022

CIP - Catalogação na Publicação

Esperança Júnior, Mário Gilberto Ferreira
Um método eficiente para determinar a densidade de
venação nas Glossopteris e suas aplicações / Mário
Gilberto Ferreira Esperança Júnior. -- 2022.
58 f.
Orientador: Roberto Iannuzzi.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do
Rio Grande do Sul, Instituto de Geociências, Programa
de Pós-Graduação em Geociências, Porto Alegre, BR-RS,
2022.

1. Paleobotânica. 2. Glossopteris. 3. Densidade de
venação. 4. Gondwana. 5. Permiano. I. Iannuzzi,
Roberto, orient. II. Título.

RESUMO

Folhas do tipo *Glossopteris* correspondem ao elemento florístico mais abundante da flora do Gondwana, sendo registradas durante todo o Permiano. Esse foi um período de extremas mudanças climáticas globais, as quais foram capazes de afetar as formas de vida existentes, incluindo as plantas. Nesse contexto, algumas feições foliares são notavelmente sensíveis a variações como essas, sendo, portanto, úteis na reconstrução de paleoambientes. Por esse motivo, os traços funcionais das folhas *Glossopteris* têm potencial em identificar mudanças ambientais em uma ampla área geográfica por um longo intervalo de tempo. A vascularização foliar possui características especialmente adaptáveis, porém ainda pouco exploradas, principalmente em se tratando de fósseis. Pode-se destacar a densidade de venação, que é calculável e altamente variável, mas muitas vezes considerada uma feição demorada em se quantificar. Uma forma de tornar esse processo mais rápido é através de uma estimativa precisa, embora, até então, nenhum modelo tenha sido formalmente selecionado ou validado para esse tipo de folha. Sendo assim, um modelo linear composto por três preditores foi selecionado e validado por técnicas estatísticas rigorosas, o qual foi treinado com base em 228 dados de folhas fósseis provenientes de diversas bacias e intervalos do Gondwana. Esse modelo permitiu a obtenção de densidades de venação médias para as associações fitofossilíferas compostas por *Glossopteris*, e teve um erro-padrão de $1,87 \text{ cm}^{-1}$. Além disso, os dados adquiridos distinguiram significativamente as folhas produzidas em ecossistemas úmidos daquelas encontradas nos mais áridos, seguindo um padrão semelhante ao das plantas modernas. Entretanto, dados que contemplem mais sítios fitofossilíferos e intervalos de tempo mais precisos devem ser acrescentados, analisados e comparados, para determinar exatamente como os parâmetros ambientais afetaram a arquitetura vascular foliar das glossopterídeas.

Palavras-chave: Paleobotânica, *Glossopteris*, densidade de venação, Gondwana, Permiano.

ABSTRACT

Glossopteris-type leaves are the most abundant floristic element of the Gondwana flora, being recorded throughout the Permian. This was a period of extreme global climate changes, which was able to affect existing living forms, including plants. In this context, leaf traces are remarkably sensitive to variations like this, and are therefore useful in the reconstruction of paleoenvironments. For this reason, the functional traits of *Glossopteris* leaves have the potential to identify environmental changes over a wide geographic area in a long period of time. Leaf vascularization has especially adaptable characteristics, but still underutilized, especially when dealing with fossils. The venation density can be highlighted, since it is calculable and highly variable, but often considered time-consuming to quantify. A way to make this process faster is through an accurate estimation, although no model has been formally selected or validated for this type of leaf so far. Therefore, a linear model composed of three predictors was selected and validated by rigorous statistical techniques, which was trained with 228 data of leaf fossils from different Gondwanan basins and time intervals. This model allowed obtaining mean venation densities for phytofossiliferous associations composed of *Glossopteris*, and had a standard error of 1.87 cm^{-1} . Furthermore, the data acquired significantly distinguished between leaves produced in wet and dry ecosystems, following a pattern similar to modern plants. However, data covering more phytofossiliferous sites and shorter time spans must be added, analyzed and compared to determine exactly how the environmental parameters affected the leaf vascular architecture of glossopterids.

Key-words: Paleobotany, *Glossopteris*, venation density, Gondwana, Permian.

Lista de Tabelas

<i>Tabela 1</i> – Modelos testados e parâmetros analisados	15
<i>Tabela 2</i> – Conjuntos de dados identificados em relação à densidade de venação	17

Lista de Figuras

<i>Figura 1</i> – Exemplos de folhas <i>Glossopteris</i> utilizadas	13
<i>Figura 2</i> – Erros obtidos na validação-cruzada para os cinco modelos mais precisos	15
<i>Figura 3</i> – Histograma empilhado de DV verdadeira nos dois conjuntos identificados.....	17

Sumário

PARTE I

1. Estrutura da Dissertação	8
2. Introdução.....	9
3. Objetivos.....	12
4. Materiais e Métodos	13
4.1 Material de Estudo.....	13
4.2 Método proposto, Validação e Aplicação.....	14
5. Resultados.....	15
5.1 Coeficientes do modelos selecionado.....	16
5.2 Análise dos resíduos	16
5.3 Análise dos dados	17
6. Discussão	18
6.1 Conjunto de dados	18
6.2 Limitações do modelo selecionado.....	19
6.3 Interpretação paleoecológica.....	19
7. Conclusão.....	21
8. Referências	22

PARTE II

Artigo Científico.....	27
------------------------	----

PARTE III

Anexos.....	49
-------------	----

PARTE I

1. Estrutura da Dissertação

Esta dissertação de mestrado é fruto de dois anos de estudos no Programa de Pós-Graduação em Geociências (PPGGeo-UFRGS). A organização do texto compreende as seguintes partes:

- PARTE I: introdução geral contendo uma introdução ao tema de estudo, objetivos, metodologia, resultados, discussão e conclusão;
- PARTE II: manuscrito que compõe o escopo principal do trabalho, intitulado “An efficient method for estimating vein density of *Glossopteris* and application” submetido à revista PlosOne;
- PARTE III: anexos e arquivos relacionados aos trabalhos publicados, submetidos ou em submissão, com temas afins à dissertação.

2. INTRODUÇÃO

A compreensão dos ecossistemas terrestres modernos é feita, sobre tudo, através de observações diretas. Estas observações incluem a caracterização do clima e do solo, a composição biológica, além da interação entre tais elementos. Por outro lado, a análise de ambientes antigos exige uma abordagem diferenciada, uma vez que não é possível observá-los, nem mensurar diretamente variáveis ambientais a eles relacionados. Nesses estudos, fósseis e sedimentos antigos são instrumentos que possibilitam produzir interpretações paleoecológicas, por vezes, bastante completas, através da comparação desses dados com os ambientes contemporâneos (Gornitz, 2009). Assim, presume-se que o sinal de um atributo sedimentológico ou biológico para o passado varie em função dos mesmos gradientes ambientais no presente.

Uma importante ferramenta em estudos paleoambientais são os padrões de distribuição e crescimento da vegetação, os quais fornecem informações relevantes sobre a estrutura de antigos ecossistemas (Iannuzzi & Vieira, 2005). De fato, as plantas são os constituintes primários dos biomas terrestres, nos quais uma série de fatores bióticos e abióticos limita seu crescimento e sobrevivência. Estes fatores incluem as condições climáticas, composição do solo, exposição à luz solar e ao vento, distribuição de polinizadores, dispersores de sementes e de patógenos, além da taxa de herbivoria (Taiz & Zeiger, 2013). Dessa forma, é possível ligar um fóssil específico a determinados fatores bióticos ou abióticos, dado o conhecimento prévio de que uma característica vegetal específica está associada a uma condição ecológica particular.

Entre essas características, traços funcionais quantificáveis estão sendo cada vez mais aplicados, especialmente em se tratando de fósseis vegetais (e.g. Wolfe, 1993; Wilf *et al.*, 1998; Beerling & Royer, 2002; Royer *et al.*, 2007; Franks & Beerling, 2009; Wilson & Knoll, 2010; Peppe *et al.*, 2018). A essência por trás dessas variáveis é que certos ambientes e nichos selecionam organismos que possuem determinados valores de uma dada característica. Nesse sentido, é notório que os organismos detêm de uma quantidade limitada de recursos e aqueles que os distribuem em uma proporção ideal terão uma vantagem; isso ocorre fundamentalmente nas feições ligadas à sobrevivência e perpetuação da espécie (Stearns & Hoekstra, 2003). Portanto, uma característica vantajosa não pode ser melhorada infinitamente, pois acarretaria na perda de recursos em outros atributos

importantes - isto é um *trade-off* (Stearns, 1989). Sendo assim, diferentes ambientes e hábitos de vida das plantas atuam como filtros, de modo que os valores das feições quantificáveis convergem para determinados números.

Uma traço foliar quantificável e ainda pouco explorado é a densidade de venação (ou nervação), a qual está relacionada à distância média entre nervuras foliares sucessivas. Assim, quanto mais próximas as veias estão uma da outra na lâmina foliar, maior é a densidade de venação (Uhl & Mosbrugger, 1999). O valor dessa variável é dado pela razão entre os comprimentos das nervuras e a área foliar em consideração (Equação 1). Quanto maior a densidade, maior é a condutividade hidráulica foliar máxima, o que resulta em maior transporte de água até o tecido especializado na fotossíntese (Sack & Frole, 2006; Brodribb et al., 2007). Conseqüentemente, a taxa fotossintética máxima aumenta, o que garante maior geração de carboidratos para a planta (Brodribb et al., 2005). Plantas adaptadas a ambientes sazonalmente secos têm crescimento restrito e, por isso, tendem a produzir folhas pequenas com maior densidade de nervação, tendo, assim, a taxa fotossintética maximizada nos curtos períodos em que a água está disponível (Blonder et al., 2014). Por outro lado, a construção das veias é acompanhada por um investimento de carbono (*trade-off*), fazendo com que espécies resistentes a secas sejam pouco competitivas em ambientes úmidos (Nardini et al., 2012). Nessa situação, plantas adaptadas a ambientes em que a água está sempre disponível tendem a investir recursos em outros atributos, como o desenvolvimento de folhas de maior área (Sack & Scoffoni, 2013).

$$\text{Densidade de vanação} = \frac{\text{Soma dos comprimentos das veias}}{\text{Área em análise}}$$

Equação 1

Uma vez que a arquitetura vascular foliar é amplamente variável entre os diferentes grupos vegetais (Boyce et al., 2009), as análises paleoecológicas baseadas nessa feição funcional estão limitadas ao intervalo cronoestratigráfico e área de ocorrência de um determinado grupo fóssil. Por conseguinte, fósseis que têm amplo registro espacial-temporal são ideais nesses estudos, os quais permitem estabelecer padrões de distribuição e comparações a partir da densidade de venação de forma sistemática. Nesse quesito, as folhas *Glossopteris* Brongniart 1828 estão bem enquadradas, por serem abundantes nas bacias gondvânicas e registradas em todo o Permiano (~50 Ma). Interessantemente, esse mesmo período

é caracterizado por uma transição de condições climáticas do tipo *icehouse* para *hothouse*, com aumento intenso dos níveis globais de CO₂ atmosféricos (Montañez & Pulsen, 2013). Sendo assim, de que forma tais flutuações climáticas afetaram a evolução das glossopterídeas? A densidade de venação teria respondido a essa mudança, se alterando em decorrência de processos adaptativos?

No atual estado da arte, houve somente duas tentativas de vincular diferenças de valores de densidade de nervação das *Glossopteris* com mudanças ambientais, ambos com interpretações controversas (mais detalhes na discussão de Esperança Júnior, 2019). A primeira delas, proposta por Retallack (2005), utilizou um baixo número amostral ($n = 14$), com espécimes fósseis provenientes somente da Antártida. Por outro lado, no trabalho de Schwendemann (2018) foram utilizados muitos espécimes fósseis ($n = 1312$), ainda que predominantemente da Antártida. Em ambos, a densidade foi medida em quadrados feitos sobre as lâminas foliares, de lado 1 cm, no primeiro, e 0,5 cm, no segundo. Surpreendentemente, em nenhuma das contribuições foram incluídas amostras da Bacia do Paraná, a qual registra uma variação florística significativa durante o Permiano (e.g. Rösler, 1978; Cúneo, 1996, Rees *et al.*, 2002; Goldberg, 2004; Iannuzzi, 2013). Além disso, indicadores sedimentológicos e geoquímicos dessa área demonstram a existência de mudanças ambientais, com crescimento da aridez ao longo do período (e.g. Suguio *et al.*, 1974; Goldberg, 2001; Holz *et al.*, 2010). Por fim, há consenso entre os modelos climatológicos globais de que os climas úmidos e amenos, durante o Permiano, foram progressivamente substituídos por quentes e secos no interior do Gondwana, o que inclui a área da Bacia do Paraná (e.g. Ziegler, 1990, Chumakov & Zharkov, 2002, Rees *et al.*, 2002, Scotese *et al.*, 2014). Dessa forma, os trabalhos prévios que tratam sobre a densidade de nervação das glossopterídeas não incluíram fósseis de uma bacia em que flutuações ambientais são constatadas por diversos autores. Há, ainda, evidências de que a metodologia utilizada pelos autores prévios seja tendenciosa, além de ser laboriosa.

Dada essa dificuldade, Esperança Júnior (2019) propôs um método inédito de estimação das densidades de nervação das *Glossopteris*, o qual possibilitaria calcular a densidade em menos de cinco minutos por amostra. Partindo de 33 modelos de estimação, o autor avaliou e discutiu três deles, mas sem sugerir ou validar nenhum deles por meio de tratamentos estatísticos formais.

3. OBJETIVOS

A presente contribuição tem como os seguintes objetivos:

- 1) Construir um modelo de estimação de densidade de venação para as folhas *Glossopteris* através dos dados anteriormente coletados por Esperança Júnior (2019);
- 2) Validar o modelo selecionado por métodos estatísticos formais;
- 3) Aplicar tal método em fósseis de *Glossopteris* de diferentes idades e localidades;
- 4) Comparar tais resultados com os modelos climáticos existentes para o Gondwana.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Material de Estudo

Para alcançar os objetivos propostos, utilizou-se parte dos dados adquiridos previamente por Esperança Júnior (2019). Tratam-se tanto de fotografias quanto de desenhos de folhas *Glossopteris*, somente de espécimes nos quais a venação estava bem preservada (Fig. 1). Os espécimes fotografados para o estudo estão armazenadas nas coleções de paleontologia da UFRGS e da Universidade de São Paulo (USP), enquanto que os desenhos foram adquiridos de ilustrações publicadas nos seguintes trabalhos: Bernardes-de-Oliveira (1977), Chandra & Surange (1979), Rohn *et al.* (1984), Taylor & Smoot (1985), Rohn & Rösler (1989), Taylor & Taylor (1992), McLoughlin (1994a, 1994b) e Tybusch & Iannuzzi (2010). O número de espécimes aqui considerados foi de 160, enquanto que o total de medidas obtidas chegou a 228 (em alguns espécimes, a densidade de venação foi adquirida em diferentes partes da folha). Tais espécimes são provenientes das seguintes unidades litoestratigráficas: Grupo Damodar (Índia), Formação Polarstar (Antártida), grupos Blackwater e Back Creek (Austrália), além das formações Rio Bonito e Rio do Rasto (Brasil).

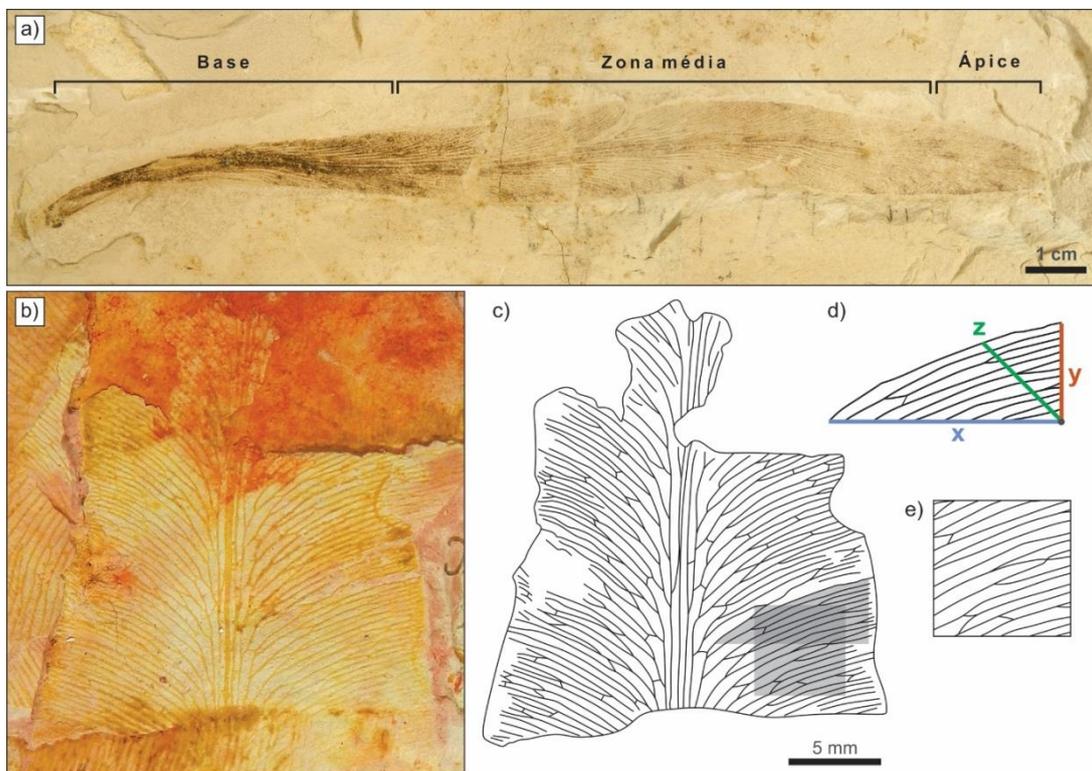


Figura 1– Exemplos de folhas *Glossopteris* utilizadas; a) folha com as três porções indicadas: base, zona média e ápice (UNG3T01, USP); b) zona média da amostra GP/3T 1798C (USP); c) desenho das nervuras feito a partir da amostra em b, com as áreas de obtenção da densidade de venação (em cinza); d) área cônica aqui proposta e as direções em que as variáveis predictoras foram tomadas (x, y e z); e) área quadrada utilizada em trabalhos anteriores.

4.2 Método Proposto, Validação e Aplicação

No método proposto, mede-se o comprimento das nervuras dentro do maior setor de cônica possível determinado pela própria nervação, de modo a compreender toda variação da densidade perpendicular às veias medianas (Fig. 1c, d). Com isso, obtém-se a densidade de venação DV através do quociente entre a soma dos comprimentos das nervuras e a área do setor de cônica em análise (da mesma forma que a Equação 1 apresentada anteriormente). A estimativa da densidade de nervação para essa área é obtida pelo número de veias por centímetro (x , y e z), medido em três direções específicas (Fig. 1d).

Através desses dados, modelos lineares foram ajustados pelos mínimos quadrados ordinários (OLS), a fim da determinação dos coeficientes numéricos (β_1 , β_2 e β_3). Incluiu-se um termo para a intersecção (β_0) em todos os modelos (Equação 2 abaixo). Os modelos gerados foram comparados entre si em relação à qualidade de ajuste, erro-padrão e critério de informação (Akaike, 1979). Adicionalmente, utilizou-se o procedimento da validação-cruzada como critério de seleção, em que parte dos dados são removidos e testados a fim de determinar a estabilidade dos erros. O modelo selecionado ainda teve seus resíduos ε devidamente analisados por testes de hipótese (Shapiro & Wilk, 1965; Breush & Pagan, 1979).

$$DV = \beta_0 + \beta_1x + \beta_2y + \beta_3z + \varepsilon$$

Equação 2

O modelo selecionado foi aplicado nas amostras anteriormente analisadas por Esperança Júnior (2019). Associações fossilíferas encontradas tiveram seus parâmetros confrontados através de testes de hipótese (Mann & Whitney, 1947). Interpretações feitas a partir desses dados foram comparadas com estudos paleoambientais existentes para o Permiano do Gondwana.

5. RESULTADOS

Analisaram-se sete modelos lineares (Tabela 1, Fig. 2), formados por diferentes combinações de variáveis preditoras. Todos os critérios utilizados (qualidade de ajuste, erro-padrão, critério de informação e validação-cruzada) apontaram que o modelo que inclui todos os preditores é o mais acurado, preciso e parcimonioso, ou seja, apresenta os menores valores absolutos de erro-padrão e critério de informação, maiores valores de R^2 e erros menos dispersos na validação-cruzada. Dessa forma, escolheu-se esse modelo para as estimativas, e as análises que seguem são referentes a ele.

Tabela 1–Modelos testados e parâmetros analisados. EP: erro-padrão (cm-1); R^2 : coeficiente de determinação; ΔAIC : diferença do Critério de Informação de Akaike.

Modelo	EP	R^2	ΔAIC
$\beta_0 + x$	6.52	0.363	567
$\beta_0 + y$	4.13	0.744	359
$\beta_0 + z$	2.42	0.912	115
$\beta_0 + x + y$	2.58	0.900	146
$\beta_0 + x + z$	2.43	0.912	117
$\beta_0 + y + z$	2.07	0.936	46
$\beta_0 + x + y + z$	1.87	0.948	0

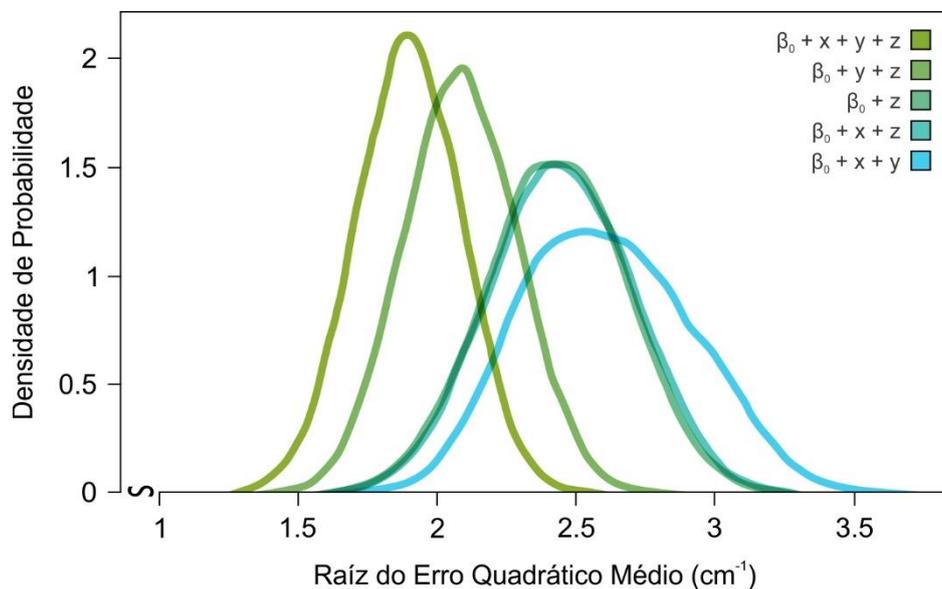


Figura 2– Erros obtidos na validação-cruzada, para os cinco modelos mais precisos.

5.1 Coeficientes do modelo selecionado

Através dos dados coletados, calcularam-se os valores dos coeficientes numéricos através do ajuste por OLS para o modelo selecionado. Nesse método, os coeficientes obtidos são aqueles que minimizam a soma dos resíduos quadráticos, o que resultou na Equação 3. O resíduo ε possui um valor próximo de zero, como indicado pelos parâmetros na Tabela 2, mas eventualmente pode variar dependendo de DV. A fins de validação, uma análise dos resíduos deve ser realizada, como segue abaixo.

$$DV = 2,021 + 0,242x + 0,288y + 0,588z + \varepsilon$$

Equação 3

5.2 Análise dos resíduos

Os resíduos são a diferença entre os valores verdadeiros da densidade de nervação e o valor calculado pelo modelo selecionado (Equação 3). Na técnica da regressão linear com coeficientes ajustados por OLS existe a premissa de que os resíduos sejam independentes e identicamente distribuídos. Violações desses pressupostos podem afetar as previsões, as quais podem ser verificadas através de gráficos e testes de hipótese.

Quando os resíduos não estão associados à estimativa do modelo é dito que os mesmos são independentes, isto é, não existe tendência de crescimento ou redução da média do erro da equação em relação densidade de venação. Dessa forma, a média do erro é sempre zero. Uma maneira formal de verificar esta independência é através da construção de uma reta de ajuste entre os resíduos e a saída. No caso do modelo selecionado, a reta não possui coeficientes significativos ($p = 1$), comprovando que os resíduos são linearmente independentes.

Resíduos identicamente distribuídos são aqueles que apresentam a mesma variação em todo domínio do modelo. Nesse sentido, os resíduos devem ter distribuição normal e devem ser homocedásticos (ter variância constante). Para o modelo selecionado, o teste de Shapiro-Wilk confirmou a existência de desvio da normalidade ($p = 0,003$). A homoscedasticidade pode ser diagnosticada através do teste de Breusch-Pagan, que apontou variância não-constante dos resíduos ($p < 0,001$). Com isso, constatou-se que a premissa dos resíduos identicamente distribuídos foi violada.

5.3 Análise dos dados

A distribuição da densidade de venação obtida através do método proposto apresentou forte desvio da normalidade, com a presença de duas modas, sugerindo que existam, no mínimo, dois conjuntos de dados. A maior parte dos espécimes que possuem alta DV é proveniente da Formação Rio do Rasto (Tabela 2, Figura 3), indicando que o valor da densidade de venação das *Glossopteris* deve variar em relação ao tempo ou espaço. O teste de Wilcoxon-Mann-Whitney confirma que a distribuição de dados da Formação Rio do Rasto é distinta das demais unidades litoestratigráficas ($p < 0,001$).

Tabela 2 – Conjuntos de dados identificados em relação à densidade de venação (DV).

Associação fossilífera	DV verdadeira	DV calculada
Fm. Rio do Rasto	39,4 cm ⁻¹	39,55 cm ⁻¹
Demais unidades	23,82 cm ⁻¹	23,8 cm ⁻¹

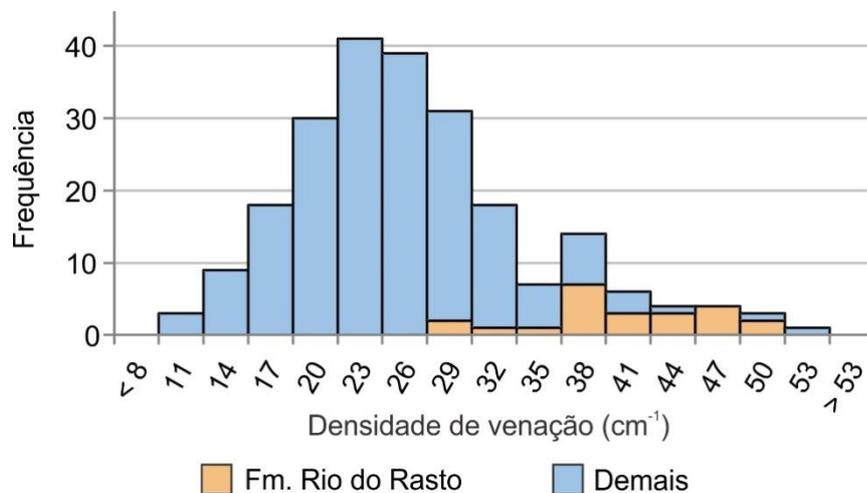


Figura 3 – Histograma empilhado de DV verdadeira nos dois conjuntos identificados.

6. DISCUSSÃO

6.1 Conjunto de dados

Uma questão que preocupa muitos pesquisadores está relacionada ao banco de dados utilizado no estudo. De fato, problemas nos dados podem levar a interpretações errôneas ou pouco precisas, dependendo, por exemplo, do número amostral e da representatividade da amostra em relação à população (que nesse caso são as comunidades de plantas vivas).

No presente estudo, todas as densidades de venação foram obtidas em fósseis classificados no gênero *Glossopteris*, os quais possuem em comum a mesma arquitetura vascular foliar, com pouquíssimas exceções (e.g. *G. damudica*). O modo como as veias foliares se organizam é, basicamente, o mesmo para todas as morfo-espécies, independentemente da unidade e idade das associações. Já que esse atributo é constante e ao mesmo tempo está ligado à densidade de nervação, então o modelo selecionado é eficiente para todos os espécimes fósseis que possuam essa mesma característica, ou seja, para todas as folhas do tipo *Glossopteris*. Na análise de regressão, a única condição necessária para tanto é que os dados e os preditores contemplem a variação observada na densidade de venação. Com um número amostral relativamente alto e baixa variação na densidade, mesmo se analisado fósseis de diversas unidades e idades, então pode-se dizer que os dados aqui contemplados refletem bem a variabilidade existente. Além disso, o procedimento da validação-cruzada demonstra claramente que os erros são estáveis ao se remover parte dos dados de treinamento (Fig. 2), e, portanto, comprova que o número amostral aqui utilizado é suficiente. A título de comparação, no trabalho de Blonder & Enquist (2014) também foi proposto um método de estimativa de densidades de nervação, naquele caso, para folhas de dicotiledôneas modernas. Naquele estudo, somente 25 amostras foram utilizadas para treinamento, em um grupo de plantas no qual mais de 300.000 espécies foram descritas até hoje. No caso do gênero *Glossopteris*, o número de morfo-espécies erigidas é pouco maior que 200. Portanto, a representatividade da amostra aqui adotada é muito superior à do trabalho de Blonder & Enquist (2014), ao menos em relação ao número de espécies.

Já no procedimento da comparação múltipla, o teste de hipótese em questão leva em conta diferenças nos números amostrais existentes entre unidades

fossilíferas ou idades (Mann & Whitney, 1947). Dessa forma, a metodologia empregada dispensa a necessidade de que o número de dados nos subconjuntos sejam iguais, contanto que a quantidade de dados em cada um deles seja razoável.

6.2 Limitações do modelo selecionado

Testes de hipótese mostraram que a distribuição dos resíduos não está totalmente de acordo com as premissas da regressão linear ajustada por OLS, isto é, possui desvio da normalidade e heterocedasticidade. Um desvio moderado da normalidade dos resíduos não é uma violação grave, porém, a heterocedasticidade implica que a precisão do modelo não é igual para todo o intervalo de densidade de venação contemplado. Logo, os parâmetros indicados na Tabela 1 são valores médios para a regressão, que possuem alguma tendência de variação dependendo do valor de densidade. Entretanto, o método que aqui foi desenvolvido tem a intenção de ser aplicado em associações fossilíferas, e por isso, os dados devem ser tomados a partir de um bom número de folhas. Como os resíduos são linearmente independentes, o erro médio a ser obtido para as associações é sempre próximo de zero (Tabela 2), independentemente da assimetria e heteroscedasticidade dos resíduos. Dessa forma, valores médios de densidade de venação possuem uma estimativa bastante precisa.

Em relação aos dois conjuntos de dados aqui identificados, o modelo calculou uma densidade de nervação média bem próxima dos valores verdadeiros (Tabela 2). Sendo assim, medidas de tendência central podem ser empregadas de forma segura e, adicionalmente, técnicas computacionais como *bootstrap* podem ser aplicadas em situações como essa. Esse é um exemplo de técnica que leva em consideração o desvio da normalidade e variância não-constante dos resíduos na obtenção de intervalos de confiança das estimativas.

6.3 Interpretação paleoecológica

Uma análise rápida permitiu a identificação de dois conjuntos de folhas *Glossopteris* (Tabela 2, Figura 3), uma contendo alta densidade de nervação, proveniente da Formação Rio do Rasto, enquanto que nas demais associações predominaram densidades mais baixas. Essa diferença sugere a existência de uma paleoflora adaptada a condições distintas no momento da deposição da Formação

Rio do Rasto. Particularmente no Grupo Passa Dois, em que a referida unidade está inserida, diversos indicadores apontam para um progressivo aumento da aridez (Suguio *et al.*, 1974; Mussa *et al.*, 1980; Fairchild, 1985; Rohn, 1994; Holz *et al.*, 2010), acompanhado de uma variação florística (Rösler, 1978; Cúneo, 1996, Rees *et al.*, 2002; Goldberg, 2004; Iannuzzi, 2013). De fato, modelos climáticos globais mostram o aparecimento de climas secos no Permiano tardio da Bacia do Paraná (Ziegler, 1990; Chumakov & Zharkov, 2002; Rees *et al.*, 2002; Scotese *et al.*, 2014), momento em que são depositadas estas unidades litoestratigráficas, i.e., Irati, Serra Alta, Teresina e Rio do Rasto. Em contraste, em outras porções do Gondwana, os climas permaneceram úmidos em grande parte do Permiano (Chandra & Chandra, 1988; Ziegler *et al.*, 1990; Collinson, 1994; McLoughlin, 1994b; Dutta, 2002; Holz *et al.*, 2010; Iannuzzi *et al.*, 2013). Portanto, aparentemente as glossopterídeas modificaram suas folhas, elevando a densidade de nervação como resposta à redução da disponibilidade de água no ambiente de vida (dados os indicadores paleoclimáticos e paleoambientais na Formação Rio do Rasto). Essa adaptação já é conhecida em plantas modernas, como foi constatado por diversos autores (Uhl & Mosbrugger, 1999; Roth-Nebelsick *et al.*, 2001; Nardini *et al.*, 2012; Sack & Scoffoni, 2013), concluindo-se que os ambientes paleozoicos já selecionavam as plantas de forma análoga aos contemporâneos em relação à densidade de nervação.

7. CONCLUSÃO

Um método de estimação de densidade de venação de folhas *Glossopteris* foi formalmente selecionado e validado, possibilitando calculá-la em menos de cinco minutos por espécime. Com isso, será possível inferir um grande número de dados em pouco tempo, permitindo realizar, no futuro próximo, comparações sistemáticas entre diversas associações fossilíferas. Os resultados preliminares já são promissores, e indicam que o ambiente influenciou o desenvolvimento das nervuras nesses vegetais.

Esta é a primeira demonstração utilizando um elevado número amostral a mostrar que plantas paleozoicas modificaram suas folhas aumentando a vascularização em um período de aumento de aridez, de forma similar às plantas atuais. Dados de outras unidades e com intervalos cronoestratigráficos bem definidos (mais precisos e curtos) deverão ser acrescentados para uma melhor compreensão da variação dessa feição adaptativa em relação aos fatores tafonômicos que controlam a geração de cada associação fitofossilífera em específico. Esses resultados têm potencial de auxiliar no entendimento da evolução de grupos vegetais extintos e na interpretação de ambientes antigos.

8. REFERÊNCIAS

- Akaike H. 1974. A new look at the statistical model identification. *IEEE Transactions on Automatic Control*, 19:716–723.
- Beerling, D.J. & Royer, D.L. 2002. Reading a CO₂ signal from fossil stomata. *New Phytologist*. 153: 387–397.
- Bernardes-de-Oliveira, M.E.C. 1977. *Tafoflora Eogondvânica da camada Irapuá, Formação Rio Bonito (Grupo Tubarão), SC*. São Paulo. Dissertação. Universidade de São Paulo.
- Blonder, B., Violle, C., Bentley, L.P. & Enquist, B. 2014. Inclusion of vein traits improves predictive power for the leaf economic spectrum: a response to Sack et al. (2013). *Journal of Experimental Botany*, 65(18): 5109–5114.
- Boyce, C.K., Brodribb, T.J., Feild, T.S. & Zwieniecki, M.A. 2009. Angiosperm leaf vein evolution was physiologically and environmentally transformative. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 276: 1771–1776.
- Breusch, T.S. & Pagan, A.R. 1979. A simple test for heteroskedasticity and random coefficient variation. *Econometrica*, 47:1287–1294.
- Brodribb, T.J., Feild, T.S. & Jordan, G.J. 2007. Leaf maximum photosynthetic rate and venation are linked by hydraulics. *Plant Physiology*, 144: 1890–1898.
- Brodribb, T.J., Holbrook, N.M., Zwieniecki, M.A. & Palma, B. 2005. Leaf hydraulic capacity in ferns, conifers and angiosperms: impacts on photosynthetic maxima. *New Phytologist*, 165: 839–846.
- Chandra, S. & Chandra, A. 1988. Vegetational changes and their climatic implications in coal bearing Gondwana. *The Palaeobotanist*. 36:74–86.
- Chandra, S & Surange, K.R. 1979. *Revision of the Indian species of Glossopteris Monograph 2*. Lucknow: Birbal Sahni Institute of Palaeobotany. p. 291.
- Chumakov, N.M. & Zharkov, M.A. 2002. Climate during the Permian–Triassic biosphere reorganizations. Article 1. Climate of the Early Permian. *Stratigraphy and Geological Correlation*, 10(6): 361–375.
- Collinson, J.W., Isbell, J.L. & Elliot, D.H. 1994. Permo-Triassic Transantarctic basin. *Geological Society of America Memoir*. 184:173–222.
- Cúneo, R. 1996. Permian phytogeography in Gondwana. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*. 125: 75–104.
- Dutta, P. 2002. Gondwana lithostratigraphy of peninsular India. *Gondwana Research*. 5:540–553.

- Esperança Júnior, M.G.F. 2019. *Desenvolvimento e aplicação de um método de aquisição de densidades de venação em Glossopteris*. Porto Alegre, 86p. Trabalho de Conclusão de Curso, Instituto de Geociências, Universidade Federal do Rio Grande do Sul.
- Fairchild, T.R., Coimbra, A.M. & Boggiani, P.C. 1985. Ocorrência de estromatólitos silicificados na Formação Irati (Permiano) na borda setentrional da Bacia do Paraná (MT, GO). *Anais da Academia Brasileira de Ciências*. 57:117.
- Franks, P.J. & Beerling, D.J. 2009. Maximum leaf conductance driven by CO₂ effects on stomatal size and density over geologic time. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 106: 10343–10347.
- Goldberg, K. 2001. *The Paleoclimatic Evolution of the Permian of the Paraná Basin in southern Brazil*. Chicago, 267p. Tese de Doutorado, Department of Geophysical Sciences, University of Chicago.
- Goldberg, K. 2004. Floral diversity data in the assessment of paleoclimate in the Paraná Basin, southern Brazil. *The Journal of Geology*, 112: 719-727.
- Gornitz, V. 2009. Paleoclimate Proxies, An Introduction. In: Gornitz V. (Ed.). *Encyclopedia of Paleoclimatology and Ancient Environments*. Dordrecht, Springer, p. 716-720.
- Holz, M., França, A.B., Souza, P.A., Iannuzzi, R. & Rohn, R. 2010. A stratigraphic chart of the Late Carboniferous/Permian succession of the eastern border of the Paraná Basin, Brazil, South America. *Journal of South American Earth Sciences*, 29: 382–399.
- Iannuzzi, R. 2013. The Carboniferous-Permian floral transition in the Paraná Basin. In: Lucas, S.G., Nelson, W.J., DiMichele, W.A., Spielmann, J.A., Krainer, K., Barrick, J.E., Elrick, S. & Voigt, S. (Ed.). *The Carboniferous-Permian transition in Central New Mexico*. Albuquerque, New Mexico Museum of Natural History, p. 132-136.
- Iannuzzi, R. & Vieira, C.E.L. 2005. *Paleobotânica*. Porto Alegre, Editora da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 167p.
- Mann, H.B. & Whitney, D.R. 1947. On a test of whether one of two random variables is stochastically larger than the other. *The annals of mathematical statistics*. 18:50-60.
- McLoughlin, S. 1994a. Late Permian plant megafossils from the Bowen Basin, Queensland, Australia: Part 2. *Palaeontographica Abteilung B*. 231:1–29.

- McLoughlin, S. 1994b. Late Permian plant megafossils from the Bowen Basin, Queensland, Australia: Part 3. *Palaeontographica Abteilung B*. 231:31–62
- Montañez, I.P. & Poulsen, C.J. 2013. The Late Paleozoic Ice Age: an evolving paradigm. *Annual Review of Earth and Planetary Sciences*, 41: 629–656.
- Mussa, D., Carvalho, R.G. & Santos, P.R. 1980. Estudo estratiográfico e paleoecológico em ocorrências fossilíferas da Formação Irati, Estado de São Paulo, Brasil. *Boletim IG-USP*. 11:142-149.
- Nardini, A., Peda, G. & La Rocca, N. 2012. Trade-offs between leaf hydraulic capacity and drought vulnerability: morpho-anatomical bases, carbon costs and ecological consequences. *New Phytologist*, 196: 788–798.
- Peppe, D.J., Baumgartner, A., Flynn, A. & Blonder, B. 2018. Reconstructing paleoclimate and paleoecology using fossil leaves. In: Croft, D., Su, D. & Simpson, S. (Ed). *Methods in paleoecology*. Cham, Springer, p. 289–317.
- Rees, P.M., Ziegler, A.M., Gibbs, M.T., Kutzbach, J.E., Rehling, P.J. & Rowley D.B. 2002. Permian phytogeographic patterns and climate data/model comparisons. *The Journal of Geology*, 110: 1-31.
- Retallack, G.J. 2005. Permian greenhouse crises. In: Lucas, S.G. & Ziegler, K. E. (Ed.). *The nonmarine Permian*. Albuquerque, New Mexico Museum of Natural History & Science, p. 256–269.
- Rohn, R. 1994. *Evolução ambiental da Bacia do Paraná durante o Neopermiano no leste de Santa Catarina e do Paraná*. São Paulo. Dissertação. Universidade de São Paulo.
- Rohn, R., Babinski, M.E.C.B. & Rösler, O. 1984. *Glossopteris* da Formação Rio do Rasto no sul do estado do Paraná: In: *Congresso Brasileiro de Geologia*, Rio de Janeiro, p. 1047-1061.
- Rohn, R. & Rösler, O. 1989. Folhas denteadas da Formação Rio do Rasto (Bacia do Paraná, Permiano Superior) e seu possível significado paleoclimático. *Boletim Instituto de Geociências Universidade de São Paulo*. 7:127-137.
- Rösler, O. 1978. The Brazilian eogondwanic floral succession. *Boletim do Instituto de Geociências USP*. 9: 85-90.
- Roth-Nebelsick, A., Uhl, D., Mosbrugger, V. & Kerp, H. 2001. Evolution and function of leaf venation architecture: a review. *Annals of Botany*. 87(5):553-566.
- Royer, D.L., Sack, L., Wilf, P., Lusk, C.H., Jordan, G.J., Niinemets, U., Wright, I.J., Westoby, M., Carighno, B., Coley, P.D., Cutter, A.D., Johnson, K.D., Labandeira, C.C., Moles, A.T., Palmer, M.B. & Valladares, F. 2007. Fossil leaf economics

- quantified: calibration. Eocene case study, and implications. *Paleobiology*. 33: 574-589.
- Sack, L. & Scoffoni, C. 2013. Leaf venation: structure, function, development, evolution, ecology and applications in the past, present and future. *New Phytologist*, 198: 983–1000.
- Sack, L. & Frole, K. 2006. Leaf structural diversity is related to hydraulic capacity in tropical rainforest trees. *Ecology*, 87: 483–491.
- Schwendemann, A.B. 2018. Leaf venation density and calculated physiological characteristics of fossil leaves from the Permian of Gondwana. In: Krings, M., Harper, C.J., Cúneo, N.R. & Rothwell, G.W. (Ed.). *Transformative Paleobotany: Papers to Commemorate the Life and Legacy of Thomas N. Taylor*. Londres, Elsevier, p. 613–628.
- Scotese, C.R., Boucot, A.J. & Xu, Chen. 2014. *Atlas of Phanerozoic Climatic zones (Mollweide Projection)*. PaleoAtlas for ArcGis, PALEOMAP Project.
- Shapiro, S.S. & Wilk, M.B. 1965. An analysis of variance test for normality (for complete samples). *Biometrika*, 52:591–611.
- Stearns, S.C. & Hoekstra, R.F. 2003. *Evolução: uma introdução*, São Paulo, Atheneu, 379p.
- Stearns, S.C. 1989. Trade-offs in life-history evolution. *Functional Ecology*, 3: 259–268.
- Suguio, K., Salati, E. & Barcelos, J.H. 1974. Calcários oolíticos de Taguaí (SP) e seu possível significado paleoambiental na deposição da Formação Estrada Nova. *Revista Brasileira de Geociências*, 4: 142-166.
- Taiz, L. & Zeiger, E. 2013. *Fisiologia vegetal*. 5. ed. Porto Alegre, ArtMed. 954p.
- Taylor, T.N. & Taylor, E.L. 1992. Permian plants from the Ellsworth Mountains, West Antarctica. *Geological Society of America*. 170:285-294.
- Taylor, T.N., Taylor, E.L. & Krings, M. 2009. *Paleobotany: The Biology and Evolution of Fossil Plants*. Oxford: Elsevier.
- Tybusch, G.P. & Iannuzzi, R. 2010. *Glossopteris occidentalis* White emended: geographic and biostratigraphic implications. *Revista Brasileira de Paleontologia* 13:33–40.
- Uhl, D. & Mosbrugger, V. 1999. Leaf venation density as a climate and/or environmental proxy—a critical review and new data. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*. 149: 17-30.

- Wolfe, J.A. 1993. A method of obtaining climatic parameters from leaf assemblages. *Geological Survey Bulletin*, 2040:1–71.
- Wilf, P., Wing, S.L., Greenwood, D.R. & Greenwood, C.L. 1998. Using fossil leaves as paleoprecipitation indicators: An Eocene example. *Geology*. 26: 203-206.
- Wilson, J.P. & Knoll, H.L. 2010. A physiologically explicit morphospace for tracheid-based water transport in modern and extinct seed plants. *Paleobiology*. 36: 335-355.
- Ziegler, A.M. 1990. Phytogeographic patterns and continental configurations during the Permian Period. In: McKerrow, W.S., Scotese, C.R. (Ed.). *Palaeogeography and Biogeography*. Londres, The Geological Society of London, p. 363-377.

PARTE II
Artigo científico

An efficient method for estimating vein density of *Glossopteris* and application

Mário G. F. Esperança Júnior^{1*}, Gabriela B. Cybis², Roberto Iannuzzi¹

^a Instituto de Geociências, UFRGS, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brazil

^b Instituto de Matemática e Estatística, UFRGS, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brazil

*Corresponding author

E-mail: mario.esperancajr@gmail.com (MGFEJ)

Abstract

Glossopteris-type leaves are the most abundant floristic element from the Gondwanan continent being recorded throughout the Permian (c.a. 50My), a period of extreme icehouse-to-hothouse climatic global change. It is notable that fossil leaf traits can be useful for the reconstruction of paleoenvironments and identify climatic changes throughout geologic time, and therefore, the traits of *Glossopteris* make it possible to notice environmental changes over a wide area for a long-time interval. The venation density is a highly variable leaf trait that might be useful for this purpose and it is possible to calculate, usually as vein length per centimeter square, but often considered time-consuming to quantify. We propose an unprecedented efficient method to estimate venation density in a conical sector on lamina of *Glossopteris* leaves through an accurate linear model whose predictors are three linear venation densities, measured as vein per centimeter. In addition to substantially reducing the data collection time, it is less biased and better reproducible than previous methods applied before in this kind of leaf. Using this more robust method, preliminary observed results distinguish significantly between venation densities of leaves produced in wet and drier ecosystems,

following a pattern similar to modern plants. This is the first survey using a high sample size to show evidence that environmental stress controlled the vein architecture of Paleozoic plants, similarly to present-day ecosystems.

Keywords: Linear model; Venation density; *Glossopteris*; Gondwana; Paleoecology.

Introduction

Climate is a very influential element that affects floristic distribution, and it reflects directly on the growth and shape of plants. For this reason, different climatic conditions result in distinct plant morphological patterns, particularly the leaves, which vary according to the mean temperature and water availability of the habitat in which the vegetation grow [1]. Moreover, seasonality, atmospheric CO₂ pressure, luminosity and soil composition are other limiting ecological factors for plant development. Therefore, vegetation can be understood as a bioindicator of edaphic and climatic factors [2], which allows us to retrodict how environments were in the past based on fossil plant record. In this sense, fossil leaf traits can be compared with modern analogous leaves, making it possible to identify climatic changes throughout geological time [3].

A leaf trait that might be useful in the reconstruction of paleoenvironments is venation density, which is associated with the average distance between successive leaf veins - the shorter is the distance between veins, the higher is venation density. What allows this variable to be applied in paleoecological studies is that the variation in the density of venation is partially controlled by the environment. In fact, this is related to the function of veins, which is transporting water through the leaf, moving it to the photosynthesizing tissue. Due to the low resistance of vascular tissue to water passage, increased vein density is directly associated with higher leaf hydraulic conductivity [4, 5]. It is known that the increase in hydraulic conductivity ensures greater transpiration when water is freely available, which leads to higher photosynthetic rates and consequently to higher levels of carbohydrate generation, being thus advantageous [6, 7]. Additionally, increased vein density confers resistance to embolism, a phenomenon that compromises plant metabolism and is common in arid environments[8].

Hence, warmer and drier habitats select plants that produce leaves characterized by high venation density [9]. On the other hand, the construction of veins is accompanied by a cost of carbon investment, which makes drought-resistant species less competitive in high-resource habitats [10]. Consequently, plants adapted to humid or shady environments tend to generate leaves that have more spaced veins. In addition to humidity and temperature, this trait is also influenced by the level of illumination, wind speed and nutrient deficiency [11].

To calculate the venation density, the sum of vein lengths is divided by the area of the leaf under analysis. This area-based approach is more reliable than the most often used method in fossils, which considers the ratio between the number of veins sectioned by a segment and the length of this segment [12], i.e. the venation density calculated for a line. However, the area-based approach is laborious if compared with the second one, because measuring total vein lengths is time-consuming.

Another important point is that leaf vascular architecture is variable among taxa, and therefore, reconstructions of ancient environments based on venation density are restricted to a specific chronostratigraphic interval and area of occurrence of the investigated plant group. In addition, in the case of fossil leaves, there are significant taphonomic biases that limit, hinder and often prevent the acquisition of venation densities, such as the high degree of fragmentation of the specimens (often the leaf laminae are only partially preserved) and poor distinctness of the vein networks through the leaf laminae preserved in the compressions and impressions - most common pathway of preserving the leaf traits in the fossil record [13].

The leaves of *Glossopteris* Brongniart, 1828 are abundant in the Permian (299-to-252 million years ago) sedimentary rocks of Gondwanan basins, and because they were widespread for a long time, this kind of leaf allows us to retrodict paleoecological factors systematically. During the Permian, all southern hemisphere continental masses were amalgamated forming the Gondwana continent [14], which enabled dispersal of these plants throughout the lands currently represented by Antarctica, India, Australia and south-central portions of South America and Africa [15, 16]. Furthermore, the beginning of this period is recognized by the end of the longest glacial phase of Phanerozoic, while later in the Permian there is clear evidence pointing to a hothouse interval [17]. So how did climate fluctuations over 50 million years affect the evolution of glossopterids, since they existed throughout the Permian? Would venation density have changed in response to environment or climate variations?

To answer these questions, we propose a fast and simple estimation model of vein density applied exclusively to *Glossopteris*-type leaves, since the methods usually used on modern groups (usually angiosperm leaves) have not been shown to be useful and replicable in the fossil leaves of glossopterids. Our hypothesis is that the absence of a reliable and adequate method to measure the density of venation in *Glossopteris* leaves has hitherto prevented the verification of whether the variation in this trait may be associated or not with the climatic and environmental changes that occurred throughout the Permian. Furthermore, the application of unsuitable methods gave rise to unreliable results that indicated density in *Glossopteris* as an innocuous leaf trait, without effective response in the face of changes in the environment over time [18]. Therefore, in addition to proposing a more appropriate and accurate method for estimating venation density in *Glossopteris*-type leaves, it is also our goal to test, even if preliminarily, the efficiency of our new method in selected samples from different areas (i.e., America, India, Australia and Antarctica) and Permian intervals (i.e., early and late) and analyze the results in order to validate it as a tool that can be applied to expedite future more detailed paleoclimatic and paleoenvironmental studies.

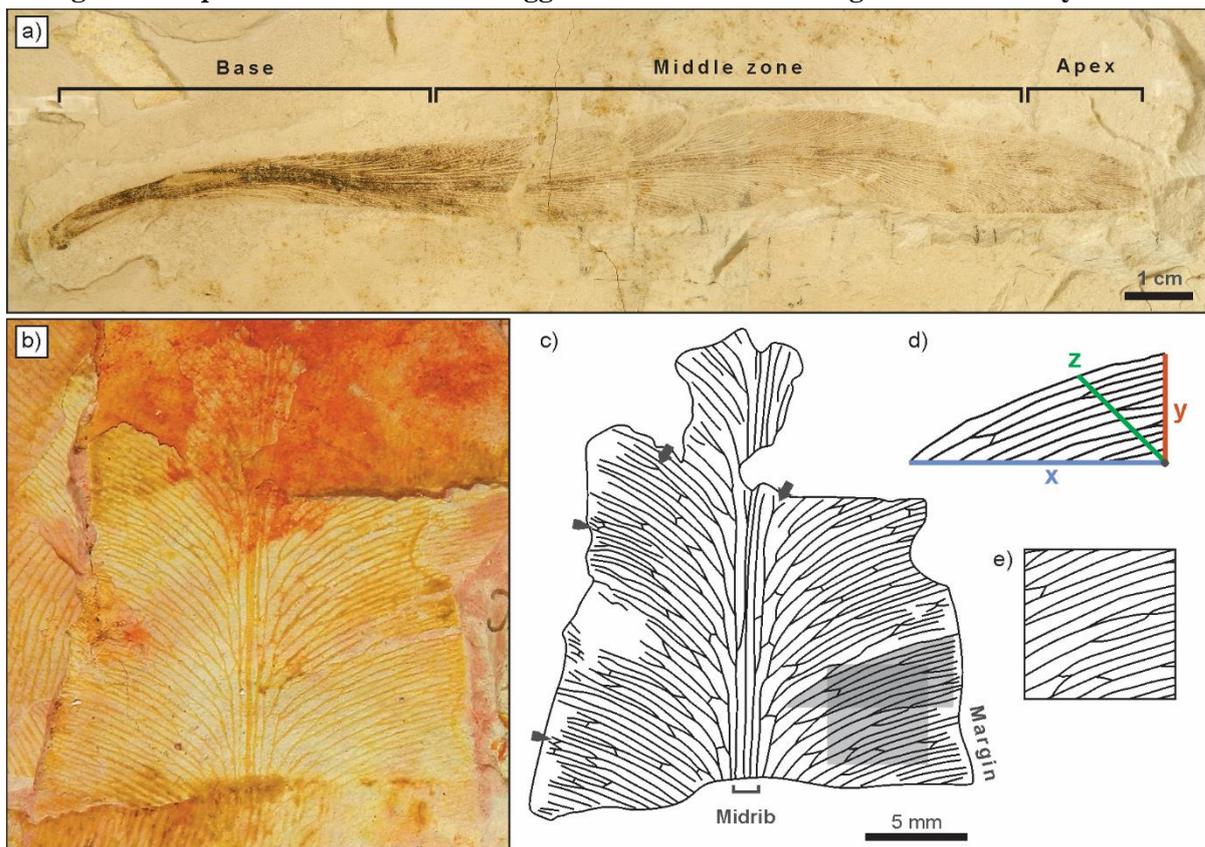
Materials and Methods

The genus *Glossopteris* is recognized by a tongue-shaped leaf and entire margin, which is characterized by a midrib made up of multiple parallel veins and reticulate second order lateral venation ([16]Fig 1A-C). The width and length of these leaves are very variable. The lateral venation has no hierarchical pattern [19], which distinguishes the glossopterid leaf vascular architecture from woody dicots, that may have several vein orders [20]. Although these characteristics are always described for the genus, the concept of species of *Glossopteris* is very inaccurate, once there is no a standardized classification and different criteria was used for define them (such as their morphology, secondary venation, cuticular anatomy, or even connection with a reproductive organ) [16]. Consequently, the absence of a consistent standard resulted in several hundred species, most of them are based on poorly preserved impression material [16].

It is precisely the secondary venation that is measured to calculate vein density. In the case of *Glossopteris*, the density tends to be lengthwise uniform across the leaf laminae, except in base and

apex or higher near the margin. It is also in the margin zone that there are the highest density variations between samples analyzed. As venation density tends to increase gradually towards leaf margin (e.g. Fig 1B-C), the location of the area chosen for measuring is naturally very influential. In previous methods for *Glossopteris* leaves, the selected area for calculating vein density was usually a square with constant side length (e.g. [18, 21], Fig 1E). As the size of these leaves are variable, some of them are much wider than the square's side length used and others are less. Consequently, vein length is sometimes oversampled and sometimes under sampled. Note that a square made near the margin would result in a high vein density, but if it is made in the middle of the lamina, the density would be less in several leaves. Therefore, due to this bias, such results obtained by the above-mentioned authors could not be exactly reproduced by other works.

Fig 1. *Glossopteris* architecture and suggested areas for obtaining venation density.



(A) Photography of the sample UNG3T01 showing a division of leaf lamina in three zones, i.e. base, middle and apex. (B) Photograph of the leaf middle zone of the sample GP/3T 1798C, where measurements must be obtained. (C) illustration of venation pattern of sample shown in b. (D) conical hatched area shown in c, with geometry suggested in this work (x1.5) and predictors x, y and z. (E) square hatched in c, vein length obtained in square from side 0.5 cm (x1.5), as used by Schwendemann [18].

The area chosen for calculating vein density usually is small because fossil leaves are often fragmented (as in Fig1B) and have low contrast (taphonomic bias). In only some cases, vein lengths can be measured manually, which is laborious, but in several samples the vein density cannot be acquired due bad preservation of them. This contrasts with modern leaves, in which venation can be measured semi-automatically (examples of software are in [22-24]), and techniques as radiography and chemical bleaching can be applied to increase the contrast of the veins. A good alternative would be estimate vein density, something that was developed by Blonder and Enquist [25] for angiosperm leaves, in which only 25 samples were used for modeling. As the vein architecture is very variable between lineages, the same model could not be applied to different plant groups. Taking the vein architecture of *Glossopteris* into account, in this work, the selected area for measuring venation density was the largest conical sector defined by the second order lateral veins, which was extended from the margin to the middle of the leaf lamina (close to midrib). It thus includes not only the vein density variation of the margin, but also that perpendicular to the leaf margin (see Fig 1D). Thus, this method includes the whole variation of density observed in *Glossopteris* leaves, and it is adaptable for each leaf (once the lengths are not constant). Furthermore, a conical sector comprises mainly margin, where there is the highest variation of density between different leaves. As these sectors are defined by the geometry of the veins, these results are reproducible for the other colleagues.

Thereby, to measure the venation density, we obtained the vein lengths by the software ImageJ [26], in which the venation of photographed or illustrated fossils were manually superimposed by segmented lines. Using the same software, we also obtained the area of measuring, which is variable in each specimen. The quotient between vein lengths and the size of the selected area is the venation density.

We measured the venation density from 160 specimens predominantly in middle leaf zone (see Fig 1A). In some specimens, the venation density was measured more than once (in different parts of the leaf), resulting in 228 densities, which were calculated as centimeter of vein per square centimeter (simply cm^{-1}). These samples come from strata of Brazil, India, Australia and Antarctica (see S1 Table). We included more samples from the Late Permian once we observed a greater variation in stratigraphy and leaf traits from this time span.

In addition to calculating the spatial venation densities, we also measured the values of three predictors for each of the 228 data. The chosen predictors were three linear venation densities, the first measured parallel to the midrib next to the margin; the second perpendicular to the first, extending from the margin to the midrib; and the third at 45 degrees from the others, limited by the above-described conic arc; these measures were named y , x and z successively (Fig 1D). Thus, different linear models in which the response variable is the vein density measured in the conical sector were fitted by ordinary least squares, and their performance was compared by standard error, R^2 and Akaike Information Criterion differences [27]. We also trained a nonlinear model that includes all the predictors and the interactions between each pair of them. All models included a term for the intercept. Additionally, predictive performance was checked by 5-fold cross-validation with 5000 replications. In this procedure, the data is randomly divided into five sets at each replication, and then the data from such sets is tested in the model trained by the remaining four [28]. The model with the best cross-validation results was selected and its accuracy was verified by graphical analysis and hypothesis tests. Furthermore, confidence intervals for numerical coefficients and predicted mean vein density were determined by bias-corrected and accelerated bootstrap with 9999 replications. In this technique, the data is resampled with replacement at each replication. The boundaries of the 95% confidence intervals around the estimates are the 2.5th and 97.5th bias-corrected percentiles [29]. For this purpose, analysis were performed using R software [30], which included the packages `caret` [31] and `car` [32]. Fig 2 illustrates a conceptual diagram of the overall learning scheme of this work.

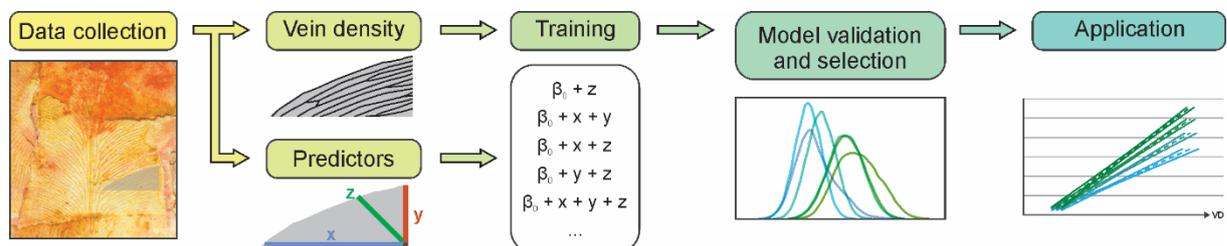


Fig 2. Overall methodology applied on this work. More details in the text.

Results

The distribution of venation density obtained by the proposed above-described method is asymmetric, with noticeable positive skewness (Fig 3). This is partly due bimodality, identifiable by two different *Glossopteris* assemblages: D1, composed by leaves from India, Antarctica, Australia and from Guatá Group, in Paraná Basin, Brazil, characterized by lower vein density; and D2, composed by leaves collected in rocks of Passa Dois Group, also from the Paraná Basin. The mean venation densities were $23.8 \pm 6.2 \text{ cm}^{-1}$ for D1, based on 205 samples; and $39.4 \pm 6.7 \text{ cm}^{-1}$ for D2, based on 23 samples. These two assemblages are distinguishable in relation to venation density, as indicated by the Wilcoxon-Mann-Whitney test ($p < 0.001$) [33].

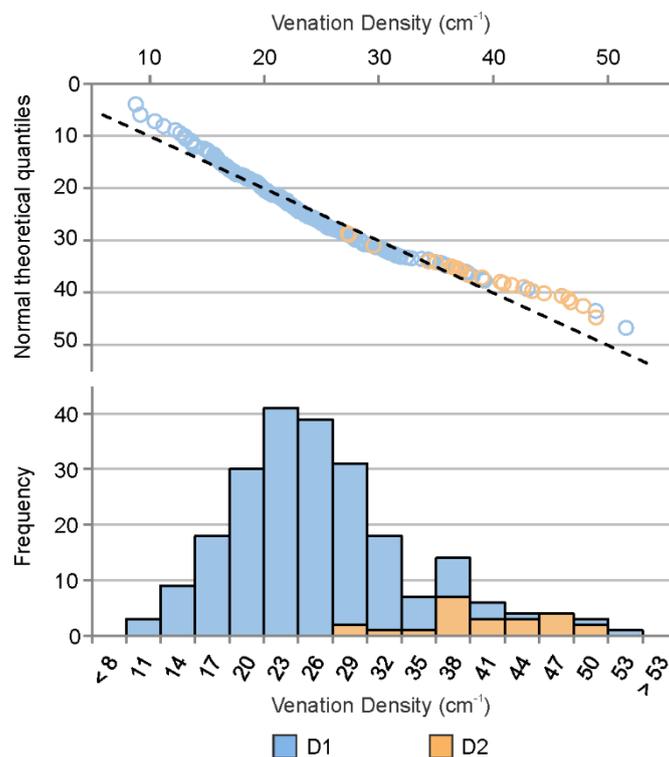


Fig 3. Quantile-quantile plot (above) and stacked histogram (below) of venation density of two *Glossopteris* assemblages (see details in text). Dashed line indicates normal distributed data.

Considering the possible combinations of the three chosen predictors, seven linear models were fitted (Table 1). Among the simple regressions, model 3 had the best performance in terms of the model selection criteria, owing to high correlation between variable z and the response ($r = 0.96$).

Considering only two regressors, model 6 was the only one that has improved performance compared to the last. Adding the third predictor resulted in the linear model with the lowest standard error (model 7), although only by a small margin. This small improvement is attributable to moderate multicollinearity, as indicated by maximum variance inflation factor of 6.2 (see Table 2). Finally, the nonlinear model 8 includes the interactions between predictors, and its goodness of fit is approximately equal as the model 7.

Table 1.

	Model	SE	R²	AIC dif
1)	$\beta_0 + x$	6.52	0.363	567
2)	$\beta_0 + y$	4.13	0.744	359
3)	$\beta_0 + z$	2.42	0.912	115
4)	$\beta_0 + x + y$	2.58	0.900	146
5)	$\beta_0 + x + z$	2.43	0.912	117
6)	$\beta_0 + y + z$	2.07	0.936	46
7)	$\beta_0 + x + y + z$	1.87	0.948	0
8)	$\beta_0 + x + y + z +$ $xy + xz + yz$	1.86	0.949	

Models tested and their standard error (cm^{-1}), R^2 and Akaike Information Criterion difference from full model.

Table 2. Fitted coefficients of the selected model and variance inflation factor (VIF).

Variable	Unstandardized coefficients			β	t	p	VIF
	B	CI ($\alpha = 5\%$)	SE				
β_0	2.021	[1.08, 2.92]	0.466		4.88	<0.001	
x	0.242	[0.16, 0.32]	0.040	0.167	7.18	<0.001	2.31
y	0.288	[0.24, 0.34]	0.026	0.381	12.38	<0.001	4.07
z	0.588	[0.49, 0.68]	0.048	0.543	14.27	<0.001	6.23

CI = Confidence intervals. SE = Standard error. β = Standardized coefficients. t = t-statistic.

Cross-validation was performed on the six most accurate models and root mean square error (RMSE) distributions of reproduced regressions were analyzed (Fig 4). In the case of model 7, the standard deviation of RMSE was only 0.19 cm^{-1} , while this value was about 0.3 cm^{-1} in model 4 and 0.28 cm^{-1} in model 8. In addition to having the most stable RMSE, model 7 had also the lowest errors. In this procedure, the 95% confidence interval of R^2 of trained equations was $[0.919, 0.968]$ for the last model, values which are considerably high compared to the simple regressions. Moreover, models 6 and 7 had similar errors, given that 64% of results in cross-validation were equivalent between their distributions (as is noticeable by the large overlap in the curves in Fig 4). Analogously, models 3 and 5 had almost identical RMSD distributions, in both cases as a result of the low contribution of variable x to explain the variation in venation density (see the low unstandardized coefficient and t statistic in table 2). Although the standard error of models 7 and 8 is the same (Table 1), cross-validation shows not only that the last is less stable, but also a fat tailed distribution, which is a sign of overfitting. Therefore, both cross-validation analysis and the model selection criteria indicate that model 7 has the best performance. Thus, full linear model was selected for predicting spatial vein density based on linear density measures, and proceed with further analysis based on this model.

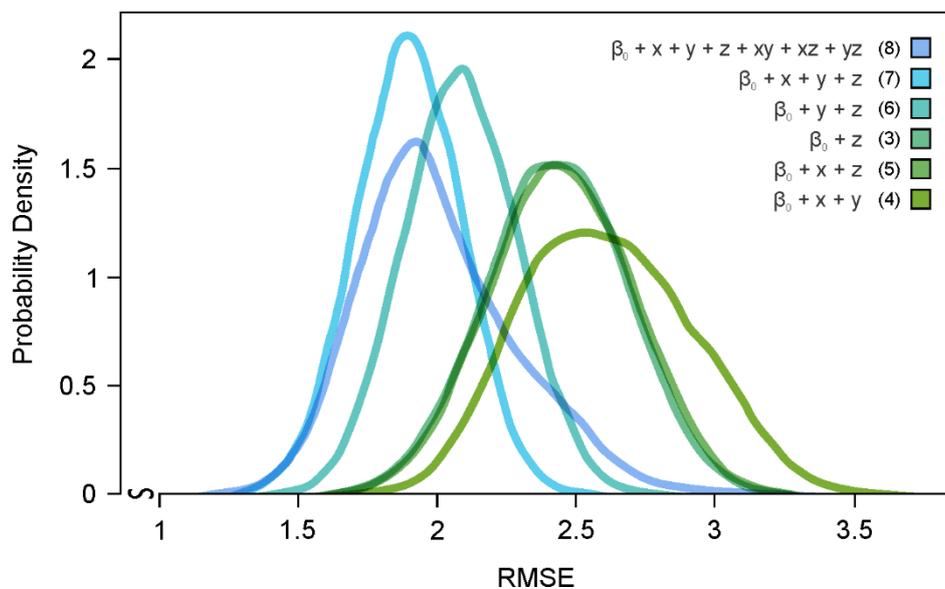


Fig 4. Root mean square error distributions obtained by 5-fold cross-validation for some models tested.

The residuals of the selected model are distributed asymmetrically, which can be easily verified by the histogram of residuals (Fig 5). Shapiro-Wilk test [34] also indicates a deviation from normality ($p = 0.003$). Additionally, heteroscedasticity was diagnosed by megaphone-like residuals scatterplot (Fig 5), and by Breusch-Pagan test ($p < 0.001$) [35]. It is important to note that the residuals tend to be more dispersed when venation density is higher than 30 cm^{-1} , which mainly comprises D2 assemblage (Fig 5). Furthermore, residuals are not linearly associated, as demonstrated by the lack-of-fit of the trend line between the residuals and the estimated values of vein density ($p = 1$). Therefore, residuals are linearly independent, but they are not identically distributed.

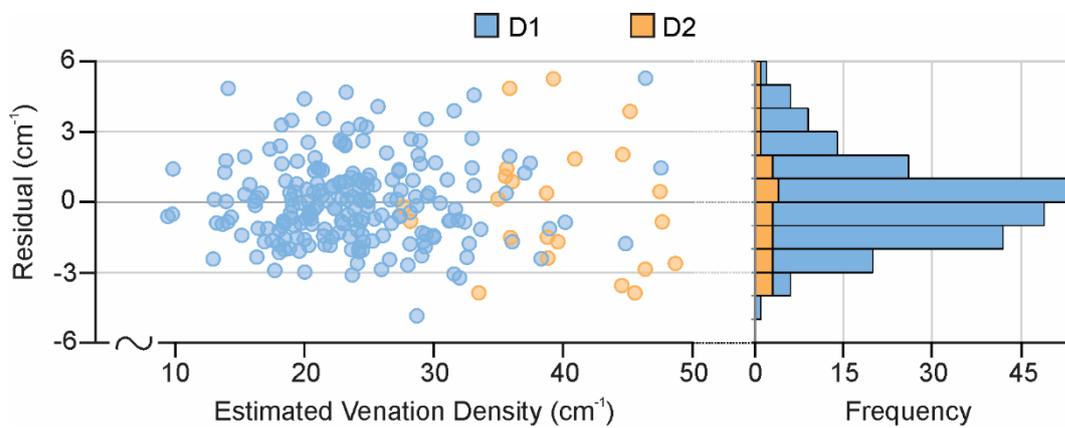


Fig 5. Residual plot (left) and residual histogram (right) of model 7.

Fitted coefficients of model 7 are shown in Table 2. All predictive variables are significant, including the intercept. Overall regression is also significant ($F = 1358$, $p < 0.001$). Estimated confidence intervals for the mean venation density were calculated for some possible values of predictors, as illustrated in Fig 6.

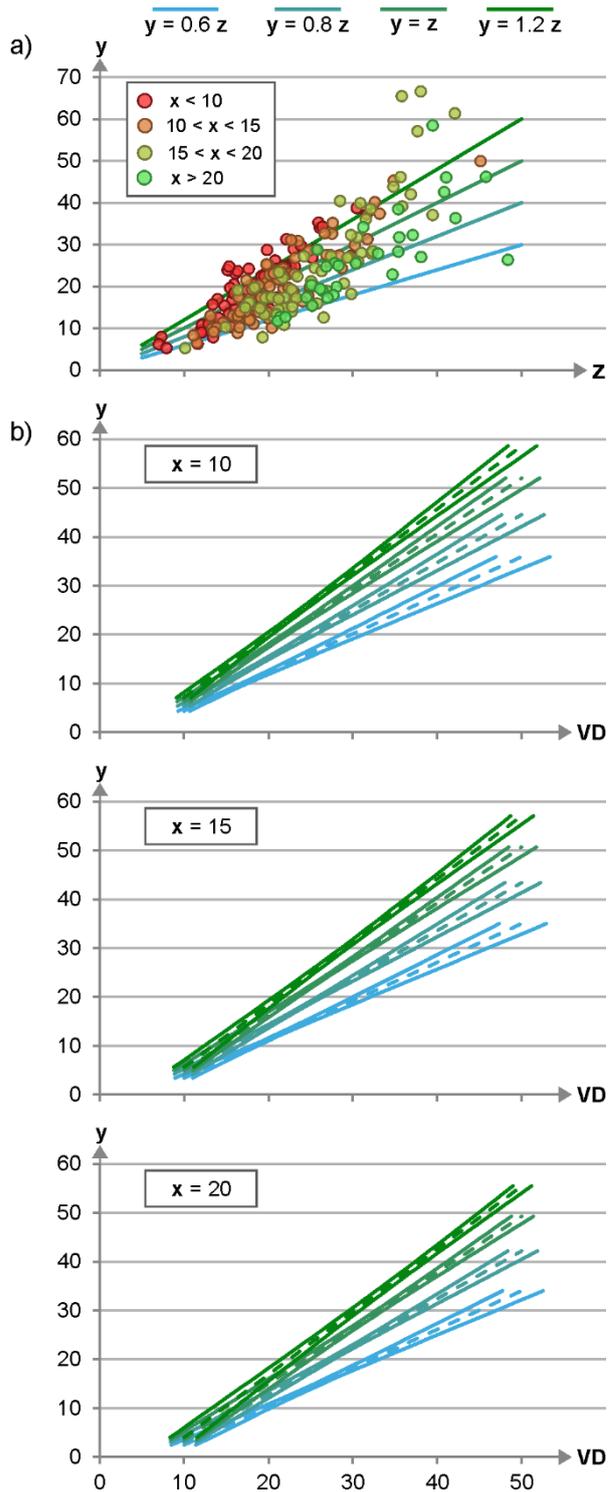


Fig 6. Observed and predicted data.

(A) Predictors of the observed dataset. Lines indicate some y/z ratios. (B) Estimated venation densities (VD , dashed lines) given x values (10, 15 and 20, from top to bottom), y (vertical axis) and y/z ratios (0.6, 0.8, 1 and 1.2, sequentially counterclockwise). Solid lines indicate 95% confidence bands for the mean venation density. Values in cm^{-1} .

Discussion

Analysis of the selected predictive model

In order to make obtaining of the venation density faster, we have developed a predictive model of venation density of *Glossopteris* leaves which is applicable in paleoenvironmental and paleoclimatic studies. Whereas computing venation density through the predictive model takes less than five minutes per sample (mainly to obtain the predictors), measuring the length of all veins in the conical sector takes about half an hour, for instance. As model 7 (Table 1) has a good fit, it enables easy and accurate estimation of venation density. Additionally, this model has the smaller and most stable errors in cross-validation, indicating greater reproducibility. Cross-validation results also rule out overfitting, once the errors were symmetrically distributed around the average error of the entire data set (Fig 4). In addition, model 7 is empirically supported by AIC differences greater than 10 to all the other models (Table 1, [36]). Adding interactions between predictors, by contrast, did not improve the estimation performance (model 8). In this situation, the model with greater parsimony is the simplest, that is, the linear one.

The analysis of residuals diagnosed some violations of the basic premises of linear regression residuals: non-normality and heteroscedasticity. Nevertheless, small to moderate deviation from normality is not an impediment in implementing the model, provided that some consideration is taken for the inference. However, heteroscedasticity implies that variance of residuals is associated with estimated vein densities. Therefore, accuracy of prediction is non-constant with respect to the output variable, although error is still low over the whole domain of the model. On the other hand, in paleoecological analysis, many data points should be used instead of individual samples to be representative of an ancient ecosystem [37, 38]. As residuals are indeed independent, the average error tends to be zero if a good number of leaves are used in these interpretations, because random errors tend to cancel each other. So although the non-constant variance of errors is actually a more serious violation, it is minimized when dealing with central tendency statistics, which can then be used in

paleoenvironmental analysis. For instance, the estimated mean venation densities for D1 and D2 are 23.8 and 39.55 cm⁻¹ respectively, which are very close to the exact values (23.82 and 39.4 cm⁻¹).

Nevertheless, bias-corrected confidence intervals of the predicted mean of venation densities were estimated by bootstrap (Fig 6B). The range of the confidence bands obtained is noticeably wider when the predictor x as well as y/z ratio have lower values, clearly a consequence of non-constant residuals variance (Fig 5) and moderate multicollinearity (Fig 6A). This is a more robust technique that takes into account violations of premises, as the heteroscedasticity and non-normality of the residuals. Then, applying the fitted model and confidence intervals allows us to compare mean venation densities of *Glossopteris* from different assemblages, localities and ages deterministically and quickly, and with that, we can distinguish and retrodict the ancient environments where these plants lived.

Interpreting the obtained venation densities

Through the proposed method, it was possible to distinguish two *Glossopteris* assemblages that significantly differ based on spatial venation density: D1 and D2 (Fig 3). D1 comprises fossils showing lower venation densities essentially from Brazil and India, but also Australia and Antarctica. In Paraná Basin (Brazil), they are found in association with the Cisuralian (Asselian to Artinskian [39]) post-glacial organic fine grained shoreline sediments, i.e. uppermost Itararé Group, and coal-bearing sequences, i.e. Rio Bonito Formation [40, 41], which are formed in wet continental environments and wetter climate conditions [41-43]. Samples from Permian rocks of Gondwanan Basins of India, which were also included in D1, are found mostly in fluvial or lacustrine rocks of Damuda Group. The wide presence of coals and the paleofloristic record of this sedimentary sequence are indicators of mostly humid environments [44, 45]. In Australia and Antarctica, the *Glossopteris* specimens analyzed also come from units or sedimentary sequences containing coal measures [46, 47], which also indicate the occurrence of moist environments or deposition under wet climate conditions.

On the other hand, strata of Passa Dois Group (in Paraná Basin) are comprised in D2, a sequence of sedimentary rocks dated from the middle Kungurian to Wuchiapingian [48]. At the base of this rocky sequence, i.e. Irati Formation, evaporites, stromatolites, teepes and desiccation cracks outcrop [49]. These rocks and structures suggest the presence of periods of drought when they were formed, also

supported by the existence of petrified wood containing lacunae [50]. Above, in the Corumbataí and Teresina formations, the presence of stromatolites and red beds attests to the persistence of dry climates, which is also suggested by the $\delta^{18}\text{O}$ of limestones [51]. The generation of these limestones must have occurred in phases of high salinity, during periods with low water intake [52].

Superimposed on this last unit, in the Rio do Rasto Formation, carbonate rocks also outcrop, in addition to red beds and aeolian sandstones, another clear evidence of aridity [41]. During the deposition of Passa Dois Group sediments, the Paraná Basin was under semiarid to arid conditions based on the sedimentary and geochemical evidences [43, 53]. In fact, mid-latitude deserts covered a large part of South America in middle-to-late Permian, reaching the northern Paraná Basin [42, 54]; it was precisely in this region and interval that the average venation density of *Glossopteris* was higher. As previously mentioned, contemporary plants tend to have increased vein density in drier habitats, and apparently, this adaptation strategy was also present in glossopterids (see Fig 3). In a global scale there is clear evidence pointing to an extreme greenhouse-to-hothouse climatic interval towards the late Permian [17, 53], which raised the levels of atmospheric CO_2 and the global average temperature significantly. These global climatic changes certainly had an influence on the glossopterid leaf architecture as well.

Conclusion

We proposed a method for measuring venation density in a conical area defined by the geometry of the veins of *Glossopteris* leaves. It differs from the previous approaches in which the area of acquisition is a polygon of constant side length, and are thus biased for not taking into account the variation of the width and vein density along the lamina of these leaves. In order to expedite data collection, we have developed a linear prediction model for venation density of *Glossopteris* leaves. The selected predictors were three linear vein densities, measured as vein sections by centimeter. They were calculated in three specific directions, to comprise the density variation on the model. Thereby, model selection analysis indicated that all predictors should be included in the model. Through this final model (Fig 1D, Tabel 2), it is possible to estimate vein density in less than five minutes per

sample, with an average error of 1.87 cm^{-1} . Residual analysis indicates that this error tends to be slightly higher in leaves with increased vein density, due to heteroscedasticity. Nevertheless, it is not an impediment for applying the estimative of vein density on paleoenvironmental studies, since a good number of leaves and measurements would be needed to reconstruct ancient ecosystems or climates.

From the proposed method, the vein density of 160 specimens of *Glossopteris* leaves was obtained. Based on the distribution of the data, it was possible to recognize two significantly different sets. The set with the lowest values comprises plants that lived in wet environments, while the one characterized by high venation density consists of plants that inhabited drier ecosystems. Likewise, modern plants adapted to drylands tend to produce leaves with increased venation density. Therefore, both ancient and present-day environments have been selecting plants similarly, even in the case of extinct lineages as glossopterids. However, the effect of other paleoecological variables on this trait, as mean temperature or soil/substrate composition, should be further investigated in the future.

Finally, we expect that this model will assist in climatic and environmental reconstructions of the Gondwana continent, in a local to regional scale, as well as in understanding the variation of this adaptive trait over a long-term, in this case, the Permian period.

Acknowledgments

We are grateful to Ivone C. Gonzales and students for hospitality and assistance in examining of paleontological collection from University of São Paulo (USP), and to Luiz F. Lopes, Rudolph Serbet, Rosemarie Rohn, Rodrigo Neregato, João H. Z. Ricetti and Thamiris B. Santos for taking and sending sample photographs. We also thank to Karin Goldberg and Isabel P. Montañez for valuable bibliographical information, and to Paulo A. Souza for an undergraduate scholarship in the beginning of this research to MGFEJ.

References

1. Peppe DJ, Baumgartner A, Flynn A, Blonder B. Reconstructing paleoclimate and paleoecology using fossil leaves. In: Croft, D., Su, D., Simpson, S, editors. *Methods in paleoecology*. Cham: Springer; 2018. p. 289–317. doi: 10.1007/978-3-319-94265-0_13.
2. Prentice IC, Cramer W, Harrison SP, Leemans R, Monserud RA, Solomon AM. A global biome model based on plant physiology and dominance, soil properties and climate. *Journal of Biogeography*. 1992;19:117–134. doi: 10.2307/2845499.
3. Little SA, Kembel SW, Wilf P. Paleotemperature proxies from leaf fossils reinterpreted in light of evolutionary history. *PLoS ONE*. 2010;5(12):e15161. doi: 10.1371/journal.pone.0015161
4. Sack L, Frole K. Leaf structural diversity is related to hydraulic capacity in tropical rainforest trees. *Ecology*. 2006;87:483–491. doi: 10.1890/05-0710.
5. Brodribb TJ, Feild TS, Jordan GJ. Leaf maximum photosynthetic rate and venation are linked by hydraulics. *Plant Physiology*. 2007;144:1890-1898. doi: 10.1104/pp.107.101352.
6. Brodribb TJ, Holbrook NM, Zwieniecki MA, Palma B. Leaf hydraulic capacity in ferns, conifers and angiosperms: impacts on photosynthetic maxima. *New Phytologist*. 2005;165:839–846. doi: 10.1111/j.1469-8137.2004.01259.x.
7. Blonder B, Violle C, Bentley LP, Enquist B. Inclusion of vein traits improves predictive power for the leaf economic spectrum: a response to Sack et al. (2013). *Journal of Experimental Botany*. 2014;65:5109–5114. doi: 10.1093/jxb/eru143.
8. Scoffoni C, Rawls M, McKown A, Cochard H, Sack L. Decline of leaf hydraulic conductance with dehydration: relationship to leaf size and venation architecture. *Plant Physiology*. 2011;156:832–843. doi: 10.1104/pp.111.173856.
9. Sack L, Scoffoni C. Leaf venation: structure, function, development, evolution, ecology and applications in the past, present and future. *New Phytologist*. 2013;198:983–1000. doi: 10.1111/nph.12253.
10. Nardini A, Peda G, La Rocca N. Trade-offs between leaf hydraulic capacity and drought vulnerability: morpho-anatomical bases, carbon costs and ecological consequences. *New Phytologist*. 2012;196:788–798. doi: 10.1111/j.1469-8137.2012.04294.x.

11. Roth-Nebelsick A, Uhl D, Mosbrugger V, Kerp H. Evolution and function of leaf venation architecture: a review. *Annals of Botany*. 2001;87(5):553-566.
12. Uhl D, Mosbrugger V. Leaf venation density as a climate and/or environmental proxy - a critical review and new data. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*. 1999;149:17-30. doi: 10.1016/S0031-0182(98)00189-8.
13. Scott AC, Collinson ME. Investigating fossil plant beds 1. The origin of fossil plants and their sediments. *Geology Teaching*. 1983;7:114-122.
14. Torsvik TH, Cocks LRM. *Earth History and Palaeogeography*. Cambridge: Cambridge University Press; 2017. doi: 10.1017/9781316225523.
15. Wnuk C. The development of floristic provinciality during the Middle and Late Paleozoic. *Review of Palaeobotany and Palynology*. 1996;90:5–40. doi: 10.1016/0034-6667(95)00022-4.
16. Taylor TN, Taylor EL, Krings M. *Paleobotany: The Biology and Evolution of Fossil Plants*. 2nd ed. Oxford: Elsevier; 2009.
17. Montañez IP, Tabor NJ, Niemeier D, DiMichele WA, Frank TD, Fielding CR, et al. CO₂-forced climate and vegetation instability during late Paleozoic deglaciation. *Science*. 2007;315:87–91. doi: 10.1126/science.1134207.
18. Schwendemann AB. Leaf Venation Density and Calculated Physiological Characteristics of Fossil Leaves From the Permian of Gondwana. In: Krings M, Harper CJ, Cúneo NR, Rothwell GW, editors. *Transformative Paleobotany: Papers to Commemorate the Life and Legacy of Thomas N. Taylor*. London: Elsevier/Academic Press; 2018. p. 613–628. doi: 10.1016/B978-0-12-813012-4.00025-5.
19. Trivett ML, Pigg KB. A survey of reticulate venation among fossil and living land plants, In: Taylor DW, Hickey LJ, editors. *Flowering Plant Origin, Evolution & Phylogeny*. Boston: Springer; 1996. p. 8-31. doi: 10.1007/978-0-585-23095-5_2.
20. Sack L, Scoffoni C, McKown AD, Frole K, Rawls M, Havran JC, et al. Developmentally based scaling of leaf venation architecture explains global ecological patterns. *Nature Communications*. 2012;3:837. doi: 10.1038/ncomms1835.

21. Retallack GJ. Permian greenhouse crises. In: Lucas S, Zeigler K, editors. The nonmarine Permian. Albuquerque:New Mexico Museum of Natural History and Science; 2005. p. 256–269. doi: 10.1016/j.gr.2012.03.003.
22. Price CA, Symonova O, Mileyko Y, Hilley T, Weitz J. Leaf extraction and analysis framework graphical user interface: segmenting and analyzing the structure of leaf veins and areoles. *Plant Physiology*. 2011;155:236–245. doi: 10.1104/pp.110.162834.
23. Dhondt S, Van Haerenborgh D, Van Cauwenbergh C, Merks RMH, Philips W, Beemster GTS, et al. Quantitative analysis of venation patterns of *Arabidopsis* leaves by supervised image analysis. *The Plant Journal*. 2012;69:553–563. doi: 10.1111/j.1365-313X.2011.04803.x.
24. Bühler J, Rishmawi L, Pflugfelder D, Huber G, Scharr H, Hülskamp M, et al. phenoVein – a tool for leaf vein segmentation and analysis. *Plant Phytologist*. 2015;169:2359-2370. doi: 10.1104/pp.15.00974.
25. Blonder B, Enquist BJ. Inferring climate from angiosperm leaf venation networks. *New Phytologist*. 2014;204:116–126. doi: 10.1111/nph.12780.
26. Rasband WS. ImageJ [Software]. U. S. National Institutes of Health, Bethesda. 1997.
27. Akaike H. A new look at the statistical model identification. *IEEE Transactions on Automatic Control*. 1974;19:716–723. doi:10.1109/TAC.1974.1100705.
28. Refaeilzadeh P, Tang L, Liu H. Cross-Validation. In: Liu L, Özsu MT, editors. *Encyclopedia of Database Systems*. Boston: Springer; 2009. p. 532-358. doi: 10.1007/978-0-387-39940-9_565.
29. Efron B, Tibshirani RJ. *An Introduction to the Bootstrap*. New York: Chapman & Hall. 1993.
30. R Core Team. *R: A Language and Environment for Statistical Computing* [software]. R Foundation for Statistical Computing. 2020.
31. Kuhn M. *Classification and Regression Training* [Internet]. 2019. Available from: <http://cran.r-project.org/web/packages/caret/caret.pdf>.
32. Fox J, Weisberg S, Price B. *Companion to Applied Regression* [Internet]. 2019. Available from: <http://cran.r-project.org/web/packages/car/car.pdf>.
33. Mann HB, Whitney DR. On a test of whether one of two random variables is stochastically larger than the other. *The annals of mathematical statistics*. 1947;18:50-60.

34. Shapiro SS, Wilk MB. An analysis of variance test for normality (for complete samples). *Biometrika*. 1965;52:591–611.
35. Breusch TS, Pagan AR. A simple test for heteroskedasticity and random coefficient variation. *Econometrica*. 1979;47:1287–1294.
36. Burnham KP, Anderson DR. Model selection and multimodel inference: A practical information-theoretic approach. New York: Springer; 2002. doi: 10.1007/b97636.
37. Wolfe JA. A method of obtaining climatic parameters from leaf assemblages. U.S. G.P.O. *Bulletin*. 1993;2040:1–71. doi: 10.3133/b2040.
38. Royer DL, Wilf P, Janesko DA, Kowalski EA, Dilcher DL. Correlations of climate and plant ecology to leaf size and shape: potential proxies for the fossil record. *American Journal of Botany*. 2005;92:1141–1151. doi: 10.3732/ajb.92.7.1141.
39. Griffis NP, Montañez IP, Mundil R, Richey J, Isbell J, Fedorchuk N, et al. Coupled stratigraphic and U-Pb zircon age constraints on the late paleozoic icehouse-to-greenhouse turnover in south-central Gondwana. *Geology*. 2019;47:1146–1150. doi: 10.1130/G46740.1.
40. Iannuzzi R. The flora of Early Permian coal measures from the Paraná Basin in Brazil: a review. *International Journal of Coal Geology*. 2010;83:229–247. doi: 10.1016/j.coal.2010.05.009.
41. Holz M, França AB, Souza PA, Iannuzzi R, Rohn R. A stratigraphic chart of the Late Carboniferous/Permian succession of the eastern border of the Paraná Basin, Brazil, South America. *Journal of South American Earth Sciences*. 2010;29:382–399. doi: 10.1016/j.jsames.2009.04.004.
42. Ziegler AM. Phytogeographic patterns and continental configurations during the Permian Period. In: McKerrow WS, Scotese CR, editors. *Palaeogeography and Biogeography*. London: The Geological Society of London; 1990. p. 363-377. doi: 10.1144/GSL.MEM.1990.012.01.35.
43. Iannuzzi R. The Carboniferous-Permian floral transition in the Paraná Basin. In: Lucas SG, et al., editors. *The Carboniferous-Permian Transition*. Albuquerque: New Mexico Museum of Natural History and Science; 2013. p. 132–136.

44. Chandra S, Chandra A. Vegetational changes and their climatic implications in coal bearing Gondwana. *The Palaeobotanist*. 1988;36:74-86.
45. Dutta P. Gondwana lithostratigraphy of peninsular India. *Gondwana Research*. 2002;5:540–553. doi: 10.1016/S1342-937X(05)70742-5.
46. McLoughlin S. Late Permian plant megafossils from the Bowen Basin, Queensland, Australia: Part 3. *Palaeontographica Abteilung B*. 1994;231:31–62.
47. Collinson JW, Isbell JL, Elliot DH. Permo-Triassic Transantarctic basin. *Geological Society of America Memoir*. 1994;184:173–222.
48. Rocha-Campos AC, Basei MAS, Nutman AP, Santos PR, Passarelli CR, Canile FM, et al. U-Pb zircon dating of ash fall deposits from the Paleozoic Paraná Basin of Brazil and Uruguay: a reevaluation of the stratigraphic correlations. *The Journal of Geology*. 2019;127:167–182. doi: 10.1086/701254.
49. Fairchild TR, Coimbra AM, Boggiani PC. Ocorrência de estromatólitos silicificados na Formação Irati (Permiano) na borda setentrional da Bacia do Paraná (MT, GO). *Anais da Academia Brasileira de Ciências*. 1985;57:117. Portuguese.
50. Mussa D, Carvalho RG, Santos PR. Estudo estratigráfico e paleoecológico em ocorrências fossilíferas da Formação Irati, Estado de São Paulo, Brasil. *Boletim IG-USP*. 1980;11:142-149. Portuguese.
51. Suguio K., Salati E., Barcelos JH. Calcários oolíticos de Taguaí (SP) e seu possível significado paleoambiental na deposição da Formação Estrada Nova. *Revista Brasileira de Geociências*. 1974;4:142-166. Portuguese.
52. Rohn R. Evolução ambiental da Bacia do Paraná durante o Neopermiano no leste de Santa Catarina e do Paraná [dissertation]. São Paulo (Brazil): Universidade de São Paulo; 1994. Portuguese.
53. Limarino CO, Césari SN, Spalletti LA, Taboada AC, Isbell JL, Geuna S, et al. A paleoclimatic review of southern South America during the late Paleozoic: A record from icehouse to extreme greenhouse conditions. *Gondwana Research*. 2014;25:1396–1421. doi: 10.1016/j.gr.2012.12.022.

54. Rees PM, Ziegler AM, Gibbs MT, Kutzbach JE, Behling PJ, Rowley DB. Permian phytogeographic patterns and climate data/model comparisons. *The Journal of Geology*. 2002;110:1–31. doi: 10.1086/324203.

Supporting information

S1 Table. Data collected.

PARTE III

Anexo A

Carta de submissão à revista PlosOne

1/1/22, 2:58 PM

Gmail - Submission Confirmation for PONE-D-21-19860 - [EMID:ecbcadedcbdf90ee]



Mário Júnior <mario.esperancajr@gmail.com>

Submission Confirmation for PONE-D-21-19860 - [EMID:ecbcadedcbdf90ee]

1 message

PLOS ONE <em@editorialmanager.com>

Wed, Jun 16, 2021 at 11:21 PM

Reply-To: PLOS ONE <plosone@plos.org>

To: Mário Esperança Júnior <mario.esperancajr@gmail.com>

PONE-D-21-19860

An efficient method for estimating vein density of Glossopteris and application

PLOS ONE

Dear Dr. Esperança Júnior,

Thank you for submitting your manuscript entitled 'An efficient method for estimating vein density of Glossopteris and application' to PLOS ONE. Your assigned manuscript number is PONE-D-21-19860.

We will now begin processing your manuscript and may contact you if we require any further information. You will receive an update once your manuscript passes our in-house technical check; you can also check the status of your manuscript by logging into your account at <https://www.editorialmanager.com/pone/>.

If during submission you selected the option for your manuscript to be posted on the bioRxiv preprint server (<http://biorxiv.org>), we will be assessing the manuscript for suitability shortly. If suitable, your preprint will be made publicly available on bioRxiv and you will receive an email confirmation from them when it has posted. Please check your response to this question and email us as soon as possible at plosone@plos.org if it has been answered incorrectly. Further information about our partnership with bioRxiv to facilitate the rapid availability of life sciences research is available at <http://journals.plos.org/plosone/s/preprints>.

If you have any inquiries or other comments regarding this manuscript please contact plosone@plos.org.

Thank you for your support of PLOS ONE.

Kind regards,
PLOS ONE

In compliance with data protection regulations, you may request that we remove your personal registration details at any time. (Use the following URL: <https://www.editorialmanager.com/pone/login.asp?a=r>). Please contact the publication office if you have any questions.

Anexo B

Artigo publicado "First report of *Cordaixylon* Grand'Eury in the Permian of South America, Parnaíba Basin, Brazil"

Journal of South American Earth Sciences 101 (2020) 102620



Contents lists available at ScienceDirect

Journal of South American Earth Sciences

journal homepage: www.elsevier.com/locate/jsames



First report of *Cordaixylon* Grand'Eury in the Permian of South America, Parnaíba Basin, Brazil



Domingas Maria da Conceição^{a,*}, Roberto Iannuzzi^a, Luiz Saturnino de Andrade^b,
Mário G.F. Esperança Júnior^a, Juan Carlos Cisneros^c, Anelise M. Siegloch^a

^a Instituto de Geociências, UFRGS, Avenida Bento Gonçalves 9500, 91501-970, Porto Alegre, RS, Brazil

^b Instituto de Geociências, UFPA, Rua Augusto Correa 1, 66075-110, Belém, PA, Brazil

^c Museu de Arqueologia e Paleontologia, UFPI, Ininga, 64049-550, Teresina, PI, Brazil

ARTICLE INFO

Keywords:

Parnaíba basin
Cisuralian
Systematics
Cordaitales
Paleoclimatology
Paleophytogeography

ABSTRACT

We describe the morphology and anatomy of cordaitalean tree stems preserved in Cisuralian lacustrine deposits of the Pedra de Fogo Formation, Permian of the Parnaíba Basin, northeastern Brazil. The remains consist of seven samples of petrified stems with septate pith (*Artisia* type) and preserved primary and secondary xylem. The anatomical features of these specimens support their classification in the genus *Cordaixylon* Grand'Eury, 1877, which is the first evidence of this genus not only in South America, but also in Gondwana. The sedimentological indicators suggest climatic seasonality during the deposition of the Pedra de Fogo unit. However, on a local scale, this area may have had a humid to sub-humid regional climate due to the presence of a large lacustrine system, which would allow these plants to grow in similar habitats to their locations in the Northern Hemisphere. The Parnaíba Basin contains a relatively high number of endemic taxa, but this genus is typical of the Euramerican Province and occurs in at least two areas of this basin. The presence of these trees and some forms of tree-ferns that are also shared with the Euramerican Province suggests the existence of a phytogeographic connection consisting of dispersal through a landscape linkage between the Euramerican tropics and northern Gondwana in the Late Pennsylvanian. This would make it possible for species to migrate between these two floristic provinces, a hypothesis that can be confirmed through further taxonomic and geological data. Finally, the presence of *Cordaixylon* in the Pedra de Fogo Formation can be considered indicative of a Cisuralian age for these rocks.

Anexo C

Resumo publicado "As novas gimnospermas fósseis no Permiano da Bacia do Parnaíba, nordeste do Brasil"

28 a 30 | junho de 2021 | Brasília - DF



AS NOVAS GIMNOSPERMAS FÓSSEIS NO PERMIANO DA BACIA DO PARNAÍBA, NORDESTE DO BRASIL

Conceição, D.M.¹; Iannuzzi, R.¹; Neregato, R.¹; Esperança Júnior, M.G.F.¹;

Cisneros, J.C.²; Crisafulli, A.³; Andrade, L.S.⁴

¹Universidade Federal do Rio Grande do Sul; ²Universidade Federal do Piauí; ³Facultad de Ciencias Exactas y Naturales y Agrimensura, Universidad Nacional del Nordeste y CECOAL-CONICET;

⁴Universidade Federal do Pará

RESUMO: Prospecções paleontológicas nos afloramentos permianos da Bacia do Parnaíba têm sido realizadas sistematicamente nos últimos anos, revelando muitos depósitos com lenhos fósseis inéditos para a Formação Pedra de Fogo. Assim, o objetivo desta contribuição é apresentar o panorama atual das pesquisas nessa área, especialmente focando nas classificações taxonômicas dos lenhos encontrados e seus significados paleoambientais e paleofitogeográficos. Esses lenhos formam associações autóctones, parautóctones e alóctones, e foram coletados em duas áreas distintas no Maranhão, Nova Iorque e Duque Bacelar, distantes 400 km. Para investigar as características anatômicas destes lenhos, seções finas de 19 amostras foram preparadas. A preservação anatômica do material, assim como a variação na composição da medula, permitiram identificar cinco novos gêneros e seis novas espécies para os depósitos da unidade Pedra de Fogo. Três desses gêneros são monoespecíficos: *Yvyrapitys novaiorquensis*, *Novaiorquepitys maranhensis* e *Ductolobatopitys mussae*. Um quarto gênero, i.e. *Kaokoxylon* Kräusel, 1956, já registrado em vários depósitos no Gondwana, incluindo a Bacia do Parnaíba, é reportado pela primeira vez na unidade Pedra de Fogo, com a nova espécie *Kaokoxylon brasiliensis*. Por fim, um quinto gênero, i.e. *Cordaixylon* Grand'Eury, 1877, foi registrado pela primeira vez no Gondwana, com dois morfotipos, *Cordaixylon* sp. 1 e *Cordaixylon* sp. 2. Os dados estratigráficos sugerem que essas plantas viviam às margens de sistemas lacustres amplos, influenciados por sistemas fluviais efêmeros, sob um regime de sazonalidade regional. Essas, por viverem em áreas úmidas adjacentes a esses lagos, foram parcialmente protegidas dos efeitos da aridez e das variações do nível de base local. Essa interpretação é suportada pela presença de características anatômicas na medula e no xilema secundário, tais como septações medulares e ausência de anéis de crescimento, bem como pela presença de outras plantas arbóreas típicas de terrenos úmidos, i.e. calamitáceas e fetos arborescentes, identificadas nos mesmos afloramentos. Finalmente, os dados taxonômicos obtidos, que incluem três novos gêneros endêmicos, reforçam a hipótese de que a flora dessa bacia pode ser entendida como uma nova unidade paleofitogeográfica, como sugerido anteriormente. Mas, por outro lado, a presença de um gênero típico do Hemisfério Norte na bacia, como *Cordaixylon*, representado por um número significativo de espécimes, pode indicar que a caracterização paleofitogeográfica da flora permiana dessa bacia ainda apresenta um volume pequeno de informações taxonômicas. Logo, a continuidade dos trabalhos taxonômicos é de essencial importância, pois possibilitará quantificar um número maior de táxons, e consequentemente permitirá reconstruir um panorama paleofitogeográfico e florístico mais completo para o Permiano dessa bacia.

PALAVRAS-CHAVE: LENHOS PETRIFICADOS, BACIA DO PARNAÍBA, PERMIANO

Anexo D

Capítulo submetido “Paleobotânica”

CAPÍTULO 6. Paleobotânica

Domingas Maria da Conceição

Mário G. F. Esperança Júnior

Willian Mikio K. Matsumura

Introdução

A Paleobotânica é o ramo da Paleontologia que se ocupa da descrição, classificação e interpretação dos restos vegetais preservados nas rochas formadas ao longo do tempo geológico, buscando compreender e reconstruir a intrigante história evolutiva do Reino Vegetal. De modo geral, o estudo das plantas fósseis (ou fitofósseis, do grego *phyto* = plantas; latim *fossilis* = extraído da terra) permite avaliar a origem e evolução dos grandes grupos vegetais, determinar a época em que cada grupo atingiu sua diversidade máxima e, em certos casos, quando foram extintos, bem como estabelecer as relações de parentesco entre esses grupos, além de fornecer subsídios para outros ramos da paleontologia e geologia. Em maior análise, também é possível compreender a colonização dos ambientes terrestres e as dinâmicas ambientais que contribuíram para a diversidade florística atual do nosso planeta. Além disso, dependendo da história de fossilização das comunidades vegetais, a Paleobotânica configura-se como excelente ferramenta para estudos bioestratigráficos e reconstruções paleoambientais, paleogeográficas e paleoclimáticas (Cleal, 1991; Stewart e Rothwell, 1993; Taylor et al., 2009).

Em se tratando de plantas fósseis é comum que as diversas partes das plantas sejam organizadas em microfósseis e macrofósseis. Esta distinção se refere apenas ao tamanho dos restos ou fragmentos vegetais (fitoclastos) preservados. Assim, os microfósseis, como o nome sugere, são representados por estruturas microscópicas (e.g., grãos-de-pólen, esporos, cutículas, etc), cuja visualização só é possível a partir do auxílio de equipamentos de magnificação como a lupa binocular (estereomicroscópio), microscópio óptico, petrográfico ou eletrônico de varredura (MEV). Por outro lado, os macrofósseis são representados por aquelas partes das plantas que podem ser visualizadas sem o auxílio dos supracitados equipamentos, tais como lenhos, ramos, folhas, flores, frutos e sementes.

Todos os restos vegetais, sejam eles micro ou macro, estão sujeitos aos processos bioestratinômicos dos ambientes sedimentares, que envolvem as etapas de desarticulação e

Anexo E

Carta de submissão do artigo “New Solenoid-type stems from the Pedra de Fogo Formation, Permian of Maranhão, Brazil”

1/1/22, 2:36 PM

Email – Mário Júnior – Outlook

Confirm co-authorship of submission to Review of Palaeobotany and Palynology

Review of Palaeobotany and Palynology <em@editorialmanager.com>

Qui, 11/11/2021 17:39

Para: Mário Gilberto Ferreira Esperança Júnior <j10_gilberto@hotmail.com>

This is an automated message.

Journal: Review of Palaeobotany and Palynology

Title: New Solenoid-type stems from the Pedra de Fogo Formation, Permian of Maranhão, Brazil

Corresponding Author: Dr Domingas Maria da Conceição

Co-Authors: Mário Gilberto Ferreira Esperança Júnior, Ms.; Roberto Iannuzzi, Dr.; Juan Carlos Cisneros Martínez, Dr.

Manuscript Number:

Dear Mário Gilberto Ferreira Esperança Júnior,

The corresponding author Dr Domingas Maria da Conceição has listed you as a contributing author of the following submission via Elsevier's online submission system for Review of Palaeobotany and Palynology.

Submission Title: New Solenoid-type stems from the Pedra de Fogo Formation, Permian of Maranhão, Brazil

Elsevier asks all authors to verify their co-authorship by confirming agreement to publish this article if it is accepted for publication.

Please read the following statement and confirm your agreement by clicking on this link:

<https://www.editorialmanager.com/palbo/1.asp?i=35419&l=31EAKL01>

I irrevocably authorize and grant my full consent to the corresponding author of the manuscript to: (1) enter into an exclusive publishing agreement with Elsevier on my behalf (or, if the article is to be published under a CC BY license, a non-exclusive publishing agreement), in the relevant form set out at www.elsevier.com/copyright; and (2) unless I am a US government employee, to transfer my copyright or grant an exclusive license of rights to Elsevier as part of that publishing agreement, effective on acceptance of the article for publication. If the article is a work made for hire, I am authorized to confirm this on behalf of my employer. I agree that the copyright status selected by the corresponding author for the article if it is accepted for publication shall apply and that this agreement is subject to the governing law of the country in which the journal owner is located.

If you did not co-author this submission, please contact the corresponding author directly at domingasmay@hotmail.com.

Thank you,

Review of Palaeobotany and Palynology

More information and support

FAQ: What is copyright co-author verification?

https://service.elsevier.com/app/answers/detail/a_id/30181/supporthub/publishing/

You will find information relevant for you as an author on Elsevier's Author Hub:

Anexo F

Artigo em submissão “*PaleoWood*: a machine learning approach for determining the affinity of Paleozoic gymnosperm stems”

PaleoWood: a machine learning approach for determining the affinity of Paleozoic gymnosperm stems

Domingas Maria da Conceição^a, Mário G. F. Esperança Júnior^a, Roberto Iannuzzi^a, Mariana Recamonde-Mendoza^b, Guilherme B. B. O. Malta^b

domingasmmary@hotmail.com

^a Instituto de Geociências, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Avenida Bento Gonçalves, 9500, Porto Alegre, Brazil

^b Instituto de Informática, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Avenida Bento Gonçalves, 9500, Porto Alegre, Brazil

When we are dealing with fossil plant remains, they commonly are incorporated in a fragmented way in the sediments, thus making it complicated to reconstruct and classify fossil plants into a higher taxonomic group. Particularly on the anatomy of stems, there are some described features which repeat among the proposed lineages due environmental pressures that induce anatomical convergence. Other characteristics cannot always be viewed because of the state of preservation of the fossil, as often happens with the bark and with the arrangement of axes and leaves. Given these difficulties, we present *PaleoWood*, an unprecedented affinity classifier for Paleozoic gymnosperm stems based on 16 variables collected from 42 consistent genera which have central core, primary, and secondary xylem described. For that, similarities among samples were analyzed by principal components and models were trained through logistic regression, linear discriminant and k-nearest neighbors' algorithms. Models performance was estimated by cross-validation and 20 previously known samples had their affinity tested. Results agreed with some hypotheses formerly discussed, such as the linkage of *Eristophyton*, *Megaloxylon* and *Tetrastichia* with Lyginopteridales. Some other predictions were interpreted as a result of convergent evolution or limitation of the model, especially those relating to the samples of simple protostele or pycnoxylic pteridosperms. Thereby, it is expected that the models will assist in future comparisons and discussions about the taxonomy, evolution, and paleobotanical affinities of the basal seed plants.

Anexo G

Resumo aprovado "A evolução dos lenhos gimnospérmicos do Permiano da Bacia do Parnaíba"

1/1/22, 3:25 PM

Email – Mário Júnior – Outlook

[cbp2022] Resultado da Avaliação

Even3 <mensagens@organizadores.even3.com.br>

Seg, 13/12/2021 21:02

Para: j10_gilberto@hotmail.com <j10_gilberto@hotmail.com>

Cc: j10_gilberto@hotmail.com <j10_gilberto@hotmail.com>; domingasmery@hotmail.com <domingasmery@hotmail.com>; riannuzzi662@gmail.com <riannuzzi662@gmail.com>; mrmendoza@inf.ufrgs.br <mrmendoza@inf.ufrgs.br>; guilherme.malta@inf.ufrgs.br <guilherme.malta@inf.ufrgs.br>

**RESULTADO DA AVALIAÇÃO**

O trabalho intitulado "A evolução dos lenhos gimnospérmicos do Permiano da Bacia do Parnaíba" foi **APROVADO** no evento Congresso Brasileiro de Paleontologia-Cuiabá-MT

- **Título:** A evolução dos lenhos gimnospérmicos do Permiano da Bacia do Parnaíba
- **Número:** 438059
- **Data de Submissão:** 28/10/2021
- **Modalidade:** Resumo com apresentação preferencialmente oral
- **Área Temática:** Padrões: Sistemática e Biogeografia
- **Autores:** Mario Gilberto Ferreira Esperança Junior, Domingas Maria da Conceição, Roberto Iannuzzi, Mariana Recamonde Mendoza, Guilherme Brockhof Bueno de Oliveira Malta

Cordialmente,
 Comissão Científica
 Juliane Marques Souza
 juliane.marques.souza@uerr.edu.br

Anexo H

Resumo aprovado "Eustelos gimnospérmicos solenoides da Formação Pedra de Fogo, Permiano do Maranhão, Brasil"

1/5/22, 3:45 PM

Email – Mário Júnior – Outlook

[cbp2022] Resultado da Avaliação

Even3 <mensagens@organizadores.even3.com.br>

Qua, 05/01/2022 15:05

Para: domingasmay@hotmail.com <domingasmay@hotmail.com>

Cc: domingasmay@hotmail.com <domingasmay@hotmail.com>; j10_gilberto@hotmail.com <j10_gilberto@hotmail.com>; riannuzzi662@gmail.com <riannuzzi662@gmail.com>; juan.cisneros@ufpi.edu.br <juan.cisneros@ufpi.edu.br>

**RESULTADO DA AVALIAÇÃO**

O trabalho intitulado "EUSTELOS GIMNOSPÉRMICOS SOLENOIDES DA FORMAÇÃO PEDRA DE FOGO, PERMIANO DO MARANHÃO, BRASIL" foi **APROVADO** no evento Congresso Brasileiro de Paleontologia-Cuiabá-MT

- **Título:** EUSTELOS GIMNOSPÉRMICOS SOLENOIDES DA FORMAÇÃO PEDRA DE FOGO, PERMIANO DO MARANHÃO, BRASIL
- **Número:** 441633
- **Data de Submissão:** 04/11/2021
- **Modalidade:** Resumo com apresentação preferencialmente oral
- **Área Temática:** Padrões: Sistemática e Biogeografia
- **Autores:** Domingas Maria da Conceição, Mario Gilberto Ferreira Esperança Junior, Roberto Iannuzzi, JUAN C. CISNEROS

Cordialmente,
Comissão Científica
Juliane Marques Souza
juliane.marques.souza@uerr.edu.br

Anexo I

Artigo de divulgação C & T “A separação dos continentes em uma visão histórica”

Colecionadores de Ossos

GEOLOGIA, GONDWANA, LAURÁSIA, PERMIANO

A SEPARAÇÃO DOS CONTINENTES EM UMA VISÃO HISTÓRICA

24 DE SETEMBRO DE 2021 | MÁRIO G. F. ESPERANÇA JÚNIOR | DEIXE UM COMENTÁRIO

Texto por Mário G. F. Esperança Júnior

As paisagens que reconhecemos à nossa volta possuem uma história bastante dinâmica. Por exemplo: rios mudam de curso, lagos secam, mares retraem e avançam sobre os continentes... Em um intervalo de tempo mais amplo, montanhas são formadas e erodidas, oceanos se fecham, novas espécies de organismos surgem enquanto outras são extintas. Evidências geológicas mostram que esses processos são recorrentes e se sucederam por todo o planeta desde seus primórdios.

No sul do Brasil, afloram rochas do período Permiano, intervalo que compreende de 298 a 252 milhões de anos atrás. Essas rochas são ricas em fósseis da extinta Flora *Glossopteris*, plantas as quais também são encontradas em depósitos sedimentares da África, Antártida, Austrália e Índia. Atualmente, estas regiões estão separadas por extensos oceanos, que são barreiras intransponíveis para grande parte dos organismos terrestres, incluindo as plantas. Sendo assim, pode-se deduzir que tais áreas estiveram unidas durante o Permiano, e mais tarde se afastaram até chegarem em suas localizações atuais. Dessa forma, as floras e faunas que antigamente colonizaram regiões contíguas, passaram a ser encontradas na forma de fósseis em lugares distantes.

A evolução desse pensamento científico levou muitos anos até chegar aos moldes que hoje conhecemos. Mas para entendermos a sucessão dos fatos que nos levam a resposta acerca de tais semelhanças fossilíferas, precisamos voltar alguns séculos atrás...

As primeiras ideias

Com a chegada dos europeus ao continente americano no século XV e com a confecção dos primeiros mapas em escala global, notou-se que a costa oeste da África e leste da América do Sul possuem contornos semelhantes, assim sugerindo que tais continentes estivessem em algum momento unidos. Àquela época, contudo, perduravam as ideias bíblicas de que a Terra seria jovem, e o conhecimento científico limitava-se à observação direta do meio devido à ausência de tecnologia capaz de comprovar tais fenômenos. Somente no século XVII é que surgiram as primeiras evidências acerca de

ANEXO I
Título da Dissertação/Tese:
“Um método eficiente para determinar a densidade de venação nas <i>Glossopteris</i> e suas aplicações”
Área de Concentração: Paleontologia
Autor: Mário Gilberto Ferreira Esperança Júnior
Orientador: Prof. Dr. Roberto Iannuzzi
Examinadora: Profa. Dra. Juliane Marques-de-Souza
Data: 28 de fevereiro de 2022
Conceito: A
PARECER:
<p>A presente dissertação oferece uma ferramenta matemática para estimar a densidade da venação foliar de espécies do gênero <i>Glossopteris</i>. Esta ferramenta baseia-se em um modelo de regressão linear construído e validado a partir da análise da densidade foliar de espécies de <i>Glossopteris</i> registradas ao longo do Permiano no Gondwana.</p> <p>Os testes estatísticos apresentados mostram que o modelo proposto tem potencial para ser aplicado na análise da densidade foliar de <i>Glossopteris</i> e que os resultados encontrados a partir da aplicação do método corroboram com o debate posto por outras abordagens analíticas, indicando que a densidade de venação deste grupo de plantas responde a mudanças climáticas no período em questão.</p> <p>Diante do exposto, apresento algumas anotações no corpo da dissertação e sumário as mais importantes neste parecer. Destaco, de antemão, que as reflexões buscam provocar os autores para elucidação de alguns aspectos que não ficaram exatamente claros no texto final.</p> <p>Os dados da quantidade de espécimes proveniente de cada unidade estratigráfica analisada não são apresentados. A figura 2 do artigo não me parece elucidativa. Senti falta de dados tais como número amostral por localidade e por unidade estratigráfica; quais dessas informações foram obtidas por observação direta e quantos por análise de dados secundários (literatura) e, quais as referências utilizadas na coleta dos dados secundários.</p> <p>No que se refere a hipótese testada, me pareceu mais adequada a seguinte adaptação: a densidade de venação em <i>Glossopteris</i> varia conforme variam as condições climáticas e ambientais tal qual observado em folhas de angiospermas; essa variação pode ser mensurada a partir de um modelo de regressão linear proposto para este gênero de folhas fósseis. É apenas uma sugestão visto que a hipótese precisa ser verificada quando apresentada e, portanto, seria adequado retomá-la ao final do artigo na discussão final.</p>

Achei bem interessante esta proposta cônica (para cálculo da densidade) e sim, acho que resolve a questão da coleta de dados e da variação da densidade provocada pelo tamanho da lâmina foliar.

Eu não sei exatamente como os gráficos de análise dos resíduos se comportaram mas, caso tenham fornecido uma boa interpretação visual, sugiro incluí-los no artigo, especialmente aqueles que apresentam a homocedasticidade e a normalidade dos dados (parâmetros que não foram alcançados).

Os outliers não são mencionados no texto, no entanto têm importância na interpretação dos dados pois merecem atenção e revisão. Visualmente me parece haver alguns outliers na população D1 que se aproximam das densidades das folhas da Formação Rio do Rastro. A remoção deles (ou revisão) poderia conferir um novo comportamento à reta de regressão.

No que se refere exclusivamente aos resultados apresentados na página 37 do paper, pergunto:

O modelo foi testado após exclusão dos dados da população D2? Como se comportam os resíduos neste caso de exclusão (normalidade e heterocedasticidade)?

Em populações biológicas naturais é comum a necessidade da transformação logarítmica dos dados para que estes se aproximem de uma distribuição normal e da homocedasticidade. Foi feita essa transformação? Se não, por quê? Se sim, como o modelo se comportou?

Novamente, analisando a figura 5, pergunto, os outliers da população D1 foram revisados? Quem são eles? São medidas obtidas direta ou indiretamente? Qual a chance de representarem registros equivocados (em termos temporais?) Com a remoção deles talvez fosse possível compreender o comportamento dos resíduos ou caso não for adequado remover, acho necessário explicar quem são e porque diferem da população. (lembrando que a transformação logarítmica dos dados pode mudar isso).

Talvez a aplicação do modelo nos espécimes da Formação Rio do Rastro separadamente desse indícios interessantes para discutir a robustez do modelo. Como se comportam os dados desta população em específico? E a análise dos resíduos?

Na página 39 é mencionado que “um bom número de folhas” precisa ser utilizado para que o modelo funcione corretamente. Você testou qual seria esse n mínimo? Seria interessante fornecer esses dados. Será que somente aplicado à população da Formação Rio do Rastro ele funcionaria? Tudo bem que se refere a uma única unidade estratigráfica e, portanto, a um recorte pequeno no tempo, no entanto é uma população com apenas 23 dados, o que serviria na análise.

Deixo aqui uma última pergunta:

Por que você não trabalhou somente com a Bacia do Paraná? Há uma boa quantidade de fósseis e um bom registro para as unidades estratigráficas da Bacia. Talvez esse modelo pudesse ser proposto a partir desta bacia e futuramente expandido para as demais bacias gondvânicas.

Os dados de outras localidades (falo em especial da Índia) não são confiáveis. Também não ficou claro neste documento quais referências foram consultadas para obtenção

destas medidas de maneira indireta (ilustrações). Acho que a proposta é muito boa e seria excepcional se testada com material exclusivo da Bacia do Paraná.

Por fim, parabenizo o mestrando pela proposta que, além de muito interessante, é ousada, ao propor um modelo matemático especialmente para trabalhos em paleobotânica que é demasiadamente qualitativa e descritiva. Concordo que precisamos nos aprofundar em análises quantitativas e estudar o comportamento da flora fóssil utilizando-se de análises quantitativas o que, para a Bacia do Paraná, entendo já ser possível visto a quantidade de espécimes coletados e armazenados nas coleções.

Assinatura:



Data: 28/02/22

Ciente do Orientador:

Ciente do Aluno:

ANEXO I
Título da Dissertação/Tese:
“Um método eficiente para determinar a densidade de venação nas Glossopteris e suas aplicações”
Área de Concentração: Paleontologia
Autor: Mário Gilberto Ferreira Esperança Júnior
Orientador: Prof. Dr. Roberto Iannuzzi
Examinadora: Profa. Dra. Esther Regina de Souza Pinheiro
Data: 02/03/2022
Conceito: A
PARECER:
<p>Muito interessante e inovador a proposta da dissertação de avaliar se a densidade de venação em glosspterídeas responde a variações climáticas da mesma forma que vemos em outros grupos vegetais. Aqui então vem a minha primeira crítica, deveria estar explicitado que estas relações de venação, condutividade e transporte d'água não foram aferidas a partir do grupo estudado, logo é uma extrapolação das conclusões para outros grupos taxonômicos. É totalmente aceitável o raciocínio, mas deveria ter sido apontado já na introdução da Parte I. Uma dúvida é se o modelo e o teste do modelo foram feitos com o mesmo conjunto amostral. Pela leitura do texto eu tive a impressão que sim, e isso me parece bastante inadequado.</p> <p>Em relação a parte I:</p> <ul style="list-style-type: none"> - os itens 5.1 e 5.2 são métodos, não resultados. - Muitas informações faltantes: em que software as análises foram realizadas? Quantas amostras por unidade litroestratigráfica foram analisadas? Sem esta informação a frase “contanto que a quantidade de dados em cada um deles seja razoável” fica sem sentido. - Faltou referências de informações, principalmente das análises. Item 5.3 não tem uma referência das análises, por exemplo. - Em nenhum lugar é explicado porque seria adequado agrupar todas as outras unidades litoestratigáficas para fazer a análise. Que tempos estão sendo agrupados? - Todas as legendas estão incompletas. Figuras ou tabelas devem ser capazes de serem compreendidas de forma independente do texto. - É impossível para o leitor saber se a conclusão paleoclimática é adequada se não sabemos: 1) numero amostral para cada unidade; 2) quais unidades estão agrupadas em oposição a F. Rio do Rastro. - Acho que também faltou uma discussão sobre as glossopteris serem ou não um grupo monofilético e qual a consequência tanto se sim, ou se não, para os resultados encontrados.

Em relação a parte II:

- colocar as mesmas figuras do manuscrito no texto integrador não faz sentido.
- O manuscrito está infinitamente melhor do que o texto integrador, o que é compreensível, mas ao mesmo tempo demonstra uma certa falta de cuidado com a dissertação.
- Da mesma forma que na parte I, a discussão está muito superficial. Todos os modelos matemáticos tem como um objetivo entendimento de processos biológicos e isto que deve ser aprofundado.

O conceito "A" foi atribuído pelo ineditismo do trabalho, mas o manuscrito ainda tem um percurso de revisão para ser aceito em qualquer revista. Tanto em termos de organização do texto e apresentação dos dados, quanto em relação a profundidade da discussão. Um último comentário: senti falta de agradecimentos nos componentes pré-textuais da dissertação. Em ciência ninguém faz nada sozinho, seja pela oportunidade dada de orientação, bolsa, seja os professores que nos deram aula, ou os funcionários que fazem desde a matrícula a fotos do material.

Assinatura:



Data: 02/03/2022

Ciente do Orientador:

Ciente do Aluno:

ANEXO I	
Título da Dissertação/Tese:	
“Um método eficiente para determinar a densidade de venação nas <i>Glossopteris</i> e suas aplicações”	
Área de Concentração: Paleontologia	
Autor: Mário Gilberto Ferreira Esperança Júnior	
Orientador: Prof. Dr. Roberto Iannuzzi	
Examinador: Prof. Dr. Fernando Erthal	
Data: 28/02/2022	
Conceito:	A
PARECER:	
<p>O autor apresenta uma dissertação estruturada em torno de um manuscrito científico submetido a um periódico especializado (PlosONE, classificada pela CAPES como A1). A dissertação está organizada em três seções: uma contendo uma síntese do estado da arte na área de estudo, objetivos, metodologia, breve descrição dos resultados e conclusão; outra seção é o manuscrito propriamente dito, e a terceira seção são os anexos e arquivos relacionados, bem como documentação comprobatória da submissão. O artigo foi originalmente submetido em Junho de 2021, então se presume estar já em fase avançada de revisão pelo periódico.</p> <p>O trabalho realizado pelo autor apresenta grande relevância científica para as Geociências nos campos da Paleoecologia e Paleoclimatologia, pois apresenta um método de cálculo de densidade de venação em folhas de <i>Glossopteris</i> (o elemento florístico mais comum do Gondwana durante o Permiano). Este cálculo permite reconstituições mais seguras das condições de temperatura, umidade (pluviosidade) e, portanto, mudanças climáticas. Uma grande vantagem do método apresentado é a sua auto falseabilidade, pois permite o cálculo robusto de parâmetros de variabilidade e erro estatístico.</p> <p>O texto do documento está bem escrito, nitidamente revisado com bastante atenção, e denota domínio da língua portuguesa e da linguagem científica necessária ao grau de Mestrado (ou mesmo Doutorado). Dito isso, expresse que poderiam ser fornecidos maiores detalhes do trabalho manual e do tratamento estatístico envolvido. Isso incluiria os scripts/séries de testes realizados antes da chegada no modelo ideal, bem como maiores detalhes dos testes de hipóteses (com os valores obtidos) e dos testes de reamostragem/bootstrap, que certamente poderiam ser de bastante utilidade para outros pesquisadores. Considerando que o produto final (o manuscrito científico) será certamente publicado, o presente documento é bastante econômico em tamanho.</p>	

Assinatura:



Prof. Dr. Fernando Erthal
Dep. de Paleontologia e Estratigrafia
IGEO/UFRGS

Data: 28/02/2022

Ciente do Orientador:

Ciente do Aluno: