



Universidade de Brasília
Instituto de Ciências Biológicas
Programa de Pós-Graduação em Ecologia

**Padrões Estomáticos e de Condutância Máxima de Vapor D'água em Pares
Congenéricos Arbóreos de Cerrado *Sensu Stricto* e Mata de Galeria**

Fernanda Nunes de Araujo Fonseca

Orientador: Augusto Cesar Franco

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ecologia da Universidade de Brasília, como requisito para obtenção do Título de Mestre.

Brasília/DF

2016

*“São mil coisas impresentidas
Que me escutam:
Sou eu apreensivamente
Solicitado pela inflorescência
Redescoberto pelo bulir das folhas...”*

Manoel de Barros

“The fact that total photosynthesis of plants on land (only one third the surface area) is now about equal to that occurring in the expanse of the oceans is powerful evidence that the move to the land was a boon for plant life - not to mention all the rest of us who eat them. The impact of this innovation was to radically change the climate and ecology of the planet (...). This greening of the land surface was in large part empowered by the evolution of these microscopic, turgor-operated valves, stomata.”

Berry, Beerling & Franks (2010)

Sumário

AGRADECIMENTOS	3
RESUMO	5
ABSTRACT	6
Índice de Ilustrações.....	7
Índice de Tabelas.....	10
Índice de Abreviaturas, Constantes e Equações.....	11
CAPÍTULO I.....	12
INTRODUÇÃO	13
<i>Folhas contam histórias? Por que estudá-las?</i>	<i>13</i>
<i>Ecofisiologia Vegetal no Cerrado, pares congênericos arbóreos e objetivos de pesquisa</i>	<i>18</i>
MATERIAIS E MÉTODOS	27
<i>Área de estudo e seleção dos pares congênericos</i>	<i>27</i>
<i>Coleta das amostras para análises anatômicas, morfológicas e nutricionais.....</i>	<i>29</i>
<i>Obtenção das epidermes, análise dos complexos estomáticos e cálculo das condutâncias estomáticas máximas</i>	<i>30</i>
<i>Área Foliar Específica</i>	<i>32</i>
<i>Análises de nitrogênio e carbono</i>	<i>33</i>
<i>Análises Estatísticas.....</i>	<i>33</i>
RESULTADOS.....	35
DISCUSSÃO.....	51
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	58
ANEXO.....	64

AGRADECIMENTOS

Agradeço profundamente ao meu avô Sergio, pelo amor e apoio incondicional em minha formação profissional e humana, por toda a vida. Aos meus pais, Sergio Luiz e Kátia, e à minha irmã Renata, pela mesma razão, e por terem acolhido minhas escolhas e suportado meu *ethos* biólogo, mateiro-viajante vida afora.

Ao Professor Augusto Cesar Franco, cuja competência admiro muito, pelo incentivo acadêmico e paciência com minha falta de tempo para realizar as tarefas nos prazos mais oportunos, e ainda pelas intervenções sempre qualificadas ao longo de todo o processo de maturação de hipóteses de pesquisa e obtenção de dados.

À professora Cristiane Ferreira, pelo fundamental incentivo e apoio emocional em diversas ocasiões, e pela admirável capacidade de transmitir sua empolgação ecofisiológica vegetal em aulas muito aprazíveis.

Ao Mendes, pelo auxílio com as coletas e compartilhamento de sua vasta experiência em identificação botânica, sempre amigo e bem humorado.

À minha chefe, Valéria Carvalho, pela atenção, compreensão, incentivo e carinho com meus processos nas horas em que mais precisei e menos esperei. E à Fundação Nacional do Índio – FUNAI, pela concessão de licença capacitação durante três meses e de redução de carga horária de trabalho, as quais foram fundamentais para a conclusão das disciplinas e dos trabalhos em campo e no laboratório.

À Reserva Ecológica do Roncador – RECOR/IBGE, pelo apoio logístico e concessão da autorização para pesquisa e coleta de material botânico no interior da Unidade de Conservação.

À professora Sueli Maria Gomes por me deixar sempre à vontade para trabalhar no Laboratório de Anatomia Vegetal e pelas dicas fundamentais de protocolo e registro fotográfico das minhas centenas de seções paradérmicas.

À Jéssica, Isa e Herica, pela paciência em explicar detalhes que não constam nos protocolos.

Ao André pela ajuda com as micrografias e ao William por sanar dúvidas com as metodologias de área foliar e me ajudar na calibração do LAS EZ. E aos demais colegas de laboratório e dos Departamentos de Botânica e Ecologia, pela convivência agradável e frequente partilha de conhecimentos e impressões.

Aos queridos de outras paragens, incluindo Daniel Mattos, Fernanda Braga, Lúcia Sanches, Luísa Coelho e Caroline Lima, que aguentaram minha sofrência ao longo de todo o mestrado e me incentivaram a chegar até o final. Com menção honrosa a Regina Nascimento, a indigenista-poetisa-comunicóloga das mais antropólogas que eu conheço, pelo amor que demonstra pelo Cerrado e interesse em hablar ecologuês comigo, coisa rara fora do IBio.

E aos Programas de Pós-Graduação em Ecologia e em Botânica como um todo, com atenção especial aos professores cujas aulas foram deveras inspiradoras e me transformaram, para além do amor antigo pela Mata Atlântica e Amazônia, numa incontida e eterna admiradora do Cerrado.

Esta dissertação teve apoio do MCTI/Finep/CT-INFRA e do CNPq.

RESUMO

Comparamos padrões estomáticos (largura e comprimento das células-guarda, tamanho, área máxima do poro, densidade e índice de área do poro), condutância estomática máxima de vapor d'água calculada (g_{wmax} calculado), concentrações foliares de nitrogênio e carbono e área foliar específica para oito pares congêneros de espécies lenhosas de cerrado e mata de galeria crescendo numa área transicional entre estas duas fitofisionomias. Encontramos variações significativas para os parâmetros analisados em conjunto, com efeitos significativos de grupo funcional, gênero e da interação grupo x gênero. Espécies de cerrado apresentaram, em média, valores superiores para o índice de área do poro, tamanho estomático e g_{wmax} , e as densidades foram similares entre os grupos. Em nível de gênero e g_{wmax} , três pares foram similares, três apresentaram valores superiores para espécies de cerrado e dois para espécies de mata. O índice de área do poro estomático foi similar para cinco pares e maior nas espécies de cerrado dos pares restantes. Nos casos em que diferentes combinações de tamanho e densidade estomática renderam índices de área do poro semelhantes, o valor de g_{wmax} foi mais alto para a espécie com maior densidade estomática, o que ocorreu tanto para espécies de cerrado como de mata.

Palavras-chave: Savana, Floresta, Estômatos, Condutância Estomática Máxima, Alocação Epidérmica Foliar

ABSTRACT

We compared stomata patterns (width and length of the guard cells, size, maximum pore area, density and pore area index), calculated maximum stomatal conductance to water vapour (calculated g_{wmax}), nitrogen and carbon leaf concentrations and specific leaf area for eight congeneric pairs of woody species from cerrado and gallery forest growing in a transitional area between such physiognomies. We found significant variations in the parameters analysed together, with significant effects of functional group, genera and group x genera interaction. Cerrado species showed, on average, higher values for stomata pore index, stomatal size and g_{wmax} , and densities were similar between groups. At genus level and for g_{wmax} , three pairs were similar, three had higher values for cerrado species and two for forest species. Stomatal Pore Area Index was similar for five pairs and larger in cerrado species of remaining pairs. In cases where different combinations of size and stomatal density yielded similar pore area indexes, the value of g_{wmax} was higher for the species with greater stomatal density, which occurred for both cerrado and forest species.

Key-Words: Savanna, Forest, Stomata, Maximum Stomatal Conductance, Allocation of Leaf Epidermal Area

Índice de Ilustrações

- Figura 1. Esquema contendo características morfológicas, funcionais e estratégias de alocação de recursos esperadas para espécies típicas de cerrado *sensu stricto* (esquerda) e de mata de galeria (direita). Baseado nos trabalhos de Coley (1985), Franco & Haridasan (2008), Rossatto *et al.* (2009a, 2013) e Valladares & Niinemets (2008). [N_{mass}] = concentração de nitrogênio por massa foliar..... 23
- Figura 2. Precipitação anual na região de estudo para o período de 2005-2014. Gráfico baseado nas planilhas de dados pluviométricos disponibilizadas *on line* pela Recor-IBGE (<http://www.recor.org.br>)..... 27
- Figura 3. Micrografias das epidermes foliares abaxiais das espécies, organizadas por pares congêneros e por grupo. Para *Byrsonima*, *Guapira*, *Hymenaea* e *Pouteria*, as espécies de cerrado apresentaram estômatos maiores em relação as espécies de mata ($P < 0.05$). Densidades estomáticas semelhantes entre espécies de cerrado e mata para *Byrsonima* e *Pouteria*, e maiores para espécies de mata em *Guapira* e *Hymenaea* ($P < 0.05$). Barra de escala = 50 μm 37
- Figura 4. Micrografias das epidermes foliares abaxiais das espécies, organizadas por pares congêneros e por grupo, para os gêneros *Qualea*, *Tabebuia*, *Vochysia* e *Xylopia*. Para *Qualea*, a espécie de cerrado apresentou maior densidade estomática e tamanho estomático similar à espécie de mata ($P < 0.05$). Para *Tabebuia* e *Vochysia*, as espécies de cerrado e mata apresentaram tamanhos e densidades estomáticas similares ($P < 0.05$). Para *Xylopia*, a espécie de cerrado apresentou maior tamanho e maior densidade em relação à congênera de mata ($P < 0.05$). Barra de escala = 50 μm 38
- Figura 5. Amplitude de variação no comprimento da célula-guarda (A), largura do par de células-guarda (B) e tamanho estomático (C) para os conjuntos de espécies de cerrado e de mata. Em todos os gráficos, o *outlier* superior entre as espécies de cerrado corresponde a *Guapira noxia*, e em (B) o *outlier* inferior corresponde a *Xylopia aromatica*. Diferenças estatisticamente significativas entre os grupos foram encontradas para todos os parâmetros ($P < 0.05$). 39
- Figura 6. Amplitude de variação na densidade estomática (A), índice de área do poro estomático (B) e condutância máxima de vapor d'água (C) para espécies de cerrado e de mata. Em (A), o *outlier* superior das entre as espécies de mata corresponde a *Hymenaea courbaril*. Os *outliers* superiores para o índice estomático correspondem a *Vochysia thyrsoidea* (cerrado) e *Vochysia tucanorum* (mata). Diferenças estatisticamente significativas entre grupos foram encontradas apenas para o índice de área do poro estomático e a condutância estomática máxima, “g_{wmax}” ($P < 0.05$)..... 40

Figura 7. Amplitude de variação na área foliar específica (A), concentração de nitrogênio por área foliar (B) e concentração de carbono por área foliar (C) para espécies de cerrado e de mata. Os *outliers* superiores para a concentração de nitrogênio por área foliar correspondem a *Guapira noxia* (cerrado) e *Guapira graciliflora* (mata). Diferenças estatisticamente significativas entre grupos foram encontradas apenas para a área foliar específica ($P < 0.05$).
..... 41

Figura 8. Relação entre densidade estomática (D) e condutância estomática máxima de vapor d'água, g_{wmax} . Cada ponto corresponde a uma espécie. Espécies de cerrado em azul ($R^2 = 0.87$, $P < 0.0001$) e de mata em laranja ($R^2 = 0.81$, $P = 0.002$). A comparação entre as linhas alométricas dos grupos não apontou diferenças significativas entre inclinações (*slopes*) das retas (*likelihood ratio statistic* = 3.022, $df = 1$, $P = 0.08$).
..... 47

Figura 9. Relação entre o índice de área do poro estomático, SPI, e condutância estomática máxima de vapor d'água, g_{wmax} . Cada ponto corresponde a uma espécie. Espécies de cerrado em azul ($R^2 = 0.65$, $P = 0.01$) e de mata em laranja ($R^2 = 0.88$, $P = 0.001$). À direita, espécies tomadas em conjunto ($R^2 = 0.75$, $P < 0.0001$). A comparação entre as linhas alométricas dos grupos não apontou diferenças significativas entre inclinações (*slopes*) das retas (*likelihood ratio statistic* = 1.257, $df = 1$, $P = 0.26$).
..... 47

Figura 10. (A) Relação entre densidade estomática, "D", e a concentração de nitrogênio por área foliar, por grupos funcionais ($R^2 = 0.003$, $P = 0.90$ para espécies de cerrado e $R^2 = 0.17$, $P = 0.36$ para mata) e (B) para as espécies tomadas em conjunto ($R^2 = 0.04$, $P = 0.51$). A comparação entre as linhas alométricas dos grupos não apontou diferenças significativas entre inclinações (*slopes*) das retas (*likelihood ratio statistic* = 0.1923, $df=1$, $P = 0.66$). (C) Relação entre o tamanho estomático, "S", e concentração de nitrogênio por área foliar, por grupos funcionais ($R^2=0.87$, $P = 0.002$ para espécies de cerrado e $R^2 = 0.001$, $P = 0.96$ para espécies de mata) e (D) para o conjunto de espécies ($R^2 = 0.10$, $P = 0.26$). A comparação entre as linhas alométricas dos grupos não apontou diferenças significativas entre inclinações (*slopes*) das retas (*likelihood ratio statistic* = 0.05245, $df=1$, $P = 0.82$). Espécies de cerrado em azul e de mata em laranja. Cada ponto corresponde a uma espécie, sendo que as espécies *Guapira noxia* e *G. graciliflora* foram excluídas da análise em razão de apresentarem concentrações médias deste elemento por área foliar muito díspares em relação ao conjunto de dados (*outliers*).
..... 48

Figura 11. Relação entre condutância estomática máxima de vapor d'água (g_{wmax}) e concentração foliar de nitrogênio em base de área por grupos funcionais ($R^2 = 0.10$, $P = 0.48$ para espécies de cerrado e $R^2 = 0.12$, $P = 0.45$ para mata) e para as espécies tomadas em conjunto ($R^2=0.10$, $p=0.27$). Cada ponto corresponde a uma espécie, sendo que as espécies *Guapira noxia* e *G. graciliflora* foram excluídas da análise em razão de apresentarem concentrações médias deste elemento por área foliar muito díspares em relação ao conjunto de dados (*outliers*). A comparação entre as linhas alométricas dos grupos não apontou diferenças

significativas entre inclinações (*slopes*) das retas (*likelihood ratio statistic* = 0.0054, *df*=1, *p*= 0.94). Espécies de cerrado em azul e de mata em laranja. 49

Figura 12. Relação entre densidade (D) e tamanho (S) dos estômatos, para espécies de cerrado ($R^2 = 0.51$, $P = 0.04$) e mata ($R^2 = 0.07$, $P = 0.53$) à esquerda e para as o conjunto de espécies à direita ($R^2 = 0.09$, $P = 0.25$). Cada ponto corresponde a uma espécie. A comparação entre as linhas alométricas dos grupos não apontou diferenças significativas entre inclinações (*slopes*) das retas (*likelihood ratio statistic* = 0.4732, *df*=1, $P = 0.49$). Espécies de cerrado em azul e de mata em laranja..... 49

Figura 13. Relação entre área foliar específica (SLA) e concentração nitrogênio por área foliar para (A) espécies de cerrado ($R^2 = 0.63$, $P = 0.03$) e de mata ($R^2 = 0.50$, $P = 0.07$) e (B) para o conjunto de espécies ($R^2 = 0.43$, $P = 0.01$). Espécies de cerrado em azul e de mata em laranja. Cada ponto corresponde a uma espécie, sendo que as espécies *Guapira noxia* e *G. gracilifora* foram excluídas da análise em razão de apresentarem concentrações médias deste elemento por área foliar muito díspares em relação ao conjunto de dados (*outliers*). A comparação entre as linhas alométricas dos grupos não apontou diferenças significativas entre inclinações (*slopes*) das retas (*likelihood ratio statistic* = 0.07103, *df*=1, $P = 0.79$)...... 50

Índice de Tabelas

Tabela 1. Lista de espécies estudadas e suas famílias botânicas, fitofisionomias típicas de ocorrência, data e local das coletas.	28
Tabela 2. Amplitudes e médias por grupo para os dados de comprimento da célula-guarda (L), largura do par de células-guarda (W), tamanho estomático (S), densidade estomática (D), condutância estomática máxima de vapor d'água (g_{wmax}), índice de área do poro estomático (SPI), área foliar específica (SLA), concentração de carbono (C) e nitrogênio (N) por área foliar. Diferenças significativas entre grupos indicadas por asteriscos (***) para $P < 0.0001$, ** para $P < 0.001$, * para $P < 0.05$).	36
Tabela 3. Análise Multivariada de Variância (MANOVA) para efeitos de grupo funcional (mata/cerrado) e gênero, incluindo a interação grupo x gênero. Diferenças significativas apontadas por asteriscos (***) quando $P < 0.0001$, ** quando $P < 0.001$, * quando $P < 0.05$).	36
Tabela 4. Análises univariadas de variância (ANOVAs fatoriais) para cada variável estudada, considerando os fatores grupo funcional, gênero e a interação grupo x gênero. Diferenças significativas apontadas por asteriscos (***) para $P < 0.0001$, ** para $P < 0.001$, * para $P < 0.05$).	43
Tabela 5. Resumo dos resultados apontados pelos testes t pareados para tamanho estomático (S), densidade estomática (D), índice de área do poro estomático (SPI) e condutância estomática máxima teórica (g_{wmax}). Resultados indicados por “Maior” e “Menor” indicam diferença estatisticamente significativa, para cada parâmetro ($P < 0.05$), entre as espécies de cerrado comparadas às de mata de cada par congênico. Os resultados condizentes com as hipóteses do trabalho foram destacados em verde, e os diferentes do esperado em vermelho.	45
Tabela 6. Comparação entre condutâncias operacionais (g_s) e teóricas (g_{wmax}) para os gêneros em comum entre este trabalho e Rossatto <i>et al.</i> (2009b), sendo “ g_{wmax} lit” a condutância teórica calculada com base neste último. Diferenças estatisticamente significativas entre espécies de mata e de cerrado, em cada um dos trabalhos, encontram-se destacadas em negrito.	53

Índice de Abreviaturas, Constantes e Equações

L = “*Length*” = Comprimento Médio da Célula-Guarda (μm)

W = “*Width*” = Largura Média do Par de Células-Guarda (μm)

S = “*Size*” = Tamanho Médio do Estômato, sendo $S = L * W$ (μm^2)

a_{max} = Área Máxima do Poro Estomático, sendo $a_{\text{max}} = S * \alpha$ (μm^2)

D = “*Stomata Density*” = Densidade Estomática (número de estômatos por mm^2)

d = Difusividade da Água no Ar, sendo $d = 2,57 \times 10^{-5} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$

v = Volume Molar do Ar, sendo $v = 0,022413968 \text{ m}^3 \text{ mol}^{-1}$

l = Profundidade do Poro Estomático, sendo $l = W/2$ (μm)

g_{wmax} = condutância estomática máxima de vapor d’água, sendo $g_{\text{wmax}} = \frac{(d \times D \times a_{\text{max}})}{v \times \left(l + \frac{\pi}{2} \times \sqrt{\frac{a_{\text{max}}}{\pi}} \right)}$

SPI = “*Stomatal Pore Area Index*” = Índice de Área do Poro Estomático, sendo $\text{SPI} = L^2 * D$

[N] = concentração de nitrogênio por área foliar ($\mu\text{g} \cdot \text{mm}^{-2}$)

[C] = concentração de carbono por área foliar ($\mu\text{g} \cdot \text{mm}^{-2}$)

SLA = “*Specific Leaf Area*” = Área Foliar Específica = $\frac{\text{área foliar}}{\text{massa seca foliar}}$ (cm^2/g)

CAPÍTULO I

INTRODUÇÃO

Folhas contam histórias? Por que estudá-las?

Folhas verdes são fundamentais para o funcionamento dos ecossistemas terrestres, sendo seus pigmentos o sinal predominante visto do espaço (Wright *et al.* 2004). Apesar das diferenças marcantes entre as espécies vegetais em termos de história evolutiva, as mesmas apresentam, independentemente do bioma analisado, padrões similares de *tradeoffs* entre estrutura e função foliar e taxas de crescimento, o que sugere convergência evolutiva e certa generalidade no funcionamento das plantas (Reich *et al.* 1997, Wright *et al.* 2004).

Características foliares são comumente associadas com a história de vida, distribuição e requerimentos das espécies por recursos (Hoffmann *et al.* 2005), e o estudo das relações funcionais das plantas tem implicações significativas para a modelagem das trocas de gás carbônico vegetação-atmosfera em escala global (Reich *et al.* 1997). *A obtenção de nitrogênio, a assimilação de carbono e a decomposibilidade das folhas dirigem ciclos biogeoquímicos, sendo que animais, fungos e outros heterótrofos são abastecidos pelo fotossintato e têm seus habitats estruturados pelos caules nos quais as folhas são implantadas* (Wright *et al.* 2004).

Existe uma relação de interdependência funcional entre fotossíntese, conteúdo de nitrogênio, estrutura e longevidade foliar, sendo que espécies vegetais que apresentam elevada área foliar específica (relação área /massa foliar), elevado conteúdo de nitrogênio em base de massa foliar, alta capacidade fotossintética e curto tempo de vida foliar apresentam taxas elevadas de crescimento relativo (Reich *et al.* 1997). Tais *tradeoffs* são uma provável

consequência das estratégias de crescimento rápido vs. crescimento lento das plantas (Coley 1985).

O nitrogênio é um macronutriente essencial para o crescimento e desenvolvimento das plantas, sendo obtido pelas raízes sob a forma de NO_3^- ou NH_4^+ e conduzido para as folhas, onde passa a integrar proteínas do maquinário fotossintético, especialmente a enzima Rubisco (*ribulose bifosfato carboxilase oxigenase*) (Taiz & Zeiger 2013). Uma proporção substancial de variação na capacidade fotossintética é explicada pelo conteúdo foliar de nitrogênio, sendo que o gradiente de CO_2 no interior da folha também é afetado pela estrutura foliar (Reich 1997).

Cumprir observar que uma elevada área foliar específica, alta capacidade fotossintética e o consequente *turnover* rápido de partes vegetais permitem uma resposta mais flexível das plantas à heterogeneidade espacial de luz e de recursos do solo (Wright *et al.* 2004). Por outro lado, tal combinação de atributos morfofuncionais pressupõe concentrações de nitrogênio em base de massa elevadas e pode aumentar a vulnerabilidade à herbivoria e as perdas de carbono via respiração, o que pode ser prejudicial para a planta num cenário de baixo ganho de energia devido à disponibilidade de recursos reduzida, bem como em condições limitantes de luminosidade (Wright *et al.* 2004).

Embora a luz seja um recurso imprescindível para a fotossíntese, tanto irradiações muito baixas como muito altas podem limitar o desempenho das plantas, que tendem a diferir umas das outras em um grande número de características fisiológicas e estruturais conforme suas capacidades de tolerância ao sombreamento, tendo sido sugerido que tal tolerância depende da eficiência no ganho de carbono sob baixa luminosidade e também da tolerância a estresses que interagem com a disponibilidade luminosa (Valladares & Niinemets 2008).

Outro insumo-chave ao processo de fixação de carbono, além de luz e nitrogênio, é a água, que constitui o meio no qual nutrientes e fotoassimilados são transportados no interior da planta. Quando os estômatos estão abertos, permitindo a difusão de CO₂ para o interior da folha, inevitavelmente a planta perde água por transpiração, um importante processo de dissipação de energia e que contribui decisivamente para a regulação da temperatura foliar. Além disso, as moléculas de água são quebradas durante a fotossíntese de tal modo que o hidrogênio é incorporado a açúcares intermediários (Wright *et al.* 2003).

Estômatos consistem em pares de células epidérmicas especializadas denominadas células-guarda, com frequência reniformes e com um ostíolo entre elas, cujo tamanho é regulado por alterações em seu formato (Cutler *et al.* 2009). As células-guarda funcionam como válvulas hidráulicas multissensoriais e são sensíveis à intensidade e qualidade luminosa, temperatura, status hídrico foliar e concentração interna de CO₂, de tal modo que as condições ambientais internas e externas são percebidas de maneira integrada pelas folhas e isso desencadeia respostas estomáticas concretas, ou seja, variações na abertura do ostíolo ou fenda estomática (Taiz & Zeiger, 2013 p. 99). À medida que a pressão hidrostática foliar se altera, o par de células-guarda deforma de maneira regulada, com o auxílio de espessamento de parede especializado desuniforme (Cutler *et al.* 2009).

Nas folhas, os estômatos podem ocorrer em ambas as faces epidérmicas (folhas anfistomáticas) ou somente numa delas, na face abaxial (folhas hipostomáticas, padrão comum entre as plantas dicotiledôneas) ou adaxial (folhas epistomáticas, típicas de plantas aquáticas) (Vannucci & Rezende 2003). Existem quatro tipos mais comuns de estômatos: (i) anomocíticos (células-guarda circundadas por células muito semelhantes às demais células epidérmicas, caso em que não há células subsidiárias); (ii) anisocíticos (células-guarda circundadas por três células subsidiárias de diferentes tamanhos); (iii) paracíticos (duas

células subsidiárias cujos eixos mais longos são paralelos aos das células-guarda); (iv) diacíticos (duas células subsidiárias cujos eixos mais longos dispõem-se em ângulo reto com os eixos maiores das células-guarda) (Metcalf & Chalk 1979).

A taxa de decaimento da concentração interna de CO_2 nas folhas em relação à concentração ambiente pode ser entendida como um balanço entre condutância estomática e capacidade fotossintética (Lambers *et al.* 1998). *Quanto maior a condutância, menor o decaimento interno de CO_2 para uma dada capacidade fotossintética, e quanto maior a capacidade fotossintética, mais rápido o decaimento da concentração interna de CO_2 em relação à externa, para uma dada condutância* (Wright *et al.* 2003). Portanto, para uma determinada condutância estomática por área epidérmica foliar, devemos esperar que maiores concentrações internas de nitrogênio se traduzam num decaimento mais rápido da concentração foliar de CO_2 , e conseqüentemente numa maior capacidade fotossintética.

Taiz & Zeiger (2013) ensinam que dois tipos de resistência interferem na transpiração foliar, a *resistência da camada limítrofe de ar* e a *resistência estomática*, sendo que vários aspectos anatômicos e morfológicos foliares podem influenciar a espessura da camada limítrofe de ar ao seu redor e, deste modo, a resistência limítrofe à difusão do vapor d'água na rota transpiratória (por exemplo, quanto mais vento e menor a área foliar, menor a resistência limítrofe). Segundo os autores, sob condições de baixa resistência limítrofe, a resistência estomática controla em grande parte a perda de água e a entrada de CO_2 , evidenciando o papel crucial do controle das aberturas estomáticas pelas células-guarda sobre os ajustes de curto prazo na transpiração foliar. Para a rota de difusão do CO_2 atmosférico até o interior das folhas existe, além das resistências limítrofe e estomática, a *resistência da fase líquida*, na qual, a partir dos espaços intercelulares do mesófilo, o CO_2 se dissolve na água das paredes

celulares umedecidas e atravessa o citosol das células até alcançar os sítios de carboxilação, localizados nos cloroplastos (Taiz & Zeiger 2013).

Embora a área alocada para poros estomáticos ocupe cerca de 5% da superfície foliar total, a taxa de perda de vapor d'água pode alcançar valores tão altos como 70% de uma estrutura similar sem a cutícula (Hetherington & Woodward 2003). Desta maneira, os estômatos exercem um papel central na regulação dos balanços hídrico e de carbono nas plantas, sendo o controle da abertura estomática essencial para a capacidade de tolerância ao déficit hídrico, a qual é fundamental, por sua vez, à sobrevivência de espécies em ambientes expostos a secas sazonais. Depreende-se que o estudo de aspectos anatômicos foliares em nível celular e de tecidos tem grande utilidade para inferir adaptações a ambientes específicos (Fahn 1986 *apud* Somavilla *et al.* 2013), podendo render bons indicadores de desempenho das plantas (Poorter & Bongers 2006) devido às suas relações comuns e fortes com parâmetros funcionais como fotossíntese, conteúdo nutricional foliar e crescimento radial (Rossatto *et al.* 2009a).

Em termos globais, a precipitação anual sobre a superfície terrestre é de aproximadamente 110.000 km³ ou 110 x 10¹⁵ kg, e a evaporação e transpiração totais são de 70 x 10¹⁵ kg (Jackson *et al.* 2001). A contribuição individual da transpiração estomática com o ciclo hídrico global pode ser estimada usando um modelo dinâmico de vegetação (*Sheffield Dynamic Global Vegetation Model*, SDGVM), por meio do qual se verifica que as maiores taxas de transpiração ocorrem nas florestas tropicais, com 32 x 10¹⁵ kg.ano⁻¹ de vapor d'água passando através de estômatos, o que representa o dobro do conteúdo atmosférico de vapor d'água (Cramer *et al.* 2001). Portanto, os estômatos são os principais controles sobre os ciclos de água e carbono no mundo (Hetherington & Woodward 2003).

Ressaltamos, para além da importância dos órgãos foliares na produção de conhecimento sobre a história evolutiva e no desenvolvimento de sistemas de classificação das espécies botânicas (filotaxia), a necessidade de condução de estudos anatômicos foliares integrados a investigações ecofisiológicas vegetais, uma vez que os dados resultantes podem ser trabalhados em múltiplas escalas ecológicas e contribuir com a modelagem de trocas gasosas vegetação-atmosfera em nível ecossistêmico.

Ecofisiologia Vegetal no Cerrado, pares congênericos arbóreos e objetivos de pesquisa

O Cerrado situa-se sobre o platô central do Brasil. Trata-se de uma região de clima sazonal, alta riqueza e diversidade de espécies da flora e fauna, com solos geralmente ácidos e pobres em nutrientes e distribuída por uma área superior a 2.000.000 km² (segundo maior bioma brasileiro depois da Amazônia)¹, embora estimativas recentes indiquem que menos de 20% de sua cobertura exista em seu estado “original” (Franco & Haridasan 2008).

Ocorre em altitudes que variam de 300 a 1.600 metros e apresenta solos predominantemente latossólicos, tanto em áreas sedimentares quanto em terrenos cristalinos, ou ainda, em grandes extensões, solos concrecionários (Sano *et al.* 2008; Lopes 1984 *apud* Sano *et al.* 2008). O clima é caracterizado por invernos secos e verões chuvosos (predominantemente Aw ou tropical chuvoso, conforme o sistema de Köppen), com média anual de precipitação de 1.500 mm, variando de 750 mm a 2.000 mm, sendo as chuvas concentradas entre outubro e março (Adámoli *et al.* 1987 *apud* Sano *et al.* 2008).

A cobertura vegetal é um mosaico complexo de campos, savanas e florestas, apresentando como tipos mais proeminentes o cerrado *sensu stricto* (cerrado *s.s.*),

¹ Conforme observam Franco & Haridasan (2008), embora “bioma” seja um conceito global, muitos autores brasileiros consideram o Cerrado como um bioma por si só, contrastando com as savanas na África e Austrália.

fitofisionomia de savana altamente diversa em termos de espécies herbáceas e lenhosas, e as matas de galeria, as quais formam faixas estreitas de vegetação arbórea ao longo de córregos e contêm aproximadamente um terço das espécies lenhosas encontradas em todo o bioma (Sano *et al.* 2008).

Tais fitofisionomias conformam condições ambientais drasticamente distintas e que impõem diferentes restrições à distribuição das espécies. No cerrado *s.s.* as plantas estão sujeitas a altas irradiações, baixa disponibilidade de nutrientes, seca sazonal e a distúrbios de fogo associados à seca. Já as matas de galeria apresentam uma camada densa de dossel, o que reduz consideravelmente a entrada de irradiação solar e produz forte heterogeneidade espacial e temporal no que se refere a esse recurso, além de ocorrerem em solos com maior conteúdo de água e nutrientes em relação ao cerrado *s.s.* (Capuzzo *et al.* 2012, Franco *et al.* 2014).

Diversas pesquisas têm sido desenvolvidas no Cerrado com o intuito de estudar diferenças ecofisiológicas e adaptativas entre espécies arbóreas savânicas e florestais que ocorrem naturalmente neste bioma. Tais esforços visam à ampliação do arcabouço científico teórico e conceitual no que se refere ao conjunto de fatores abióticos e bióticos que interferem no recuo ou avanço da fitofisionomia florestal em direção à savana, contribuindo, inclusive, com a composição de cenários fitoecológicos esperados diante das mudanças climáticas globais em curso.

Estudos filogenéticos envolvendo lenhosas do Cerrado apontam que diversas linhagens de espécies de cerrado *s.s.* evoluíram independentemente a partir de linhagens florestais (matas de galeria) ao longo dos últimos 10 milhões de anos, coincidindo temporalmente com a ascensão à dominância de gramíneas C_4 inflamáveis e com a expansão das savanas em todo o mundo (Simon & Pennington 2012). Como resultado, muitos gêneros

contêm espécies características das duas fitofisionomias, permitindo o estudo comparativo de pares congêneros de espécies sujeitas a diferentes pressões seletivas (Rossatto *et al.* 2013). Alguns autores consideram as espécies savânicas que compõem estes pares como um grupo funcional distinto em relação ao grupo de espécies de mata (Hoffmann *et al.* 2005), abordagem que buscamos reforçar nesta dissertação.

Já sabemos que os referidos grupos funcionais diferem nos padrões de crescimento inicial e alocação de biomassa, com um maior investimento das espécies savânicas em estruturas subterrâneas e de resistência ao fogo e ocorrendo, por parte das espécies florestais, maior investimento em biomassa aérea, especialmente em área foliar e biomassa do caule (Capuzzo *et al.* 2012; Franco & Haridasan 2008; Hoffmann *et al.* 2005; Hoffmann *et al.* 2012; Rossatto *et al.* 2009a).

Árvores de mata de galeria e de cerrado *s.s.* contrastam fortemente, portanto, em suas respostas às condições de luminosidade (Barros *et al.* 2012), de disponibilidade de água e nutrientes no solo, sendo que espécies florestais tendem a investir mais em características relacionadas à maximização da tolerância ao sombreamento, enquanto espécies savânicas investem em traços que otimizam a tolerância à irradiação intensa, ao estresse hídrico sazonal, à herbivoria, ao fogo e à baixa disponibilidade de nutrientes (Figura 1).

Embora pouco se saiba sobre restrições a variações nas características foliares impostas por forças seletivas e pela história evolutiva durante o processo de invasão da savana por espécies florestais, supõe-se que a ecologia das espécies congêneres supramencionadas tenha um papel determinante na estruturação e na dinâmica das áreas limítrofes entre seus habitats de origem, isto é, as transições cerrado-mata de galeria (Rossatto et al. 2013).

Note-se que as pesquisas envolvendo pares congênericos no Cerrado têm sido concentradas na medição e comparação de atributos funcionais e morfológicos das folhas, dentre as quais citamos: avaliação da concentração de nutrientes foliares e isótopos estáveis de carbono e nitrogênio ($\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$) em relação à área foliar específica para 14 pares congênericos (Hoffmann *et al.* 2005); análise de diferenças morfológicas (área foliar, espessura foliar, espessura e comprimento peciolar, densidade foliar e área foliar específica) e funcionais (assimilação de CO_2 , condutância estomática, respiração, eficiência no uso da água e concentração de pigmentos fotossintéticos) para um par congênerico (Capuzzo *et al.* 2012); estudo de relações entre área foliar específica, taxas fotossintéticas e incrementos mensais na circunferência do caule, comprimento de ramos, padrões sazonais de produção e queda de folhas para 12 pares congênericos (Rossatto *et al.* 2009a); comparação de padrões sazonais em características foliares relacionados à estrutura, assimilação de carbono, água e nutrientes para 10 pares congênericos (Rossatto *et al.* 2013).

No que concerne trabalhos anatômicos, foi feita uma análise de características estomáticas em relação a valores de condutância estomática e transpiração medidos em campo para 10 pares congênericos (Rossatto *et al.* 2009b). Nesta, o autor demonstrou que, em áreas de transição cerrado-mata protegidas contra o fogo, as espécies de mata estudadas conseguem se estabelecer e produzir, em média, folhas com densidades estomáticas semelhantes às espécies de cerrado, alcançando valores estatisticamente similares entre os grupos funcionais tanto para a condutância estomática operacional² como para a assimilação média de CO_2 em base de massa³, além de padrões de sazonalidade semelhantes para essas variáveis. Por outro lado, as espécies de cerrado apresentaram médias de assimilação de CO_2 em base de área

² Exceto no mês de setembro, em que a condutância estomática foi superior para o grupo de espécies de cerrado.

³ Superior para as espécies de mata apenas em janeiro, pico da estação chuvosa.

estatisticamente superiores ao grupo de mata durante a maior parte do ano, além de estômatos maiores (comprimentos e larguras das células-guarda e áreas dos poros estomáticos maiores).

Crescimento lento

- < Área Foliar Específica
- < [Nmass] foliar
- < Capacidade Fotossintética
- > Longevidade Foliar
- > Investimento em biomassa subterrânea
- > Investimento em estruturas de proteção contra o fogo e ressecamento
- Metabólitos de defesa anti-herbivoria
- minimização do estresse por déficit hídrico

- > irradiação solar
- < disponibilidade de recursos no solo
- seca sazonal
- fogo



Crescimento rápido

- > área foliar específica
- > [Nmass] foliar
- > capacidade fotossintética
- < longevidade foliar
- > investimento em biomassa aérea
- Respostas flexíveis a pulsos de nutrientes
- Altas taxas de herbivoria
- maximização da tolerância ao sombreamento

- < irradiação solar (sombreamento)
- > disponibilidade de recursos no solo
- > disponibilidade de água



Figura 1. Esquema contendo características morfológicas, funcionais e estratégias de alocação de recursos esperadas para espécies típicas de cerrado *sensu stricto* (esquerda) e de mata de galeria (direita). Baseado nos trabalhos de Coley (1985), Franco & Haridasan (2008), Rossatto *et al.* (2009a, 2013) e Valladares & Niinemets (2008). [Nmass] = concentração de nitrogênio por massa foliar.

No mesmo ano, Franks *et al.* (2009) publicaram os resultados de um experimento que realizaram com *Eucalyptus globulus*, no qual analisaram os padrões de tamanho e densidade estomática apresentados por folhas de plântulas e rebrotas desta espécie quando plantadas em dois sítios próximos, porém diferenciados em termos de precipitação anual⁴ (gradiente de precipitação). A área de plantio, o número de indivíduos plantados e o espaçamento entre os mesmos foram padronizados, bem como a disponibilidade de nutrientes (adicionados junto a cada indivíduo a concentrações não limitantes). Os autores utilizaram equações básicas para difusão de gases através de estômatos e encontraram uma correlação negativa entre a densidade e o tamanho médio dos estômatos, o que oferece vantagens para a planta submetida a diferentes condições de disponibilidade hídrica, conferindo-lhe plasticidade nos valores máximos de condutância estomática de dióxido de carbono e vapor d'água⁵ com alterações mínimas na alocação epidérmica para estômatos, considerando que a faixa de variação de espaço epidérmico alocado para estas células especializadas costuma ser restrita pelo componente filogenético.

Adicionalmente, Franks *et al.* (2009) observaram: (i) uma correlação negativa entre o tamanho dos estômatos e o percentual de nitrogênio foliar no sítio de maior pluviosidade, i.e., uma tendência de que plântulas e rebrotas estabelecidas sob condições menos limitantes de disponibilidade hídrica desenvolvessem folhas com estômatos menores e maior concentração de nitrogênio (%); (ii) correlação positiva entre a densidade de estômatos e o conteúdo foliar de nitrogênio sob alta e baixa pluviosidade; (iii) correlação negativa entre condutância estomática máxima de vapor d'água e o tamanho dos estômatos sob baixa pluviosidade; (iv) correlação

⁴ Experimento realizado no sudoeste da Austrália, região de clima sazonal que tipicamente apresenta invernos frios e úmidos e verões quentes e secos.

⁵ Considerando condutância estomática máxima aquela alcançada quando a planta encontra condições ótimas para a realização da fotossíntese em termos de disponibilidade hídrica, luminosa e de nutrientes.

positiva significativa entre condutância estomática máxima e a densidade de estômatos sob alta e baixa pluviosidade, com coeficiente de determinação maior sob baixa pluviosidade.

A presente dissertação consiste num esforço de aprofundar e conectar os resultados encontrados por Rossatto *et al.* (2009b) às conclusões pós-experimentais de Franks *et al.* (2009), tendo como objetivo a verificação das relações entre o tamanho e densidade de estômatos, a condutância estomática máxima calculada (teórica) e o conteúdo foliar de nitrogênio e carbono em base de área para oito pares congêneros de espécies de cerrado *s.s.* e de mata de galeria, pertencentes a sete famílias botânicas distintas, as quais foram amostradas em áreas transicionais entre as duas fitofisionomias.

Sublinhamos que, diferentemente de Franks *et al.* (2009), que observaram alterações nos padrões estomáticos e suas relações com a condutância estomática e conteúdo foliar de nitrogênio para uma única espécie ao longo de um gradiente hídrico, aqui investigamos tais padrões em pares de espécies crescendo sob as mesmas condições ambientais de precipitação e disponibilidade de nutrientes, sendo metade delas tipicamente encontradas nas matas de galeria, e a outra metade, composta por suas respectivas congêneres, típica de cerrado *s.s.* Consideramos que, nessas áreas de transição, as espécies de mata de galeria estariam relativamente mais limitadas em termos de disponibilidade hídrica e de nutrientes, em comparação com as espécies de cerrado (adaptadas à baixa disponibilidade de nutrientes e possivelmente dotadas de sistemas radiculares mais profundos).

Outro ponto importante é que os pares de espécies selecionados não são exatamente os mesmos que aqueles estudados por Rossatto *et al.* (2009b), havendo correspondência entre cinco gêneros, porém apenas um par congênico idêntico (*Vochysia thyrsoidea* e *Vochysia tucanorum*),

sendo que para a família Vochysiaceae investigamos um segundo par de espécies, pertencente ao gênero *Qualea*.

As hipóteses testadas são que, em áreas de transição cerrado *s.s.*-mata de galeria, (i) as espécies de cerrado devem apresentar estômatos maiores e densidades estomáticas estatisticamente similares ao grupo de mata, confirmando os padrões encontrados por Rossatto et al. (2009b), o que deve se traduzir em uma alocação epidérmica para estômatos maior para as espécies de cerrado e em médias de condutância estomática máxima calculada superiores; (ii) haverá diferenciação entre espécies de cerrado e de mata ao relacionar as médias de condutância máxima de cada grupo com o conteúdo de nitrogênio e carbono por área foliar.

MATERIAIS E MÉTODOS

Área de estudo e seleção dos pares congênericos

As coletas foram realizadas no Distrito Federal, nas áreas contíguas da Fazenda Água Limpa – FAL/UnB e da Reserva Ecológica do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (Recor-IBGE)⁶. A Reserva tem sede entre as coordenadas geográficas 15° 56' S e 47° 52' W, situa-se na cota altimétrica de 1100 metros e dista 26 quilômetros da cidade de Brasília, no sentido Sul.

A cobertura vegetal na região é composta por um mosaico de fitofisionomias de Cerrado, abrangendo formações savânicas (campo limpo, campo sujo, cerrado *sensu stricto*), florestais (cerradão e mata de galeria) e algumas áreas de transição savana-floresta, onde foram realizadas as coletas. A precipitação anual média para o período de 2005-2014 foi 1363.8 mm, sendo que os dados pluviométricos de 2015 e 2016 registrados pela estação meteorológica local não foram disponibilizados (Figura 2).

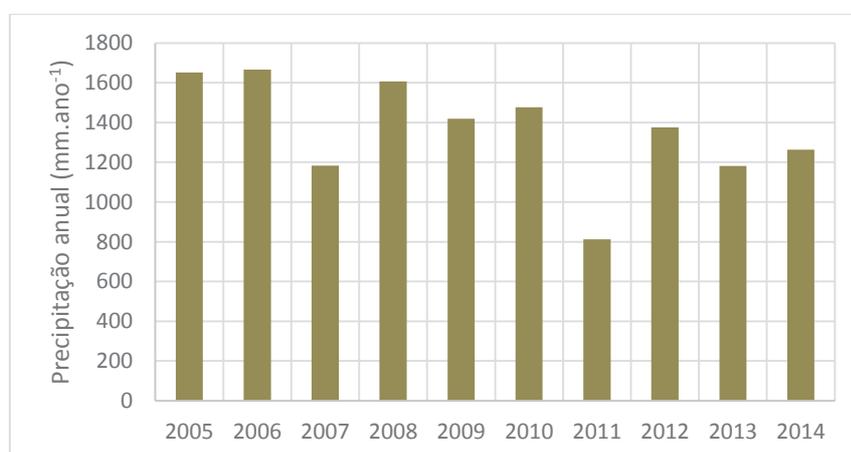


Figura 2. Precipitação anual na região de estudo para o período de 2005-2014. Gráfico baseado nas planilhas de dados pluviométricos disponibilizadas *on line* pela Recor-IBGE (<http://www.recor.org.br>).

⁶ Área especialmente protegida que possui 1300 hectares de extensão, integrando parcialmente a Área de Proteção Ambiental (APA) *Gama Cabeça-de-Veados* e consistindo em área-núcleo da *Reserva da Biosfera do Cerrado*.

Os pares congêneros de espécies de mata e de cerrado que potencialmente poderiam ser encontrados na área de estudo foram selecionados mediante consulta a guias de campo regionais para identificação botânica de espécies arbóreas, os quais possuem chaves de identificação baseadas em filotaxia (Silva-Júnior 2012, Silva-Júnior & Pereira 2009; Kuhlmann 2012) e ao inventário botânico da Recor-IBGE (Pereira *et al.* 2004). De posse da lista de espécies possíveis, foram realizadas as saídas de campo entre fevereiro e abril de 2016 (do meio para o final da estação chuvosa) e, conforme constatada a presença de pares e do número necessário de indivíduos por espécie, efetuamos as coletas e o georreferenciamento de suas localizações (Tabela 1).

Tabela 1. Lista de espécies estudadas e suas famílias botânicas, fitofisionomias típicas de ocorrência, data e local das coletas.

Espécies	Família	Fitofisionomia	Coletas	Local
<i>Byrsonima verbascifolia</i> (L.) DC.	Malpighiaceae	Cerrado	24/02/2016	FAL-UnB
<i>Byrsonima laxiflora</i> Griseb.	Malpighiaceae	Mata	25/02/2016	FAL-UnB
<i>Guapira noxia</i> Netto (Lundell)	Nyctaginaceae	Cerrado	25/02/2016	Recor-IBGE
<i>Guapira graciliflora</i> (Mart. ex Schmidt)	Nyctaginaceae	Mata	25/02/2016	Recor-IBGE
<i>Hymenaea stigonocarpa</i> Mart. ex Hayne	Fabaceae-Caesalpinoideae	Cerrado	20/04/2016	Recor-IBGE
<i>Hymenaea courbaril</i> L.	Fabaceae-Caesalpinoideae	Mata	20/04/2016	Recor-IBGE
<i>Pouteria ramiflora</i> (Mart.) Radlk.	Sapotaceae	Cerrado	20/04/2016	Recor-IBGE
<i>Pouteria torta</i> (Mart.) Radlk.	Sapotaceae	Mata	20/04/2016	Recor-IBGE
<i>Qualea parviflora</i> Mart.	Vochysiaceae	Cerrado	24/02/2016	FAL-UnB
<i>Qualea dichotoma</i> (Warm.) Staf.	Vochysiaceae	Mata	24/02/2016	FAL-UnB
<i>Tabebuia chrysotricha</i> Mart. ex DC.	Bignoniaceae	Cerrado	20/04/2016	FAL-UnB
<i>Tabebuia impetiginosa</i> Standl.	Bignoniaceae	Mata	20/04/2016	Recor-IBGE
<i>Vochysia thyrsoidea</i> Pohl.	Vochysiaceae	Cerrado	24/02/2016	FAL-UnB
<i>Vochysia tucanorum</i> Mart.	Vochysiaceae	Mata	25/02/2016	Recor-IBGE
<i>Xylopia aromática</i> (Lam.) Mart.	Annonaceae	Cerrado	24/02/2016	FAL-UnB
<i>Xylopia brasiliensis</i> Spreng.	Annonaceae	Mata	20/04/2016	Recor-IBGE

Coleta das amostras para análises anatômicas, morfológicas e nutricionais

No campo, três indivíduos por espécie foram identificados e georreferenciados, totalizando 48 indivíduos de 16 espécies. Visando a padronização metodológica, foram coletadas folhas de sol, isto é, mais expostas à luminosidade na maior parte do dia, completamente expandidas, sem sinais de senescência ou danos, as quais foram selecionadas entre o segundo e quarto nós de cada ramo.

O material foi armazenado em sacos plásticos transparentes, dentro dos quais colocamos um pouco de água para manter as folhas úmidas. Os sacos foram etiquetados e identificados, sendo que coletamos, adicionalmente, dois ramos foliares de cada indivíduo para a posterior confecção e depósito de exsecatas no Herbário da Universidade de Brasília e no Herbário da Reserva Ecológica do Roncador (RECOR-IBGE). As coletas foram efetuadas levando em consideração o número de folhas necessárias para as análises estatísticas, sendo coletadas cinco folhas por indivíduo para as análises dos complexos estomáticos (seções paradérmicas) e outras 10 folhas para determinar a concentração foliar de nitrogênio e carbono e a área foliar específica⁷. As três análises requisitaram, portanto, 15 folhas por indivíduo, totalizando 720 folhas.

⁷ É fundamental considerar, no planejamento das atividades, a duração das atividades em campo e a quantidade máxima de material a ser coletado por dia, já que após as coletas o material fresco precisa ser organizado no laboratório o quanto antes e conforme a metodologia de cada análise. Também é recomendável coletar um número um pouco maior de folhas do que o tamanho amostral definido para cada procedimento, uma vez que, havendo perdas de material, torna-se necessário voltar ao campo e realizar nova coleta (dependendo da época do ano e da espécie, no caso do Cerrado, pode não haver folhas).

Obtenção das epidermes, análise dos complexos estomáticos e cálculo das condutâncias estomáticas máximas

Para as análises dos complexos estomáticos, foram adotadas técnicas usuais em anatomia vegetal (Johansen 1940). Extraímos fragmentos medianos de cada folha fresca, incluindo a nervura central, e os mesmos foram fixados em FAA 70% (formaldeído 37%, 50 mL; etanol a 70%, 50 mL; ácido acético glacial, 900 mL) por 24-48 horas, sendo em seguida armazenados em álcool 50% para posterior análise. Os fragmentos foram armazenados em frascos de vidro identificados com etiquetas conforme a espécie e indivíduo a que pertenciam.

O método utilizado para a extração das epidermes foi o de maceração de tecidos com a solução ácida de Franklin (ácido acético glacial e peróxido de hidrogênio, em proporção 1:1), a qual digere o mesofilo das folhas e permite a dissociação e obtenção das epidermes adaxial e abaxial. As amostras foliares foram retiradas do álcool 50%, reidratadas em água destilada, cortadas em fragmentos de aproximadamente 1cm² e então embebidas na referida solução, em pequenos frascos de vidro identificados por espécie e indivíduo e cobertos com papel alumínio, os quais foram levados à estufa a 60°C por 3 a 5 dias (tempo variável conforme a espécie). Conforme o material adquiria aspecto esbranquiçado e mole, identificava-se o momento de seguir à próxima etapa do procedimento, que consiste em retirá-lo da solução de Franklin e lavá-lo em água destilada, separando os fragmentos foliares por indivíduo em diferentes placas de Petri⁸ e removendo cuidadosamente os mesofilos com auxílio de dois pinceis chatos nº 815-02.

⁸ Nessa fase também é importante adequar o tempo disponível em laboratório à quantidade de material a ser processada por dia. Nesse estudo, considerando a necessidade de ter cinco seções epidérmicas examináveis por indivíduo (considerando que nem todas as lâminas microscópicas ficam suficientemente boas para o registro fotográfico e análise dos parâmetros estomáticos), montamos cinco lâminas por indivíduo contendo duas seções epidérmicas de folhas diferentes do mesmo indivíduo. Num período de 8-9 horas seguidas de trabalho em laboratório, era possível montar 30 lâminas, isto é, aprontar o material anatômico referente a duas espécies por dia. É importante atentar para este ponto porque, iniciado o processo, sua interrupção pode resultar em perdas de material que podem comprometer o trabalho.

Em seguida, para cada indivíduo, procedemos com a imersão das folhas em álcool 30 ou 40% e coloração em solução de safranina 1%, submetendo-as posteriormente a uma sequência crescente de concentrações de álcool etílico (50%, 70%, 90%, 100%, permanecendo entre 3 minutos em cada etapa e 5 minutos na última, a qual é realizada duas vezes), visando garantir uma boa infiltração, considerando que o meio de montagem de lâminas adotado foi o Verniz Vitral incolor 500® (alcoólico). Entre a sequência de desidratação alcoólica e a montagem das lâminas, as epidermes foram submetidas a uma bateria de imersão em álcool e acetato de butila, seguindo a sequência de concentrações de 3:1, 1:1, 1:3 e acetato puro.

Logo após a montagem, as lâminas foram dispostas em local seguro para secarem à temperatura ambiente, e após secas, armazenadas em caixas apropriadas. As análises e fotografias das lâminas foram realizadas por meio de um microscópio óptico *Leica* DM750 acoplado a uma câmera digital *Leica* ICC50 HD, sendo o equipamento disponibilizado pelo Laboratório de Fisiologia do Estresse em Plantas, vinculado ao Departamento de Botânica da Universidade de Brasília (UnB). O *software* utilizado para o registro fotográfico, a determinação do comprimento e largura das células-guarda foi o *Leica Application Suite* (LAS EZ) versão 3.2.1, e para a determinação da densidade estomática, o AnatiQuanti versão 2.0, disponibilizado gratuitamente pelo Laboratório de Anatomia Vegetal da Universidade Federal de Viçosa.

As medidas estomáticas foram tomadas sob a amplificação microscópica de 40x, tendo sido medidos 20 complexos estomáticos (pares de células-guarda) por folha, sendo 5 estômatos por campo de visão, quatro campos de visão por folha, cinco folhas por indivíduo e três indivíduos por espécie, totalizando 960 campos de visão (micrografias) de 336 x 252 μm ($\sim 0,0085\text{mm}^2$) e 4800 complexos estomáticos medidos. A densidade estomática foi calculada, para cada indivíduo, como

Outra informação importante é que, no caso de retirar amostras foliares da solução de Franklin e não poder processá-las imediatamente, elas podem ser rearmazenadas em álcool 50%.

a média do número de estômatos contados nos mesmos campos de visão registrados anteriormente, e posteriormente foram estimadas as densidades, comprimentos e largura estomáticos médios por espécie (n=3 indivíduos por espécie) e por grupo funcional (n=8 espécies por grupo funcional). Os parâmetros medidos foram comprimento da célula-guarda (“L” em μm), largura do par de células-guarda (“W”, em μm), tamanho do estômato (“S”, estimado como $S = L * W$, conforme a metodologia de Franks *et al.* 2009 e Franks *et al.* 2012) e área máxima do poro estomático (“ a_{max} ”, em μm^2). A área máxima do poro estomático foi calculada como $a_{\text{max}} = \alpha * S$, sendo $\alpha=0.12$, conforme Franks & Beerling (2009).

A condutância estomática máxima de vapor d’água (“ g_{wmax} ”, em $\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) foi estimada como $g_{\text{wmax}} = \frac{(d \times D \times a_{\text{max}})}{v \times \left(l + \frac{\pi}{2} \times \sqrt{\frac{a_{\text{max}}}{\pi}} \right)}$, sendo “d” a difusividade da molécula de água no ar ($2.57 \times 10^{-5} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$), “D” a densidade estomática (nº de estômatos por m^2), “ a_{max} ” a área máxima do poro estomático (m^2), “v” o volume molar do ar ($0.022413968 \text{ m}^3 \text{ mol}^{-1}$) e “l” a profundidade do poro estomático (em metros, aproximada como a metade da largura da célula-guarda, $W/2$, e equivalendo ao raio da circunferência para células-guarda totalmente infladas), conforme Franks *et al.* (2009, 2012). A condutância estomática máxima de CO_2 , “ g_{cmax} ”, foi calculada como $g_{\text{wmax}}/1.6$ (Farquhar & Sharkey 1982 *apud* Franks *et al.* 2009). Por fim, a alocação epidérmica para estômatos foi calculada por meio do Índice de Área do Poro Estomático (Stomatal Pore Area Index, SPI), sendo $\text{SPI} = L^2 * D$.

Área Foliar Específica

As medições de área foliar específica foram realizadas previamente à análise de carbono e nitrogênio, com as mesmas folhas. Para determinação da razão média entre a área e a massa seca foliar, foram extraídos, com auxílio de um furador metálico de 4 mm de raio, dois discos circulares por folha, um de cada lado do limbo, com área padronizada (área do disco = πr^2), sempre na região

central das folhas. Cada folha e seus respectivos discos foram secos em estufa a 60°C, por três dias, passando pela posterior pesagem em balança de precisão ($\pm 0.001\text{g}$). Em seguida, calculamos a razão entre a área padrão do disco e a massa seca média dos discos extraídos por folha, obtendo posteriormente as médias individuais e a área foliar específica média por espécie (“SLA”, em cm^2/g) e por grupo funcional (mata ou cerrado).

Análises de nitrogênio e carbono

As folhas coletadas para a determinação do conteúdo de nitrogênio e carbono por área foliar (10 folhas por indivíduo, 3 indivíduos por espécie) passaram pelo processo de secagem na estufa a 60°C por 3 dias, e posterior moagem em moinho microvibratório (FRITSCH *Analysette 3 SPARTAN Pulverisette 0*), até que adquirissem granulação bem fina, o que no caso de algumas espécies demorou cerca de 1,5 hora por indivíduo. Em seguida, preparamos as amostras combinadas de cada indivíduo, embrulhando-as em folhas metálicas de tamanho e massa padronizados, e realizamos a pesagem individual em balança de precisão, a qual é acoplada ao microcomputador que processa os dados gerados pelo analisador de carbono e nitrogênio por combustão (Leco CN 628). Preparadas as amostras e registradas as suas respectivas massas e ordem de medição, prosseguimos com a inserção das mesmas no Analisador de CN e à geração dos dados de concentração desses elementos.

Análises Estatísticas

O software R Studio versão 1.0.44 foi usado para todas as análises estatísticas. Realizamos o teste de normalidade de Shapiro-Wilk para todas as variáveis medidas ou calculadas *a posteriori*. Os efeitos do gênero (componente filogenético) e do habitat de origem típico ou grupo funcional (cerrado ou mata) sobre a variação nos parâmetros estomáticos e morfofisiológicos foram determinados por meio de Análise Multivariada de Variância (MANOVA Two Way) para todas as

espécies e variáveis simultaneamente, após a qual procedemos com Análises Univariadas de Variância (ANOVAs Two Way) a fim de testar os efeitos individuais de cada variável, também considerando os efeitos de gênero (fator aleatório), grupo (fator fixo) e a interação entre ambos.

Para testar diferenças entre as médias de cada variável para cada um dos pares congêneros de mata e de cerrado, realizamos testes t pareados. Por fim, com o objetivo de estimar linhas alométricas de melhor ajuste para as relações bivariadas entre os parâmetros medidos e/ou calculados, procedemos com Análises de Eixo Principal Padronizado (*Standardised Major Axis Estimation and Testing Routines*, SMATRs) acompanhadas de testes para verificação de diferenças de inclinação (*slopes*) entre os grupos funcionais. Diferentemente da técnica de regressão linear simples, que estima uma variável a partir da outra, as SMAs estimam uma linha de melhor ajuste aos dados, de modo que a relação não se altera caso os eixos sejam invertidos (Warton *et al.* 2012).

Em todas as análises, diferenças foram consideradas significativas quando $P < 0.05$.

RESULTADOS

À exceção de *Hymenaea stigonocarpa*⁹, que apresentou estômatos em ambas as faces epidérmicas foliares (maior densidade na face abaxial), as demais espécies apresentaram folhas hipostomáticas e estômatos anomocíticos ou paracíticos (Figuras 3-4). O comprimento da célula-guarda (L) variou entre 17 e 43 μm , com médias de 28 e 21 μm para espécies de cerrado e de mata, respectivamente. A largura do par de células-guarda (W) variou entre 12 e 27 μm , com médias de 20 μm (cerrado) e 15 μm (mata). O tamanho estomático ($S = L * W$) variou de 228 a 1201 μm^2 , com médias de 616 μm^2 (cerrado) e 343 μm^2 (mata). A densidade estomática (D) apresentou valores entre 124 e 632 estômatos por mm^2 , com médias de 373 (cerrado) e 360 estômatos por mm^2 (mata) (Tabela 2). A espécie *Guapira noxia* (cerrado) apresentou os maiores valores de L, W e S, e a menor densidade estomática, enquanto as espécies de mata apresentaram os menores valores de L (*Hymenaea courbaril*), W (*Xylopia brasiliensis*) e S (*Byrsonima laxiflora*) e o maior valor observado para D (*H. courbaril*) (ANEXO).

Em média, as espécies de cerrado estudadas apresentaram valores mais elevados para o tamanho estomático (S), condutância estomática máxima de vapor d'água ($g_{w\text{max}}$) e índice de área do poro estomático (SPI) em relação às espécies de mata ($P < 0.05$), ao passo que a densidade estomática foi estatisticamente similar entre os dois grupos (Tabela 2, Figuras 5-6). As espécies de mata apresentaram maior área foliar específica em relação às espécies de cerrado ($P < 0.05$), sendo que para as concentrações de nitrogênio (N) e carbono (C) por área foliar, não encontramos diferenças estatisticamente significativas entre os grupos (Tabela 2, Figura 7).

⁹ *Hymenaea stigonocarpa*, popularmente conhecida como jatobá-do-cerrado, foi a única espécie que apresentou estômatos em ambas as faces epidérmicas foliares. Neste trabalho, consideramos apenas a face abaxial das folhas. A densidade estomática da face adaxial de *H. stigonocarpa* não foi calculada neste trabalho, importando salientar que é notoriamente menor em relação à face abaxial. Trabalhando com a mesma espécie e na mesma região de estudo, Rossato *et al.* (2009b) encontraram uma razão média de $7,47 \pm 2,28$ (média \pm desvio padrão) estômatos na face abaxial em relação à adaxial.

MANOVA - O resultado da Análise Multivariada de Variância indicou variação significativa nos parâmetros estomáticos, na condutância estomática máxima de vapor d'água calculada, na concentração foliar de nitrogênio e carbono em base de área e na área foliar específica analisados conjuntamente, tanto para o fator grupo funcional ($F = 9.59$, $P < 0.001$), como para gênero ($F = 3.65$, $P < 0.001$) e para a interação grupo x gênero ($F = 6.98$, $P < 0.001$, Tabela 3).

Tabela 2. Amplitudes e médias por grupo para os dados de comprimento da célula-guarda (L), largura do par de células-guarda (W), tamanho estomático (S), densidade estomática (D), condutância estomática máxima de vapor d'água (g_{wmax}), índice de área do poro estomático (SPI), área foliar específica (SLA), concentração de carbono (C) e nitrogênio (N) por área foliar. Diferenças significativas entre grupos indicadas por asteriscos (***) para $P < 0.0001$, ** para $P < 0.001$, * para $P < 0.05$.

Parâmetro	Amplitude	Cerrado	Mata
L (μm)***	$17 \leq L \leq 43$	28.97 ± 7.01	21.94 ± 3.70
W (μm)***	$12 \leq W \leq 43$	20.57 ± 3.83	15.25 ± 3.25
S (μm^2)***	$228 \leq S \leq 1201$	616.83 ± 275.04	343.54 ± 128.76
D (mm^{-2})	$124 \leq D \leq 632$	373.34 ± 159.52	360.50 ± 135.0
g_{wmax} ($\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$) *	$0.75 \leq g_{wmax} \leq 2.61$	1.63 ± 0.6	1.25 ± 0.52
SPI***	$0.06 \leq \text{SPI} \leq 0.39$	0.20 ± 0.09	0.13 ± 0.08
SLA ($\text{cm}^2 \text{g}^{-1}$)***	$45 \leq \text{SLA} \leq 136$	66.0 ± 11.56	89.69 ± 25.08
N ($\mu\text{g} \cdot \text{mm}^{-2}$)	$0.91 \leq N \leq 3.82$	1.85 ± 0.84	1.89 ± 0.89
C ($\mu\text{g} \cdot \text{mm}^{-2}$)	$45 \leq C \leq 54$	50.38 ± 3.22	49.43 ± 3.48

Tabela 3. Análise Multivariada de Variância (MANOVA) para efeitos de grupo funcional (mata/cerrado) e gênero, incluindo a interação grupo x gênero. Diferenças significativas apontadas por asteriscos (***) quando $P < 0.0001$, ** quando $P < 0.001$, * quando $P < 0.05$.

Fonte de Variação	Df	F-value	P-value
Grupo Funcional	1	9.5919	< 0.0001 ***
Gênero	7	3.6527	< 0.001 **
Grupo Funcional x Gênero	7	6.982	< 0.0001 ***

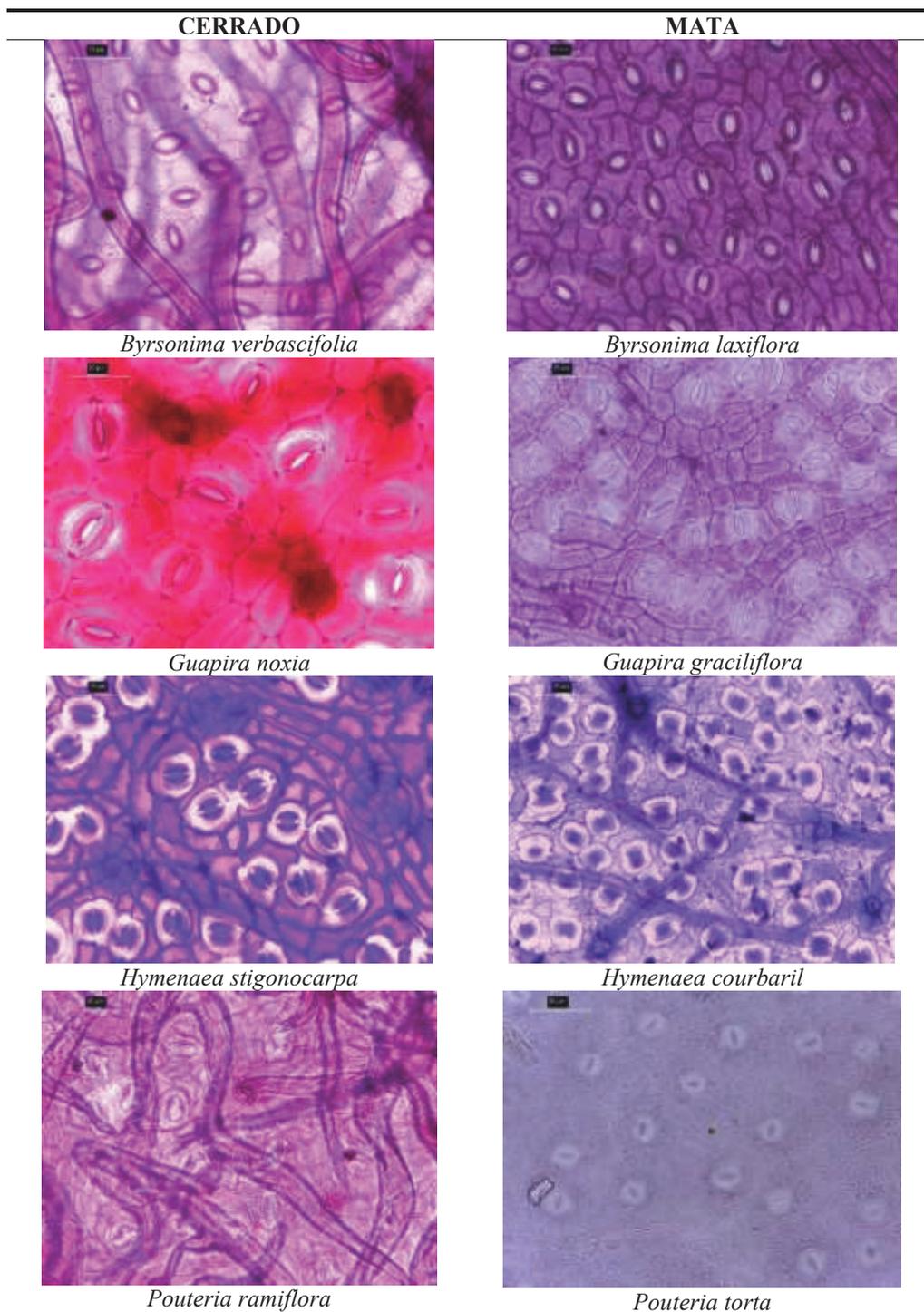


Figura 3. Micrografias das epidermes foliares abaxiais das espécies, organizadas por pares congêneros e por grupo. Para *Byrsonima*, *Guapira*, *Hymenaea* e *Pouteria*, as espécies de cerrado apresentaram estômatos maiores em relação as espécies de mata ($P < 0.05$). Densidades estomáticas semelhantes entre espécies de cerrado e mata para *Byrsonima* e *Pouteria*, e maiores para espécies de mata em *Guapira* e *Hymenaea* ($P < 0.05$). Barra de escala = 50 μm .

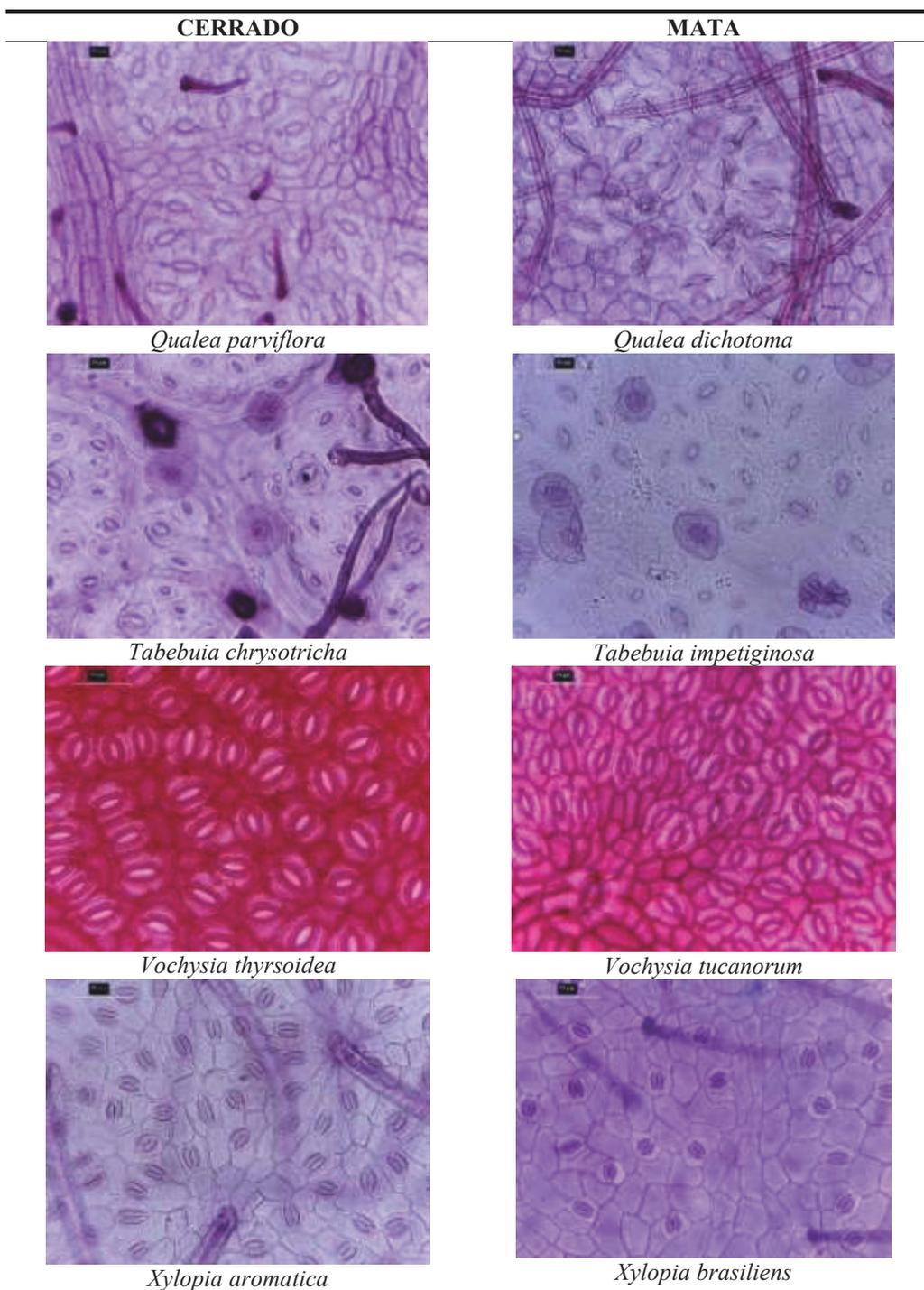
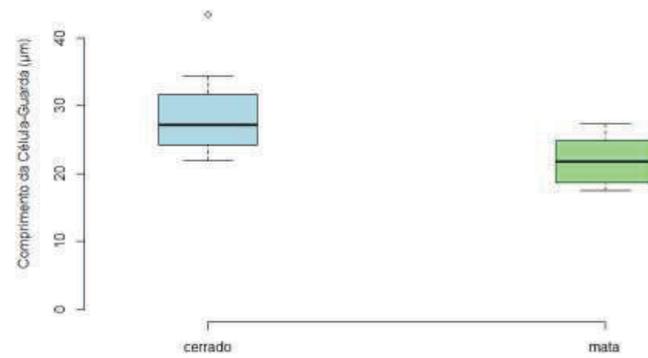
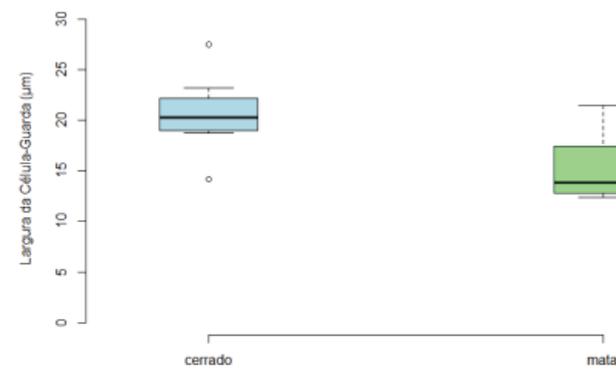


Figura 4. Micrografias das epidermes foliares abaxiais das espécies, organizadas por pares congêneros e por grupo, para os gêneros *Qualea*, *Tabebuia*, *Vochysia* e *Xylopia*. Para *Qualea*, a espécie de cerrado apresentou maior densidade estomática e tamanho estomático similar à espécie de mata ($P < 0.05$). Para *Tabebuia* e *Vochysia*, as espécies de cerrado e mata apresentaram tamanhos e densidades estomáticas similares ($P < 0.05$). Para *Xylopia*, a espécie de cerrado apresentou maior tamanho e maior densidade em relação à congênera de mata ($P < 0.05$). Barra de escala = 50 μm .

A



B



C

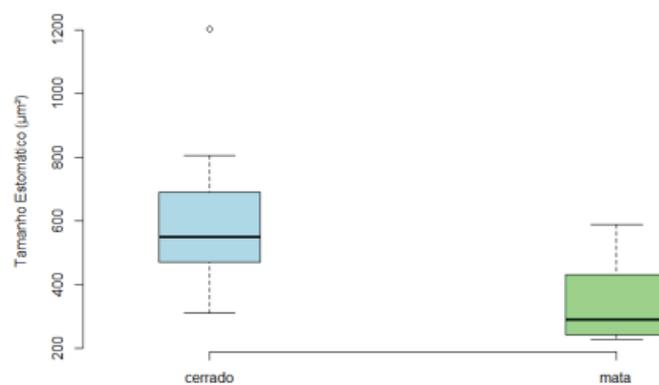
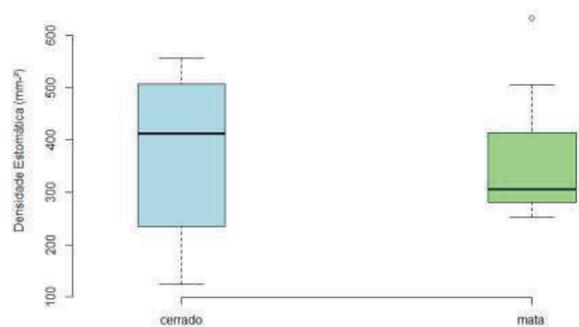
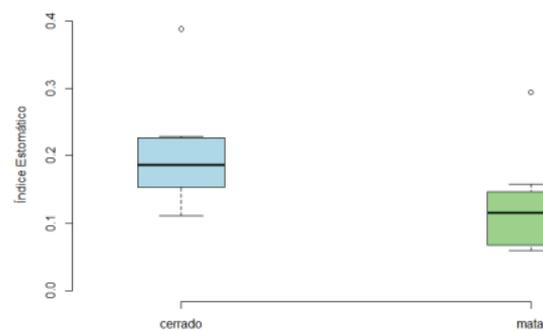


Figura 5. Amplitude de variação no comprimento da célula-guarda (A), largura do par de células-guarda (B) e tamanho estomático (C) para os conjuntos de espécies de cerrado e de mata. Em todos os gráficos, o *outlier* superior entre as espécies de cerrado corresponde a *Guapira noxia*, e em (B) o *outlier* inferior corresponde a *Xylopia aromatica*. Diferenças estatisticamente significativas entre os grupos foram encontradas para todos os parâmetros ($P < 0.05$).

A



B



C

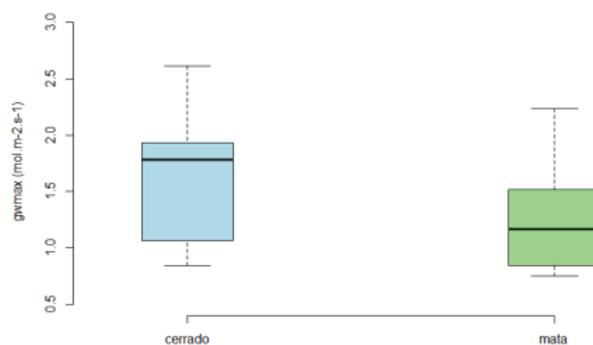
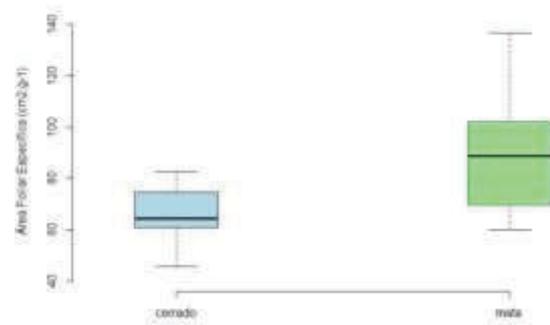
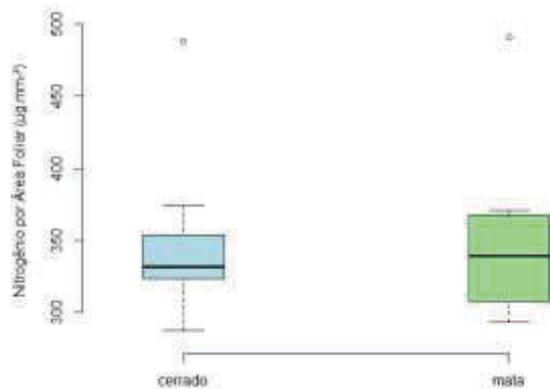


Figura 6. Amplitude de variação na densidade estomática (A), índice de área do poro estomático (B) e condutância máxima de vapor d'água (C) para espécies de cerrado e de mata. Em (A), o *outlier* superior das entre as espécies de mata corresponde a *Hymenaea courbaril*. Os *outliers* superiores para o índice estomático correspondem a *Vochysia thyrsoidea* (cerrado) e *Vochysia tucanorum* (mata). Diferenças estatisticamente significativas entre grupos foram encontradas apenas para o índice de área do poro estomático e a condutância estomática máxima, “g_{wmax}” ($P < 0.05$).

A



B



C

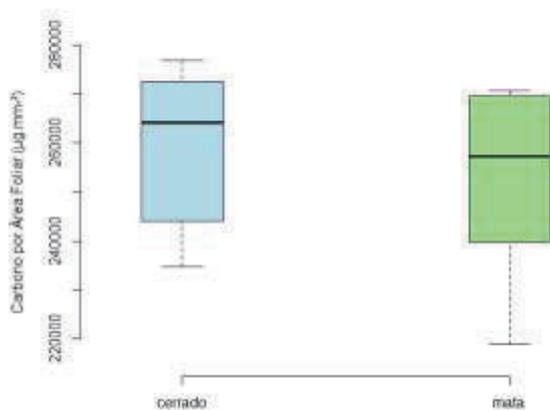


Figura 7. Amplitude de variação na área foliar específica (A), concentração de nitrogênio por área foliar (B) e concentração de carbono por área foliar (C) para espécies de cerrado e de mata. Os *outliers* superiores para a concentração de nitrogênio por área foliar correspondem a *Guapira noxia* (cerrado) e *Guapira graciliflora* (mata). Diferenças estatisticamente significativas entre grupos foram encontradas apenas para a área foliar específica ($P < 0.05$).

ANOVAs FATORIAIS - Os resultados das Análises Univariadas de Variância apontaram contribuição individual significativa, em termos de grupo, gênero e da interação entre ambos, do comprimento e largura médios da célula-guarda (L e W, respectivamente), tamanho do estômato (S), área máxima do poro estomático (a_{max}), condutância estomática máxima de vapor d'água (g_{wmax}), índice de área do poro estomático (SPI) e área foliar específica (SLA). As concentrações foliares de nitrogênio (N) e carbono (C) por área foliar e a densidade estomática também contribuíram significativamente com o resultado considerando o fator gênero e a interação grupo x gênero, não tendo sido significativas apenas quando analisadas para o fator grupo funcional isoladamente (Tabela 4).

TESTES T PAREADOS - A interação grupo x gênero ficou evidente quando examinamos os pares congêneros individualmente. Os testes pareados para verificação de diferenças entre as espécies que compõem cada par congênico indicaram que os tamanhos estomáticos foram maiores para as espécies típicas de cerrado (*Byrsonima*, *Guapira*, *Hymenaea*, *Pouteria* e *Xylopia*) ou similares entre espécies de cerrado e mata (*Qualea*, *Tabebuia* e *Vochysia*). A densidade estomática foi similar para quatro pares congêneros (*Byrsonima*, *Pouteria*, *Tabebuia* e *Vochysia*), maior para espécies de cerrado no caso de *Qualea* e *Xylopia* e maior para espécies de mata em *Guapira* e *Hymenaea* (Tabela 5 e ANEXO).

O índice de área do poro estomático, medida parcial de alocação epidérmica para estômatos uma vez que combina o comprimento da célula-guarda e a densidade estomática ($SPI = L^2 * D$), foi maior para as espécies de cerrado no caso de três pares congêneros (*Byrsonima*, *Qualea* e *Xylopia*) ou similar para os outros cinco pares (*Guapira*, *Hymenaea*, *Pouteria*, *Tabebuia* e *Vochysia*) (Tabela 5 e ANEXO).

Tabela 4. Análises univariadas de variância (ANOVAs fatoriais) para cada variável estudada, considerando os fatores grupo funcional, gênero e a interação grupo x gênero. Diferenças significativas apontadas por asteriscos (***) para $P < 0.0001$, ** para $P < 0.001$, * para $P < 0.05$).

Fonte de Variação	Df	F-value	P-value
<i>Grupo Funcional</i>			
L (μm)	1	19.717	< 0.0001 ***
W (μm)	1	23.869	< 0.0001 ***
D (mm^{-2})	1	0.1564	0.6944
S (μm^2)	1	18.966	< 0.0001 ***
a_{max} (μm^2)	1	18.966	< 0.0001 ***
g_{wmax} ($\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$)	1	5.5337	0.0229 *
SPI	1	13.037	0.0008 ***
SLA (cm^2g^{-1})	1	16.088	0.0002 ***
N ($\mu\text{g}\cdot\text{mm}^{-2}$)	1	0.0196	0.8894
C ($\mu\text{g}\cdot\text{mm}^{-2}$)	1	1.5296	0.2224
<i>Gênero</i>			
L (μm)	7	4.438	0.001 ***
W (μm)	7	3.5718	0.0044 **
D (mm^{-2})	7	4.0851	0.0018 **
S (μm^2)	7	3.7723	0.0031 **
a_{max} (μm^2)	7	3.7723	0.0031 **
g_{wmax} ($\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$)	7	8.4948	< 0.0001 ***
SPI	7	10.367	< 0.0001 ***
SLA (cm^2g^{-1})	7	3.301	0.0073 **
N ($\mu\text{g}\cdot\text{mm}^{-2}$)	7	52.013	< 0.0001 ***
C ($\mu\text{g}\cdot\text{mm}^{-2}$)	7	36.55	< 0.0001 ***
<i>Grupo Funcional x Gênero</i>			
L (μm)	7	38.124	< 0.0001 ***
W (μm)	7	18.542	< 0.0001 ***
D (mm^{-2})	7	51.0034	< 0.0001 ***
S (μm^2)	7	30.937	< 0.0001 ***
a_{max} (μm^2)	7	30.937	< 0.0001 ***
g_{wmax} ($\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$)	7	22.214	< 0.0001 ***
SPI	7	5.2531	0.0004 ***
SLA (cm^2g^{-1})	7	9.1357	< 0.0001 ***
N ($\mu\text{g}\cdot\text{mm}^{-2}$)	7	8.1309	< 0.0001 ***
C ($\mu\text{g}\cdot\text{mm}^{-2}$)	7	2.6522	0.0278 *

A condutância estomática máxima de vapor d'água (g_{wmax}), por sua vez, aparentemente acompanhou o resultado do índice de área do poro estomático (SPI) e da densidade estomática. Sempre que SPI foi maior para uma espécie do par congenérico, a g_{wmax} da mesma foi maior, e sempre que SPI foi similar entre as espécies de um par, quem apresentou o maior valor de g_{wmax} foi a espécie com maior densidade estomática (Tabela 5 e ANEXO).

As duas situações relatadas em que espécies de mata apresentaram densidades estomáticas maiores – o que lhes rendeu índices de área do poro estomático similares às congêneres de cerrado – foram também as únicas em que g_{wmax} foi maior para espécies de mata (*Guapira* e *Hymenaea*). O gênero *Guapira* chamou atenção nesse aspecto, uma vez que a espécie de cerrado (*G. noxia*) apresentou, em média, estômatos 4 vezes maiores, enquanto a espécie de mata (*G. graciliflora*) apresentou densidade estomática 3 vezes superior, sendo que ambas não diferiram significativamente no índice de área do poro estomático e a espécie de mata apresentou maior g_{wmax} . Isso sugere uma relação positiva forte entre densidade estomática e g_{wmax} , bem como entre SPI e g_{wmax} . Adicionalmente, e contrariando as expectativas, g_{wmax} foi similar entre espécies típicas de cerrado e de mata para três pares congenéricos: *Pouteria ramiflora* e *P. torta*, *Tabebuia chrysotricha* e *T. impetiginosa*, *Vochysia thyrsoidea* e *V. tucanorum*.

Os testes pareados para verificação de diferenças nos conteúdos de nitrogênio e carbono por área foliar só retornaram resultados significativos para *Vochysia* (maior conteúdo de N na espécie de mata, *V. tucanorum*) e *Xylopia* (maior conteúdo de carbono na espécie de cerrado, *X. aromatica*).

Tabela 5. Resumo dos resultados apontados pelos testes t pareados para tamanho estomático (S), densidade estomática (D), índice de área do poro estomático (SPI) e condutância estomática máxima teórica (g_{wmax}). Resultados indicados por “Maior” e “Menor” indicam diferença estatisticamente significativa, para cada parâmetro ($P < 0.05$), entre as espécies de cerrado comparadas às de mata de cada par congênico. Os resultados condizentes com as hipóteses do trabalho foram destacados em verde, e os diferentes do esperado em vermelho.

Gênero	Grupo	S	D	SPI	g_{wmax}
<i>Byrsonima verbascifolia</i> <i>Byrsonima laxiflora</i>	CERRADO MATA	MAIOR	SIMILAR	MAIOR	MAIOR
<i>Guapira noxia</i> <i>Guapira graciliflora</i>	CERRADO MATA	MAIOR	Menor	Similar	Menor
<i>Hymenaea stigonocarpa</i> <i>Hymenaea courbaril</i>	CERRADO MATA	MAIOR	Menor	Similar	Menor
<i>Pouteria ramiflora</i> <i>Pouteria torta</i>	CERRADO MATA	MAIOR	SIMILAR	Similar	Similar
<i>Qualea parviflora</i> <i>Qualea dichotoma</i>	CERRADO MATA	Similar	Maior	MAIOR	MAIOR
<i>Tabebuia chrysotricha</i> <i>Tabebuia impetiginosa</i>	CERRADO MATA	Similar	SIMILAR	Similar	Similar
<i>Vochysia thyrsoidea</i> <i>Vochysia tucanorum</i>	CERRADO MATA	Similar	SIMILAR	Similar	Similar
<i>Xylopia aromatica</i> <i>Xylopia brasiliensis</i>	CERRADO MATA	MAIOR	Maior	MAIOR	MAIOR

ANÁLISES DE EIXO PRINCIPAL PADRONIZADO (SMATRs) – A densidade estomática e o índice de área do poro estomático (SPI) correlacionaram-se forte e positivamente com a condutância estomática máxima de vapor d'água (g_{wmax}) (Figuras 8-9). Para a relação entre a densidade estomática e o conteúdo de nitrogênio por área foliar, as SMAs não retornaram valores significativos em termos de grupo funcional ($R^2 = 0.003$, $P = 0.90$ para espécies de cerrado, $R^2 = 0.17$, $P = 0.36$ para espécies mata) e para as espécies tomadas em conjunto ($R^2 = 0.04$, $P = 0.51$) (Figura 10 A-B). Isto faz sentido uma vez que, considerando o fator gênero, o conteúdo de nitrogênio pouco variou entre as espécies de cada par e a densidade foi, como visto, similar para metade dos pares congêneros estudados, enquanto em termos de grupos funcionais as médias foram similares para ambas as variáveis.

Já o tamanho estomático (S) correlacionou-se negativamente com o conteúdo de nitrogênio por área foliar para as espécies de cerrado ($R^2 = 0.87$, $P = 0.002$). Para as espécies de mata, este padrão não ocorreu ($R^2 = 0.002$, $P = 0.92$), tampouco para as espécies tomadas em conjunto ($R^2 = 0.11$, $P = 0.23$) (Figura 10 C-D). Além disso, não encontramos correlação significativa entre a condutância estomática máxima de vapor d'água (g_{wmax}) e a concentração de nitrogênio por área foliar (Figura 11).

Para espécies de cerrado, D tende a diminuir com aumento de S ($R^2 = 0.51$, $P = 0.04$), enquanto para espécies de mata não ocorreu esse padrão ($R^2 = 0.07$, $P = 0.53$), tampouco para as espécies tomadas em conjunto ($R^2 = 0.09$, $P = 0.25$) (Figura 12).

Por fim, encontramos correlação positiva significativa entre a área foliar específica e a concentração de nitrogênio por área foliar para as espécies de cerrado ($R^2 = 0.59$, $P = 0.04$) e para as espécies tomadas em conjunto ($R^2 = 0.43$, $P = 0.01$) (Figura 13 A-B).

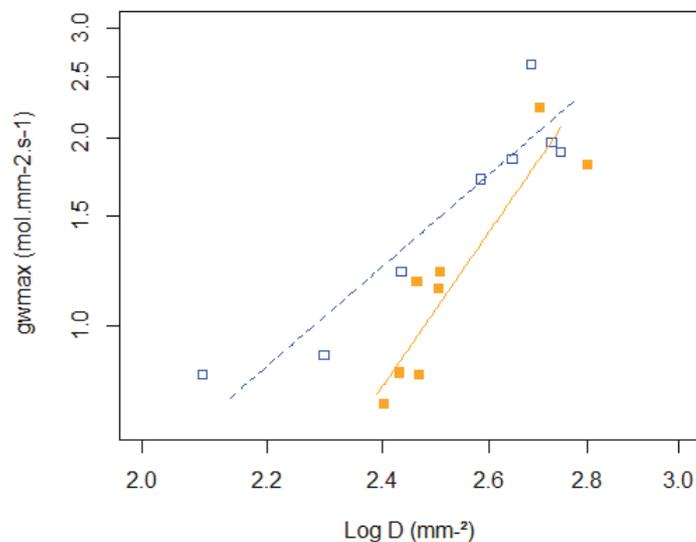


Figura 8. Relação entre densidade estomática (D) e condutância estomática máxima de vapor d'água, g_{wmax} . Cada ponto corresponde a uma espécie. Espécies de cerrado em azul ($R^2 = 0.87$, $P < 0.0001$) e de mata em laranja ($R^2 = 0.81$, $P = 0.002$). A comparação entre as linhas alométricas dos grupos não apontou diferenças significativas entre inclinações (*slopes*) das retas (*likelihood ratio statistic* = 3.022, $df = 1$, $P = 0.08$).

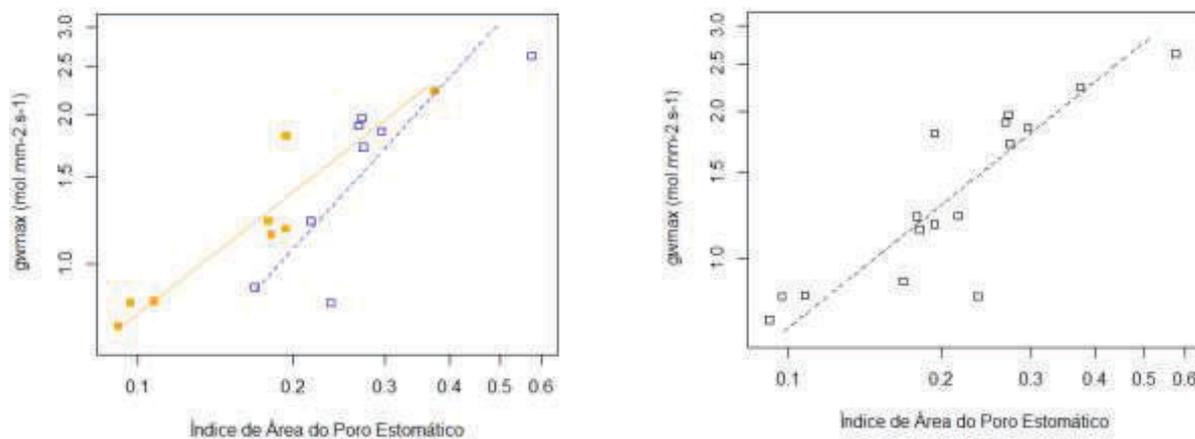


Figura 9. Relação entre o índice de área do poro estomático, SPI, e condutância estomática máxima de vapor d'água, g_{wmax} . Cada ponto corresponde a uma espécie. Espécies de cerrado em azul ($R^2 = 0.65$, $P = 0.01$) e de mata em laranja ($R^2 = 0.88$, $P = 0.001$). À direita, espécies tomadas em conjunto ($R^2 = 0.75$, $P < 0.0001$). A comparação entre as linhas alométricas dos grupos não apontou diferenças significativas entre inclinações (*slopes*) das retas (*likelihood ratio statistic* = 1.257, $df = 1$, $P = 0.26$).

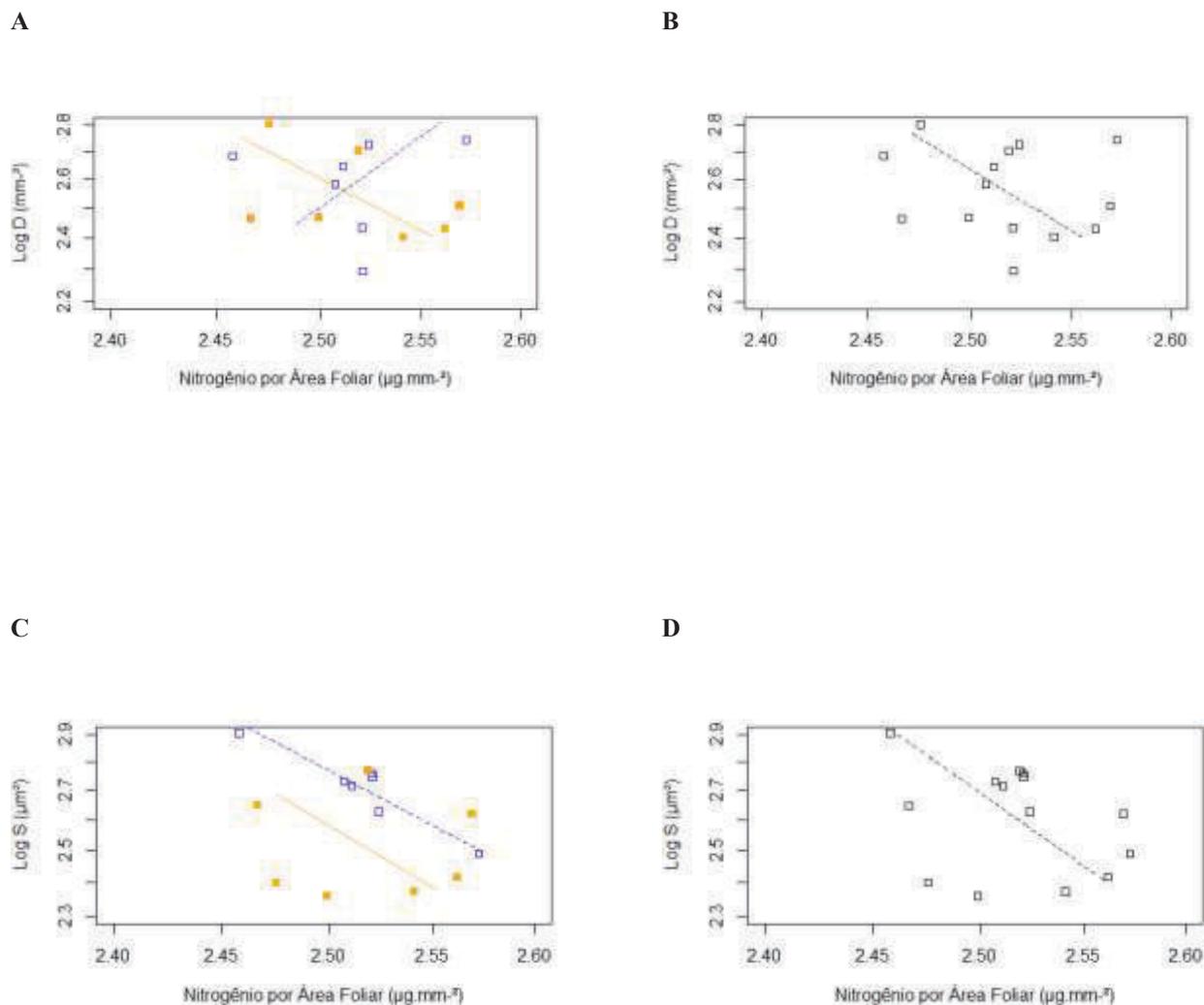


Figura 10. (A) Relação entre densidade estomática, “D”, e a concentração de nitrogênio por área foliar, por grupos funcionais ($R^2 = 0.003$, $P = 0.90$ para espécies de cerrado e $R^2 = 0.17$, $P = 0.36$ para mata) e (B) para as espécies tomadas em conjunto ($R^2 = 0.04$, $P = 0.51$). A comparação entre as linhas alométricas dos grupos não apontou diferenças significativas entre inclinações (*slopes*) das retas (*likelihood ratio statistic* = 0.1923, $df=1$, $P = 0.66$). (C) Relação entre o tamanho estomático, “S”, e concentração de nitrogênio por área foliar, por grupos funcionais (**$R^2=0.87$, $P = 0.002$ para espécies de cerrado** e $R^2 = 0.001$, $P = 0.96$ para espécies de mata) e (D) para o conjunto de espécies ($R^2 = 0.10$, $P = 0.26$). A comparação entre as linhas alométricas dos grupos não apontou diferenças significativas entre inclinações (*slopes*) das retas (*likelihood ratio statistic* = 0.05245, $df=1$, $P = 0.82$). Espécies de cerrado em azul e de mata em laranja. Cada ponto corresponde a uma espécie, sendo que as espécies *Guapira noxia* e *G. graciliflora* foram excluídas da análise em razão de apresentarem concentrações médias deste elemento por área foliar muito díspares em relação ao conjunto de dados (*outliers*).

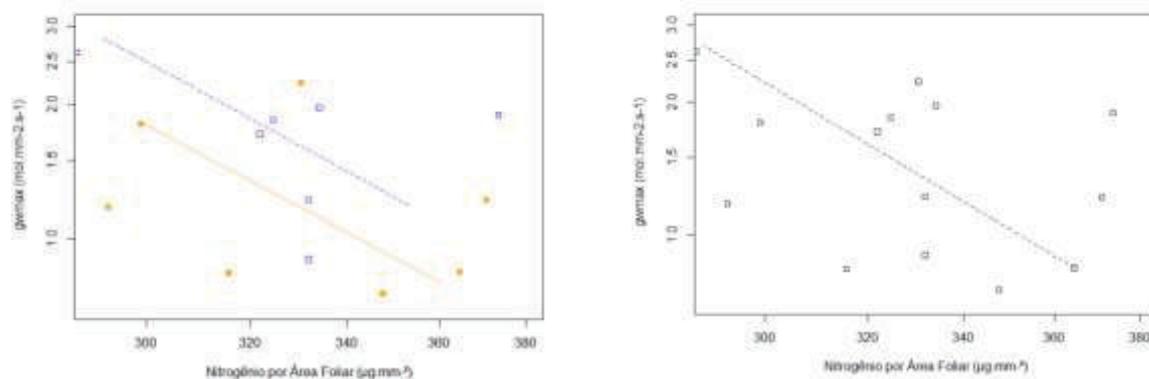


Figura 11. Relação entre condutância estomática máxima de vapor d'água (g_{wmax}) e concentração foliar de nitrogênio em base de área por grupos funcionais ($R^2 = 0.10$, $P = 0.48$ para espécies de cerrado e $R^2 = 0.12$, $P = 0.45$ para mata) e para as espécies tomadas em conjunto ($R^2=0.10$, $p=0.27$). Cada ponto corresponde a uma espécie, sendo que as espécies *Guapira noxia* e *G. gracilifora* foram excluídas da análise em razão de apresentarem concentrações médias deste elemento por área foliar muito díspares em relação ao conjunto de dados (*outliers*). A comparação entre as linhas alométricas dos grupos não apontou diferenças significativas entre inclinações (*slopes*) das retas (*likelihood ratio statistic* = 0.0054, $df=1$, $p= 0.94$). Espécies de cerrado em azul e de mata em laranja.

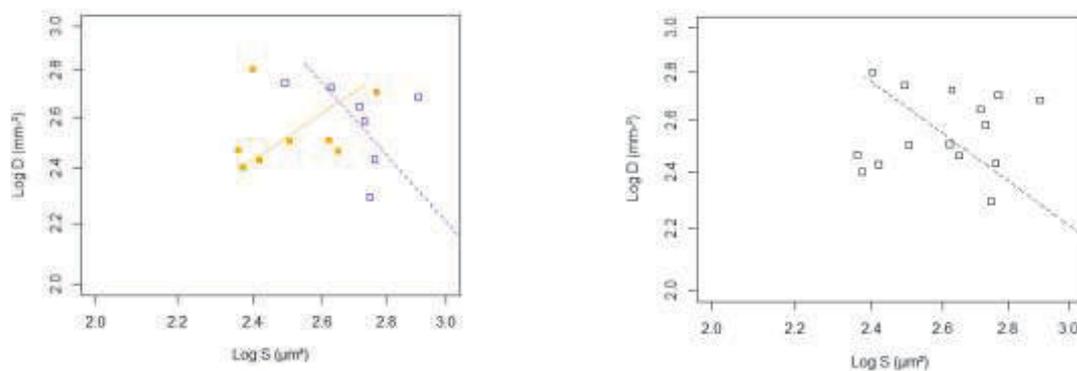
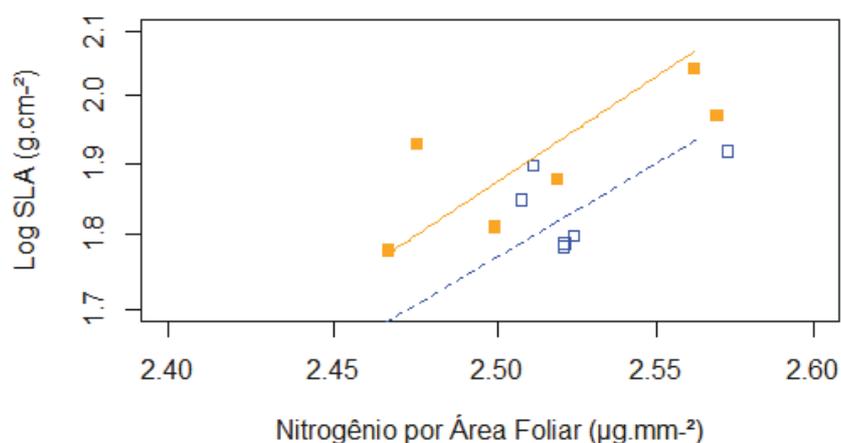


Figura 12. Relação entre densidade (D) e tamanho (S) dos estômatos, para espécies de cerrado ($R^2 = 0.51$, $P = 0.04$) e mata ($R^2 = 0.07$, $P = 0.53$) à esquerda e para as o conjunto de espécies à direita ($R^2 = 0.09$, $P = 0.25$). Cada ponto corresponde a uma espécie. A comparação entre as linhas alométricas dos grupos não apontou diferenças significativas entre inclinações (*slopes*) das retas (*likelihood ratio statistic* = 0.4732, $df=1$, $P = 0.49$). Espécies de cerrado em azul e de mata em laranja.

A



B

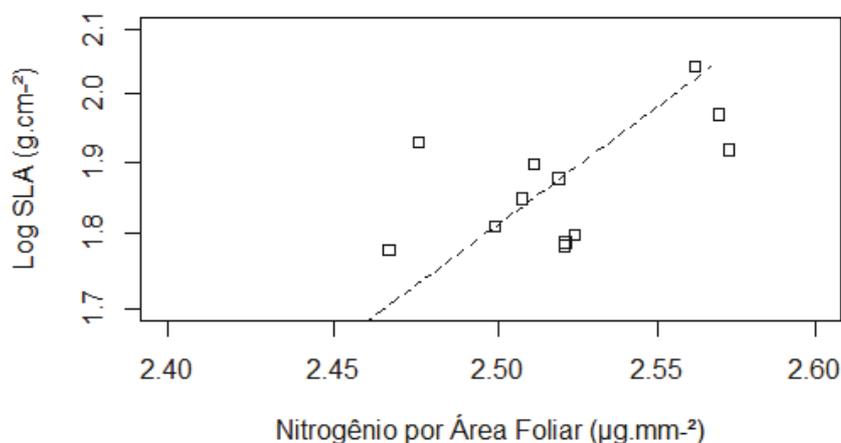


Figura 13. Relação entre área foliar específica (SLA) e concentração nitrogênio por área foliar para **(A)** espécies de cerrado ($R^2 = 0.63$, $P = 0.03$) e de mata ($R^2 = 0.50$, $P = 0.07$) e **(B)** para o conjunto de espécies ($R^2 = 0.43$, $P = 0.01$). Espécies de cerrado em azul e de mata em laranja. Cada ponto corresponde a uma espécie, sendo que as espécies *Guapira noxia* e *G. gracilifora* foram excluídas da análise em razão de apresentarem concentrações médias deste elemento por área foliar muito díspares em relação ao conjunto de dados (*outliers*). A comparação entre as linhas alométricas dos grupos não apontou diferenças significativas entre inclinações (*slopes*) das retas (*likelihood ratio statistic* = 0.07103, $df=1$, $P = 0.79$).

DISCUSSÃO

Constatamos, em termos de médias por grupos funcionais, que as espécies de cerrado estudadas apresentam estômatos maiores e densidades estomáticas estatisticamente similares ao grupo de mata, confirmando os padrões encontrados por Rossatto *et al.* (2009b). Deste padrão resulta, aparentemente, uma maior alocação de área epidérmica foliar para estômatos em espécies de cerrado (uma vez que apresentam, em média, maiores índices de área do poro estomático), bem como maiores condutâncias máximas de vapor d'água calculadas (g_{wmax}) ou, como o parâmetro vem sendo chamado, maior g_{smax} anatômico, o qual pode ser calculado tanto em termos de vapor d'água como de dióxido de carbono (Dow *et al.* 2014).

Entretanto, os resultados obtidos para os pares congêneros indicam que a abordagem de médias por grupo funcional (neste caso, por grupos compostos por espécies típicas de cerrado e de mata amostradas numa mesma área transicional entre tais fitofisionomias), pode não ser apropriada se usada isoladamente, uma vez que dentre os oito pares congêneros estudados, cinco apresentaram valores estatisticamente similares da medida parcial de alocação epidérmica para estômatos (*Guapira*, *Hymenaea*, *Pouteria*, *Tabebuia* e *Vochysia*), três apresentaram g_{wmax} similares (*Pouteria*, *Tabebuia* e *Vochysia*), dois apresentaram maior g_{wmax} para espécies de mata (*Guapira* e *Hymenaea*) e apenas três apresentaram maior g_{wmax} para espécies de cerrado (*Byrsonima*, *Qualea* e *Xylopia*).

Em nenhuma situação, o tamanho dos estômatos (S) e o índice de área do poro estomático (SPI) foram superiores para as espécies de mata, mas sempre que os valores de SPI foram similares dentro dos pares, independentemente de haver diferenças em S (quando ocorreram, os valores foram maiores para o cerrado), a espécie com maior densidade estomática apresentou valores de g_{wmax} maiores. Supomos, deste modo, que para um valor

fixo de SPI e uma combinação variável de densidades e tamanhos estomáticos, a densidade deverá exercer um peso maior sobre a determinação de g_{wmax} do que o comprimento da célula-guarda.

Conforme observado por Rossatto *et al.* (2009b), “*As características estomáticas tendem a ser mais similares entre espécies de uma mesma família do que entre espécies de famílias distintas crescendo num mesmo ambiente. Desta maneira, a variação entre as espécies dos dois ambientes [cerrado e mata de galeria] nos valores de condutância estomática [operacional] parece ser um produto da história evolutiva de cada taxa e não o resultado de uma especialização ao ambiente de cerrado ou de mata de galeria*”. Em nosso trabalho, os dois pares congêneros pertencentes à família Vochysiaceae (gêneros *Vochysia* e *Qualea*) ilustram bem a observação dos referidos autores. No par *Vochysia thyrsoidea* (cerrado) e *V. tucanorum* (mata), as espécies não diferiram significativamente em termos de índice de área do poro estomático (SPI) e g_{wmax} , mas apresentaram valores para estas variáveis muito superiores em relação ao conjunto total de espécies. Por outro lado, *Qualea parviflora* (cerrado) apresentou valores de SPI e g_{wmax} significativamente maiores em relação a *Q. dichotoma* (mata).

O fato de termos encontrado resultados tão diferentes para dois pares congêneros pertencentes ao mesmo táxon reforça a ideia de que a alocação de epiderme foliar para estômatos e a condutância estomática máxima são mais influenciadas pelo componente filogenético (em nível de gênero e de espécie) do que propriamente o resultado de convergência evolutiva e diferenciação de estratégias adaptativas de múltiplos táxons às condições específicas de cerrado ou mata.

O trabalho de Rossatto *et al.* (2009b), no qual os autores avaliaram características estomáticas para dez pares congêneros na mesma região, contém cinco gêneros em comum com o presente estudo (*Byrsonima*, *Guapira*, *Hymenaea*, *Tabebuia* e *Vochysia*) e apresenta dados de condutâncias estomáticas medidas em campo durante a estação chuvosa de 2006. Isto permitiu-nos comparar, ainda que superficialmente, os valores encontrados para a condutância operacional (g_s) e a condutância teórica (g_{wmax}) para cinco gêneros, além de estimar os valores condutância teórica para as espécies estudadas por Rossatto *et al.* (2009b), aos quais nos referimos como “ g_{wmax} lit” (Tabela 6).

Tabela 6. Comparação entre condutâncias operacionais (g_s) e teóricas (g_{wmax}) para os gêneros em comum entre este trabalho e Rossatto *et al.* (2009b), sendo “ g_{wmax} lit” a condutância teórica calculada com base neste último. Diferenças estatisticamente significativas entre espécies de mata e de cerrado, em cada um dos trabalhos, encontram-se destacadas em negrito.

	Cerrado			Mata		
	g_s	g_{wmax} lit	g_{wmax}	g_s	g_{wmax} lit	g_{wmax}
<i>Byrsonima</i>	0.097	1.27	1.720	0.20	1.46	0.84
<i>Guapira</i>	0.068	0.93	0.84	0.164	0.64	1.15
<i>Hymenaea</i>	0.165	1.57	1.22	0.098	2.28	1.81
<i>Tabebuia</i>	0.140	1.30	1.97	0.106	1.13	1.22
<i>Vochysia</i>	0.107	2.28	2.62	0.203	2.13	2.23

Verificamos, com isso, que para os gêneros citados acima g_{wmax} é sempre bastante superior a g_s para espécies de cerrado e de mata. Por outro lado, os valores de condutância teórica de nosso trabalho e os calculados com base na literatura (g_{wmax} lit) foram mais próximos entre si, sendo que as espécies de cerrado dos gêneros *Guapira*, *Hymenaea* e

Vochysia, bem como as espécies de mata dos gêneros *Byrsonima* e *Tabebuia*, foram as mesmas nos dois trabalhos.

Rossatto *et al.* (2013) realizaram um estudo sobre variações sazonais em parâmetros morfológicos, fisiológicos e nutricionais foliares medidos com os mesmos pares que Rossatto *et al.* (2009b). Neste, demonstraram que (i) existe variação significativa na condutância estomática operacional de vapor d'água (g_s) das espécies entre as épocas de seca e chuva, sendo os valores de g_s maiores na época chuvosa; (ii) as médias de condutância estomática operacional de vapor d'água (g_s) foram similares entre grupos funcionais (cerrado e mata) durante a estação chuvosa, oscilando na faixa de 0.14 a 0.16 mol.m⁻².s⁻¹, mas diferiram entre os grupos no final da estação seca (setembro), oscilando em torno de 0.05 mol.m⁻².s⁻¹ para espécies de mata (agosto e setembro) e, para espécies de cerrado, entre 0.07 e 0.085 mol.m⁻².s⁻¹ (agosto e setembro, respectivamente); (iii) nos meses finais da estação seca (agosto e setembro) e no final da estação chuvosa (março), as espécies de cerrado apresentaram taxas de assimilação de carbono em base de área significativamente superiores.

Note-se que os valores medidos em campo por Rossatto *et al.* (2009b, 2013) estão muito abaixo das estimativas teóricas de g_{wmax} que calculamos, sendo que as médias que encontramos para espécies de cerrado e de mata foram, respectivamente, 1.63 mol.m⁻².s⁻¹ e 1.25 mol.m⁻².s⁻¹, valores que se assemelham aos encontrados por Franks *et al.* (2009) para *Eucalyptus globulus* no sudoeste da Austrália. Nesse último, os autores verificaram padrões de plasticidade do complexo estomático para uma única espécie em resposta a um gradiente ambiental de precipitação e calcularam valores médios para g_{wmax} de 1.66 mol.m⁻².s⁻¹ (sítio mais chuvoso) e 1.25 mol.m⁻².s⁻¹ (sítio menos chuvoso).

Considerando que não trabalhamos ao longo de um gradiente ambiental, mas com espécies de mata e cerrado crescendo na mesma área de transição e supondo que, em termos adaptativos, as espécies de mata estariam mais sujeitas ao déficit hídrico que suas congêneres de cerrado, não surpreende que as espécies de cerrado tenham apresentado, em média, valores maiores de condutância teórica, muito embora, como vimos, essa relação não seja tão simples quando analisamos os resultados específicos para cada par congênico.

A verificação das relações entre a condutância estomática teórica, g_{wmax} , e o conteúdo de nitrogênio por área foliar, bem como entre densidade e tamanho dos estômatos, ambas demonstradas por Franks *et al.* (2009), ficou um pouco prejudicada considerando que trabalhamos com um conjunto de espécies filogeneticamente diversificado e que não houve diferença significativa entre as concentrações de nitrogênio em termos de pares congênicos ou grupos funcionais, exceto para *Vochysia* (o único gênero em que, por outro lado, não encontramos diferença significativa para nenhum dos parâmetros estomáticos analisados). Adicionalmente, os autores encontraram essas relações para uma alocação fixa de estômatos por área epidérmica foliar, o que também não se adequa ao presente conjunto de dados. Isso não significa, contudo, que a relação nitrogênio por área foliar vs. g_{wmax} não exista, mas que para melhor investigá-la precisaríamos garantir a inclusão de um número maior de pares e que resultasse em uma maior faixa de variação nos valores de condutância e de nitrogênio para cada espécie.

Dow *et al.* (2014) realizaram um experimento em que mediram condutâncias estomáticas operacionais (g_s) em seis genótipos de *Arabidopsis thaliana* resultantes de mutações ou de atividade transgênica no desenvolvimento de estômatos, os quais possuem diferentes perfis de g_{wmax} anatômico (g_{wmax} para vapor d'água ou g_{cmax} para CO_2). Os autores concluíram que g_{wmax} é um preditor acurado da condutância operacional sob condições de

trocas gasosas que maximizam a abertura estomática (alta intensidade luminosa, baixa concentração de CO₂ e alta umidade relativa), sendo que plantas com diferentes g_{smax} anatômicos apresentaram respostas quantitativamente similares ao aumento na concentração de CO₂ quando a condutância operacional foi escalada com a estimada teoricamente.

O referido grupo de pesquisa produziu e testou um modelo empírico derivado da equação de Ball-Woodrow-Berry, a qual estima a condutância estomática operacional como uma função de g_{wmax} anatômico, da umidade relativa e concentração de dióxido de carbono na folha, “(...) *demonstrando a ligação precisa entre desenvolvimento estomático e a fisiologia foliar e gerando a possibilidade de quantificar acuradamente o fluxo de gases através de folhas sob regimes de concentração atmosférica de dióxido de carbono passados, presentes e futuros*”.

Os valores médios para g_{smax} variaram entre 0.45 mol.m⁻².s⁻¹ (genótipo que desenvolveu menores valores para densidade e tamanho estomáticos) e 2.13 mol.m⁻².s⁻¹ (genótipo que desenvolveu maiores valores para densidade e tamanho estomáticos) (Dow *et al.* 2014). Todavia, testar esse modelo no contexto de pares congêneros de espécies de cerrado e mata seria um desafio experimental, considerando que no ambiente de cerrado e áreas transicionais cerrado-mata as espécies operam sob forte regulação estomática.

Conforme Franks *et al.* (2009), apesar de diferentes combinações de tamanho (S) e densidade estomática (D) renderem, em diversas situações, valores similares de condutância teórica, quando g_{wmax} é alterada dentro da zona de plasticidade fenotípica da espécie em resposta a fatores ambientais ou internos (*i.e.* chuva, disponibilidade de nitrogênio), isso é feito através de uma relação negativa entre S e D, na qual S diminui com o aumento de D. A observação é consistente com a relação geral reportada por Franks & Beerling (2009) ao

longo de múltiplas espécies e escalas temporais, sugerindo uma interrelação fundamental entre S e D que governa as adaptações em curto prazo (plásticas) e longo prazo (evolutivas) de g_{wmax} (e g_{cmax}) ao ambiente.

Para os autores, uma explicação para essa relação consiste na melhoria da economia de alocação espacial na superfície foliar para estômatos. Considerando uma alocação epidérmica fixa para estômatos, apesar das vantagens potenciais de estômatos menores e mais numerosos (maior g_{wmax} e desempenho dinâmico aprimorado), a relação negativa entre S e D implica um custo associado a números maiores de estômatos menores, e a reversão para estômatos maiores e menos numerosos pode ser uma estratégia melhor para condições em que uma menor g_{wmax} seja suficiente (Franks *et al.* 2009). Em nosso trabalho, conseguimos verificar esta relação negativa entre S e D apenas para o conjunto de espécies típicas de cerrado, embora seja necessário salientar, mais uma vez, que a relação não foi analisada em nível de espécie ao longo de um gradiente ambiental.

Apesar de termos encontrado diferenças significativas entre as estimativas de g_{wmax} para cinco dos oito pares congêneros de espécies estudados, não pudemos ter clareza das estratégias evolutivas em termos de grupos funcionalmente diferenciados, uma vez que três gêneros apresentaram maior g_{wmax} para espécies de cerrado e dois para espécies de mata. É possível que exista correlação entre g_{wmax} e g_s , sendo g_s função da interação entre o complexo estomático, de características das espécies e fatores ambientais. A análise comparativa de padrões estomáticos das espécies típicas de mata em seu ambiente “original” e em áreas de transição cerrado-mata poderia ajudar na elucidação deste tópico e, adicionalmente, na verificação da relação entre g_{wmax} e o conteúdo de nitrogênio por área foliar ao longo de um gradiente ambiental de disponibilidade hídrica e de nutrientes.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Barros, F. D. V., Goulart, M. F., Telles, S. B. S., Lovato, M. B., Valladares, F., & de Lemos-Filho, J. P. (2012). Phenotypic plasticity to light of two congeneric trees from contrasting habitats: Brazilian Atlantic Forest versus cerrado (savanna). *Plant Biology (Stuttgart, Germany)*, *14*(1), 208–15. <http://doi.org/10.1111/j.1438-8677.2011.00474.x>
- Berry, J. A., Beerling, D. J., & Franks, P. J. (2010). Stomata: key players in the earth system, past and present. *Current Opinion in Plant Biology*, *13*(3), 232-239.
- Caldas, L. S., Bravo, C., Piccolo, H., Faria, C. R. S. M., Botânica, D. De, Biológicas, I. D. C., & Brasilia, U. De. (1992). Measurement of leaf area with a hand-scanner linked to a microcomputer. *Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal* *1*, *4*(1), 17–20.
- Capuzzo, J. P., Rossatto, D. R., & Franco, A. C. (2012). Differences in morphological and physiological leaf characteristics between *Tabebuia aurea* and *T. impetiginosa* is related to their typical habitats of occurrence. *Acta Botanica Brasilica* *26*(3), 519–526.
- Coley, P. D., Bryant, J. P., & Chapin, F. S. (1985). Resource availability and plant antiherbivore defense. *Science*, *230*(4728), 895-899.
- Cramer, W., Bondeau, A., Woodward, F. I., Prentice, I. C., Betts, R. A., Brovkin, V., ... & Kucharik, C. (2001). Global response of terrestrial ecosystem structure and function to CO₂ and climate change: results from six dynamic global vegetation models. *Global change biology*, *7*(4), 357-373.
- Cutler, D. F., Botha, T., & Stevenson, D. W. (2009). *Anatomia Vegetal: uma abordagem aplicada*. Artmed Editora.

- Davies, T. J., Barraclough, T. G., Chase, M. W., Soltis, P. S., Soltis, D. E., & Savolainen, V. (2004). Darwin's abominable mystery: Insights from a supertree of the angiosperms. *PNAS* 101(7), 1904-1911. <http://www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.0308127100>
- Dow, G. J., Bergmann, D. C., & Berry, J. A. (2014). An integrated model of stomatal development and leaf physiology. *New Phytologist*, 201(4), 1218-1226.
- Felsenstein, J. (1985). Phylogenies and the comparative method. *American Naturalist* 125, 1-15.
- Franco, A. C. & Haridasan, M. (2008). Cerrado. In *Encyclopedia of Life Support Systems (EOLSS)*. Eolss Publishers, Oxford, UK. Retrieved from <http://www.eolss.net/sample-chapters/c20/e6-142-tb-15.pdf>
- Franco, A. C., Rossatto, D. R., Silva, L. D. C. R., & da Silva Ferreira, C. (2014). Cerrado vegetation and global change: the role of functional types, resource availability and disturbance in regulating plant community responses to rising CO₂ levels and climate warming. *Theoretical and Experimental Plant Physiology*, 26(1), 19-38.
- Franks, P. J., & Beerling, D. J. (2009). Maximum leaf conductance driven by CO₂ effects on stomatal size and density over geologic time. *PNAS* 106(25), 10343–10347.
- Franks, P. J., Drake, P. L., & Beerling, D. J. (2009). Plasticity in maximum stomatal conductance constrained by negative correlation between stomatal size and density: an analysis using *Eucalyptus globulus*. *Plant, Cell & Environment* 32, 1737-1748. <http://doi.org/10.1111/j.1365-3040.2009.002031.x>

- Franks, P. J., Leitch, I. J., Ruszala, E. M., Hetherington, A. M., & Beerling, D. J. (2012). Physiological framework for adaptation of stomata to CO₂ from glacial to future concentrations. *Phil. Trans. R. Soc. B* 367, 537–546. doi:10.1098/rstb.2011.0270
- Hetherington, A. M., & Woodward, F. I. (2003). The role of stomata in sensing and driving environmental change. *Nature*, 424(6951), 901-908.
- Hoffmann, W. a, Geiger, E. L., Gotsch, S. G., Rossatto, D. R., Silva, L. C. R., Lau, O. L., ... Franco, A. C. (2012). Ecological thresholds at the savanna-forest boundary: how plant traits, resources and fire govern the distribution of tropical biomes. *Ecology Letters*, 15(7), 759–68. <http://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2012.01789.x>
- Hoffmann, W. a., Franco, a. C., Moreira, M. Z., & Haridasan, M. (2005). Specific leaf area explains differences in leaf traits between congeneric savanna and forest trees. *Functional Ecology*, 19(6), 932–940. <http://doi.org/10.1111/j.1365-2435.2005.01045.x>
- Jackson, R. B., Carpenter, S. R., Dahm, C. N., McKnight, D. M., Naiman, R. J., Postel, S. L., & Running, S. W. (2001). Water in a changing world. *Ecological applications*, 11(4), 1027-1045.
- Johansen, Donald Alexander (1940). "Plant microtechnique." *Plant microtechnique*.
- Kuhlmann, M. (2012). Frutos e sementes do Cerrado atrativos para fauna: guia de campo. *Brasília: Rede de Sementes do Cerrado*.
- Lambers, H., Chapin, F. S., & III, P. TL.(1998) Plant Physiological Ecology.

- Metcalfe, C. R., & Chalk, L. (1979). *Anatomy of the dicotyledons. v.1: Systematic anatomy of leaf and stem; with a brief history of the subject.* 2nd ed. Oxford: Clarendon Press. 276 p.
- Pereira, B. A. S., Silva, M. A., & Mendonça, R. C. (2004). Reserva ecológica do IBGE: ambiente e plantas vasculares. *Rio de Janeiro, IBGE. Coordenação de Recursos Naturais e Estudos Ambientais.*
- Poorter, L., & Bongers, F. (2006). Leaf traits are good predictors of plant performance across 53 rain forest species. *Ecology*, 87(7), 1733-1743.
- R Development Core Team (2012). RStudio: integrated development environment for R. Massachusetts.
- Reich, P. (1997). From tropics to tundra: global convergence in plant functioning. *PNAS* 94, 13730–13734. Retrieved from <http://www.pnas.org/content/94/25/13730.short>
- Rossatto, D. R., Hoffmann, W. A., & Franco, A. C. (2009a). Differences in growth patterns between co-occurring forest and savanna trees affect the forest–savanna boundary. *Functional Ecology*, 23(4), 689-698.
- Rossatto, D. R., Hoffmann, W. A., & Franco, A. C. (2009b). Características estomáticas de pares congêneros de cerrado e mata de galeria crescendo numa região transicional no Brasil Central. *Acta Botanica Brasilica* 23(2): 499-508.
- Rossatto, D. R., Hoffmann, W. A., de Carvalho Ramos Silva, L., Haridasan, M., Sternberg, L. S. L., & Franco, A. C. (2013). Seasonal variation in leaf traits between congeneric savanna and forest trees in Central Brazil: implications for forest expansion into savanna. *Trees*, 27(4), 1139–1150. <http://doi.org/10.1007/s00468-013-0864-2>

- Sano, S. M., de Almeida, S. P., & Ribeiro, J. F. (2008). Cerrado: ecologia e flora.
- Silva-Júnior, M.C., & Santos, G.C. (2012). *100 Árvores do Cerrado: guia de campo*. Rede de Sementes do Cerrado.
- Silva-Júnior, M. C., & Pereira, B. A. S. (2009). + 100 árvores do Cerrado-Matas de Galeria: guia de campo. *Brasília, Ed. Rede de Sementes do Cerrado*.
- Simon, M. F., & Pennington, T. (2012). Evidence for Adaptation to Fire Regimes in the Tropical Savannas of the Brazilian Cerrado. *International Journal of Plant Sciences*, *173*(6), 711–723. <http://doi.org/10.1086/665973>
- Somavilla, N. S., Kolb, R. M., & Rossatto, D. R. (2013). Leaf anatomical traits corroborate the leaf economic spectrum: a case study with deciduous forest tree species. *Brazilian Journal of Botany*, *37*(1), 69–82. <http://doi.org/10.1007/s40415-013-0038-x>
- Taiz, L., & Zeiger E. (2013). *Fisiologia vegetal*. Porto Alegre: Artmed.
- Valladares, F., & Niinemets, Ü. (2008). Shade Tolerance, a Key Plant Feature of Complex Nature and Consequences. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, *39*(1), 237–257. <http://doi.org/10.1146/annurev.ecolsys.39.110707.173506>
- Vannucci, L. A., & Rezende, M. H. (2003). *Anatomia Vegetal: noções básicas*.
- Warton, D. I., Duursma, R. A., Falster, D. S., & Taskinen, S. (2012). smatr 3—an R package for estimation and inference about allometric lines. *Methods in Ecology and Evolution*, *3*(2), 257-259.
- Wright, I. J., Reich, P. B., & Westoby, M. (2003). Least-Cost Input Mixtures of Water and Nitrogen for Photosynthesis. *The American Naturalist* *161*(1).

Wright, I.J., Reich, P.B., Westoby M., Ackerly, D.D., Baruch, Z., Bongers, F., Cavender-Bares, J., Chapin, T., Cornelissen, J.H.C., Diemer, M., ... & Flexas, J. (2004). The worldwide leaf economics spectrum. *Nature* 428:821–827.

ANEXO

Resultados dos testes t pareados para verificação de diferenças nos parâmetros analisados para cada par congênico. Resultados significativos encontram-se destacados em negrito ($P < 0.05$).

Gêneros	Parâmetros	Média ± DP		Teste t pareado		
		C	M	df	T	P
<i>Byrsonima</i>	L (µm)	26.37165 ± 2.142034	18.31552 ± 0.704412	2	5.644	0.02999
	W (µm)	18.73008 ± 2.397987	12.43461 ± 1.384466	2	2.9945	0.09577
	D (mm ⁻²)	412.3654 ± 31.03268	293.2856 ± 74.74677	2	2.0922	0.1715
	S (µm ²)	491.0674 ± 81.76354	228.8611 ± 33.3132	2	4.3421	0.04916
	a _{max} (m ²)	5.89 x 10 ⁻¹¹ ± 9.81 x 10 ⁻¹²	2.75 x 10 ⁻¹¹ ± 3.1 x 10 ⁻¹²	2	4.3421	0.04916
	g _{wmax} (mol.m ⁻² .s ⁻¹)	1.718471 ± 0.1046557	0.8367355 ± 0.168739	2	5.6977	0.02945
	SPI	0.2040486 ± 0.02304884	0.06512456 ± 0.007265106	2	6.1261	0.02563
	SLA (cm ² .g ⁻¹)	70.42776 ± 6.33683	64.44576 ± 7.113762	2	0.77625	0.5188
	N (µg.mm ⁻²)	1.4046 ± 0.06097114	1.321167 ± 0.1034428	2	0.9525	0.4414
	C (µg.mm ⁻²)	50.32967 ± 0.3970445	52.11467 ± 1.86738	2	-1.8835	0.2003
<i>Guapira</i>	L (µm)	43.49585 ± 2.220348	23.83222 ± 0.5330321	2	19.574	0.0026

	W (μm)	27.54174 ± 1.813726	13.35675 ± 0.1420259	2	13.739	0.00526
	D (mm^{-2})	124.1805 ± 11.90234	318.7887 ± 8.012122	2	-86.017	0.00014
	S (μm^2)	1201.982 ± 138.9285	318.6091 ± 8.592001	2	11.622	0.00732
	a_{max} (m^2)	$1.44 \times 10^{-10} \pm 1.66 \times 10^{-11}$	$3.82 \times 10^{-11} \pm 1.03 \times 10^{-12}$	2	11.622	0.00732
	g_{wmax} ($\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$)	0.8390758 ± 0.1264314	1.147468 ± 0.05143414	2	-7.0805	0.01937
	SPI	0.1494486 ± 0.03229491	$0.1013625 \pm 0.005513429$	2	2.8109	0.1067
	SLA ($\text{cm}^2.\text{g}^{-1}$)	65.8156 ± 12.74277	93.83495 ± 4.785409	2	-6.082	0.02598
	N ($\mu\text{g}.\text{mm}^{-2}$)	3.769333 ± 0.08251456	3.825433 ± 0.2686865	2	-0.31407	0.7832
	C ($\mu\text{g}.\text{mm}^{-2}$)	51.74 ± 1.341521	49.417 ± 1.95064	2	1.5289	0.2659
<i>Hymenaea</i>	L (μm)	28.17574 ± 0.4817243	17.48536 ± 1.138259	2	27.777	0.00129
	W (μm)	20.52425 ± 1.136526	14.29516 ± 1.168646	2	8.1056	0.01488
	D (mm^{-2})	271.5099 ± 7.119384	632.4767 ± 23.27745	2	-22.856	0.00191
	S (μm^2)	578.4489 ± 38.29338	251.5796 ± 36.72598	2	16.793	0.00353
	a_{max} (m^2)	$6.94 \times 10^{-11} \pm 4.59 \times 10^{-12}$	$3.02 \times 10^{-11} \pm 4.41 \times 10^{-12}$	2	16.793	0.00353
	g_{wmax} ($\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$)	1.223227 ± 0.05963971	1.805796 ± 0.1349764	2	-8.9892	0.01215
	SPI	0.1569507 ± 0.01391375	0.1582358 ± 0.02324296	2	2.7961	0.1076
	SLA ($\text{cm}^2.\text{g}^{-1}$)	60.66879 ± 2.713632	84.62295 ± 9.64355	2	-3.9644	0.05813
	N ($\mu\text{g}.\text{mm}^{-2}$)	1.636367 ± 0.1503486	1.139603 ± 0.3213176	2	1.9515	0.1903

	C ($\mu\text{g}\cdot\text{mm}^{-2}$)	53.66367 ± 0.5618668	52.90267 ± 0.8175086	2	0.92133	0.4541
<i>Pouteria</i>	L (μm)	29.02576 ± 2.179438	19.96454 ± 0.6082106	2	7.759	0.01621
	W (μm)	19.25248 ± 0.7813454	13.10394 ± 0.2382232	2	19.568	0.0026
	D (mm^{-2})	197.3547 ± 26.90139	269.3519 ± 33.04356	2	-2.2409	0.1543
	S (μm^2)	560.2613 ± 61.907	261.7553 ± 9.22903	2	9.2383	0.01151
	a_{max} (m^2)	$6.72 \times 10^{-11} \pm 7.43 \times 10^{-12}$	$3.14 \times 10^{-11} \pm 1.11 \times 10^{-12}$	2	9.2383	0.01151
	g_{wmax} ($\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$)	0.9003098 ± 0.1759517	0.8423048 ± 0.09964992	2	0.39133	0.7333
	SPI	0.110617 ± 0.02530325	$0.07056059 \pm 0.007363774$	2	1.8815	0.2006
	SLA ($\text{cm}^2\cdot\text{g}^{-1}$)	61.25352 ± 1.757586	109.9353 ± 21.42567	2	-4.0886	0.05494
	N ($\mu\text{g}\cdot\text{mm}^{-2}$)	1.6385 ± 0.08436889	2.140067 ± 0.1588504	2	-3.5919	0.06952
	C ($\mu\text{g}\cdot\text{mm}^{-2}$)	54.03533 ± 0.6563089	52.88433 ± 1.135976	2	1.3931	0.2982
<i>Qualea</i>	L (μm)	25.85918 ± 0.8595102	25.85914 ± 0.7552252	2	3.79E-05	1
	W (μm)	19.99877 ± 0.9453573	17.22108 ± 0.4924316	2	3.4046	0.0765
	D (mm^{-2})	442.1844 ± 30.65084	290.7353 ± 37.46788	2	5.9453	0.02714
	S (μm^2)	517.9964 ± 41.26424	445.7542 ± 22.99677	2	1.9483	0.1907
	a_{max} (m^2)	$6.22 \times 10^{-11} \pm 4.95 \times 10^{-12}$	$5.35 \times 10^{-11} \pm 2.76 \times 10^{-12}$	2	1.9483	0.1907
	g_{wmax} ($\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$)	1.850265 ± 0.1537978	1.17686 ± 0.1249532	2	8.3265	0.01412
	SPI	0.2285944 ± 0.02539715	0.1287892 ± 0.01091487	2	6.5321	0.02264

	SLA (cm ² .g ⁻¹)	78.78154 ± 15.97199	59.90972 ± 11.77134	2	1.5889	0.253
	N (μg.mm ⁻²)	1.450967 ± 0.2311324	1.016927 ± 0.08406959	2	2.5476	0.1257
	C (μg.mm ⁻²)	45.94133 ± 0.3250943	46.096 ± 1.558179	2	0.79461	0.5102
<i>Tabebuia</i>	L (μm)	22.56798 ± 1.163239	23.61929 ± 0.2441612	2	-1.4112	0.2936
	W (μm)	18.76534 ± 0.795097	17.66817 ± 0.1403888	2	2.8148	0.1064
	D (mm ⁻²)	531.2491 ± 9.422656	321.339 ± 84.23837	2	4.1717	0.05294
	S (μm ²)	424.2147 ± 38.55961	417.5601 ± 4.491358	2	0.30188	0.7912
	a _{max} (m ²)	5.09 x 10 ⁻¹¹ ± 4.63x 10 ⁻¹²	5.01 x 10 ⁻¹¹ ± 5.39x 10 ⁻¹³	2	0.30188	0.7912
	g _{wmax} (mol.m ⁻² .s ⁻¹)	1.970812 ± 0.1286774	1.219587 ± 0.316791	2	3.262	0.08251
	SPI	0.2252835 ± 0.02416722	0.1338221 ± 0.03408966	2	2.259	0.1524
	SLA (cm ² .g ⁻¹)	62.67824 ± 4.528295	93.00723 ± 15.47025	2	-2.9037	0.101
	N (μg.mm ⁻²)	1.6754 ± 0.2828074	2.233667 ± 0.4679179	2	-1.7644	0.2197
	C (μg.mm ⁻²)	49.17333 ± 0.3177693	48.12367 ± 1.054797	2	1.3849	0.3003
<i>Vochysia</i>	L (μm)	34.41614 ± 2.221714	27.33326 ± 1.354864	2	3.6344	0.06807
	W (μm)	23.24443 ± 2.705938	21.49169 ± 0.3569846	2	1.1363	0.3737
	D (mm ⁻²)	482.597 ± 34.21093	505.3536 ± 41.93203	2	-0.60631	0.606
	S (μm ²)	804.192 ± 142.1423	587.8965 ± 24.55734	2	2.2587	0.1524
	a _{max} (m ²)	9.65 x 10 ⁻¹¹ ± 1.71 x 10 ⁻¹¹	7.06 x 10 ⁻¹¹ ± 2.95 x 10 ⁻¹²	2	2.2587	0.1524

	g_{wmax} (mol.m ⁻² .s ⁻¹)	2.617168 ± 0.2959412	2.233592 ± 0.1107773	2	2.3988	0.1386
	SPI	0.3888253 ± 0.07956482	0.2940954 ± 0.01535773	2	3.709	0.06562
	SLA (cm ² .g ⁻¹)	45.67546 ± 6.03813	75.14152 ± 2.240854	2	-11.904	0.00698
	N (µg.mm ⁻²)	0.9133433 ± 0.01369764	1.5613 ± 0.1503436	2	-6.6609	0.0218
	C (µg.mm ⁻²)	45.46733 ± 1.276498	43.249 ± 0.7815005	2	3.1866	0.08597
<i>Xylopia</i>	L (µm)	21.91995 ± 0.2855288	19.07653 ± 1.182216	2	3.7743	0.06358
	W (µm)	14.14179 ± 0.4635731	12.38699 ± 0.5515385	2	3.1704	0.08674
	D (mm ⁻²)	554.9866 ± 37.74419	252.6768 ± 9.783346	2	11.389	0.00762
	S (µm ²)	309.881 ± 6.838657	236.2895 ± 16.24355	2	8.6382	0.01314
	a_{max} (m ²)	3.72 x 10 ⁻¹¹ ± 8.21 x 10 ⁻¹³	2.84 x 10 ⁻¹¹ ± 1.95 x 10 ⁻¹²	2	8.6386	0.01314
	g_{wmax} (mol.m ⁻² .s ⁻¹)	1.896808 ± 0.1387527	0.7509352 ± 0.007626135	2	14.665	0.00462
	SPI	0.1720715 ± 0.01283689	0.05954519 ± 0.002152261	2	13.287	0.00562
	SLA (cm ² .g ⁻¹)	82.65991 ± 4.399838	136.6343 ± 8.490796	2	-10.303	0.00929
	N (µg.mm ⁻²)	2.2707 ± 0.1745811	1.879 ± 0.06863214	2	3.2676	0.08226
	C (µg.mm ⁻²)	52.67133 ± 0.3265032	50.65667 ± 0.6819988	2	5.0847	0.03657
