



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

Mudanças na arquitetura hidráulica e anatomia
de lenhosas de cerrado sentido restrito sob
adição de nutrientes ao solo

Lucas Silva Costa

Orientadora: Profa. Dra. Mercedes Maria da Cunha Bustamante

Brasília – DF Julho de 2019



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

Mudanças na arquitetura hidráulica e anatomia
de lenhosas de cerrado sentido restrito sob
adição de nutrientes ao solo

Lucas Silva Costa

Orientadora: Profa. Dra. Mercedes Maria da Cunha Bustamante

**Dissertação apresentada ao
Programa de Pós-Graduação em
Ecologia da Universidade de
Brasília, como requisito parcial
para obtenção do título de Mestre
em Ecologia**

Brasília – DF Julho de 2019

Agradecimentos

Agradeço por aqueles e aquelas que vieram antes de mim e possibilitaram que eu esteja onde estou hoje. Entre estas pessoas estão minha mãe Valéria, amada guerreira que me criou; todas e todos antepassados em especial minhas avós, Juraci e Agar que com carinho e doçura me ensinaram a apreciar o divino presente em cada detalhe da natureza. Ao meu irmão Caio que foi meu pai e minha referência por boa parte da minha vida. À minha querida irmã Luna que esteve do meu lado e fazendo questão de acompanhar e compartilhar nossas conquistas. Ao meu pai Edson que me trata com carinho e respeito.

Agradeço à minha mestra e mentora acadêmica Prof^a Mercedes, a qual lecionando e liderando com excelência e humildade foi capaz de despertar minha paixão pelo Cerrado e pelas plantas. A ela e à minha mãe, dedico minhas conquistas acadêmicas.

Agradeço aos meus malungos e malungas que passaram e ainda estão ao meu lado, seja na caminhada pessoal como profissional. Entres eles estão: Lais Brasileiro, Alexandra Martins, Mariana Aragão, Lucas Damasio, Paulla Gezuino, Jéssica Schuller, Letícia Boratto.

Agradeço especialmente ao meu amigo querido, Clapton Moura pelo seu auxílio e dedicação durante as análises anatômicas deste trabalho.

Agradeço ter me encontrado na Capoeira Angola em especial com minha mestra Elma e na família N'Zambi. Não há um dia que esta expressão de meus ancestrais não esteja na minha mente e corpo. Sua prática foi de extrema importância para minha sanidade mental, corporal e espiritual durante o mestrado. Agradeço à minha camarada e companheira Patrícia Passos pelos ensinamentos e aceitar compartilhar essa caminhada comigo. Aos meus professores e professora Cled, Sal e Luane. Aos meus camaradas e referências pessoais, Dudu, Paique, Lia, Sol, Mamede, Thiago, Drica, Ju, Tairo e Praia.

Agradeço às Prof^a Julia Sonsin e Prof^a Sueli Gomes por me acolherem em seus laboratórios durante o período de análises desta dissertação.

A todas e todos do Laboratório de Ecossistemas em especial a Regina Sartori, Thiago Mello, Leticia Gomes, Núbia e Rafaella Silveira.

Agradeço ao suporte dado pela Reserva Ecológica do IBGE, em especial a Betânia sempre muito prestativa e alegre.

Ao Instituto de Ciências Biológicas e à Universidade de Brasília pelo suporte estrutural e institucional.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ecologia (UnB), à CAPES, pela concessão de bolsa, apoio logístico e financeiro para minha dedicação exclusiva e realização deste trabalho.

Por fim agradeço todos e todas que estiveram envolvidos na minha vida ou neste projeto de alguma forma.

Kó Si Ewé
Kó Si Òrisà.

*Aos meus irmãos e irmãs,
de sangue,
de cor,
de afinidade,
aqueles que já foram,
que estão por vir,
que ainda irei conhecer.*

Sumário

| | |
|--|-----|
| Lista de figuras..... | vii |
| Lista de tabelas..... | x |
| Resumo..... | 1 |
| Abstract..... | 2 |
| 1. Introdução | 3 |
| 2. Material e métodos..... | 5 |
| 2.1. Área de estudo..... | 5 |
| 2.2. Experimento de fertilização | 6 |
| 2.3. Espécies Seleccionadas..... | 8 |
| 2.4. Amostragem e análises do solo | 9 |
| 2.5. Nutrientes foliares e eficiência no uso de água | 9 |
| 2.6. Características morfológicas | 10 |
| 2.7. Anatomia das folhas e do xilema ativo | 11 |
| 2.8 Estatística | 13 |
| 3. Resultados..... | 14 |
| 3.1. Química do solo..... | 14 |
| 3.2 Nutrientes foliares | 16 |
| 3.3 Características morfológicas e anatômicas | 18 |
| 3.4 Traços morfo-anatômicos, eficiência no uso da água e vulnerabilidade a cavitação. | 31 |
| 4. Discussão..... | 34 |
| 4.1 Condição do solo e sucesso de plantas lenhosas sob adição de nutrientes..... | 34 |
| 4.2 Arquitetura hidráulica de lenhosas do cerrado..... | 36 |
| Anatomia da folha - respostas às adições de nutrientes..... | 37 |
| Anatomia do xilema ativo - respostas às adições de nutrientes | 38 |
| 4.3 Relação de características morfológicas e anatômicos..... | 39 |
| 4.4 Uso de água em plantas lenhosa sob adição de nutrientes..... | 40 |
| 5. Conclusões | 42 |
| 6. Referências Bibliográficas..... | 44 |
| Anexo 1. Tabela A.1 | 51 |
| Anexo 2. Script do modelo com melhor adequação..... | 52 |

Lista de figuras

- Figura 1.** Modelo conceitual de ajuste hidráulico de planta lenhosas do Cerrado sob adição de nutrientes. As interações hipotéticas positivas e negativas são indicadas por linhas azuis e vermelhas, respectivamente. As linhas pretas indicam linhas não direcionais e linha tracejada significa baixa interação. 5
- Figura 2.** (A) Ortocarta da Reserva Ecológica do IBGE, sua localização no Distrito Federal (Fonte: RECOR-IBGE). O quadrante amarelo representa a localização do experimento de fertilização. (B) Disposição das parcelas no experimento de fertilização, Controle (C), nitrogênio (N), fósforo (P) e N+P (NP). 8
- Figura 3.** Etapa de processamento de imagem a partir de fotomicrografia de cortes transversais da madeira. (A) Exemplo de amostragem para quantificar densidade de vasos, a área da soma dos quadrados verdes é igual 1 mm^2 . (B) Detalhe de contagem dos vasos automatizada, perímetro do vaso em vermelho. 12
- Figura 4.** Dados agrupados para as cinco espécies estudadas mostrando respostas relativas médias de (A) área foliar total (AFT), (B) área foliar total pela área basal (planta AF/AX_{PLANTA}) (C) área foliar por área de xilema no ramo (AF/AX_{RAMO}) (D) índice de poro estomático (IPE) e (E) condutividade teórica específica de xilema (K_{tx}) aos tratamentos de fertilização com nitrogênio (N) fósforo (P) e N+P. Dados coletados durante a estação chuvosa de 2018. Dados normalizados em relação ao controle. Valores são médias ($n = 5$ espécies por tratamento, exceto dados de IPE que $n = 4$). 20
- Figura 5.** Esquemas anatômicos baseados em imagens de micrografias e gráfico de barras dos respectivos comprimento de tecido. Os valores são média \pm DP ($n = 5$). Os efeitos significativos da fertilização em relação ao controle são indicados como * $P < 0,1$, ** $P < 0,05$ e *** $P < 0,01$ (Teste T pareado). A seta vermelha indica a extensão da bainha (BSE, em inglês) e a seta azul indica tricomas. 23
- Figura 6.** Cortes paradérmicos foliares de (A-B) *Blepharocalyx salicifolius* (Kunth) O. Berg, faces adaxial e abaxial, respectivamente (glândula foliar - seta vermelha). (C-D) *Ouratea hexasperma* (A.St.-Hil.) Baill., faces adaxial e abaxial, respectivamente. (E-F) *Qualea parviflora* Mart., faces adaxial e abaxial, respectivamente. (G-H) *Roupala montana* Aubl., faces adaxial e abaxial, respectivamente. Setas pretas indicam os estômatos. 24
- Figura 7.** Os pontos coloridos representam a distribuição dos índices de poro estomático (IPE) de cada indivíduo. As barras verticais representando a variação dentro dos tratamentos controle (C), nitrogênio (N), nitrogênio + fósforo (NP) e fósforo (P). O segundo gráfico representa a diferença entre o IPE nos tratamentos e o IPE no controle. As distribuições em cinza são resultado de 5.000 permutações e as barras verticais representam 95% dos intervalos de confiança. Efeitos significativos da fertilização em relação ao controle são indicados como * $P < 0,1$ (Teste t pareado). Q.p. - *Qualea parviflora*, B.s. - *Blepharocalyx salicifolius*, R.m. - *Roupala montana* e O.h. - *Ouratea hexasperma* ($n = 3-5$). 25
- Figura 8.** Os pontos coloridos representam a distribuição das eficiências do uso de água intrínseca (iEUA) de cada indivíduo. As barras verticais representando a variação dentro dos tratamentos controle (C), nitrogênio (N), nitrogênio + fósforo (NP) e fósforo (P). O segundo gráfico representa a diferença entre o iEUA nos tratamentos e o iEUA no controle. As distribuições em cinza são resultado de 5.000 permutações e as barras verticais representam 95% dos intervalos de

confiança. Q.p. - *Qualea parviflora*, B.s. - *Blepharocalyx salicifolius*, R.m. - *Roupala montana* S.f. - *Styrax ferrugineus* e O.h. - *Ouratea hexasperma* (n = 5)..... 26

Figura 9.A-E Cortes transversais do ramo terminal de (A) *Blepharocalyx salicifolius* (Kunth) O. Berg, (B) *Ouratea hexasperma* (A.St.-Hil.) Baill., (C) *Qualea parviflora* Mart. (D) *Roupala montana* Aubl. (Raio - seta vermelha) e (E) *Styrax ferrugineus* Nees & Mart. Xp – Xilema primário; xs – Xilema secundário e mp – Medula parenquimática. 28

Figura 10. Os pontos coloridos representam a distribuição das áreas do lúmen do vaso de cada indivíduo. As barras verticais representando a variação dentro dos tratamentos controle (C), nitrogênio (N), nitrogênio + fósforo (NP) e fósforo (P). O segundo gráfico representa a diferença entre a área do lúmen nos tratamentos e a área do lúmen no controle. As distribuições em cinza são resultado de 5.000 permutações e as barras verticais representam 95% dos intervalos de confiança. Efeitos significativos da fertilização em relação ao controle são indicados como *P < 0,1 **P < 0.05 e ***P<0.01 (Teste t pareado). Q.p. - *Qualea parviflora*, B.s. - *Blepharocalyx salicifolius*, R.m. - *Roupala montana* S.f. - *Styrax ferrugineus* e O.h. - *Ouratea hexasperma* (n = 5). 29

Figura 11. Os pontos coloridos representam a distribuição das condutividades teóricas específicas do xilema (K_{tx}) de cada indivíduo. As barras verticais representando a variação dentro dos tratamentos controle (C), nitrogênio (N), nitrogênio + fósforo (NP) e fósforo (P). O segundo gráfico representa a diferença entre a K_{tx} nos tratamentos e a K_{tx} no controle. As distribuições em cinza são resultado de 5.000 permutações e as barras verticais representam 95% dos intervalos de confiança. Efeitos significativos da fertilização em relação ao controle são indicados como *P < 0,1 **P < 0.05 e ***P<0.01 (Teste t pareado). Q.p. - *Qualea parviflora*, B.s. - *Blepharocalyx salicifolius*, R.m. - *Roupala montana* S.f. - *Styrax ferrugineus* e O.h. - *Ouratea hexasperma* (n = 5). 30

Figura 12. Os pontos coloridos representam a distribuição dos índices de vulnerabilidade à cavitação (l_{vul}) de cada indivíduo. As barras verticais representando a variação dentro dos tratamentos controle (C), nitrogênio (N), nitrogênio + fósforo (NP) e fósforo (P). O segundo gráfico representa a diferença entre a l_{vul} nos tratamentos e a l_{vul} no controle. As distribuições em cinza são resultado de 5.000 permutações e as barras verticais representam 95% dos intervalos de confiança. Efeitos significativos da fertilização em relação ao controle são indicados como *P < 0,1 **P < 0.05 e ***P<0.01 (Teste t pareado). Q.p. - *Qualea parviflora*, B.s. - *Blepharocalyx salicifolius*, R.m. - *Roupala montana* S.f. - *Styrax ferrugineus* e O.h. - *Ouratea hexasperma* (n = 5). 31

Figura 13. Análises de componentes principais (PCA). AF/AX_{PLANTA}, área foliar total por área basal; AFE, área foliar específica; DER, densidade específica do caule, LT, espessura foliar; RPP, razão parênquima paliádico; RPL, razão parênquima lacunoso; IPE, índice de poros estomático e K_{tx} , Condutividade teórica específica do xilema. A elipse é desenhada com intervalo de confiança de 95%. A espécie *S. ferrugineus* foi excluída da análise de PCA, pois falta o IPE para esta espécie. Q.p. - *Qualea parviflora*, B.s. - *Blepharocalyx salicifolius*, R.m. - *Roupala montana* e O.h. - *Ouratea hexasperma* (n = 4 a 6). 32

Figura 14. Modelo de equações estruturais mais adequado. As vias positivas e negativas são indicadas por linhas azuis e vermelhas, respectivamente. A espessura das setas é dimensionada para ilustrar a força relativa das interações, e coeficientes significativos são indicados com asteriscos (*P < 0,1; **P < 0,05; ***P < 0,01). O coeficiente de determinação (R^2) é mostrado em letras brancas para todas as variáveis de resposta (i.e., umidade do solo; AFE, área foliar específica; IPE, índice de poros estomático, K_{tx} , condutividade teórica específica do xilema; l_{vul} , Índice de Vulnerabilidade à Cavitação e $iEUA$, eficiência intrínseca do uso da água). A adição de nutrientes refere-se à fertilização N, N+P e P. A espécie *S. ferrugineus* foi excluída da análise de SEM. 34

Figura 15. Associações atributo-disponibilidade de nutrientes quantificado em cinco espécies com diferentes fenologias foliares de cerrado sentido restrito. Triângulos azuis: relações previstas nas hipóteses; triângulos laranjas, relações opostas ao previsto. Estes resultados são baseados tanto na análise por espécie quanto considerando as respostas das espécies em conjunto, extraída do SEM. 43

Lista de tabelas

- Tabela 1.** Altura e área basal dos indivíduos selecionados. Os valores representam médias e desvio padrão (DP) n=5. Controle (C), nitrogênio (N), fósforo (P) e nitrogênio + fósforo (NP). 8
- Tabela 2.** Concentrações de nutrientes no solo das parcelas: Controle (C), nitrogênio (N), nitrogênio + fósforo (NP) e fósforo (P). Os valores são médias \pm DP (n = 4). Os efeitos significativos da fertilização no que respeita ao controle são indicados como *p < 0,1, **p < 0,05 e ***p<0,01, teste t pareado. 15
- Tabela 3.** Concentrações de nutrientes foliares dos indivíduos distribuídos nas parcelas: Controle (C), nitrogênio (N), nitrogênio + fósforo (NP) e fósforo (P). Os valores são médias \pm DP (n = 5). Os efeitos significativos da fertilização no que respeita ao controle são indicados como *p < 0,1, **p < 0,05 e ***p<0,01, teste t pareado. CVA - Conteúdo volumétrico de água. 17
- Tabela 4.** Características morfológicas das plantas para os tratamentos de controlo (C), nitrogênio (N), nitrogênio + fósforo (NP) e fósforo (P). Área foliar refere-se à área foliar média de cada unidade de folha, AFT - Área foliar total, AF/AX_{PLANTA} - Área Foliar Total pela Área basal, AF/AX_{RAMO} - Área foliar pela área de xilema, DER - Densidade específica do ramo AFE - Área foliar específica. Os valores são médias \pm DP (n = 4 a 6). Efeitos significativos da fertilização em relação ao controle são indicados como *P < 0,1 e **P < 0,05 (Teste t pareado). 19
- Tabela 5.** Características anatômicas para tratamentos de controle (C), Nitrogênio (N) e fósforo (P) e N+P (NP). Os valores são média \pm SD (n = 4 a 6). *p = 0,1, ** p = 0,05 e *** p = 0,01 (teste t pareado). 21
- Tabela 6.** *Loading scores* de oito características morfo-anatômicas de plantas nas análises de componentes principais (PCA). AF/AX_{PLANTA}, área foliar total por área basal; AFE, área foliar específica; DER, densidade específica do caule, LT, espessura foliar; RPP, razão parênquima paliçádico; RPL, razão parênquima lacunoso; IPE, índice de poros estomático e K_{tx}, Condutividade teórica específica do xilema. 32
- Tabela A1.** Nutrientes foliares. Os valores são médias \pm DP (n = 5). Os efeitos significativos da fertilização no que respeita ao controle são indicados como *P < 0,1, **P < 0,05 e ***P<0,01 (teste t de pareado). controle (C), nitrogênio (N), nitrogênio + fósforo (NP) e fósforo (P)..... 51

Resumo

A vegetação da savana brasileira (Cerrado) é altamente diversificada e principalmente distribuída sobre solos distróficos, tornando a disponibilidade de nutrientes um recurso limitante. Os processos de absorção de nutrientes e assimilação de carbono são conectados por meio do transporte hídrico. Se, por um lado, há evidências em algumas espécies de que a retirada a limitação nutricional resultou em aumento no crescimento com otimização do transporte hídrico e diminuição na condutância estomática, faltam estudos para entender como mecanismos anatômicos podem explicar tais respostas e se os padrões são os mesmos ao avaliar por espécie ou de forma agregada. A fim de preencher estas lacunas foram avaliados os efeitos das adições de nutrientes sobre as características morfo-anatômicas associadas às respostas hidráulicas em cinco espécies de lenhosas dominantes de um cerrado típico e com diferentes fenologias foliares (sempre verdes, brevidecíduas e decídua). Testou-se a hipótese de que as adições de nitrogênio (N), fósforo (P) e N+P alteram a química do solo e causam ajustes estruturais anatômicos que minimizam a perda de água, uma vez que o transporte de água aumenta em decorrência do crescimento dos vasos xilemáticos. Consequentemente, havendo um aumento da vulnerabilidade à cavitação devido aos limites de segurança hídrica em condições de mudanças na eficiência do uso de água. Avaliou-se a arquitetura hidráulica, a anatomia foliar e do xilema comparando indivíduos em parcelas não fertilizadas e fertilizadas durante a estação chuvosa. A umidade do solo foi significativamente menor nas parcelas N+P e P. A umidade do solo combinada à adição de nutrientes influenciou as características hidráulicas em nível anatômico, aumentando o lúmen dos vasos do xilema. Consequentemente a condutividade específica teórica do xilema (K_{tx}) mostrou aumento em indivíduos de parcelas fertilizadas, principalmente com N+P e P em quatro das cinco espécies estudadas. Outra indicação de ajuste hidráulico foi a diminuição do índice de poro do estômato (IPE) com respostas espécie-específicas quanto à eficiência intrínseca do uso da água (iEUA). Quatro das cinco espécies estudadas apresentaram maior índice de vulnerabilidade a cavitação (I_{vul}) sob fertilização N+P e P. Avaliando as espécies de forma agregada, a condutividade específica teórica do xilema (K_{tx}) mostrou efeito positivo da fertilizadas. Por outro lado, o IPE foi negativamente afetado pela fertilização. A vulnerabilidade a cavitação (I_{vul}) não foi relevante na abordagem agregada, enquanto a iEUA diminuiu sob fertilização. Assim, a adição de nutrientes alterou a arquitetura hidráulica, principalmente em nível anatômico com aumento das estruturas relacionadas ao transporte de água no xilema e diminuição das estruturas anatômicas relacionadas à transpiração.

Palavras-chave: Efeitos da fertilização, transporte de água, eficiência no uso da água, ajuste anatômico da planta, relações hídricas, vulnerabilidade à cavitação.

Abstract

The vegetation of the Brazilian savannah (Cerrado) is highly diversified and mainly distributed over dystrophic soils, making the availability of nutrients a limiting resource. The processes of nutrient absorption and carbon assimilation are connected through water conduction system. Once, there is evidence in some species that the removal of the nutritional limitation resulted in an increase in growth with optimization of water transport and a decrease in stomatal conductance, lacking studies to understand anatomical mechanisms explain such responses and if the patterns are the same when assessing by species or in aggregate form. In order to fill these gaps, the effects of nutrient additions on the morpho-anatomic characteristics associated with hydraulic responses were evaluated in five dominant woody species in a typical cerrado with different leaf phenologies (evergreen, brevideciduous and deciduous). We tested the hypothesis that the additions of nitrogen (N), phosphorus (P) and N+P change the soil chemistry and cause anatomical structural adjustments that minimize water loss, since water transport increases as a result of the growth of xylemic vessels. Consequently, there would be an increased vulnerability to cavitation due to water safety limits under changing water use efficiency conditions. Hydraulic architecture, leaf and xylem anatomy were evaluated by comparing individuals in unfertilized and fertilized plots during the rainy season. Soil moisture was significantly lower in the N+P and P plots. Soil moisture combined with the addition of nutrients influenced the hydraulic characteristics at the anatomical level, increasing the lumen of the xylem vessels. Consequently, the theoretical specific conductivity of the xylem (K_{tx}) showed an increase in individuals from fertilized plots, mainly with N+P and P in four of the five studied species. Another indication of hydraulic adjustment was the decrease in the stomatal pore index (SPI) with species-specific responses regarding the intrinsic water use efficiency (iWUE). Four of the five studied species had a higher vulnerability index to cavitation (I_{vul}) under N+P and P fertilization. Evaluating the species in aggregate form, the specific theoretical conductivity of the xylem (K_{tx}) showed a positive effect of fertilization. On the other hand, SPI was negatively affected by fertilization. Vulnerability to cavitation (I_{vul}) was not relevant in the aggregate approach, while iWUE decreased under fertilization. Thus, the addition of nutrients altered the hydraulic architecture, mainly at the anatomical level with an increase in the structures related to water transport in the xylem and a decrease in the anatomical structures related to transpiration.

Key words: Fertilization effects, water transport, water use efficiency, plant anatomical adjustment, water relations, and vulnerability to cavitation.

1. Introdução

As atividades humanas já resultaram na perda de mais da metade do Cerrado, e a maioria das áreas remanescentes está em risco de desaparecer nos próximos 50 anos (Beuchle et al., 2015). Nesse cenário preocupante, pouco se sabe sobre como os fragmentos remanescentes da área nativa respondem às atividades antrópicas. A rápida e extensa mudança no uso da terra do Cerrado pode promover efeitos indiretos em suas áreas remanescentes. A deposição atmosférica de nutrientes e entrada de espécies invasoras são exemplos de efeitos indiretos sobre os fragmentos remanescentes. Os principais nutrientes utilizados para o enriquecimento do solo na agricultura são nitrogênio (N) e fósforo (P) (Tilman et al., 2002). A maior parte da vegetação do Cerrado cresce em solos distróficos. O enriquecimento dos nutrientes ao solo pode ter impactos nas taxas de crescimento, na absorção de carbono assim como ajustes na arquitetura hidráulica de lenhosas do Cerrado (Bucci et al., 2006).

A limitação nutricional dos solos é um dos principais filtros ambientais presentes ao longo da evolução da vegetação do Cerrado (Haridasan, 2008). Além da lixiviação, os solos ácidos do Cerrado (pH 4,0 - 4,5) tornam os principais macronutrientes pouco disponíveis para as plantas (Haridasan, 2000). O crescimento das plantas de Cerrado é, portanto, limitado pela baixa disponibilidade de nutrientes. Entre as plantas de Cerrado, o estrato lenhoso apresenta fortes ligações estruturais e fisiológicas entre a limitação de nutrientes no solo e a disponibilidade de água (Bucci et al., 2006). A sazonalidade no Cerrado é fortemente marcada por secas pronunciadas, com alta irradiação solar e alta demanda evaporativa da atmosfera, enquanto cerca de 90% da precipitação ocorre durante a estação chuvosa.

A alta demanda evaporativa da atmosfera durante a seca impõe adaptações estruturais (Abdala et al., 1998), fenológicas (Lenza & Klink, 2006) e fisiológicas (Meinzer et al., 1999; Bucci et al., 2005) às plantas lenhosas do Cerrado. Estudos anteriores investigaram como as plantas lenhosas do Cerrado respondem à adição de nutrientes ao solo (Bucci et al., 2006; Scholz et al., 2007; Jacobson et al., 2011; Goldstein et al., 2013). Ao aliviar a limitação nutricional do solo, as plantas lenhosas do Cerrado apresentaram menor vulnerabilidade hidráulica mesmo sob menores potenciais hídricos foliares e maiores tensões de xilema (Bucci et al., 2006). Esses resultados apresentam novos desafios para a compreensão do papel e da plasticidade dos traços fisiológicos e morfo-anatômicos das plantas lenhosas do Cerrado.

A plasticidade hidráulica permite que as plantas lenhosas do Cerrado respondam a curto e longo prazo às mudanças ambientais. As respostas fisiológicas são praticamente

imediatas sob mudanças ambientais, por exemplo, o controle estomático a partir da produção de ácido abscísico sob condições de estresse hídrico em lenhosas do Cerrado (Scholz et al., 2007). Posteriormente, mudanças estruturais a nível celular são uma consequência dependendo das condições ambientais. Essas respostas aumentam a eficiência do uso da água ou otimizar a assimilação de carbono e a absorção de nutrientes. É válido lembrar que estas três funções (uso da água, assimilação de carbono e absorção de nutrientes) estão interligadas. Assim, o presente trabalho levanta a seguinte questão: Como a arquitetura hidráulica e a anatomia foliar e do xilema de espécies lenhosas típicas do Cerrado respondem à adição de nutrientes ao solo? Os padrões são os mesmo avaliando por espécie e de forma agregada? Para responder a estas questões, o presente estudo avaliou mudanças morfo-anatômicas em folhas e xilema de cinco espécies lenhosas de Cerrado em resposta à fertilização com N, P e ambos os elementos combinados N+P (NP).

As seguintes hipóteses são formuladas, tendo como base a premissa as alterações no solo em função das adições de nutrientes:

H1. Assumindo-se que as espécies estudadas otimizam o crescimento e assimilam mais nutrientes quando fertilizadas, haverá maior eficiência do uso de água;

H2. As espécies estudadas apresentarão ajustes na arquitetura hidráulica, os quais serão mais aparentes em nível anatômico do que morfológico, a saber: aumento de estruturas anatômicas do xilema, como elementos de vaso, proporcionando maior condutividade xilemática, e redução das estruturas anatômicas responsáveis por trocas gasosas, como os estômatos, a fim de minimizar a perda de água.

H3. As plantas sob adição de nutrientes operam sob maior vulnerabilidade à cavitação devido a relação inversa entre eficiência e segurança hidráulica.

Um modelo esquemático foi feito para ilustrar estas hipóteses e sugerir como a fertilização pode afetar a condição do solo, as características hidráulicas morfo-anatômicas e o uso da água das plantas (Fig. 1).

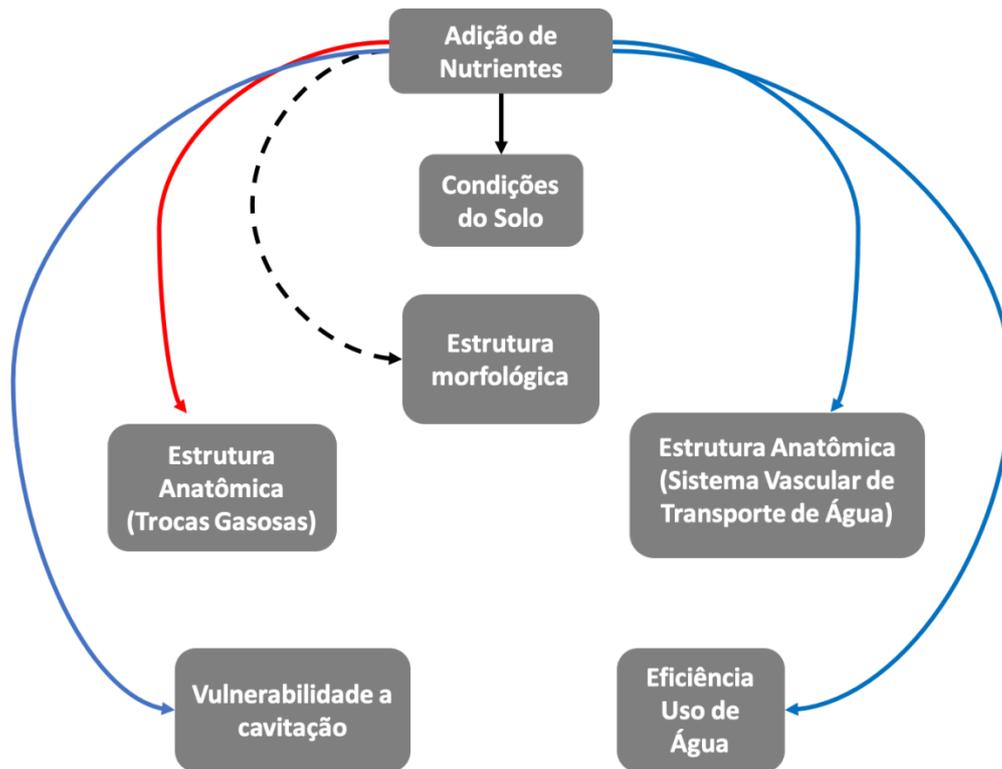


Figura 1. Modelo conceitual de ajuste hidráulico de planta lenhosas do Cerrado sob adição de nutrientes. As interações hipotéticas positivas e negativas são indicadas por linhas azuis e vermelhas, respectivamente. As linhas pretas indicam linhas não direcionais e linha tracejada significa baixa interação.

2. Material e métodos

2.1. Área de estudo

O estudo foi realizado em uma área de cerrado sensu stricto, um tipo de savana florestal caracterizada por uma camada contínua de gramíneas e uma camada lenhosa de árvores e arbustos variando em cobertura de 10 a 60%. O local está situado na Reserva Ecológica do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), uma estação experimental de campo localizada 33 km ao sul de Brasília (15° 56' 41" S e 47° 53' 07" W, altitude 1100 m). O clima é classificado como Aw de acordo com a classificação de Köppen, tropical com inverno seco e verão chuvoso. A precipitação média anual é de aproximadamente 1500 mm, com cerca de 90% da precipitação ocorrendo de setembro a maio. A temperatura máxima diária é de 28,5°C e a mínima diária é de 12°C.

O solo é caracterizado como latossolo profundos contendo cerca de 70% de argila. É ácido com altos níveis de alumínio (Al), baixa capacidade de troca catiônica e teor de matéria orgânica de 0,6-2,4%. Apesar de seu alto teor de argila, o solo é bem drenado devido à formação de estruturas microagregadas.

2.2. Experimento de fertilização

As parcelas experimentais foram localizadas em um cerrado sensu stricto homogêneo com características semelhantes de solo e vegetação (Fig. 3A). O experimento de fertilização de campo consistiu em parcelas de 15 X 15m com uma zona tampão de pelo menos 10 m entre as parcelas, e quatro parcelas por tratamento. Os tratamentos foram distribuídos aleatoriamente para cada lote. Uma borda adicional de 1 m de largura ao redor das também foi fertilizada. Os cinco tratamentos de fertilização foram: controle (sem adição de fertilizante), N (100 kg de N por hectare por ano na forma de: $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$), P (100 kg de P por hectare por ano na forma de: $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2 + \text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), NP (100 kg de N + 100 kg de P por hectare por ano nas formas precedentes) (Fig. 3B). Os fertilizantes foram aplicados manualmente em formas granulares sobre a superfície orgânica do solo continuamente duas vezes por ano durante oito anos (1998-2006) e retomados em setembro de 2017. No início do experimento em 1998, as parcelas não diferiram significativamente em termos de concentração de nutrientes no solo (Kozovits et al. 2007) e tinham estrutura da vegetação similar.

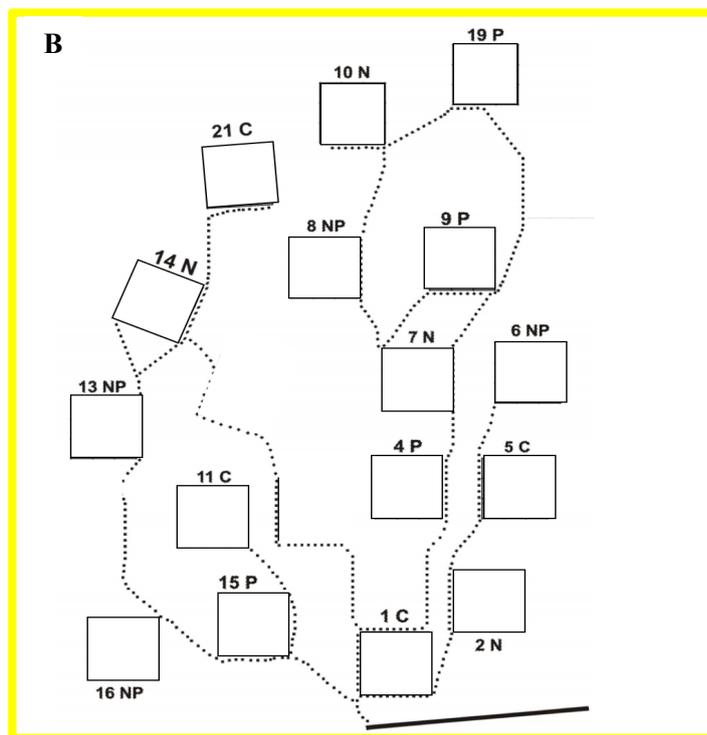
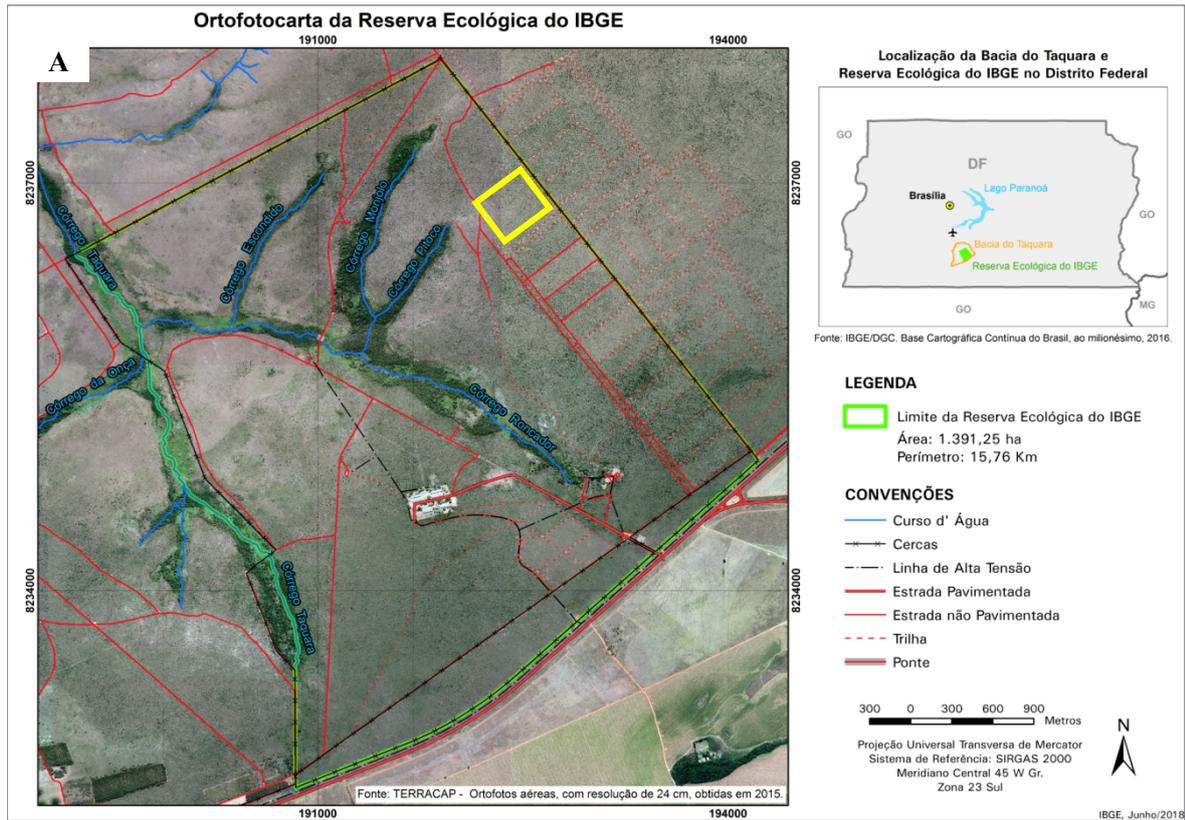


Figura 2. (A) Ortofotocarta da Reserva Ecológica do IBGE, sua localização no Distrito Federal (Fonte: RECOR-IBGE). O quadrante amarelo representa a localização do experimento de fertilização. (B) Disposição das parcelas no experimento de fertilização, Controle (C), nitrogênio (N), fósforo (P) e N+P (NP).

2.3. Espécies Seleccionadas

Dentre as 20 espécies mais abundantes na área experimental, segundo levantamento fitossociológico prévio (dados não publicados), cinco espécies foram escolhidas: três sempre verdes com crescimento sazonal - *Ouratea hexasperma* (A.St.-Hil.) Baill. (Ochnaceae), *Roupala montana* Aubl. (Proteaceae), *Styrax ferrugineus* Nees & Mart. (Styracaceae) – uma espécie brevidecídua *Blepharocalyx salicifolius* (Kunth) O. Berg (Myrtaceae) e outra decídua *Qualea parviflora* Mart. (Vochysiaceae). Os indivíduos estavam distribuídos em todas as parcelas dos tratamentos. Cinco indivíduos por espécie por tratamento foram amostrados (Tab.1). Foi dada preferência a indivíduos de altura semelhante dentro de cada espécie. Os grupos fenológicos diferem quanto ao tempo de permanência sem folhas. *B. salicifolius* raramente permanece sem folhas por mais de alguns dias enquanto *Q. parviflora* permanece sem folhas por cerca de um mês dependendo da severidade da estação seca. *O. hexasperma* é uma “leaf exchanger”, no sentido de que mostra senescência e abscisão foliares progressivas durante a estação seca e simultaneamente produz as novas folhas (Lenza & Klink, 2006).

Tabela 1. Altura e área basal dos indivíduos selecionados. Os valores representam médias e desvio padrão (DP) n=5. Controle (C), nitrogênio (N), fósforo (P) e nitrogênio + fósforo (NP).

| Tratamentos e Espécies | Altura (m) | Área Basal (m ²) |
|-----------------------------------|-------------|------------------------------|
| <i>Blepharocalyx salicifolius</i> | | |
| Controle | 2,90 ± 0,49 | 0,04 ± 0,01 |
| N | 2,83 ± 0,27 | 0,03 ± 0,03 |
| NP | 3,19 ± 0,32 | 0,09 ± 0,11 |
| P | 2,54 ± 0,27 | 0,03 ± 0,01 |
| <i>Ouratea hexasperma</i> | | |
| Controle | 1,34 ± 0,16 | 0,02 ± 0,01 |
| N | 1,29 ± 0,14 | 0,03 ± 0,01 |
| NP | 1,18 ± 0,24 | 0,04 ± 0,03 |
| P | 1,50 ± 0,13 | 0,03 ± 0,02 |
| <i>Qualea parviflora</i> | | |
| Controle | 2,10 ± 0,15 | 0,03 ± 0,02 |
| N | 2,14 ± 0,16 | 0,04 ± 0,02 |
| NP | 1,96 ± 0,24 | 0,03 ± 0,01 |
| P | 2,02 ± 0,25 | 0,03 ± 0,01 |

| <i>Roupala montana</i> | | |
|---------------------------|-------------|-------------|
| Controle | 2,32 ± 0,18 | 0,03 ± 0,01 |
| N | 2,14 ± 0,19 | 0,02 ± 0,01 |
| NP | 1,94 ± 0,17 | 0,02 ± 0,01 |
| P | 1,98 ± 0,14 | 0,03 ± 0,01 |
| <i>Styrax ferrugineus</i> | | |
| Controle | 2,14 ± 0,47 | 0,03 ± 0,01 |
| N | 2,26 ± 0,36 | 0,04 ± 0,02 |
| NP | 2,24 ± 0,54 | 0,04 ± 0,03 |
| P | 2,18 ± 0,21 | 0,03 ± 0,01 |

2.4. Amostragem e análises do solo

A umidade do solo foi medida em três pontos abaixo da copa de cada indivíduo/espécie/tratamento usando um sensor de umidade do solo baseado no conteúdo volumétrico de água (CVA) no solo. (HydroSense II, Campbell Scientific, EUA). As amostras de solo foram coletadas a 0-5 e 5-10 de profundidade. Três amostras foram coletadas por parcela e misturadas para formar uma amostra composta. As amostras foram analisadas para pH em H₂O. Os elementos P e potássio (K) foram extraídos com Mehlich 1 e os elementos cálcio (Ca), magnésio (Mg) e Al foram extraídos com solução de 1M KCl pelo laboratório especializado do departamento de solos da Universidade Federal de Viçosa (UFV), Brasil. A amostra composta de 0-10 cm de profundidade foi utilizada para análises isotópicas do solo de nitrogênio e carbono.

2.5. Nutrientes foliares e eficiência no uso de água

As concentrações de N, P, K, Ca, Mg, enxofre (S), manganês (Mn) e Al foliar foram obtidas a partir de amostras compostas de três folhas por indivíduo. As concentrações foram determinadas por método de digestão uma mistura de ácido nítrico, ácido perclórico e ácido sulfúrico (Embrapa, 1999). As determinações foram realizadas pelo Laboratório do Departamento de Solos da Universidade Federal de Viçosa (UFV), Brasil.

As razões isotópicas de carbono (¹³C/¹²C) e nitrogênio (¹⁵N/¹⁴N) de cada amostra foram determinadas por um espectrômetro de massa da razão isotópica Thermo Quest-Finnigan Delta Plus Plus (Finnigan-MAT; CA) com interface com um analisador elementar

(Carla Erba modelo 1110; Milão, Itália) no Laboratório de Ecologia Isotópica, CENA-USP, Brasil. As relações isotópicas estáveis foram medidas seguindo os padrões internacionalmente reconhecidos e os padrões laboratoriais das relações isotópicas estáveis foram relatadas na notação "delta" como "δ values" em partes por mil (‰) onde $\delta\text{‰} = (R_{\text{amostra}}/R_{\text{padrão}} - 1) \times 1000$, onde R é a relação molar do isotópico raro para abundante ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ou $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$) na amostra e padrão.

A eficiência intrínseca do uso da água (iEUA), a razão das taxas de fotossíntese pela transpiração líquidas, foi calculada a partir da quantidade de isótopo ^{13}C foliar ($^{13}\text{C}_{\text{planta}}$) e na atmosfera ($^{13}\text{C}_{\text{ar}}$) (Farquhar *et al.*, 1989; Pérez-Harguindeguy *et al.*, 2013):

$$iEUA = \frac{A}{g_s} = \frac{\delta^{13}C_{ar} - \delta^{13}C_{planta}}{1 + \delta^{13}C_{planta}}$$

Onde, A= Taxa de assimilação e g_s = condutância estomática.

A EUA muda rapidamente, e a metodologia isotópica representa uma medida a longo prazo de $^{13}\text{C}_{\text{planta}}/^{13}\text{C}_{\text{ar}}$, refletindo especialmente $^{13}\text{C}_{\text{planta}}/^{13}\text{C}_{\text{ar}}$ durante períodos favoráveis.

2.6. Características morfológicas

Para cada indivíduo, foram medidos o diâmetro a 20 cm do solo e a altura total (distância entre a base do caule e o tecido vivo mais apical utilizando régua telescópica). Durante o período chuvoso (janeiro - março de 2018) a área foliar total foi estimada através da contagem de todas as folhas da copa e posteriormente multiplicada pela área foliar média. A área foliar média foi obtida a partir de três folhas totalmente expandidas de três ramos terminais expostos ao sol e com o menor dano foliar possível e certificando – se que os ramos terminais foram produzidos após a fertilização de 2017. Os ramos terminais foram armazenados em uma caixa térmica até que o peso fresco das folhas fosse medido dentro de 6 horas. As folhas frescas foram escaneadas e as imagens foram processadas no pacote 'LeafArea' (Katabuchi, 2015) para R. A área foliar específica (AFE) foi obtida a partir da razão entre a área foliar e a massa foliar seca. As folhas foram secas na estufa por 72h a 70°C. A massa foliar seca foi obtida em balança analítica ($\pm 0,001\text{g}$). A densidade específica do ramo (DER) foi obtida a partir dos três ramos terminais de cada indivíduo, excluindo casca e medula. O volume de amostra de ramo foi obtido pelo método de deslocamento de água, baseado no princípio de Arquimedes e na densidade da água de 1 mg.mm⁻³. Posteriormente,

as amostras dos ramos foram secas na estufa a 70 °C durante 72 horas (Pérez Harguindeguy et al., 2013).

A fim delimitar a área de xilema ativo (XA) ramos terminais de cada espécie foi previamente delimitada com corante de safranina (1%). Os ramos terminais foram colocados embebidos em solução corante e deixados transpirar livremente, em seguida, foi realizada uma secção transversal no caule para delimitar o xilema ativo (XA). A área da secção transversal do XA foi medida excluindo-se a medula e a casca.

2.7. Anatomia das folhas e do xilema ativo

A anatomia do XA foi obtida a partir dos mesmos ramos terminais utilizados nos procedimentos supracitados. Aproximadamente cinco centímetros de comprimento de cada ramo foram armazenados em álcool 70%. Cortes transversais foram feitos em um micrótomo de madeira com espessura aproximada de 25 µm. Entre 30 e 40 cortes foram selecionados, lavados em água destilada, tratados com água sanitária a 50%, lavados novamente, em sequência, colocados em álcool a 30% e posteriormente a 50%. A coloração foi feita com safranina - azul alciano alcoólica (4:1). Posteriormente, as amostras passaram por uma série alcoólica de 50%, 70%, 90% e 100%, e acetato puro. As lâminas foram montadas sobre verniz vitral. A área total do lúmen e a frequência de vasos foram quantificadas com o software Image Pro Plus versão 6.0. A frequência dos vasos foi automaticamente quantificada pelo programa. Esta metodologia foi desenvolvida durante este trabalho, e o mesmo método foi utilizada para todos os tratamentos e controle. O procedimento consistiu em delimitar um 1 mm² (Fig.4A) de área do corte transversal da madeira. O programa era calibrado para contar determinadas áreas com semelhança de cor do pixel manualmente escolhido (Fig 4B).

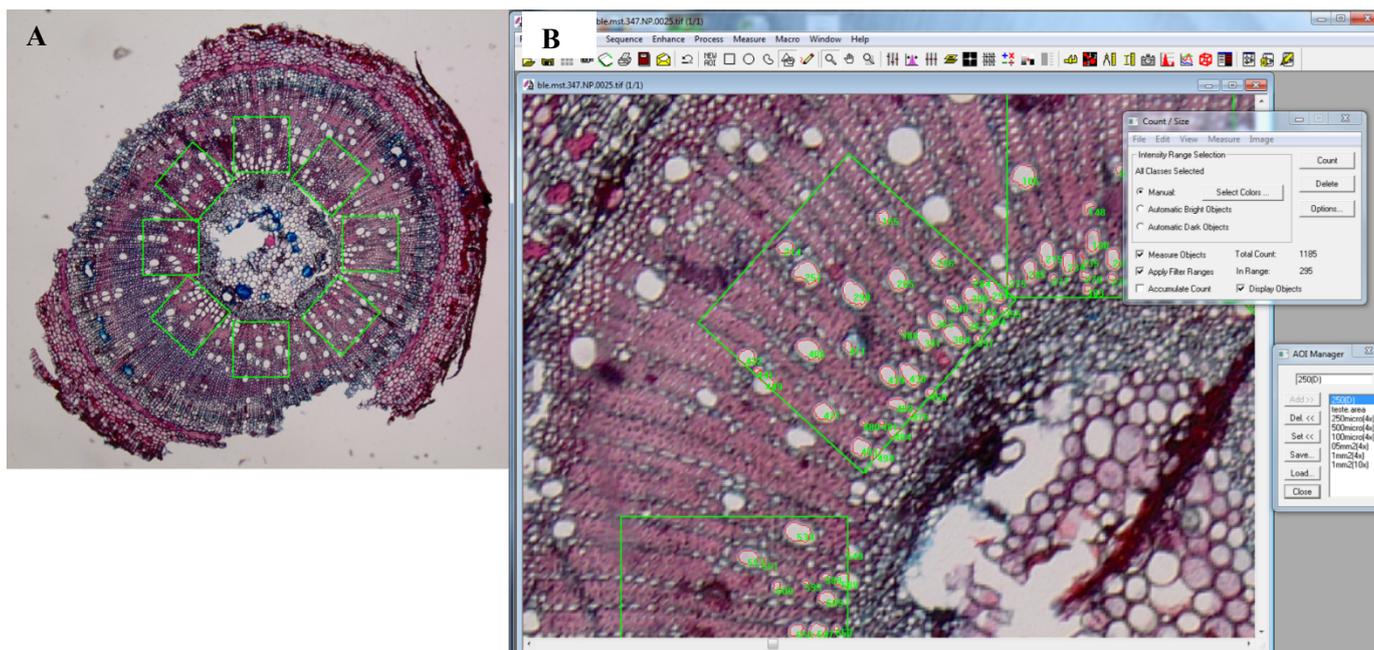


Figura 3. Etapa de processamento de imagem a partir de fotomicrografia de cortes transversais da madeira. (A) Exemplo de amostragem para quantificar densidade de vasos, a área da soma dos quadrados verdes é igual 1 mm². (B) Detalhe de contagem dos vasos automatizada, perímetro do vaso em vermelho.

Com base na lei de Hagen-Poiseuille, a condutividade teórica específica do xilema ativo (K_{ix}) foi calculada a partir do somatório do diâmetro de vasos e normalizada pela área da seção transversal do XA (Tyree & Zimmermann, 2013, Scholz et al., 2013):

$$K_{ix} = \sum \frac{\pi D^4}{128 \eta}$$

D é o diâmetro do vaso e η é o índice de viscosidade da água ($1,002 \times 10^{-9}$ MPa s em 20°C).

O índice de vulnerabilidade a cavitação (l_{vul}) foi calculada pela razão entre o diâmetro médio do vaso (μm) e a densidade do vaso, segundo Arbellay et al. (2012). Altos valores de l_{vul} indicam alta vulnerabilidade funcional do xilema ao estresse hídrico.

Três folhas totalmente expandidas e expostas ao sol de cada indivíduo foram coletadas e as regiões centrais do limbo foliar foram removidas, fixadas em FAA 50oGL e armazenadas em álcool a 50% (Johansen, 1940). Cortes transversais foram feitos a partir da borda, nervura e região mediana entre essas duas regiões. Os cortes foram feitos em resina histológica e o protocolo sugerido pelo fabricante (Leica) foi seguido. Após desidratação em série alcoólica, o material foi colocado em soluções de pré-infiltração por 3 horas em vácuo

e, em seguida, infiltrado por 24 horas. Os cortes foram emblocados para corte transversal em moldes de polietileno e secos por aproximadamente 72 h. Os cortes foram feitos com o micrótomo rotativo (Leica RM 2145, Wetzlar, Alemanha), com espessura de 0,08 µm. Os cortes foram distendidos com água na placa de aquecimento. Para a coloração, foi utilizado azul de toluidina 0,05% por aproximadamente 1 minuto. As imagens foram obtidas por microscópio eletrônico da marca Olympus BX40. Imagens anatômicas de cortes transversais foliares foram utilizadas para medir a espessura dos tecidos da epiderme e do mesófilo. A densidade dos estomas foi obtida a partir de cortes paradérmicos. Uma amostra de aproximadamente 1 cm² foi retirada da lâmina da folha, colocada em solução de Franklin (ácido acético 1:1 e peróxido de hidrogênio) por 72 h em forno a 60°C. Posteriormente, as epidermes adaxial e abaxial foram coradas com safranina alcoólica a 1% e fixadas com verniz de vidro corado. A organização mesofílica e a frequência e comprimento dos estomas foram quantificadas com o software Image Pro Plus versão 6.0.

O índice de poro estomático (IPE) foi calculado da seguinte forma:

$$\text{IPE} = \text{Densidade de Estômatos} \times \text{Comprimento Célula Guarda}^2 \times 10^{-4}$$

A espécie *S. ferrugineus* tem estômatos em criptas, por isso não foi possível quantificar os parâmetros relacionados com o estômato para esta espécie.

2.8 Estatística

Para comparar o efeito das adições de nutrientes, todos os dados obtidos de indivíduos submetidos a tratamento foram comparados com o teste t pareado. A distribuição dos resíduos do teste estatístico e o teste de Shapiro-Wilk foram utilizados para verificar a normalidade dos dados. Teste de permutação foi utilizado para averiguar a distribuição e diferenças entre os dados dos indivíduos controle e tratamento considerando o tamanho do efeito e o intervalo de confiança de 95%. Teste de PERMANOVA two ways foi utilizado para comparar a influência dos tratamentos e a influência das características inerentes às espécies. Uma análise de componentes principais (PCA) foi usada para identificar possíveis agrupamentos entre as espécies estudadas, bem como para investigar quais traços morfo-anatômicos são os mais influentes.

Utilizou-se a modelagem de equações estruturais (SEM, em inglês) para avaliar

preditores diretos da arquitetura hidráulica, mudanças na eficiência do uso da água e vulnerabilidade à cavitação. A SEM foi escolhida porque permite uma estimativa rigorosa dos efeitos diretos e testes para o ajuste geral de uma rede complexa de influência (Grace et al., 2010). A adição de nutrientes (N, P e N+P) foram considerados um preditor exógeno. O modelo mais adequado e as suas variáveis foram escolhidas para melhor explicar os fenômenos estudados, bem como para satisfazer as premissas de um modelo válido.

3. Resultados

3.1. Química do solo

A comparação da química do solo nas parcelas de controle e tratamento diferiu significativamente (Tab. 2). O pH do solo em todos os tratamentos foi significativamente menor do que nas parcelas de controle. A concentração de P foi menor nas parcelas fertilizadas com N e significativamente maior nas fertilizadas com P (N+P e P). O N total do solo (%) não diferiu entre os tratamentos e as parcelas controle. No entanto, as parcelas de NP apresentaram níveis significativamente ($p < 0,1$) mais altos de nitrogênio inorgânico, como nitrato (NO_3^-). A concentração de Al^{3+} aumentou significativamente nas parcelas N e N+P, enquanto que a concentração de Ca^{2+} foi significativamente maior nos tratamentos P e N+P. O CVA foi significativamente menor nas parcelas fertilizadas com P (P e N+P). O CVA teve alta correlação com a cobertura linear de *Melinis minutiflora* ($R = -0,80$, $p > 0,0001$), gramínea invasora no Cerrado.

Tabela 2. Concentrações de nutrientes no solo das parcelas: Controle (C), nitrogênio (N), nitrogênio + fósforo (NP) e fósforo (P). Os valores são médias \pm DP (n = 4). Os efeitos significativos da fertilização no que respeita ao controlo são indicados como *p < 0,1, **p < 0,05 e ***p < 0,01, teste t pareado.
CVA - Conteúdo volumétrico de água.

| Tratamentos | pH | CVA | P | N | K | Ca ²⁺ | Mg ²⁺ | Al ³⁺ | δ N ¹⁵ | C/N |
|-------------|---------------------------------------|---------------------------------------|--------------------------------------|-----------------|------------------------|---------------------------------------|---------------------------|---------------------------------------|--------------------------|------------------|
| | | (%) | (mg.kg ⁻¹) | (%) | (mg.kg ⁻¹) | (cmolc.kg ⁻¹) | (cmolc.kg ⁻¹) | (cmolc.kg ⁻¹) | (‰) | Ratio |
| C | 4,71 \pm 0,14 | 24,33 \pm 2,29 | 1,66 \pm 0,33 | 0,20 \pm 0,02 | 27,00 \pm 6,64 | 0,18 \pm 0,05 | 0,10 \pm 0,04 | 0,93 \pm 0,15 | 4,94 \pm 0,39 | 18,86 \pm 0,88 |
| N | 4,09 \pm 0,06 *** | 22,11 \pm 3,16 | 1,28 \pm 0,11 * | 0,18 \pm 0,03 | 23,40 \pm 3,29 | 0,15 \pm 0,03 | 0,08 \pm 0,02 | 1,40 \pm 0,13 *** | 5,36 \pm 0,49 | 18,66 \pm 0,38 |
| NP | 4,16 \pm 0,19 *** | 19,90 \pm 2,80 ** | 6,40 \pm 2,80 ** | 0,19 \pm 0,02 | 28,40 \pm 2,89 | 0,44 \pm 0,17 ** | 0,15 \pm 0,09 | 1,44 \pm 0,13 *** | 5,17 \pm 0,30 | 18,54 \pm 0,30 |
| P | 4,31 \pm 0,05 *** | 21,88 \pm 2,26 ** | 6,84 \pm 3,23 ** | 0,20 \pm 0,02 | 25,40 \pm 1,35 | 0,32 \pm 0,06 *** | 0,11 \pm 0,03 | 0,99 \pm 0,16 | 5,38 \pm 0,52 | 19,12 \pm 0,29 |

3.2 Nutrientes foliares

As concentrações de nutrientes foliares foram alteradas pela adição de nutrientes ao solo (Tab. 3). As concentrações de N foram significativamente maiores somente para *Q. parviflora* enquanto que as concentrações de P foliar foram significativamente maiores em todas as espécies exceto *R. montana*. A razão N/P diminuiu no tratamento N+P para três das cinco espécies estudadas, *B. salicifolius*, *O. hexasperma* e *S. ferrugineus*.

Em todas as cinco espécies, um dos elementos (N ou P) diminuiu quando o outro elemento foi manipulado (por exemplo, valores foliares de N significativamente menores em parcelas fertilizadas com P). O aumento de Ca foliar (Tab. A1) foi observado em todas as espécies estudadas para os tratamentos N+P e P. O enxofre (S) foi o elemento que mostrou um aumento significativo em todas as espécies e tratamentos em relação ao controle (Tab. A1).

A abundância natural de δN^{15} das espécies estudadas variou de -3.50 (*B. salicifolius*) a +4.89 (*R. montana*) em parcelas controle. A espécie *B. salicifolius* apresentou maior δN^{15} em indivíduos fertilizados com N e N+P. Indivíduos de *S. ferrugineus* em parcelas N também apresentaram aumento na abundância natural de δN^{15} (Tab. 3). A espécie *O. hexasperma* diminuiu C e N totais, resultando em maiores razão C/N em parcelas fertilizadas com N+P e P. Um padrão similar foi observado em *B. salicifolius*, mas em parcelas N e N+P (Tab. 3).

Tabela 3. Concentrações de nutrientes foliares dos indivíduos distribuídos nas parcelas: Controle (C), nitrogênio (N), nitrogênio + fósforo (NP) e fósforo (P). Os valores são médias \pm DP (n = 5). Os efeitos significativos da fertilização no que respeita ao controlo são indicados como *p < 0,1, **p < 0,05 e ***p<0,01, teste t pareado. CVA - Conteúdo volumétrico de água.

| Espécies e Tratamentos | N (dag.kg ⁻¹) | P (dag.kg ⁻¹) | N/P ratio | δN^{15} (‰) | N Total (%) | C Total (%) | C/N Ratio |
|-----------------------------------|--------------------------------------|-------------------------------------|--|---------------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|
| <i>Blepharocalyx salicifolius</i> | | | | | | | |
| C | 1,37 \pm 0,10 | 0,08 \pm 0,00 | 17,08 \pm 1,57 | -3,50 \pm 0,55 | 1,39 \pm 0,14 | 47,15 \pm 0,51 | 34,25 \pm 2,87 |
| N | 1,41 \pm 0,07 | 0,08 \pm 0,01 | 17,24 \pm 1,83 | -2,58 \pm 0,61 * | 1,52 \pm 0,04 | 47,74 \pm 0,51 | 31,36\pm0,68 * |
| NP | 1,45 \pm 0,07 | 0,11\pm0,02 ** | 13,31\pm1,79 *** | -1,37 \pm 0,88 ** | 1,60\pm0,11 * | 46,92 \pm 0,44 | 29,40\pm1,99 * |
| P | 1,20 \pm 0,09 * | 0,23\pm0,05 *** | 5,48\pm0,97 *** | -2,93 \pm 0,89 | 1,27 \pm 0,13 | 45,66\pm1,20 * | 36,42 \pm 3,52 |
| <i>Ouratea hexasperma</i> | | | | | | | |
| C | 1,63 \pm 0,18 | 0,09 \pm 0,01 | 18,39 \pm 1,65 | 0,11 \pm 0,64 | 1,76 \pm 0,06 | 48,88 \pm 0,22 | 27,87 \pm 0,97 |
| N | 1,55 \pm 0,18 | 0,08 \pm 0,00 | 18,72 \pm 1,84 | 0,07 \pm 0,36 | 1,67 \pm 0,15 | 49,38 \pm 0,79 | 29,87 \pm 2,52 |
| NP | 1,45 \pm 0,08 | 0,10\pm0,01 ** | 14,26 \pm 0,98 *** | -0,60 \pm 0,86 | 1,51\pm0,09 *** | 48,08\pm0,43 ** | 32,03\pm2,07 ** |
| P | 1,38 \pm 0,03 | 0,10\pm0,01 ** | 13,70 \pm 0,89 *** | -0,09 \pm 0,26 | 1,42\pm0,09 *** | 47,91\pm0,45 ** | 33,85\pm2,19 ** |
| <i>Qualea parviflora</i> | | | | | | | |
| C | 1,19 \pm 0,12 | 0,06 \pm 0,00 | 21,08 \pm 1,38 | 0,17 \pm 0,78 | 1,32 \pm 0,14 | 44,54 \pm 0,42 | 34,08 \pm 3,28 |
| N | 1,27 \pm 0,09 | 0,06 \pm 0,01 | 22,84 \pm 1,56 | 0,68 \pm 0,79 | 1,37 \pm 0,14 | 44,89 \pm 0,84 | 33,21 \pm 3,75 |
| NP | 1,46 \pm 0,05 ** | 0,07\pm0,01 ** | 21,34 \pm 2,07 | 0,12 \pm 0,13 | 1,51 \pm 0,11 | 44,50 \pm 0,42 | 29,56 \pm 2,41 |
| P | 1,24 \pm 0,05 | 0,06 \pm 0,00 | 20,87 \pm 1,93 | 0,23 \pm 1,06 | 1,29 \pm 0,09 | 44,89 \pm 1,22 | 34,96 \pm 3,11 |
| <i>Roupala montana</i> | | | | | | | |
| C | 1,11 \pm 0,02 | 0,06 \pm 0,01 | 19,92 \pm 2,18 | 4,89 \pm 0,67 | 1,07 \pm 0,11 | 51,14 \pm 0,50 | 48,50 \pm 5,51 |
| N | 1,09 \pm 0,11 | 0,05 \pm 0,01 | 23,49 \pm 1,66 * | 5,48 \pm 1,07 | 0,96 \pm 0,13 | 50,93 \pm 0,32 | 53,98 \pm 7,60 |
| NP | 1,05 \pm 0,13 | 0,05 \pm 0,01 | 23,38 \pm 1,51 * | 3,60 \pm 1,57 | 0,98 \pm 0,15 | 49,93 \pm 0,90 | 52,41 \pm 7,81 |
| P | 1,06 \pm 0,12 | 0,05 \pm 0,01 | 21,94 \pm 1,52 | 5,12 \pm 0,79 | 1,01 \pm 0,09 | 50,83 \pm 0,44 | 50,88 \pm 4,72 |
| <i>Styrax ferrugineus</i> | | | | | | | |
| C | 1,34 \pm 0,04 | 0,08 \pm 0,00 | 16,07 \pm 0,54 | -1,95 \pm 0,65 | 1,40 \pm 0,07 | 50,56 \pm 0,49 | 36,10 \pm 1,84 |
| N | 1,24 \pm 0,15 | 0,07 \pm 0,01 | 16,97 \pm 0,49 ** | -1,60 \pm 0,68 | 1,35 \pm 0,14 | 51,00 \pm 0,80 | 38,10 \pm 4,11 |
| NP | 1,30 \pm 0,11 | 0,11\pm0,02 * | 11,90 \pm 1,27 *** | -0,48\pm0,63 ** | 1,39 \pm 0,08 | 49,68\pm0,55 * | 35,87 \pm 2,12 |
| P | 1,32 \pm 0,07 | 0,10\pm0,01 ** | 12,91 \pm 1,22 *** | -1,35 \pm 0,69 | 1,34 \pm 0,06 | 49,11\pm0,72 ** | 36,65 \pm 1,21 |

3.3 Características morfológicas e anatômicas

Em geral, as características morfológicas analisadas não apresentaram diferenças substanciais entre os indivíduos nas parcelas fertilizadas e nas de controle (Tab. 4). No entanto, a área foliar média diminuiu com a adição de P (tratamentos N+P e P) em quatro das cinco espécies. No tratamento com N, houve um aumento da área foliar total (AFT) em três das cinco espécies: *B. salicifolius*, *O. hexasperma* e *S. ferrugineus*, em três, duas e três vezes respectivamente. Uma grande variação intra-específica, 57% do coeficiente de variação em média, foi encontrada em relação a AF/XA_{PLANTA} , um índice da arquitetura arbórea de potenciais restrições na oferta de água em relação à demanda transpiracional. Embora as diferenças não tenham sido significativas, é possível observar um aumento no AF/XA_{PLANTA} em indivíduos em tratamento com N, exceto *Q. parviflora*. Este índice ao nível dos ramos (AF/XA_{RAMO}) não apresentou diferenças significativas entre os tratamentos.

A AFE foi a única variável morfológica que diferiu significativamente ($p < 0,1$) entre os tratamentos de fertilização e controle (Tab. 4). Os indivíduos de *B. salicifolius* em parcelas N+P apresentaram maior AFE do que em parcelas de controle, enquanto *O. hexasperma* apresentou menor AFE em parcelas fertilizadas com P. A DER não diferiu significativamente entre parcelas de controle e parcelas fertilizadas. No entanto, três espécies, *Q. parviflora*, *R. montana* e *S. ferrugineus* apresentaram maiores valores de DER nas parcelas N. A espécie *B. salicifolius* apresentou valores menores de DER em todos os tratamentos em relação ao controle.

Tabela 4. Características morfológicas das plantas para os tratamentos de controle (C), nitrogênio (N), nitrogênio + fósforo (NP) e fósforo (P). Área foliar refere-se à área foliar média de cada unidade de folha, AFT - Área foliar total, AF/AX_{PLANTA} - Área Foliar Total pela Área basal, AF/AX_{RAMO} - Área foliar pela área de xilema, DER - Densidade específica do ramo AFE - Área foliar específica. Os valores são médias ± DP (n = 4 a 6). Efeitos significativos da fertilização em relação ao controle são indicados como *P < 0,1 e **P < 0,05 (Teste t pareado).

| Espécies e Tratamentos | Área Foliar (cm ²) | AFT (m ²) | AF/AX _{PLANTA} (m ² .m ⁻²) | AF/AX _{RAMO} (cm ² .mm ⁻²) | DER (g.cm ⁻³) | AFE (cm ² .g ⁻¹) |
|-----------------------------------|--------------------------------|-----------------------|--|--|---------------------------|---|
| <i>Blepharocalyx salicifolius</i> | | | | | | |
| C | 13,35±2,79 | 1,91±1,11 | 57,94±21,92 | 51,70±1,34 | 0,73±0,08 | 69,04±5,31 |
| N | 11,91±2,63 | 3,72±3,98 | 91,25±45,72 | 45,00±9,27 | 0,69±0,07 | 66,50±5,46 |
| NP | 12,31±2,99 | 2,27±1,06 | 69,34±47,74 | 53,17±8,03 | 0,61±0,12 | 77,42±6,02* |
| P | 10,02±1,91 | 1,12±0,57 | 61,04±29,44 | 49,45±16,84 | 0,68±0,11 | 68,71±8,24 |
| <i>Ouratea hexasperma</i> | | | | | | |
| C | 41,30±4,16 | 0,66±0,41 | 46,62±38,19 | 76,18±9,35 | 0,48±0,05 | 75,06±4,49 |
| N | 44,90±7,36 | 1,34±0,71 | 51,01±23,73 | 74,08±11,78 | 0,47±0,06 | 69,77±4,40 |
| NP | 50,49±9,93 | 1,63±1,32 | 68,37±41,43 | 69,71±16,75 | 0,50±0,03 | 69,57±5,44 |
| P | 37,03±7,84 | 0,77±0,61 | 35,70±31,20 | 73,81±29,72 | 0,53±0,05 | 65,41±3,39** |
| <i>Qualea parviflora</i> | | | | | | |
| C | 18,76±5,53 | 2,75±1,51 | 104,36±54,60 | 44,56±31,43 | 0,56±0,04 | 68,35±4,72 |
| N | 13,75±3,83 | 2,07±1,08 | 60,37±10,98 | 51,92±14,82 | 0,59±0,06 | 71,47±9,45 |
| NP | 14,10±3,78 | 2,11±1,18 | 93,68±57,22 | 54,22±8,17 | 0,56±0,06 | 96,45±32,29 |
| P | 14,84±3,91 | 2,82±1,75 | 110,36±38,84 | 47,91±4,96 | 0,58±0,06 | 69,08±7,91 |
| <i>Roupala montana</i> | | | | | | |
| C | 47,05±13,95 | 1,68±0,76 | 77,12±32,12 | 66,63±28,63 | 0,56±0,04 | 74,86±30,25 |
| N | 63,45±17,21 | 1,45±0,82 | 84,42±42,20 | 47,45±13,32 | 0,57±0,04 | 49,40±4,83 |
| NP | 46,33±7,61 | 0,93±0,81 | 48,03±26,41 | 58,68±19,33 | 0,58±0,06 | 50,41±10,61 |
| P | 42,28±8,88 | 0,96±0,20 | 45,41±16,86 | 60,57±9,55 | 0,59±0,05 | 48,56±6,89 |
| <i>Styrax ferrugineus</i> | | | | | | |
| C | 29,38±11,22 | 0,96±0,79 | 35,04±26,78 | 35,70±9,29 | 0,43±0,03 | 60,12±5,30 |
| N | 32,86±6,74 | 2,85±1,77 | 81,46±52,34 | 47,29±17,06 | 0,51±0,09 | 60,71±10,37 |
| NP | 24,51±5,46 | 1,27±0,91 | 45,05±36,33 | 43,45±5,64 | 0,46±0,03 | 64,29±8,40 |
| P | 29,18±6,46 | 1,26±0,56 | 80,78±66,32 | 42,70±5,39 | 0,44±0,07 | 65,75±5,90 |

A fim de investigar os efeitos da adição de nutrientes em todas as espécies estudadas em conjunto, foram utilizados dados agrupados e normalizados pelo controle. A adição de N aumentou a área foliar total, mas não significativamente. A adição de P induziu uma resposta oposta, diminuindo a área foliar total em relação ao controle (Fig. 4A). Aparentemente P inibiu o crescimento da área foliar total quando combinado com N (tratamento N+P). Os efeitos da adição de nutrientes no o AF/XA dependeram da escala observada (Fig. 4B e C). Os resultados mostram que o AF/XA_{RAMO} não mudou em comparação com o controle ou entre tratamentos (Fig. 4C), enquanto o AF/XA_{PLANTA} aumentou em todos os tratamentos em relação ao controle (Fig. 4B). A AFE não diferiu entre os tratamentos (Fig. 4D). Os parâmetros anatômicos, IPE e condutividade específica do xilema teórico (K_{tx}) apresentaram as maiores diferenças em relação ao controle. O IPE diminuíram (Fig. 4E) e o K_{tx} aumentou em todos os tratamentos relativos ao controle (Fig. 4E).

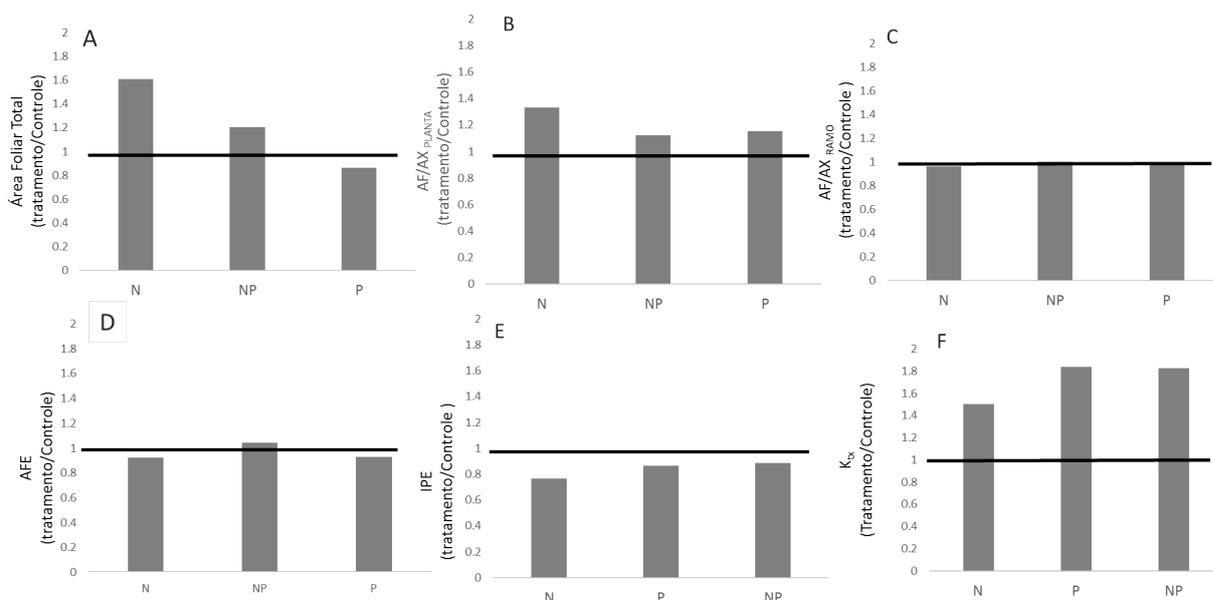


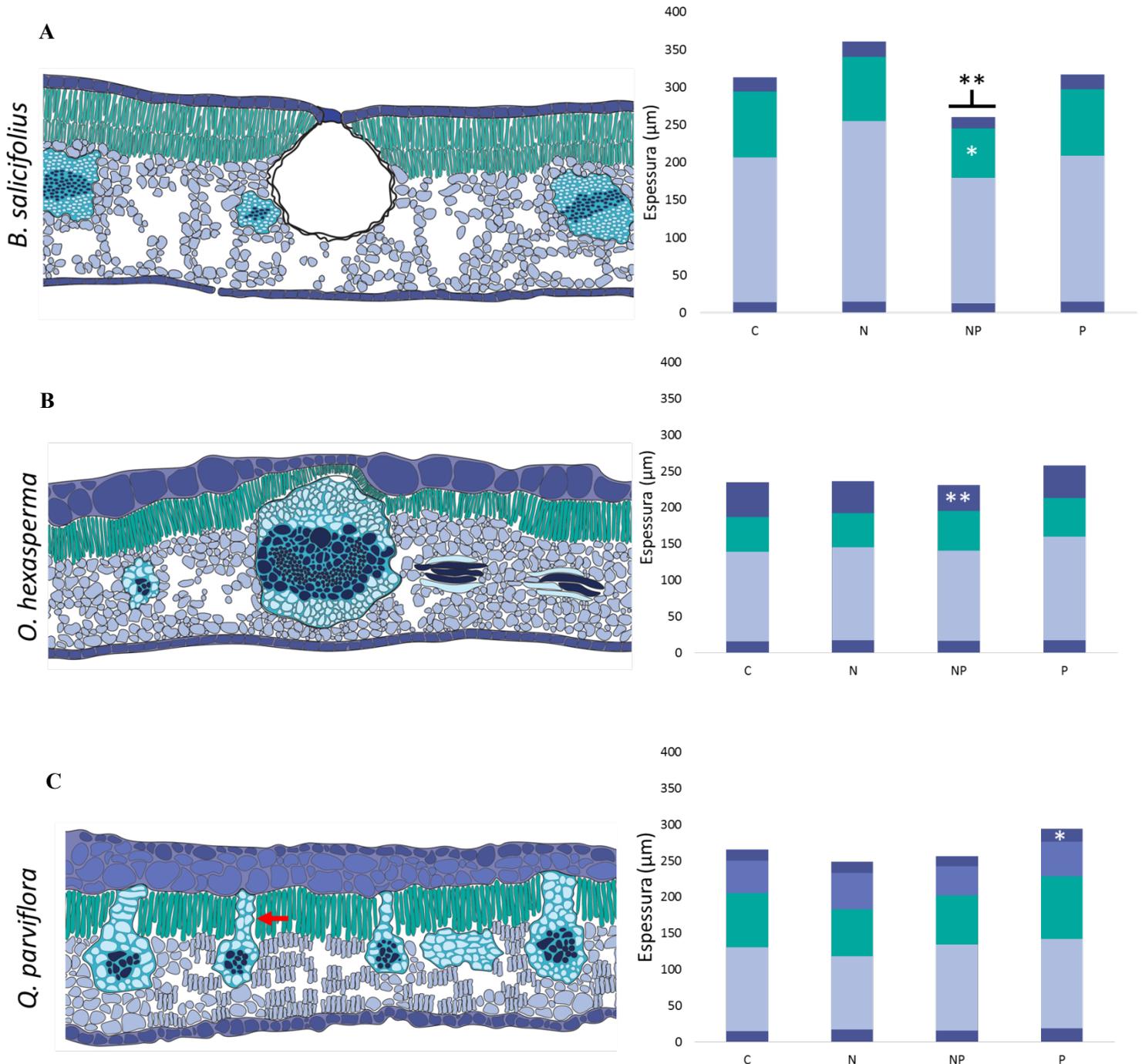
Figura 4. Dados agrupados para as cinco espécies estudadas mostrando respostas relativas médias de (A) área foliar total (AFT), (B) área foliar total pela área basal (planta AF/AX_{PLANTA}) (C) área foliar por área de xilema no ramo (AF/AX_{RAMO}) (D) índice de poro estomático (IPE) e (E) condutividade teórica específica de xilema (K_{tx}) aos tratamentos de fertilização com nitrogênio (N) fósforo (P) e N+P. Dados coletados durante a estação chuvosa de 2018. Dados normalizados em relação ao controle. Valores são médias (n = 5 espécies por tratamento, exceto dados de IPE em que n = 4).

As características anatômicas foram influenciadas pela adição de nutrientes em todas as espécies estudadas (Tab. 5). A espécie *O. hexasperma* apresentou epiderme adaxial significativamente mais fina em parcelas fertilizadas com N+P (Fig. 5B). Por outro lado, *Q. parviflora* e *S. ferrugineus* aumentaram a espessura da epiderme adaxial nos tratamentos P e N, respectivamente (Fig. 5C e D).

Tabela 5. Características anatómicas para tratamentos de controle (C), Nitrogênio (N) e fósforo (P) e N+P (NP). Os valores são média ± SD (n = 4 a 6). **p* = 0,1, ** *p* = 0,05 e *** *p* = 0,01 (teste t pare

| Espécies e Tratamento | Epiderme adaxial (µm) | Parênquima paliçádico (µm) | Parênquima lacunoso (µm) | Epiderme abaxial (µm) | Espessura total (µm) | Densidade estomática (Stomata. mm ⁻²) | Comprimento estômato (µm) | Densidade vasos (µm) | Área do Lúmen (mm ²) |
|-----------------------------------|-----------------------|----------------------------|--------------------------|-----------------------|-------------------------|---|---------------------------|-------------------------|----------------------------------|
| | Folha | | | | | Xilema | | | |
| <i>Blepharocalyx salicifolius</i> | | | | | | | | | |
| C | 19,00 ± 4,04 | 87,45 ± 8,20 | 192,14 ± 20,88 | 14,16 ± 1,67 | 312,73 ± 14,19 | 356,25 ± 25,60 | 16,67 ± 2,77 | 551,92 ± 38,66 | 556,75 ± 54,45 |
| N | 17,68 ± 2,58 | 76,97 ± 7,29 | 206,78 ± 20,78 | 13,20 ± 0,67 | 316,53 ± 25,56 | 378,25 ± 19,71 | 15,50 ± 1,99 | 587,81 ± 72,56 | 516,38 ± 122,53 |
| NP | 15,18 ± 1,01 | 65,37 ± 14,08* | 166,80 ± 20,03 | 12,48 ± 1,57 | 259,83 ± 28,95** | 467,00 ± 122,66 | 14,62 ± 0,86 | 436,71 ± 54,32** | 696,23 ± 130,50* |
| P | 19,22 ± 6,51 | 88,60 ± 25,36 | 193,74 ± 47,84 | 14,82 ± 3,82 | 316,37 ± 81,06 | 399,75 ± 89,02 | 15,20 ± 1,24 | 513,30 ± 51,07 | 693,42 ± 148,02 |
| <i>Ouratea hexasperma</i> | | | | | | | | | |
| C | 47,62 ± 5,02 | 47,86 ± 4,56 | 123,64 ± 8,79 | 15,74 ± 1,74 | 234,85 ± 6,71 | 328,67 ± 49,08 | 27,99 ± 1,36 | 626,62 ± 101,50 | 730,76 ± 109,85 |
| N | 43,87 ± 10,8 | 47,19 ± 11,81 | 128,28 ± 20,14 | 17,09 ± 2,62 | 235,15 ± 26,10 | 315,80 ± 64,26 | 28,09 ± 3,64 | 528,05 ± 95,93 | 891,07 ± 247,29 |
| NP | 35,24 ± 4,94** | 54,94 ± 6,14 | 123,89 ± 22,08 | 16,68 ± 1,46 | 230,73 ± 20,84 | 338,20 ± 47,76 | 27,96 ± 1,46 | 610,44 ± 53,78 | 1036,41 ± 106,06*** |
| P | 44,48 ± 4,99 | 53,60 ± 6,81 | 142,55 ± 24,75 | 17,14 ± 2,65 | 257,76 ± 29,99 | 344,40 ± 69,59 | 26,97 ± 2,60 | 541,90 ± 86,03 | 1208,00 ± 99,82*** |
| <i>Qualea parviflora</i> | | | | | | | | | |
| C | 15,19 ± 1,40 | 74,62 ± 12,02 | 115,68 ± 24,48 | 15,00 ± 2,26 | 265,36 ± 35,21 | 382,67 ± 87,16 | 22,89 ± 2,13 | 387,75 ± 57,08 | 1270,18 ± 76,89 |
| N | 15,06 ± 1,90 | 64,38 ± 16,35 | 101,04 ± 23,15 | 17,36 ± 3,08 | 248,57 ± 45,19 | 340,20 ± 77,60 | 17,76 ± 3,07* | 423,65 ± 24,00 | 1389,41 ± 259,57 |
| NP | 13,93 ± 2,92 | 67,90 ± 14,11 | 118,93 ± 26,70 | 15,84 ± 3,01 | 256,06 ± 43,96 | 351,34 ± 130,52 | 19,02 ± 3,86 | 404,57 ± 60,58 | 1278,98 ± 88,05 |
| P | 17,65 ± 1,57* | 86,63 ± 7,55 | 123,14 ± 19,97 | 19,06 ± 3,78 | 293,77 ± 26,40 | 346,67 ± 14,47 | 18,67 ± 1,96* | 352,94 ± 25,65 | 1453,41 ± 485,55 |
| <i>Roupala montana</i> | | | | | | | | | |
| C | 20,49 ± 0,98 | 113,98 ± 26,22 | 162,17 ± 25,46 | 15,16 ± 3,02 | 311,79 ± 53,49 | 284,60 ± 77,17 | 33,41 ± 4,46 | 219,80 ± 34,10 | 1189,85 ± 127,73 |
| N | 20,50 ± 3,75 | 80,86 ± 8,78* | 164,00 ± 14,47 | 14,66 ± 2,48 | 280,01 ± 17,20 | 279,20 ± 43,74 | 29,95 ± 1,86 | 204,80 ± 40,00 | 891,46 ± 98,99*** |
| NP | 21,90 ± 2,21 | 100,92 ± 8,24 | 188,29 ± 24,53 | 14,80 ± 1,94 | 325,89 ± 30,62 | 277,00 ± 33,76 | 34,04 ± 4,48 | 279,00 ± 43,58* | 824,20 ± 191,18** |
| P | 21,14 ± 4,30 | 90,58 ± 19,40 | 162,32 ± 23,14 | 15,29 ± 2,56 | 289,32 ± 41,00 | 283,20 ± 45,75 | 28,52 ± 1,88 | 281,80 ± 47,63* | 814,97 ± 69,07*** |
| <i>Styrax ferrugineus</i> | | | | | | | | | |
| C | 33,17 ± 2,99 | 50,27 ± 10,14 | 37,72 ± 9,83 | 12,29 ± 2,48 | 133,44 ± 22,77 | NA | NA | 350,66 ± 34,36 | 531,58 ± 95,10 |
| N | 40,52 ± 2,82* | 59,91 ± 9,36 | 36,26 ± 7,86 | 8,38 ± 0,73** | 145,05 ± 17,10 | NA | NA | 312,66 ± 41,49 | 905,91 ± 200,51** |
| NP | 37,84 ± 4,40 | 59,20 ± 7,71 | 33,60 ± 4,73 | 7,03 ± 1,09** | 137,65 ± 13,61 | NA | NA | 333,67 ± 15,15 | 938,13 ± 224,02* |
| P | 36,63 ± 3,92 | 54,89 ± 8,14 | 36,86 ± 7,81 | 7,58 ± 1,31** | 135,95 ± 16,50 | NA | NA | 369,55 ± 43,93 | 976,82 ± 112,44*** |

A espessura do parênquima paliçádico foi significativamente menor em *B. salicifolius* fertilizado com N+P comparado ao controle (Fig. 5A) e em *R. montana* em parcelas fertilizadas com N (Fig. 5E). A espécie *S. ferrugineus* apresentou epiderme abaxial significativamente mais fina em todos os tratamentos comparados ao controle e qualitativamente se diferenciou das demais espécies devido à rugosidade em sua face abaxial com presença de tricomas (Fig. 5D). A única espécie que diminuiu significativamente a espessura da folha foi a *B. salicifolius* quando fertilizada com N+P (Fig. 5A). Apesar de



Continuação

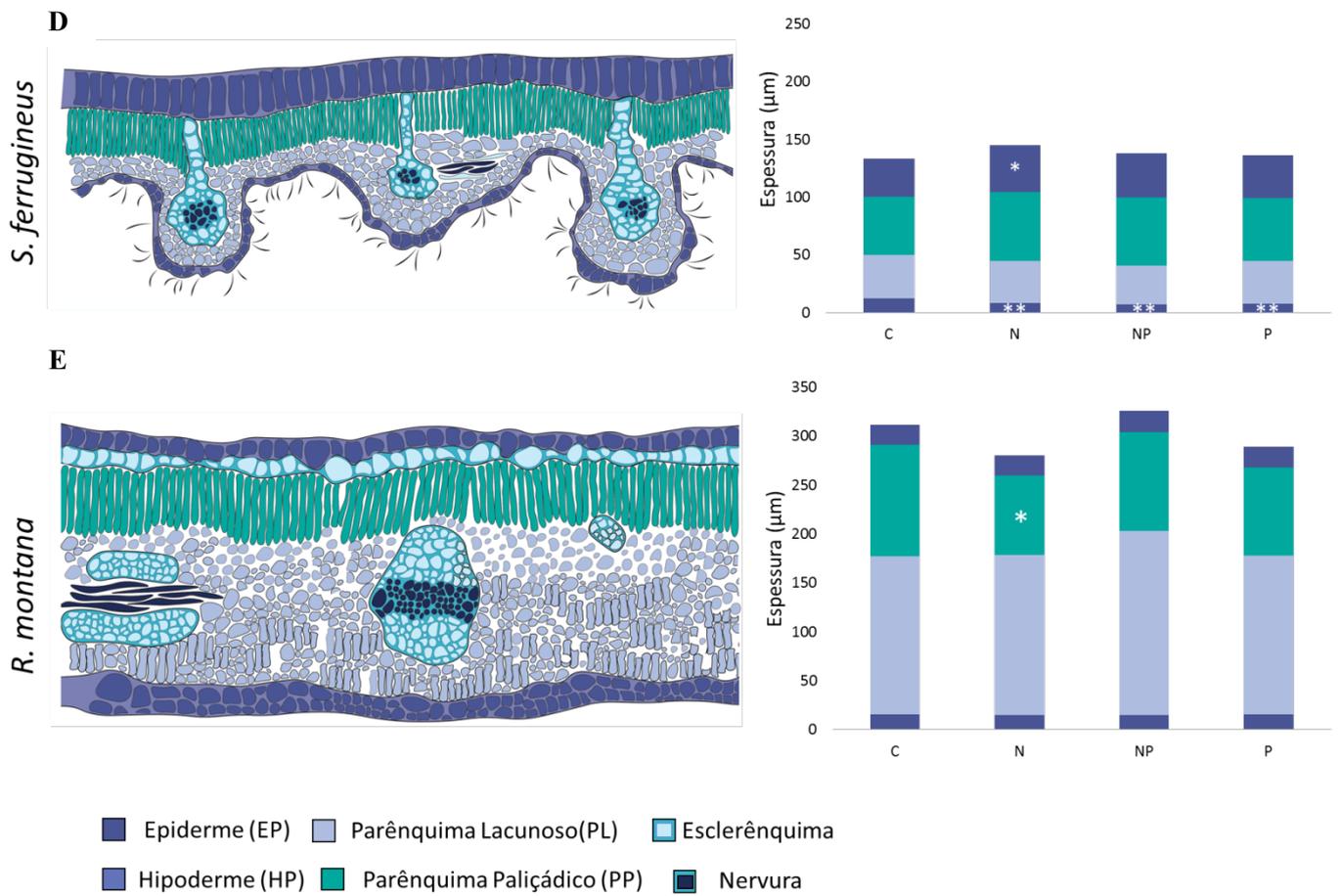


Figura 5. Esquemas anatômicos baseados em imagens de micrografias e gráfico de barras dos respectivos comprimento de tecido. Os valores são média ± DP (n = 5). Os efeitos significativos da fertilização em relação ao controle são indicados como *P < 0,1, **P < 0,05 e ***P < 0,01 (Teste T pareado). A seta vermelha indica a extensão da bainha (BSE, em inglês) e a seta azul indica tricomas.

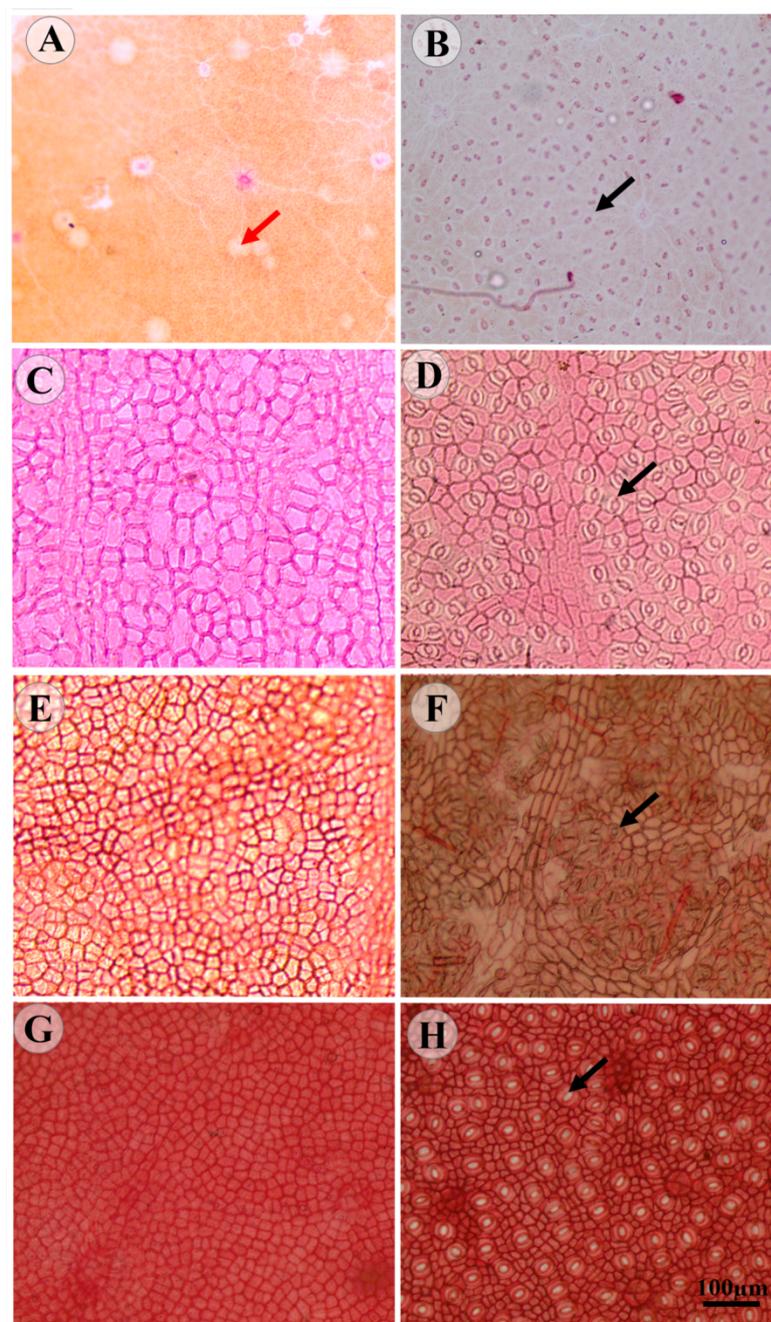


Figura 6. Cortes paradérmicos foliares de (A-B) *Blepharocalyx salicifolius* (Kunth) O. Berg, faces adaxial e abaxial, respectivamente (glândula foliar - seta vermelha). (C-D) *Ouratea hexasperma* (A.St.-Hil.) Baill., faces adaxial e abaxial, respectivamente. (E-F) *Qualea parviflora* Mart., faces adaxial e abaxial, respectivamente. (G-H) *Roupala montana* Aubl., faces adaxial e abaxial, respectivamente. Setas pretas indicam os estômatos.

alterações no mesofilo e epidermes foliares, não houve um padrão aparente ao longo das espécies nem relacionado à fenologia foliar.

Todas as espécies estudadas apresentaram estômatos apenas na face abaxial da folha (Fig. 6). Nenhuma espécie apresentou alterações significativas na densidade de estômatos (Tab. 5). Observa-se uma diminuição do tamanho dos estômatos nos indivíduos das parcelas

fertilizadas. Entretanto, apenas *Q. parviflora* apresentou comprimento das células guarda significativamente menores nas parcelas fertilizadas com N e P.

O IPE representa o potencial máximo de condutância estomática da planta. A resposta do IPE aos tratamentos variou entre as espécies. Na *Q. parviflora*, o IPE foi menor em todos os tratamentos, diminuindo cerca de 50% no tratamento N, 46% no NP e 40% no P (Fig. 7). A espécie *R. montana* também apresentou menores valores de IPE nos tratamento N, 18%, e P, 23% . A espécie *B. salicifolius* apresentou valores em média 20% menores de IPE sob fertilização de N em relação ao controle.

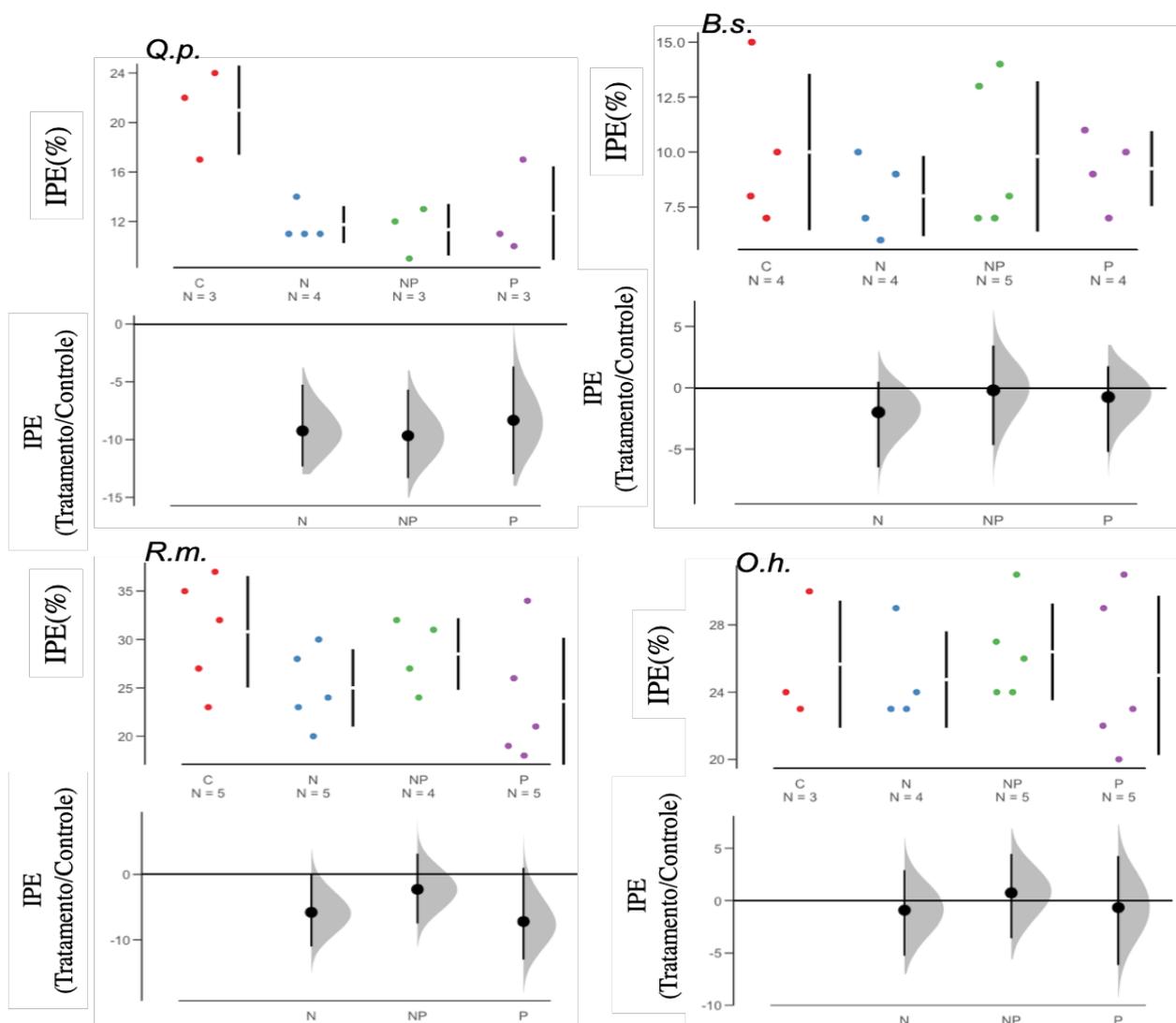


Figura 7. Os pontos coloridos representam a distribuição dos índices de poro estomático (IPE) de cada indivíduo. As barras verticais representando a variação dentro dos tratamentos controle (C), nitrogênio (N), nitrogênio + fósforo (NP) e fósforo (P). O segundo gráfico representa a diferença entre o IPE nos tratamentos e o IPE no controle. As distribuições em cinza são resultado de 5.000 permutações e as barras verticais representam 95% dos intervalos de confiança. Q.p. - *Qualea parviflora*, B.s. - *Blepharocalyx salicifolius*, R.m. - *Roupala montana* e O.h. - *Ouratea hexasperma* (n = 3-5).

As análises de permutação indicam um aumento do iEUA em três das cinco espécies estudadas, principalmente nas parcelas fertilizadas com P (NP e P) (Fig. 9). As espécies *R. montana* e *Q. parviflora* apresentaram uma diminuição do iEUA quando fertilizadas com apenas P, enquanto indivíduos de todas as espécies estudadas das parcelas N não diferiram dos indivíduos das parcelas controle (Fig. 9).

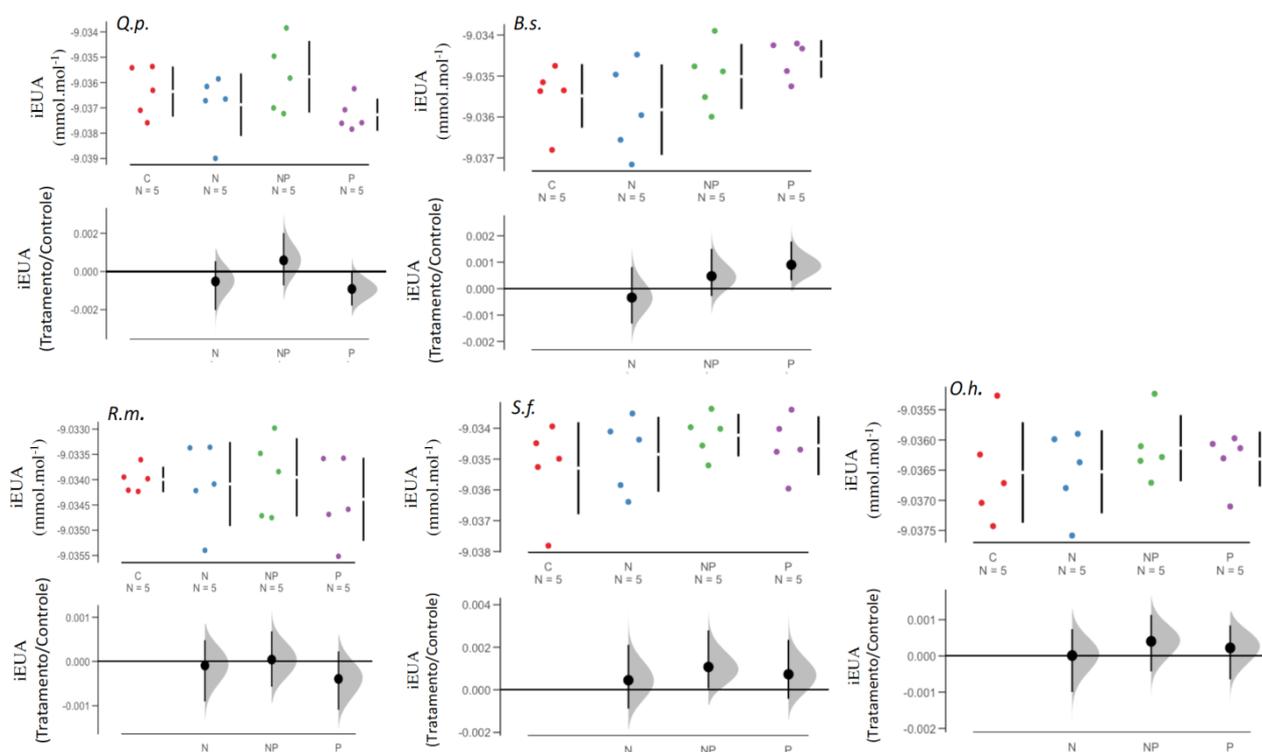


Figura 8. Os pontos coloridos representam a distribuição das eficiências do uso de água intrínseca (iEUA) de cada indivíduo. As barras verticais representando a variação dentro dos tratamentos controle (C), nitrogênio (N), nitrogênio + fósforo (NP) e fósforo (P). O segundo gráfico representa a diferença entre o iEUA nos tratamentos e o iEUA no controle. As distribuições em cinza são resultado de 5.000 permutações e as barras verticais representam 95% dos intervalos de confiança. Q.p. - *Qualea parviflora*, B.s. - *Blepharocalyx salicifolius*, R.m. - *Roupala montana* S.f. - *Styrax ferrugineus* e O.h. - *Oouratea hexasperma* (n = 5).

Observou-se uma ampla variação de áreas do lúmen e frequência de vasos entre as espécies (Tab. 5 e Fig. 9). As maiores diferenças entre os tratamentos e o controle foram observadas nas características anatômicas do xilema ativo (Tab. 5 e Fig. 9). A metodologia adotada por nosso estudo, no que diz respeito à densidade dos vasos, permite apenas a comparação entre os tratamentos e o controle dentro de cada espécie. Devido o procedimento automatizado o programa pode ter considerado o parênquima axial junto com o lúmen dos vasos. A contagem automatizada superestimava em média 30% a mais vasos do que a

contagem a olho nu. Esta metodologia é proposta para experimentos em que ela pode ser comparada apenas entre os grupos estudados. Não sendo sugerida para comparações com estudos que não utilizaram a mesma metodologia. A espécie *R. montana* apresentou densidades de vasos significativamente maiores quando fertilizadas com N+P e P, enquanto *B. salicifolius* teve resposta oposta nestes mesmos tratamentos (Tab. 5) Todas as espécies estudadas apresentaram alterações estatisticamente significativas na área do lúmen ($p < 0,1$), exceto *Q. parviflora* (Tab. 5). No entanto, analisando-se o intervalo de confiança e o tamanho do efeito, *Q. parviflora* apresentou grande variação entre os indivíduos do tratamento N (Fig. 10). Três das cinco espécies estudadas, *B. salicifolius*, *S. ferrugineus* e *O. hexasperma* mostraram aumento na área do lúmen nas parcelas N+P e P (Fig. 10). A espécie *S. ferrugineus* também mostrou um aumento quando fertilizada com N. No entanto, *R. montana* exibiu resultados opostos em comparação com as outras espécies, diminuindo a área lúmen dos vasos em todos tratamentos (Tab. 5 e Fig. 10).

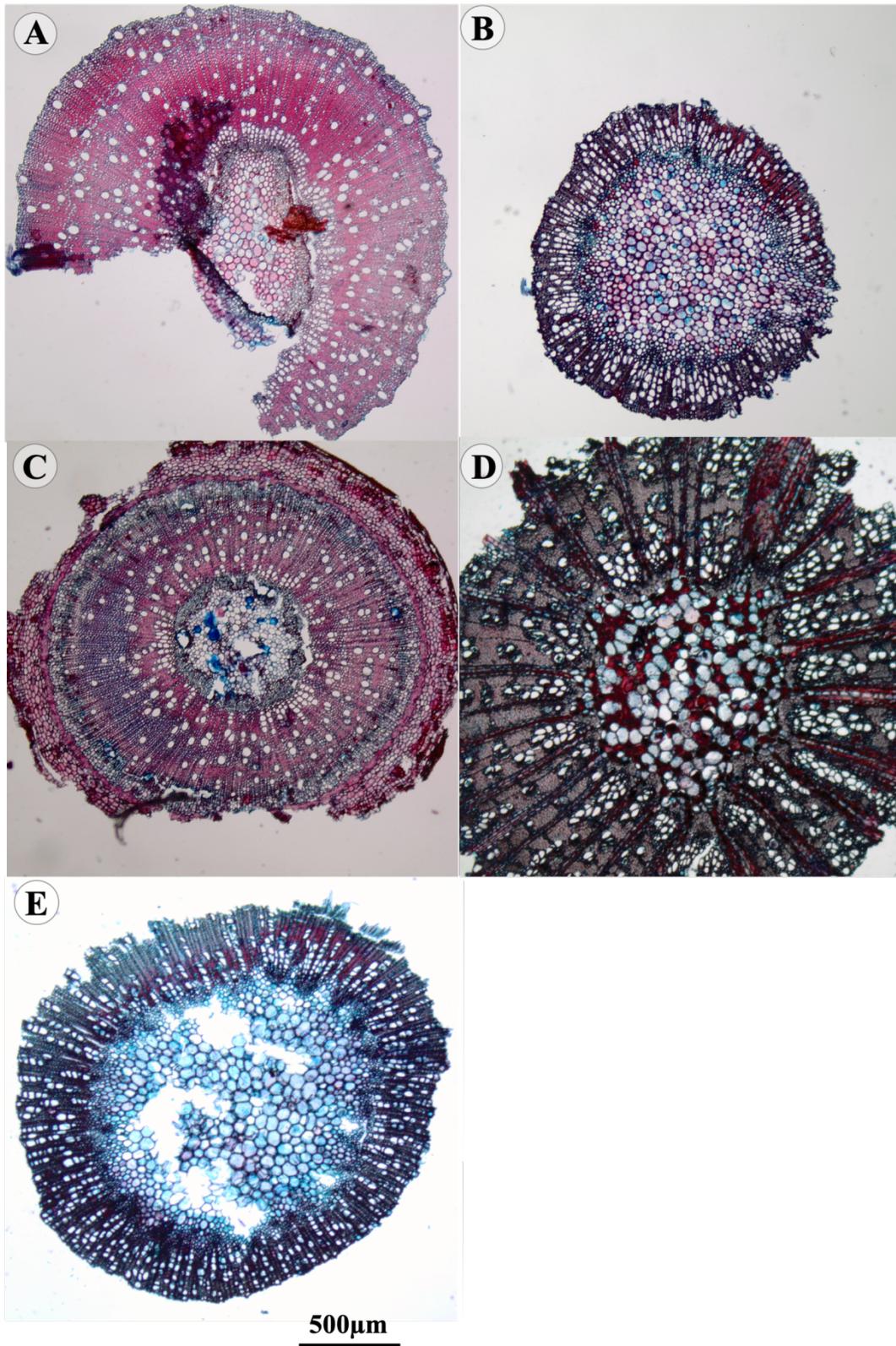


Figura 9.A-E Cortes transversais do ramo terminal de (A) *Blepharocalyx salicifolius* (Kunth) O. Berg, (B) *Ouratea hexasperma* (A.St.-Hil.) Baill., (C) *Qualea parviflora* Mart. (D) *Roupala montana* Aubl. (Raio - seta vermelha) e (E) *Styrax ferrugineus* Nees & Mart. Xp – Xilema primário; xs – Xilema secundário e mp – Medula parenquimática.

A condutividade teórica específica do xilema (K_{tx}) apresentou padrões semelhantes à da área do lúmen dos vasos (Fig. 11). No entanto, a espécie *Q. parviflora* apresentou menores valores de K_{tx} no tratamento P. Já *B. salicifolius*, *O. hexasperma* e *S. ferrugineus* mostraram um aumento significativo na K_{tx} quando fertilizados com P (Fig. 11). A espécie *S. ferrugineus* aumentou o K_{tx} em todos os tratamentos (Fig. 11).

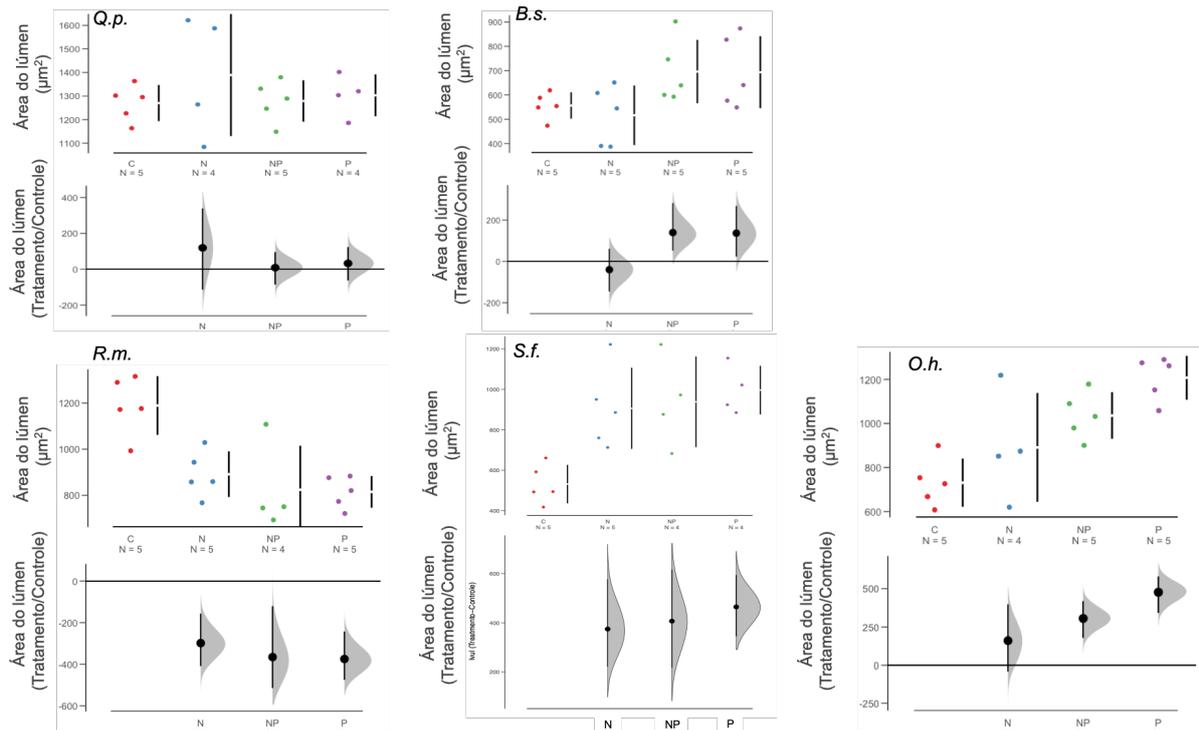


Figura 10. Os pontos coloridos representam a distribuição das áreas do lúmen do vaso de cada indivíduo. As barras verticais representando a variação dentro dos tratamentos controle (C), nitrogênio (N), nitrogênio + fósforo (NP) e fósforo (P). O segundo gráfico representa a diferença entre a área do lúmen nos tratamentos e a área do lúmen no controle. As distribuições em cinza são resultado de 5.000 permutações e as barras verticais representam 95% dos intervalos de confiança. Q.p. - *Qualea parviflora*, B.s. - *Blepharocalyx salicifolius*, R.m. - *Roupala montana* S.f. - *Syrax ferrugineus* e O.h. - *Ouratea hexasperma* (n = 5).

O índice que representa a vulnerabilidade à cavitação (l_{vul}) foi maior para quatro das cinco espécies submetidas ao tratamento P (Fig. 12). As espécies *B. salicifolius*, *S. ferrugineus* e *O. hexasperma* também apresentaram valores maiores que o controle sob adição de N+P. As espécies sempre verdes *S. ferrugineus* e *O. hexasperma* também apresentaram maior l_{vul} quando submetidas ao tratamento N aplicado sozinho. Os indivíduos de *R. montana* nas parcelas NP e P apresentaram valores significativamente menores de l_{vul} .

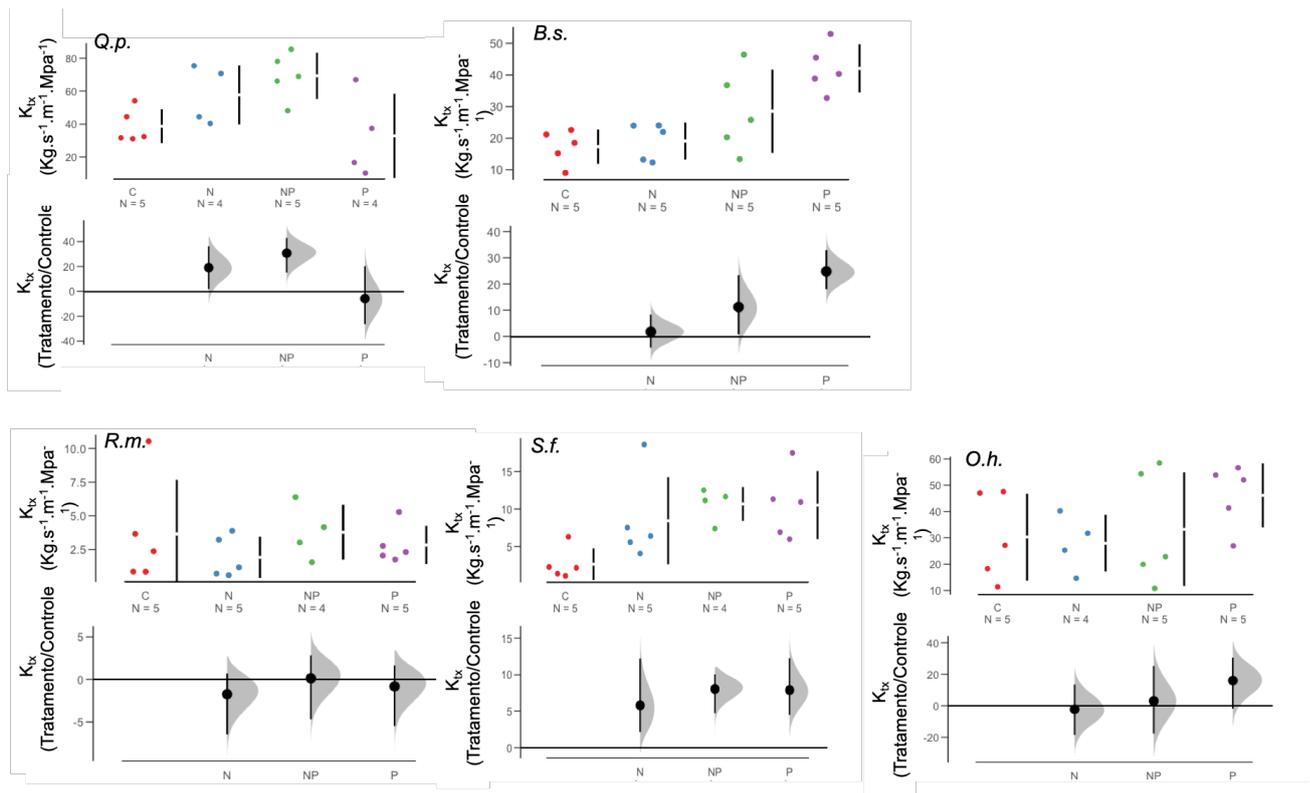


Figura 11. Os pontos coloridos representam a distribuição das condutividades teóricas específicas do xilema (K_{tx}) de cada indivíduo. As barras verticais representando a variação dentro dos tratamentos controle (C), nitrogênio (N), nitrogênio + fósforo (NP) e fósforo (P). O segundo gráfico representa a diferença entre a K_{tx} nos tratamentos e a K_{tx} no controle. As distribuições em cinza são resultado de 5.000 permutações e as barras verticais representam 95% dos intervalos de confiança. Q.p. - *Qualea parviflora*, B.s. - *Blepharocalyx salicifolius*, R.m. - *Roupala montana* S.f. - *Styrax ferrugineus* e O.h. - *Ouratea hexasperma* (n = 5).

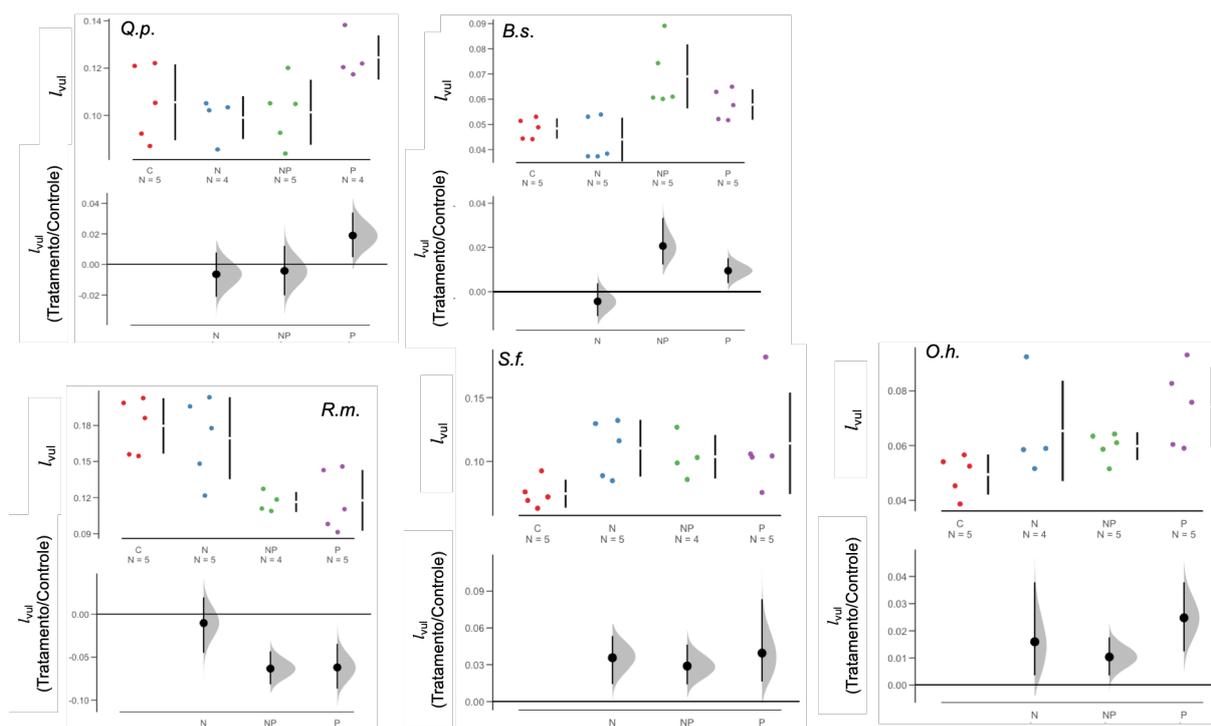


Figura 12. Os pontos coloridos representam a distribuição dos índices de vulnerabilidade à cavitação (I_{vul}) de cada indivíduo. As barras verticais representando a variação dentro dos tratamentos controle (C), nitrogênio (N), nitrogênio + fósforo (NP) e fósforo (P). O segundo gráfico representa a diferença entre a I_{vul} nos tratamentos e a I_{vul} no controle. As distribuições em cinza são resultado de 5.000 permutações e as barras verticais representam 95% dos intervalos de confiança. Q.p. - *Qualea parviflora*, B.s. - *Blepharocalyx salicifolius*, R.m. - *Roupala montana* S.f. - *Styrax ferrugineus* e O.h. - *Ouratea hexasperma* (n = 5).

3.4 Traços morfo-anatômicos, eficiência no uso da água e índice de vulnerabilidade a cavitação.

Os traços morfo-anatômicos: AF/XA_{PLANTA}, AFE, DER, espessura da folha (LT), razão da espessura da folha pela espessura do parênquima paliçada (RPP), razão espessura da folha pela espessura do parênquima paliçada (RPL), IPE e K_{tx} foram mais semelhantes dentro de cada espécie ($p < 0,0001$, PERMANOVA *two ways*) do que dentro de cada tratamento ($p < 0,2755$, PERMANOVA *two ways*). As espécies decídua e brevidecídua *Q. parviflora* e *B. Salicifolius*, respectivamente, apresentaram maiores variações morfo-anatômicas (Fig. 13). A espécie *O. hexasperma* mostrou a menor variação de atributos morfo-anatômicos. A espécie *R. montana* apresentou grande sobreposição da área da elipse, cujo intervalo de confiança é de 95% (Fig. 13). O IPE foi a característica que separou os grupos fenológicos das sempre verdes e decídua/brevidecídua. As características derivadas da anatomia, K_{tx} e IPE, tiveram maior explicação no percentual de variação dos dois principais eixos da PCA (Tab. 6).

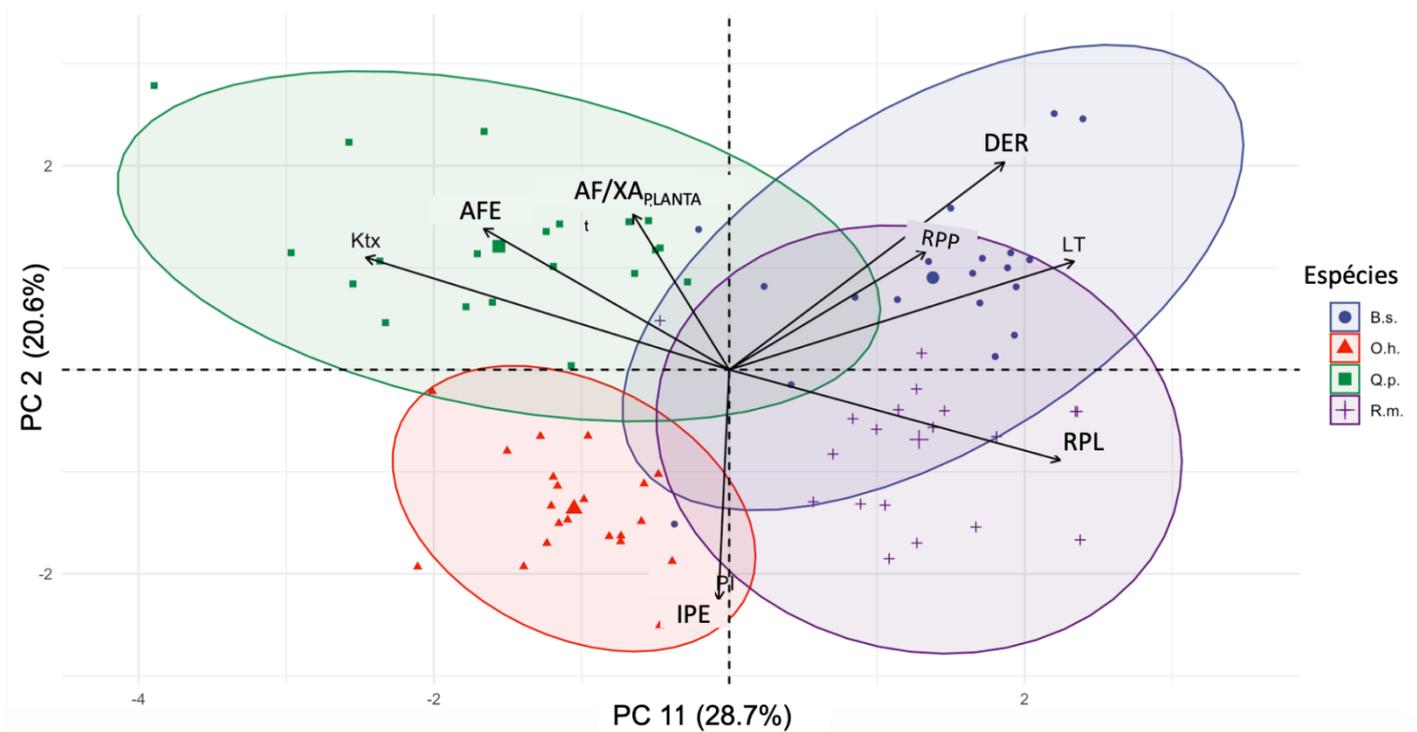


Figura 13. Análises de componentes principais (PCA). AF/AX_{PLANTA}, área foliar total por área basal; AFE, área foliar específica; DER, densidade específica do caule, LT, espessura foliar; RPP, razão parênquima paliçádico; RPL, razão parênquima lacunoso; IPE, índice de poros estomático e K_{tx}, Condutividade teórica específica do xilema. A elipse é desenhada com intervalo de confiança de 95%. A espécie *S. ferrugineus* foi excluída da análise de PCA, pois falta o IPE para esta espécie. Q.p. - *Qualea parviflora*, B.s. - *Blepharocalyx salicifolius*, R.m. - *Roupala montana* e O.h. - *Ouratea hexasperma* (n = 4 a 6).

Tabela 6. Loading scores de oito características morfo-anatômicas de plantas nas análises de componentes principais (PCA). AF/AX_{PLANTA}, área foliar total por área basal; AFE, área foliar específica; DER, densidade específica do caule, LT, espessura foliar; RPP, razão parênquima paliçádico; RPL, razão parênquima lacunoso; IPE, índice de poros estomático e K_{tx}, Condutividade teórica específica do xilema.

| Atributos | Nível | PC 1 | PC 2 |
|-------------------------|-----------------|--------------|--------------|
| AF/AX _{PLANTA} | Morfologia | -0,20 | 0,47 |
| AFE | Morfologia | -0,51 | 0,42 |
| DER | Morfologia | 0,57 | 0,62 |
| LT | Morfologia | 0,71 | 0,33 |
| RPP | Anatomia | 0,41 | 0,36 |
| RPL | Anatomia | 0,68 | -0,27 |
| IPE | Anatomia | -0,03 | -0,69 |
| K_{tx} | Anatomia | -0,75 | 0,34 |
| % de variação | | 28,7 | 20,6 |

As variáveis e as interações do modelo de equação estrutural (SEM) foram escolhidas a partir das premissas feitas no modelo teórico (Fig. 1). Entre as variáveis de condição do solo foi escolhida a umidade (CVA) por ter apresentado resposta à adição de tratamento e relação com a hidráulica da planta. A AFE foi escolhida como parâmetro morfológico, pois foi a única variável morfológica que apresentou diferença significativa entre o controle e os tratamentos. A fim de tornar o modelo válido (Hooper et al., 2008) interações foram adicionados ou retirados, analisando os resíduos da correlação entre as variáveis. As interações adicionadas foram: CVA \rightarrow iEUA; CVA \rightarrow K_{tx}; CVA \rightarrow IPE e K_{tx} \rightarrow IPE. A única interação prevista pelo modelo teórico e retirada do SEM foi: Tratamento \rightarrow l_{vul}. O modelo obtido apresentou Chi-quadrado de 0,95, este índice diz respeito a magnitude da discrepância entre a amostra e as matrizes de covariâncias, um bom modelo de ajuste proporciona um resultado insignificante a um limiar de 0,05 (Barrett, 2007). O erro quadrático médio de aproximação da raiz (RMSEA, em inglês) foi de 0,000, diz quão bem o modelo se ajusta à matriz de covariância, um modelo aceitável deve ter o RMSEA menor que 0,06 (Steiger, 2007). O Índice comparativo de ajuste (CFI, em inglês) foi de 1,000. O CFI assume que todas as variáveis latentes são não correlacionadas (modelo nulo) e compara a matriz de covariância amostral com este modelo nulo. Modelos com CFI > 0,90 indicam um bom ajuste e diferença do modelo nulo.

O modelo resultou em 18 interações (Fig. 14, Anexo 2), sendo 13 estatisticamente significativas e 10 consistentes com as previsões (Fig. 1). Globalmente, este modelo explicou 47% da eficiência intrínseca do uso da água (iEUA), 34% do índice de vulnerabilidade à cavitação (l_{vul}), 39% da condutividade teórica xilemática (K_{tx}), 23% do índice de poro estomático (IPE), 4% da área específica da folha (AFE) e 21% da umidade do solo. A adição de nutrientes ao solo (N, N+P e P) tem interação negativa com a umidade do solo ($\beta = -0,46$). A umidade do solo afeta as características hidráulicas das plantas de diferentes formas e intensidades. Conforme a umidade do solo aumenta, a IPE diminui ($\beta = -0,13$). A relação oposta foi encontrada para K_{tx}, quanto maior a disponibilidade de água do solo maior é a K_{tx} ($\beta = 0,27$). A umidade do solo afeta positivamente, mas não significativamente, a AFE ($\beta = 0,08$). A AFE apresentou interação com a adição de nutrientes, mas de forma não significativa. O iEUA aumenta à medida que a umidade do solo aumenta ($\beta = 0,39$). Conforme hipostatizado, a adição de nutrientes ao solo diminuiu a condutância estomática representada pelo IPE ($\beta = -0,24$) e aumentou a K_{tx}, ($\beta = 0,38$). Diferente do esperado os tratamentos diminuíram significativamente a eficiência intrínseca do uso da água ($\beta = -0,21$).

O efeito negativo da fertilização na l_{vul} não foi significativo e a retirada desta interação melhorou o ajuste do modelo. Apesar da AFE não sofrer efeito significativo da umidade do solo, o aumento da AFE leva a uma redução significativa na IPE ($\beta = -0,23$) e a um aumento na K_{tx} ($\beta = 0,54$). A AFE não tem efeito significativo no iEUA nem na l_{vul} . IPE afeta direta e positivamente o l_{vul} ($\beta = 0,29$), porém seu efeito sobre o iEUA não foi significativo ($\beta = -0,15$). O K_{tx} afeta negativamente a iEUA ($\beta = -0,49$), a l_{vul} ($\beta = -0,35$) e o IPE ($\beta = -0,23$).

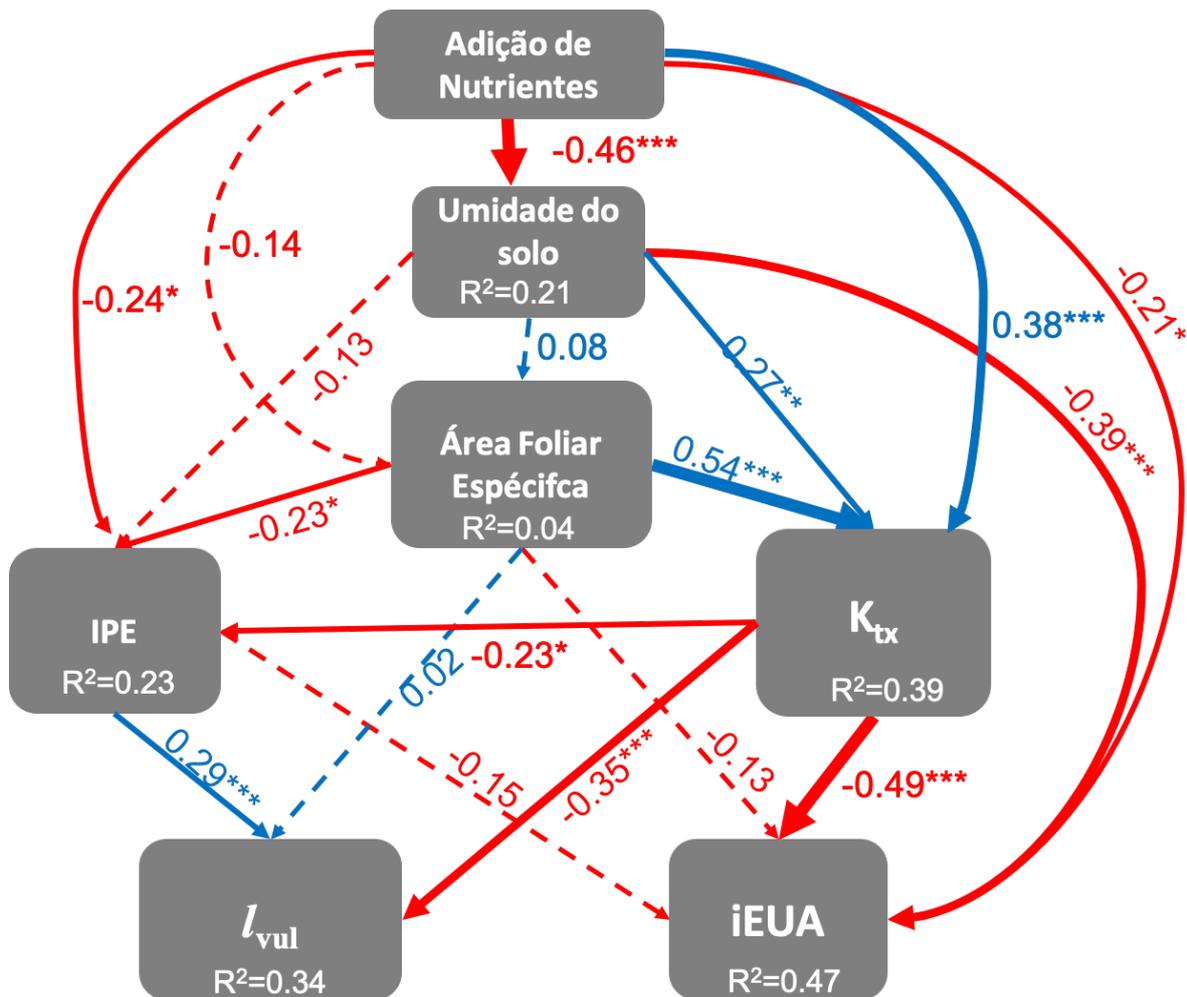


Figura 14. Modelo de equações estruturais mais adequado. As vias positivas e negativas são indicadas por linhas azuis e vermelhas, respectivamente. A espessura das setas é dimensionada para ilustrar a força relativa das interações, e coeficientes significativos são indicados com asteriscos (* $P < 0,1$; ** $P < 0,05$; *** $P < 0,01$). O coeficiente de determinação (R^2) é mostrado em letras brancas para todas as variáveis de resposta (i.e., umidade do solo; AFE, área foliar específica; IPE, índice de poros estomático, K_{tx} , condutividade teórica específica do xilema; l_{vul} , Índice de Vulnerabilidade à Cavitação e iEUA, eficiência intrínseca do uso da água). A adição de nutrientes refere-se à fertilização N, N+P e P. A espécie *S. ferrugineus* foi excluída da análise de SEM.

4. Discussão

4.1 Condição do solo e sucesso de plantas lenhosas sob adição de nutrientes

A acidificação do solo pode ter sido causada pela entrada de compostos de enxofre

presentes nos fertilizantes N e P, aumentando a lixiviação de cátions básicos e aumentando a presença de metais como o Al^{3+} (De Vries et al., 2003). A acidificação do solo como resultado da fertilização com N e P também foi encontrada em estudos anteriores nas mesmas parcelas experimentais como Jacobson et al. (2011). Apesar de Kozovitz et al. (2007) não encontrarem efeito significativo da adição de P no pH do solo nos primeiros dias após fertilização, o efeito sobre o pH foi estabelecido ao longo do tempo. A maior concentração de P, alterações não significativas no N total (%) e um aumento de nitrato nas parcelas de N+P no solo estão de acordo com estudos anteriores (Kozovitz et al., 2007; Jacobson et al., 2011).

A umidade do solo foi menor nas parcelas fertilizadas com P (P e N+P). Foi observado que a cobertura de *M. minutiflora* (capim-gordura), invadiu as parcelas após a adição de P (Werner & Mattos, 1972; Bustamante et al., 2012). Estudos anteriores mostraram um particionamento vertical das fontes de água do solo utilizadas pelos estratos gramíneo e plantas lenhosas, indicando que não há sobreposição entre estes estratos (Rossatto et al., 2013; Rossatto et al., 2014). No entanto, a partir dos resultados desse estudo há de se averiguar possíveis interações indiretas entre os estratos lenhoso e gramíneo. Uma limitação dos resultados de umidade do solo nesse estudo é a profundidade a que o conteúdo volumétrico de água no solo (CVA) foi determinado (0 -10 cm de profundidade). Espécies lenhosas de Cerrado podem utilizar a água disponível em camadas mais profundas (Scholz et al. 2008).

Espécies lenhosas de Cerrado têm a capacidade de explorar aumentos na disponibilidade de nutrientes do solo (Bucci et al., 2006; Kozovits et al., 2007). As plantas de cerrado são mais limitadas por P do que por N (Nardoto et al., 2006). Os resultados apontam para uma limitação mais forte de P, uma vez que a relação N/P foliar foi menor na maioria das espécies fertilizadas com ambos os nutrientes (N+P). A adição de N sem P resultou em menor P foliar e vice-versa para todas as espécies estudadas, indicando mudanças no equilíbrio estequiométrico desses dois elementos. O aumento da concentração de Ca foliar em todas as espécies estudadas sob a adição de N+P e P pode estar relacionado à presença deste elemento químico no superfosfato utilizado em parcelas fertilizadas com P, assim como o S. Mais estudos são necessários para investigar o papel destes dois elementos nas vias nutricionais de lenhosas do Cerrado.

O intervalo de abundância natural de δN^{15} , -3,5 a 4,90, é um indicador de que estas plantas lenhosas estão usando diferentes fontes de N (Robinson, 2001; Bustamante et al., 2004, Viani et al., 2011). O δN^{15} em *B. salicifolius* e *S. ferrugineus* em parcelas fertilizadas com N mostra que o N utilizado por estas espécies provém do fertilizante adicionado ao solo.

A espécie *B. salicifolius* também é encontrado em solos ricos em nutrientes (Proença & Gibbs, 1994) e sua abundância (Jacobson et al., 2011) e crescimento (Bucci et al., 2006) foram positivamente afetados pela adição de N.

Os resultados da área foliar total e do teor de nutrientes foliar confirmam a hipótese de que remover a limitação nutricional do solo faz com que as espécies aloquem mais carbono nas partes aéreas.

Experimentos de fertilização de longo prazo permitem o estudo da dinâmica da comunidade vegetal sob adição de nutrientes ao solo. A abundância de *R. montana* aumentou duas vezes em parcelas fertilizadas com P (Jacobson et al., 2011, Gomes et al. In prep.). Esta espécie pertence à família das Proteaceae, e uma de suas principais características é a raiz proteóide que otimiza a absorção de P (Watt e Evans, 1999). A abundância de *Q. parviflora* diminuiu cerca de três vezes nas parcelas de P e N+P (Bustamante et al. In prep). A *Q. parviflora* é uma espécie acumuladora de Al (Haridassan et al., 1986) e espécies acumuladoras apresentam efeitos negativos sob a adição de nutrientes. A competição com outras espécies lenhosas como a *R. montana* também pode ter afetado negativamente o sucesso da *Q. parviflora* no experimento de fertilização. Este estudo encontrou alguns padrões relacionados à fenologia foliar. A *O. hexasperma* é a única espécie de que troca continuamente suas folhas independente da estação do ano e apresentou as menores variações morfo-anatômicas. A abundância de *O. hexasperma* diminuiu 54% e 68% nos tratamentos de P e N+P, respectivamente (Bustamante et al. In prep). A fenologia foliar no Cerrado não é definida por grupos discretos, mas sim por um *continuum* de hábitos foliares. A dinâmica da comunidade de lenhosas em resposta a adição de nutrientes pode ter influência da variação de atributos morfo-anatômicos hidráulicos.

4.2. Arquitetura hidráulica de lenhosas do cerrado

Como esperado na hipótese H2, em geral, os atributos anatômicos apresentaram alterações mais evidentes que os atributos morfológicos avaliados em resposta às adições de nutrientes. Os dados desse estudo foram coletados após uma única fertilização, em setembro de 2017, ou seja, dez anos após a última fertilização contínua em 2007. A vegetação do Cerrado tem ciclos N e P muito conservadores (Bustamante et al., 2006; Nardoto et al., 2006) e a área estudada apresentou efeito residual da fertilização no solo de 2007. A remoção da limitação de N causou um maior investimento em tecido fotossintético do que no xilema ativo do ramo e, provavelmente em detrimento do investimento em biomassa subterrânea, o

aumento da área foliar total foi maior em indivíduos que cresceram em parcelas de N, enquanto a adição de P causou um efeito negativo na área foliar total. Como encontrado por Bucci et al. (2006), P tem um efeito inibitório na área foliar. Um aumento maior na área foliar total do que na área do xilema levou a um aumento em AF/XA_{PLANTA} enquanto que ao nível dos ramos, AF/XA_{RAMO} quase não houve alteração com a adição de nutrientes e entre os tratamentos, este atributo hidráulico sofre alterações diferentes dependendo da escala observada. Um aumento no AF/XA_{PLANTA} pode levar a um desequilíbrio entre a demanda de água pelas folhas e a oferta de água pelo xilema ativo, de tal forma que a planta pode apresentar um maior déficit de água, pelo menos que outros ajustes hidráulicos ocorram, como um controle estomático mais forte e aumento da condutividade hidráulica.

Anatomia da folha - respostas às adições de nutrientes

As espécies brevidecídua e decídua, *B. salicifolius* e *Q. parviflora*, respectivamente, apresentaram maior área foliar específica (AFE) que as espécies sempre verdes, *R. montana*, *S. ferrugineus* e *O. hexasperma*. Espécies brevidecídua e decídua geralmente possuem maior área foliar específica e menor vida útil das folhas, e contém mais nutrientes, o que lhes permite serem fotossinteticamente eficientes para otimizar seu período de absorção de carbono (Franco et al., 2005; Kozovits et al., 2007) uma vez que permanecerão sem folhas durante dias ou até meses durante a estação seca.

A maior densidade de estômatos na superfície foliar abaxial, geralmente observada em espécies de ecossistemas áridos, é considerada uma estratégia para reduzir a perda de água. Consistente com isso, todas as espécies estudadas neste ecossistema de savana sazonal possuem estômatos restritos à epiderme abaxial. Sob adição de N ou P estas espécies diminuíram o comprimento do estômago, o que poderia melhorar a sensibilidade do estômago à condição ambiental devido ao fato de que estômatos pequenos podem abrir e fechar mais rapidamente (Drake et al. 2013). A convergente diminuição do comprimento dos estômatos entre as diferentes espécies estudadas mostra como esta estrutura responde prontamente a alterações ambientais. Além de alterações estomáticas, fisiológicas ou anatômicas, outra estratégia para minimizar a perda de água é aumentar a resistência aerodinâmica da superfície responsável pelas trocas gasosas. A espécie *S. ferrugineus* apresentou alta rugosidade somada a presença de tricomas na face abaxial da folha e estômatos em criptas, e estes fatores diminuem a influência física do ar na perda de água.

Além disso, as árvores fertilizadas com N apresentaram índice de poro estomático

(IPE) menores analisando as espécies em conjunto. O IPE é um determinante da condutância estomática máxima (Sack et al., 2003), sugerindo que a adição de nutrientes reduziu as estruturas responsáveis pela perda de água nas espécies estudadas. No entanto, o impacto negativo da fertilização sobre o IPE não foi refletido na área foliar total. Estes resultados indicam que a alteração do IPE é uma das estratégias adaptativas da planta ao ambiente em mudança (Hetherington & Woodward 2003). A fração dos tecidos relacionados a fotossíntese (RPP) e trocas gasosas (RPL) não apresentaram relação explícita com os tratamentos. No entanto, como hipotetizado, a adição de nutrientes seria mais aparente no nível anatômico e os ajustes estruturais anatômicas seriam no sentido de minimizar a perda de água.

Anatomia do xilema ativo - respostas às adições de nutrientes

Os resultados mostraram um evidente aumento do tamanho do lúmen dos vasos sob fertilização P e NP em três das cinco espécies estudadas apesar do xilema ser considerado um tecido conservador frente alterações ambientais. Spann et al. (2016) também encontraram aumento do lúmen dos vasos sob adição de nutrientes. Ao explorar o aumento na disponibilidade de nutrientes, o maior crescimento dos indivíduos fertilizados proporcionou um aumento das estruturas anatômicas do xilema, como os elementos de vaso. Em parcelas de fertilizadas com P, o Ca^{2+} trocável no solo foi significativamente maior do que em parcelas de controle. Estudos revelaram uma influência direta do Ca^{2+} no tamanho do vaso (Fromm, 2010). O aumento no tamanho do lúmen do vaso resultou em maior eficiência na condutividade hidráulica do xilema ativo em quatro das cinco espécies estudadas quando fertilizadas com NP ou P. A maior limitação de P em lenhosas do cerrado (Nardoto et al, 2006) e a colimitação entre N e P pode explicar porque as parcelas fertilizadas apenas com N não apresentaram diferença na área do lúmen da maioria das espécies estudadas em relação ao controle. Os resultados encontrados na espécie *R. montana* foram contrastantes com as demais. Esta espécie apresentou menores áreas do lúmen dos vasos quando fertilizada com N e P. Este comportamento conservativo pode estar relacionado com aumento da aptidão da *R. montana* que triplicou sua ocorrência em parcelas fertilizadas (Bustamante et al. In prep).

Embora a densidade de madeira seja um bom preditor da eficiência da condutividade hidráulica em plantas lenhosas do Cerrado (Bucci et al., 2004), mesmo sem mudanças significativas na densidade específica do ramo (DER) foi possível observar mudanças consideráveis na capacidade de condutividade hidráulica. Stratton et al. (2000) observaram mudanças de cinco vezes na condutividade hidráulica associadas a relativamente pouca

mudança na densidade da madeira. Como esperado, a condutividade teórica específica do xilema global aumentou com o aumento da disponibilidade de nutrientes (Goldstein et al., 2013). Os resultados representam a combinação de mais de uma resposta das plantas sob fertilização por N e P e efeitos adicionais da umidade do solo. Enquanto ajustes fisiológicos em resposta a variações em fatores ambientais podem ser observados em uma escala temporal curta (por exemplo, horas, dias; Larcher, 2000), mudanças estruturais, sejam anatômicas ou morfológicas, requerem períodos mais longos de exposição a novas condições ambientais e ocorrem durante o desenvolvimento da planta (Dickison 2000). Os indivíduos estudados provavelmente sofreram influência do efeito residual dos oito anos de fertilização contínua somadas à fertilização em setembro de 2017.

De acordo com Zhang et al. (2018), os resultados também indicam que o diâmetro do vaso é mais responsivo do que a densidade de vasos quando a disponibilidade de nutrientes aumenta. Aumentar o tamanho do vaso enquanto mantém a densidade do vaso constante resultou no aumento índice de vulnerabilidade a cavitação em quatro das cinco espécies estudadas, principalmente sob fertilização por P. Spann et al. (2016) encontraram resultados semelhantes na fertilização por N e P. Enquanto Villagra et al. (2013) e Bucci et al. (2006) observaram que as plantas fertilizadas por N+P são menos vulneráveis ao estresse hídrico. Diferentes abordagens metodológicas para inferir a vulnerabilidade à cavitação também podem levar a resultados contraditórios. Aqui foi utilizado um índice de vulnerabilidade baseado em métricas de estruturas anatômicas de duas dimensões; no entanto, a segurança hidráulica depende de várias características que envolvem não só o tamanho e frequência do vaso, mas também quantidade de vasos solitários e múltiplos, características das pontuações da membrana e da parede celular, fibras e traqueídes (Mc Culloh e Sperry 2005; Sperry et al. 2006; Pratt et al. 2007). Os resultados da vulnerabilidade à cavitação corroboram o hipotetizado a partir da relação inversa entre eficiência e segurança hidráulica. Os resultados de índice de vulnerabilidade a cavitação podem auxiliar na explicação do sucesso da espécie *R. montana*. Enquanto as demais espécies apresentaram maiores índices de vulnerabilidade a cavitação, essa espécie diminuiu a vulnerabilidade funcional do xilema ao stress hídrico.

4.3. Relação de características morfológicos e anatômicos

A vegetação da área estudada é classificada como semidecídua sazonal (Lenza & Klink, 2006). Diferentes fenologias foliares implicam diferentes estratégias de assimilação de carbono, uso da água e absorção de nutrientes. Os resultados mostram que o índice de poro

estomático, IPE, foi a característica mais importante para a separação de grupos fenológicos. As espécies sempre verdes tiveram relativamente maiores IPE do que as espécies decíduas. Espécies decíduas e brevidecídua apresentaram maiores área foliares específicas, e talvez precisem de um controle estomático mais rápido (Drake et al., 2013). Foi levantada a hipótese de que os efeitos da adição de nutrientes seriam mais evidentes na escala anatômica. Este resultado corrobora o esperado porque as duas características com maior explicação no primeiro e segundo eixos da PCA de características morfo-anatômicas foram derivadas de características anatômicas, o índice de poro estomático (IPE) e a condutividade teórica específica do xilema (K_{tx}). Assim como a interação entre a adição de nutriente e a característica morfológica escolhida no modelo de equação estrutural (SEM, em inglês) não foi significativa enquanto as interações com IPE e K_{tx} apresentaram significância estatística.

4.4. Uso de água em plantas lenhosa sob adição de nutrientes

O papel dos nutrientes é um tema incipiente, mas importante em estudos de mortalidade de plantas lenhosas induzida pela seca (Gessler et al., 2017). Os resultados do presente estudo contribuem para a compreensão das interações entre a assimilação de carbono, transporte de água e nutrição vegetal. O Modelo de Equação Estrutural tornou-se uma ferramenta importante na ecologia para integrar efeitos diretos e indiretos em redes complexas (Grace et al., 2010). O modelo de equação estrutural foi utilizado para compreender a resposta das espécies em conjunto, representando uma parte da comunidade de plantas lenhosas. O modelo de equação estrutural também vem sendo utilizado em ecologia para avaliar efeitos climáticos na morfologia e anatomia da folha em regiões tropicais e temperadas (Tian et al., 2016) mostrando sua relevância para estudos de respostas morfo-anatômicas sob mudanças ambientais.

Sob maior disponibilidade de nutrientes do solo, as plantas de Cerrado apresentaram respostas idiossincráticas, ou seja, peculiares a cada espécie. Estas respostas podem ter se anulado quando avaliadas em conjunto no modelo proposto. Um exemplo, foi a fraca interação da adição de nutrientes e o índice de vulnerabilidade a cavitação (l_{vul}) no modelo de equação estrutural. O índice vulnerabilidade a cavitação foi explicitamente influenciada pela fertilização quando as espécies foram analisadas separadamente. Outra característica que pode ter apresentado o mesmo comportamento foi a eficiência intrínseca do uso de água (iEUA), apesar de um relativo aumento ser observado na maioria das espécies, as duas espécies *R. montana* e *Q. parviflora* diminuíram a eficiência intrínseca do uso de água sob

fertilização, principalmente de P. As mudanças mais aparentes na eficiência intrínseca do uso de água sob fertilização de P podem ser explicadas pela maior limitação de P da vegetação do Cerrado (Nardoto et al., 2006). E os comportamentos contrastantes da *R. montana* e *Q. parviflora* pode ser explicada pela biologia de cada espécie. Provavelmente as raízes proteoides da *R. montana* propiciaram uma resposta peculiar desta espécie. Talvez a diminuição na eficiência de uso da água foi compensada pelo comportamento conservativo nos vasos do xilema diminuindo a vulnerabilidade a cavitação e aumentando o sucesso da *R. montana*. Enquanto, a espécie *Q. parviflora* apesar de apresentar explícita adaptação dos estômatos, diminuindo o índice de poro estomático quando fertilizada, apresentou maiores índices de vulnerabilidade a cavitação, e relativamente menor eficiência intrínseca do uso de água quando fertilizada. Espécies acumuladoras de Al, como a *Q. parviflora*, são negativamente afetadas pela adição de nutrientes, talvez por estarem bem adaptadas a solos distróficos como os do Cerrado.

O modelo de equação estrutural possibilitou entender, com as devidas ressalvas supracitadas, como uma parcela da comunidade lenhosas responde a adição de nutrientes ao solo em conjunto. Este modelo consiste em regressões entre as variáveis resposta e a variável preditora exógena. A primeira relação encontrada foi a diminuição da umidade do solo em áreas fertilizadas, provavelmente nos tratamentos NP e P. Este efeito foi elucidado anteriormente como um possível efeito da invasão de *M. minutiflora*. A partir da fraca interação entre a adição de nutrientes e área foliar específica (AFE) corrobora que os tratamentos alteraram de forma mais evidente características anatômicas do que morfológicas. Esta alteração foi no sentido de diminuir a condutância estomática, evidenciada pelo β significativamente negativo entre adição de nutrientes e índice de poro estomático. A diminuição de estruturas ligadas a condutância estomática sob fertilização é uma adaptação para minimizar a perda de água e suportar potenciais hídricos menores, observados nestas situações (Bucci et al., 2006; Scholz et al., 2007; Goldstein et al., 2013). Este resultado corrobora a hipótese do modelo teórico (Fig. 1). O efeito positivo sobre a condutividade teórica específica do xilema também foi previsto nas hipóteses e confirmado no modelo resultado. Ao utilizar novos recursos disponíveis e que anteriormente eram limitantes ao crescimento, as plantas intensificam a taxa de crescimento e estruturas ligadas a sustentação como fibras, traqueídes, e vasos por consequência aumentam. O aumento dos vasos pode resultar em um aumento na condutividade xilemática. Os resultados não só por espécie, assim como do modelo de equações estruturais corroboram o efeito positivo da adição de nutrientes na condutividade xilemática. Ao contrário do que era esperado o aumento na disponibilidade

de nutrientes diminuiu a eficiência de uso da água global. Provavelmente este resultado encontrado foi influenciado pelo decréscimo do eficiência intrínseca do uso de água nas espécies *R. montana* e *Q. parviflora* sob fertilização, uma vez que a espécie *S. ferrugineus* que apresentou um aumento do eficiência intrínseca do uso de água não está presente nesta análise.

As condições do solo, no caso a umidade, foram mais influentes do que o esperado. A relação negativa entre umidade do solo e eficiência intrínseca do uso de água pode ser entendida como menores disponibilidade de água proporcionam uso de água mais eficiente. A eficiência intrínseca do uso de água é representa o carbono assimilado pela unidade de água perdida com maior disponibilidade de água no solo a condutância estomática é maior diminuindo a eficiência intrínseca do uso de água . O mesmo raciocínio pode ser feito para o aumento na condutividade xilemática sob maior disponibilidade de água no solo ($\beta = 0,27$).

Relação entre a estrutura morfológica escolhida, área foliar específica, e o índice de poro estomático e condutividade teórica específica do xilema foi constatada pelo modelo final. O aumento na área foliar específica proporciona uma maior área de evaporação aumentando a condutividade xilemática por consequência. Por outro lado, o aumento na área foliar específica é seguido da diminuição do índice de poro estomático como ajuste hidráulico diminuindo a perda de água pelos estômatos. A relação negativa entre o condutividade teórica específica do xilema e o índice de poro estomático ($\beta = -0,23$) corrobora a hipótese que que um aumento na condutividade xilemática seria concomitante a diminuição da condutância estomática (Goldstein et al., 2013). A relação negativa entre condutividade teórica específica do xilema e índice de vulnerabilidade a cavitação, não seria esperado, pois um aumento no fluxo xilemático deveria ser seguido por um aumento na vulnerabilidade a cavitação. No entanto, a forte relação negativa deve ser resultado da correlação inversa entre os fatores utilizados para calcular cada fórmula. Por último era esperado que um aumento na estrutura responsável por trocas gasosas, como o índice de poro estomático, aumentaria a vulnerabilidade a cavitação uma vez que a demanda evaporativa seria maior. A interação mais forte encontrada foi entre o condutividade teórica específica do xilema e a eficiência intrínseca do uso de água , neste caso quanto maior o suprimento de água maior a eficiência no uso.

5. Conclusões

Por fim, conclui-se que a adição de nutrientes ao solo alterou as condições do solo direta e indiretamente, enfatizando a alteração no estrato graminoso. A adição de nutrientes

alterou a alocação de nutrientes principalmente na parte aérea das plantas. Esta alteração foi seguida por ajustes na arquitetura hidráulica na escala do indivíduo como um todo, mas principalmente em nível anatômico. A arquitetura hidráulica mudou aumentando estruturas anatômicas relacionadas ao transporte de água no xilema e diminuindo estruturas anatômicas relacionadas à transpiração. Houve respostas específicas das espécies no que diz respeito a eficiência no uso da água. Por outro lado, houve aumento do l_{vul} em quatro das cinco espécies lenhosas de Cerrado estudadas. Este estudo deixa como proposta a investigação mais detalhadas estratégias das espécies *Q. parviflora* e *R. montana* relativas à variações na oferta de nutrientes. A figura 17 resume os resultados deste trabalho a fim de facilitar a divulgação dos mesmos.

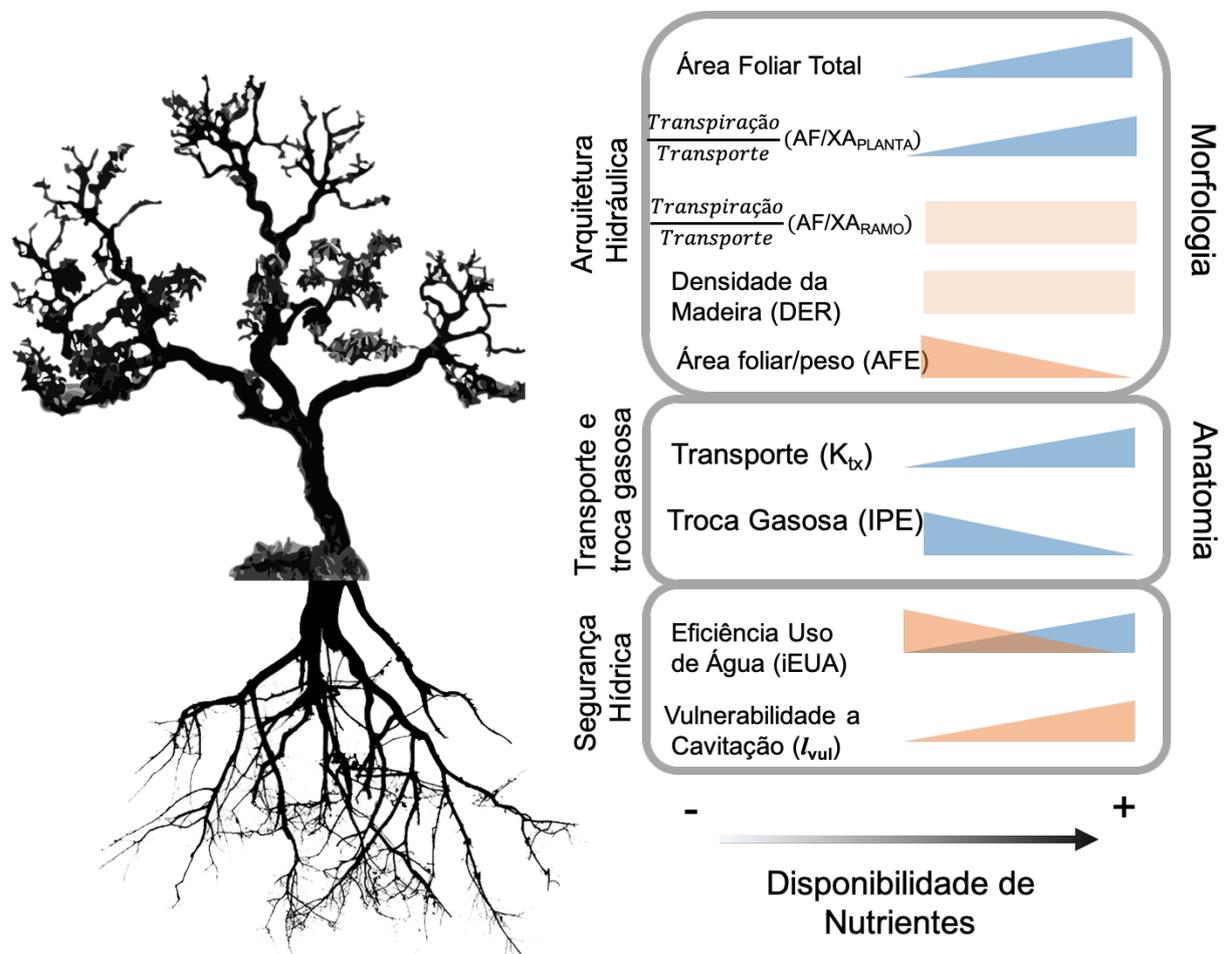


Figura 15. Associações atributo-disponibilidade de nutrientes quantificado em cinco espécies com diferentes fenologias foliares de cerrado sentido restrito. Triângulos azuis: relações previstas nas hipóteses; triângulos laranjas, relações opostas ao previsto. Estes resultados são baseados tanto na análise por espécie quanto considerando as respostas das espécies em conjunto, extraída do modelo de equação estrutural (SEM).

6. Referências Bibliográficas

Abdala, G. C., Caldas, L. S., Haridasan, M., & Eiten, G. (1998). Above and belowground organic matter and root: shoot ratio in a cerrado in Central Brazil. *Brazilian Journal of Ecology*, 2(1), 11-23.

Arbellay, E., Fonti, P. & Stoffel, M. (2012). Duration and extension of anatomical changes in wood structure after cambial injury. *Journal of experimental botany*. doi:<https://doi.org/10.1093/jxb/ers050>.

Barrett, P. (2007). Structural equation modelling: Adjudging model fit. *Personality and individual differences*. doi: <https://doi.org/10.1016/j.paid.2006.09.018>

Beuchle, R., Grecchi, R. C., Shimabukuro, Y. E., Seliger, R., Eva, H. D., Sano, E., & Achard, F. (2015). Land cover changes in the Brazilian Cerrado and Caatinga biomes from 1990 to 2010 based on a systematic remote sensing sampling approach. *Applied Geography*. doi: <https://doi.org/10.1016/j.apgeog.2015.01.017>

Blatt, M. R. & Thiel, G. (1993). Hormonal control of ion channel gating. *Annual review of plant biology*, 44(1), 543-567.

Bucci, S. J., Goldstein, G., Meinzer, F. C., Franco, A. C., Campanello, P., & Scholz, F. G. (2005). Mechanisms contributing to seasonal homeostasis of minimum leaf water potential and predawn disequilibrium between soil and plant water potential in Neotropical savanna trees. *Trees*. doi: <https://doi.org/10.1007/s00468-004-0391-2>.

Bucci, S. J., Scholz, F. G., Goldstein, G., Meinzer, F. C., Franco, A. C., Campanello, P. I., ... Miralles-wilhelm, F. (2006). Nutrient availability constrains the hydraulic architecture and water relations of savannah trees, *Plant, Cell and Environment*. doi: [10.1111/j.1365-3040.2006.01591.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.2006.01591.x).

Bustamante, M. M. D. C., Martinelli, L. A., Silva, D. A., Camargo, P. B. D., Klink, C. A., Domingues, T. F., & Santos, R. V. (2004). ¹⁵N natural abundance in woody plants and soils

of central Brazilian savannas (cerrado). *Ecological Applications*. doi:
<https://doi.org/10.1890/01-6013>.

Bustamante, M. M. C., de Brito, D. Q., Kozovits, A. R., Luedemann, G., de Mello, T. R., de Siqueira Pinto, A., ... & Takahashi, F. S. (2012). Effects of nutrient additions on plant biomass and diversity of the herbaceous-subshrub layer of a Brazilian savanna (Cerrado). *Plant Ecology*. doi: <https://doi.org/10.1007/s11258-012-0042-4>.

Bustamante, M.M.C., Medina, E., Asner, G.P., Nardoto, G.B., Garcia-Montiel, D.C. (2006). Nitrogen cycling in tropical and temperate savannas. *Biogeochemistry*. doi:
https://doi.org/10.1007/978-1-4020-5517-1_10.

De Vries, W., Wamelink, G. W. W., Van Dobben, H., Kros, J., Reinds, G. J., Mol-Dijkstra, J. P., ... & Sverdrup, H. U. (2010). Use of dynamic soil–vegetation models to assess impacts of nitrogen deposition on plant species composition: an overview. *Ecological Applications*.
<https://doi.org/10.1890/08-1019.1>.

Drake, P. L., Froend, R. H., & Franks, P. J. (2013). Smaller, faster stomata: scaling of stomatal size, rate of response, and stomatal conductance. *Journal of experimental botany*.
Doi: <https://doi.org/10.1093/jxb/ers347>

Dickison M. (2000). *Integrative plant anatomy*. Harcourt/Academic Press.

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. (1999). *Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes*.

Farquhar G.D., Ehleringer J.R., Hubick K.T. (1989). Carbon isotope discrimination and photosynthesis. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*. doi:
<https://doi.org/10.1146/annurev.pp.40.060189.002443>.

Franco, A. C., Bustamante, M., Caldas, L. S., Goldstein, G., Meinzer, F. C., Kozovits, A. R., ... & Coradin, V. T. (2005). Leaf functional traits of Neotropical savanna trees in relation to seasonal water deficit. *Trees*. doi: <https://doi.org/10.1007/s00468-004-0394-z>.

Fromm, J. (2010). Wood formation of trees in relation to potassium and calcium nutrition.

Tree Physiology. doi: <https://doi.org/10.1093/treephys/tpq024>.

Gessler, A., Schaub, M., & McDowell, N. G. (2017). The role of nutrients in drought-induced tree mortality and recovery. *New Phytologist*, doi: <https://doi.org/10.1111/nph.14340>.

Gleason, S. M., Westoby, M., Jansen, S., Choat, B., Hacke, U. G., Pratt, R. B., ... & Cochard, H. (2016). Weak tradeoff between xylem safety and xylem-specific hydraulic efficiency across the world's woody plant species. *New Phytologist*. doi: <https://doi.org/10.1111/nph.13646>.

Goldstein, G., Bucci, S. J., & Scholz, F. G. (2013). Why do trees adjust water relations and hydraulic architecture in response to nutrient availability?. *Tree physiology*. doi: <https://doi.org/10.1093/treephys/tpt007>.

Grace, J. B., Anderson, T. M., Olf, H., & Scheiner, S. M. (2010). On the specification of structural equation models for ecological systems. *Ecological Monographs*. doi: <https://doi.org/10.1890/09-0464.1>.

Haridasan, M. (2000). Nutrição mineral de plantas nativas do cerrado. *Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal*, 12(1), 54-64.

Haridasan, M. (2008). Nutritional adaptations of native plants of the cerrado biome in acid soils, *Brazilian Journal of Plant Physiology*. doi: <http://dx.doi.org/10.1590/S1677-04202008000300003>.

Haridasan, M., Paviani, T. I., & Schiavini, I. (1986). Localization of aluminium in the leaves of some aluminium-accumulating species. *Plant and Soil*. doi: <https://doi.org/10.1007/BF02374336>.

Hetherington, A. M., & Woodward, F. I. (2003). The role of stomata in sensing and driving environmental change. *Nature*. doi: <https://doi.org/10.1038/nature01843>.

Himmelbach, A., Iten, M., & Grill, E. (1998). Signalling of abscisic acid to regulate plant growth. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B: Biological*

Sciences, doi: <https://doi.org/10.1098/rstb.1998.0299>.

Hooper, D., Coughlan, J. and Mullen, M. R. (2008) Structural Equation Modelling: Guidelines for Determining Model Fit. *The Electronic Journal of Business Research Methods* (6) 1: 53 - 60, available online at: www.ejbrm.com.

Jacobson, T. K. B., da Cunha Bustamante, M. M., & Kozovits, A. R. (2011). Diversity of shrub tree layer, leaf litter decomposition and N release in a Brazilian Cerrado under N, P and N plus P additions. *Environmental Pollution*. doi: <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2010.10.019>.

Johansen, D. A. (1940). *Plant microtechnique*. McGraw-Hill Book Company. New York.

Katabuchi, M. (2015). LeafArea: an R package for rapid digital image analysis of leaf area. *Ecological Research*. doi: <https://doi.org/10.1007/s11284-015-1307-x>.

Kozovits, A. R., Bustamante, M. M. C., Garofalo, C. R., Bucci, S., Franco, A. C., Goldstein, G., & Meinzer, F. C. (2007). Nutrient resorption and patterns of litter production and decomposition in a Neotropical Savanna. *Functional Ecology*. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2435.2007.01325.x>.

Larcher, W., & Piccioni, M. (1993). *Ecofisiologia vegetal* (Vol. 350). Edagricole.

Lenza, E., & Klink, C. A. (2006). Comportamento fenológico de espécies lenhosas em um cerrado sentido restrito de Brasília, DF. *Revista Brasileira de Botânica*. doi: <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-84042006000400013>.

McCulloh, K. A., & Sperry, J. S. (2005). Patterns in hydraulic architecture and their implications for transport efficiency. *Tree Physiology*. doi: <https://doi.org/10.1093/treephys/25.3.257>

Meinzer, F. C., Goldstein, G., Franco, A. C., Bustamante, M., Iglar, E., Jackson, P., Caldas, L. & Rundel, P. W. (1999). Atmospheric and hydraulic limitations on transpiration in Brazilian cerrado woody species. *Functional Ecology* doi: <https://doi.org/10.1046/j.1365->

2435.1999.00313.x.

Nardoto, G. B., da Cunha Bustamante, M. M., Pinto, A. S., & Klink, C. A. (2006). Nutrient use efficiency at ecosystem and species level in savanna areas of Central Brazil and impacts of fire. *Journal of Tropical Ecology*. doi: <https://doi.org/10.1017/S0266467405002865>

Pérez-Harguindeguy, N., Diaz, S., Garnier, E., Lavorel, S., Poorter, H., Jaureguiberry, P., ... Cornelissen, J. H. C. (2013). New Handbook for standardized measurement of plant functional traits worldwide. *Australian Journal of Botany*. doi: http://dx.doi.org/10.1071/BT12225_CO
Pratt, R. B., Jacobsen, A. L., Ewers, F. W., & Davis, S. D. (2007). Relationships among xylem transport, biomechanics and storage in stems and roots of nine Rhamnaceae species of the California chaparral. *New Phytologist*. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2007.02061.x>

Proença, C.E.B., Gibbs, P.E., (1994). Reproductive biology of eight sympatric Myrtaceae from Central Brazil. *New Phytologist*. doi <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.1994.tb03954.x>.

Ribeiro J.F., Walter B.M.T. (2008) Fitofisionomias do Bioma Cerrado. In: Sano S., Almeida S.P., Ribeiro J.F. (Eds) Cerrado: Ecologia e flora. EMBRAPA Cerrados. , Planaltina, Brasil.

Robinson, D. (2001). δN^{15} as an integrator of the nitrogen cycle. *Trends in Ecology and Evolution*. [https://doi.org/10.1016/S0169-5347\(00\)02098-X](https://doi.org/10.1016/S0169-5347(00)02098-X).

Rossatto, D. R., da Silveira Lobo Sternberg, L., & Franco, A. C. (2013). The partitioning of water uptake between growth forms in a Neotropical savanna: do herbs exploit a third water source niche? *Plant Biology*. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1438-8677.2012.00618.x>.

Rossatto, D. R., Silva, L. C. R., Sternberg, L. S. L., & Franco, A. C. (2014). Do woody and herbaceous species compete for soil water across topographic gradients? Evidence for niche partitioning in a Neotropical savanna. *South African Journal of Botany*. doi: <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2013.11.011>.

Sack, L., Cowan, P. D., Jaikumar, N., & Holbrook, N. M. (2003). The “hydrology” of leaves: Co-ordination of structure and function in temperate woody species. *Plant, Cell and*

Environment. doi: <https://doi.org/10.1046/j.0016-8025.2003.01058.x>.

Santiago, L. S. (2015). Nutrient limitation of eco-physiological processes in tropical trees. *Trees*. doi: <https://doi.org/10.1007/s00468-015-1260-x>.

Scholz, A., Klepsch, M., Karimi, Z., & Jansen, S. (2013). How to quantify conduits in wood?. *Frontiers in Plant Science*. doi: 10.3389/fpls.2013.00056.

Scholz, F. G., Bucci, S. J., Goldstein, G., Meinzer, F. C., Franco, A. C., & Miralles-Wilhelm, F. (2007). Removal of nutrient limitations by long-term fertilization decreases nocturnal water loss in savanna trees. *Tree Physiology*. doi: <https://doi.org/10.1093/treephys/27.4.551>.

Silva, C. M., Harakava, R., Sonsin-Oliveira, J., Marcati, C. R., Machado, S. R., Ribeiro, R. V., & Habermann, G. (2017). Physiological and structural traits of the congeneric species *Styrax ferrugineus* and *S. pohlii* occurring in contrasting environments. *Flora*. doi: <https://doi.org/10.1016/j.flora.2017.01.014>.

Spannl, S., Homeier, J., & Bräuning, A. (2016). Nutrient-induced modifications of wood anatomical traits of *Alchornea lojaensis* (Euphorbiaceae). *Frontiers in Earth Science*. doi: <https://doi.org/10.3389/feart.2016.00050>.

Sperry, J. S., Hacke, U. G., & Pittermann, J. (2006). Size and function in conifer tracheids and angiosperm vessels. *American journal of botany*. doi: <https://doi.org/10.3732/ajb.93.10.1490>

Steiger, J. H. (2007). Understanding the limitations of global fit assessment in structural equation modeling. *Personality and Individual differences*. doi: <https://doi.org/10.1016/j.paid.2006.09.017>

Stratton, L., Goldstein, G., & Meinzer, F. C. (2000). Stem water storage capacity and efficiency of water transport: their functional significance in a Hawaiian dry forest. *Plant, Cell & Environment*. <https://doi.org/10.1046/j.1365-3040.2000.00533.x>.

Tilman, D.; Cassman, K. G.; Matson, P. A.; Naylor, R.; Polasky, S. (2002). Agricultural

sustainability and intensive production practices. *Nature*.
<https://doi.org/10.1038/nature01014>.

Tian, M., Yu, G., He, N., & Hou, J. (2016). Leaf morphological and anatomical traits from tropical to temperate coniferous forests: Mechanisms and influencing factors. *Scientific reports*. doi: ; doi: 10.1038/srep19703 (2016).

Tyree, M. T., & Zimmermann, M. H. (2013). *Xylem structure and the ascent of sap*. Springer Science & Business Media.

Viani, R. A., Rodrigues, R. R., Dawson, T. E., & Oliveira, R. S. (2011). Functional differences between woodland savannas and seasonally dry forests from south-eastern Brazil: Evidence from ¹⁵N natural abundance studies. *Austral Ecology*. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1442-9993.2010.02233.x>.

Vogelmann, T.C., Martin , G. (1993). The functional significance of palisade tissue: penetration of directional versus diffuse light. *Plant, Cell & Environment*. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.1993.tb00845.x>.

Watt, M. & Evans, J. R. (1999). Proteoid roots. *Physiology and development*. *Plant Physiology*. doi: <https://doi.org/10.1104/pp.121.2.317>.

Werner, J. C., & de Mattos, H. B. (1972). Estudo de nutrição do capim gordura *Melinis minutiflora*. *Bol Indus Anim*.

Zhang, H., Li, W., Adams, H. D., Wang, A., Wu, J., Jin, C., ... & Yuan, F. (2018). Responses of woody plant functional traits to nitrogen addition: a meta-analysis of leaf economics, gas exchange, and hydraulic traits. *Frontiers in plant science*. doi: <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.00683>.

Zwieniecki, M. A., Melcher, P. J., & Holbrook, N. M. (2001). Hydrogel control of xylem hydraulic resistance in plants. *Science*. doi: <https://doi.org/10.1126/science.1057175>

Anexos
Anexo 1.

Tabela A1. Nutrientes foliares. Os valores são médias \pm DP (n = 5). Os efeitos significativos da fertilização no que respeita ao controle são indicados como *P < 0.1, **P < 0.05 e ***P < 0.01 (teste t de pareado). Controle (C), nitrogênio (N), nitrogênio + fósforo (NP) e fósforo (P).

| Espécies e Tratamentos | N (dag.kg ⁻¹) | δN^{15} (‰) | P (dag.kg ⁻¹) | K (dag.kg ⁻¹) | Ca (dag.kg ⁻¹) | Mg (dag.kg ⁻¹) | S (dag.kg ⁻¹) | Mn (dag.kg ⁻¹) | N/P ratio | N Total (%) | C Total (%) | C/N Ratio |
|-----------------------------------|---------------------------|---------------------|---------------------------|---------------------------|----------------------------|----------------------------|---------------------------|----------------------------|---------------------|--------------------|--------------------|------------------|
| <i>Blepharocalyx salicifolius</i> | | | | | | | | | | | | |
| C | 1.37 \pm 0.10 | -3.50 \pm 0.55 | 0.08 \pm 0.00 | 0.48 \pm 0.05 | 0.79 \pm 0.11 | 0.33 \pm 0.02 | 0.11 \pm 0.01 | 109.18 \pm 40.85 | 17.08 \pm 1.57 | 1.39 \pm 0.14 | 47.15 \pm 0.51 | 34.25 \pm 2.87 |
| N | 1.41 \pm 0.07 | -2.58 \pm 0.62* | 0.08 \pm 0.01 | 0.47 \pm 0.15 | 0.77 \pm 0.08 | 0.31 \pm 0.04 | 0.21 \pm 0.05** | 54.39 \pm 29.49 | 17.24 \pm 1.83 | 1.52 \pm 0.04 | 47.74 \pm 0.51 | 31.36 \pm 0.68 |
| NP | 1.45 \pm 0.07 | -1.37 \pm 0.88** | 0.11 \pm 0.02** | 0.37 \pm 0.08 | 1.12 \pm 0.13*** | 0.21 \pm 0.04*** | 0.07 \pm 0.01** | 115.92 \pm 29.92 | 13.31 \pm 1.79*** | 1.60 \pm 0.11* | 46.92 \pm 0.44 | 29.40 \pm 1.99 |
| P | 1.20 \pm 0.09* | -2.93 \pm 0.89 | 0.23 \pm 0.05*** | 0.42 \pm 0.10 | 1.90 \pm 0.32*** | 0.23 \pm 0.03*** | 0.18 \pm 0.09 | 163.72 \pm 45.2 | 5.48 \pm 0.97*** | 1.27 \pm 0.13 | 45.66 \pm 1.20* | 36.42 \pm 3.52 |
| <i>Ouratea hexasperma</i> | | | | | | | | | | | | |
| C | | | | | | | | | | | | |
| N | 1.63 \pm 0.18 | 0.11 \pm 0.64 | 0.09 \pm 0.01 | 0.56 \pm 0.09 | 0.89 \pm 0.07 | 0.28 \pm 0.02 | 0.13 \pm 0.01 | 566.83 \pm 81.41 | 18.39 \pm 1.65 | 1.76 \pm 0.06 | 48.88 \pm 0.22 | 27.87 \pm 0.97 |
| NP | 1.55 \pm 0.18 | 0.07 \pm 0.36 | 0.08 \pm 0.00 | 0.56 \pm 0.07 | 0.74 \pm 0.18 | 0.31 \pm 0.04 | 0.20 \pm 0.03*** | 276.52 \pm 67.16*** | 18.72 \pm 1.84 | 1.67 \pm 0.15 | 49.38 \pm 0.79 | 29.87 \pm 2.52 |
| P | 1.45 \pm 0.08 | -0.60 \pm 0.86 | 0.10 \pm 0.01** | 0.51 \pm 0.05 | 1.59 \pm 0.11*** | 0.17 \pm 0.04*** | 0.28 \pm 0.06*** | 441.08 \pm 99.29* | 14.26 \pm 0.98*** | 1.51 \pm 0.09*** | 48.08 \pm 0.43** | 32.03 \pm 2.07 |
| P | 1.38 \pm 0.03 | -0.09 \pm 0.26 | 0.10 \pm 0.01** | 0.49 \pm 0.05 | 2.04 \pm 0.23*** | 0.15 \pm 0.04*** | 0.28 \pm 0.05*** | 553.29 \pm 71.41 | 13.7 \pm 0.89*** | 1.42 \pm 0.09*** | 47.91 \pm 0.45** | 33.85 \pm 2.19 |
| <i>Qualea parviflora</i> | | | | | | | | | | | | |
| C | | | | | | | | | | | | |
| N | 1.19 \pm 0.12 | 0.17 \pm 0.78 | 0.06 \pm 0.00 | 0.31 \pm 0.03 | 0.32 \pm 0.03 | 0.17 \pm 0.01 | 0.07 \pm 0.01 | 73.17 \pm 22.35 | 21.08 \pm 1.38 | 1.32 \pm 0.14 | 44.54 \pm 0.42 | 34.08 \pm 3.28 |
| NP | 1.27 \pm 0.09 | 0.68 \pm 0.79 | 0.06 \pm 0.01 | 0.30 \pm 0.03 | 0.34 \pm 0.06 | 0.19 \pm 0.01 | 0.27 \pm 0.05*** | 119.87 \pm 53.28 | 22.84 \pm 1.56 | 1.37 \pm 0.14 | 44.89 \pm 0.84 | 33.21 \pm 3.75 |
| P | 1.46 \pm 0.05** | 0.12 \pm 0.13 | 0.07 \pm 0.01** | 0.31 \pm 0.04 | 0.66 \pm 0.13** | 0.16 \pm 0.05 | 0.33 \pm 0.04*** | 168.15 \pm 56.09* | 21.34 \pm 2.07 | 1.51 \pm 0.11 | 44.5 \pm 0.42 | 29.56 \pm 2.41 |
| P | 1.24 \pm 0.05 | 0.23 \pm 1.06 | 0.06 \pm 0.00 | 0.34 \pm 0.05 | 0.59 \pm 0.16** | 0.12 \pm 0.03* | 0.22 \pm 0.02*** | 168 \pm 100.97 | 20.87 \pm 1.93 | 1.29 \pm 0.09 | 44.89 \pm 1.22 | 34.96 \pm 3.11 |
| <i>Roupala montana</i> | | | | | | | | | | | | |
| C | | | | | | | | | | | | |
| N | 1.11 \pm 0.02 | 4.89 \pm 0.67 | 0.06 \pm 0.01 | 0.24 \pm 0.05 | 0.25 \pm 0.03 | 0.21 \pm 0.02 | 0.02 \pm 0.00 | 110.26 \pm 12.37 | 19.92 \pm 2.18 | 1.07 \pm 0.11 | 51.14 \pm 0.5 | 48.50 \pm 5.51 |
| NP | 1.09 \pm 0.11 | 5.48 \pm 1.07 | 0.05 \pm 0.01 | 0.24 \pm 0.07 | 0.28 \pm 0.09 | 0.16 \pm 0.04 | 0.05 \pm 0.01*** | 138.62 \pm 72.49 | 23.49 \pm 1.66* | 0.96 \pm 0.13 | 50.93 \pm 0.32 | 53.98 \pm 7.60 |
| P | 1.05 \pm 0.13 | 3.60 \pm 1.57 | 0.05 \pm 0.01 | 0.23 \pm 0.04 | 0.47 \pm 0.13* | 0.13 \pm 0.02*** | 0.21 \pm 0.05*** | 189.05 \pm 62.03 | 23.38 \pm 1.51* | 0.98 \pm 0.15 | 49.93 \pm 0.9 | 52.41 \pm 7.81 |
| P | 1.06 \pm 0.12 | 5.12 \pm 0.79 | 0.05 \pm 0.01 | 0.24 \pm 0.06 | 0.40 \pm 0.13 | 0.15 \pm 0.03*** | 0.17 \pm 0.06*** | 138.29 \pm 80.24 | 21.94 \pm 1.52 | 1.01 \pm 0.09 | 50.83 \pm 0.44 | 50.88 \pm 4.72 |
| <i>Styrax ferrugineus</i> | | | | | | | | | | | | |
| C | | | | | | | | | | | | |
| N | 1.34 \pm 0.04 | -1.95 \pm 0.65 | 0.08 \pm 0.00 | 0.32 \pm 0.05 | 0.51 \pm 0.12 | 0.26 \pm 0.05 | 0.11 \pm 0.00 | 59.86 \pm 9.06 | 16.07 \pm 0.54 | 1.40 \pm 0.07 | 50.56 \pm 0.49 | 36.10 \pm 1.84 |
| NP | 1.24 \pm 0.15 | -1.60 \pm 0.68 | 0.07 \pm 0.01 | 0.35 \pm 0.04 | 0.45 \pm 0.08 | 0.21 \pm 0.04 | 0.20 \pm 0.04*** | 69.88 \pm 22.28 | 16.97 \pm 0.49** | 1.35 \pm 0.14 | 51.00 \pm 0.80 | 38.10 \pm 4.11 |
| P | 1.30 \pm 0.11 | -0.48 \pm 0.63** | 0.11 \pm 0.02* | 0.31 \pm 0.06 | 1.36 \pm 0.37*** | 0.20 \pm 0.04 | 0.24 \pm 0.03*** | 169.15 \pm 59.88** | 11.9 \pm 1.27*** | 1.39 \pm 0.08 | 49.68 \pm 0.55* | 35.87 \pm 2.12 |
| P | 1.32 \pm 0.07 | -1.35 \pm 0.69 | 0.10 \pm 0.01** | 0.34 \pm 0.03 | 1.45 \pm 0.42*** | 0.18 \pm 0.03 | 0.26 \pm 0.04*** | 177.87 \pm 52.22** | 12.91 \pm 1.22*** | 1.34 \pm 0.06 | 49.11 \pm 0.72** | 36.65 \pm 1.21 |

Anexo 2. Script do modelo com melhor adequação.

```
model9 <- '  
VWC ~ tratamento  
SPIttrans ~ tratamento  
ktx.sa.trans ~ tratamento  
iWUE ~ tratamento  
SLAtrans ~ tratamento  
SLAtrans ~ VWC  
SPIttrans ~ SLAtrans  
ktx.sa.trans ~ SLAtrans  
lvul ~ SLAtrans  
iWUE ~ SLAtrans  
lvul ~ SPIttrans  
iWUE ~ SPIttrans  
lvul ~ ktx.sa.trans  
iWUE ~ ktx.sa.trans  
iWUE ~ VWC  
ktx.sa.trans ~ VWC  
SPIttrans ~ ktx.sa.trans  
SPIttrans ~ VWC  
'  
  
results9<-sem(model9, data=data.l)  
summary(results9,standardized=T,fit=T, rsquare=T)  
semPaths(results9,'std',layout='tree2')  
  
resid(results9, "cor")  
  
## Interações Adicionadas  
iWUE ~ VWC  
ktx.sa.trans ~ VWC  
SPIttrans ~ ktx.sa.trans  
SPIttrans ~ VWC  
  
## Interações retirada  
lvul - tratamento
```

RESULTADO

lavaan 0.6-3 ended normally after 133 iterations

| | |
|---------------------------|--------|
| Optimization method | NLMINB |
| Number of free parameters | 25 |

| | Used | Total |
|--|------|-------|
|--|------|-------|

| | | | | | | |
|----------------|--------|-------|--------|-------|--------|--------|
| SPItrans ~ | | | | | | |
| tratamento | -0.505 | 0.290 | -1.741 | 0.082 | -0.505 | -0.237 |
| ktx.sa.trans ~ | | | | | | |
| tratamento | 0.932 | 0.271 | 3.444 | 0.001 | 0.932 | 0.383 |
| iWUE ~ | | | | | | |
| tratamento | -0.001 | 0.000 | -1.878 | 0.060 | -0.001 | -0.215 |
| SLAtrans ~ | | | | | | |
| tratamento | -0.358 | 0.344 | -1.042 | 0.297 | -0.358 | -0.144 |
| VWC | 0.028 | 0.050 | 0.561 | 0.575 | 0.028 | 0.078 |
| SPItrans ~ | | | | | | |
| SLAtrans | -0.201 | 0.116 | -1.731 | 0.083 | -0.201 | -0.235 |
| ktx.sa.trans ~ | | | | | | |
| SLAtrans | 0.532 | 0.098 | 5.449 | 0.000 | 0.532 | 0.543 |
| lvul ~ | | | | | | |
| SLAtrans | -0.003 | 0.005 | -0.599 | 0.549 | -0.003 | -0.072 |
| iWUE ~ | | | | | | |
| SLAtrans | -0.000 | 0.000 | -1.112 | 0.266 | -0.000 | -0.128 |
| lvul ~ | | | | | | |
| SPItrans | 0.014 | 0.006 | 2.565 | 0.010 | 0.014 | 0.290 |
| iWUE ~ | | | | | | |
| SPItrans | -0.000 | 0.000 | -1.409 | 0.159 | -0.000 | -0.146 |
| lvul ~ | | | | | | |
| ktx.sa.trans | -0.016 | 0.005 | -2.858 | 0.004 | -0.016 | -0.355 |
| iWUE ~ | | | | | | |
| ktx.sa.trans | -0.001 | 0.000 | -4.089 | 0.000 | -0.001 | -0.486 |
| VWC | -0.000 | 0.000 | -3.584 | 0.000 | -0.000 | -0.386 |
| ktx.sa.trans ~ | | | | | | |
| VWC | 0.096 | 0.039 | 2.461 | 0.014 | 0.096 | 0.272 |
| SPItrans ~ | | | | | | |
| ktx.sa.trans | -0.204 | 0.123 | -1.655 | 0.098 | -0.204 | -0.232 |
| VWC | -0.040 | 0.040 | -0.999 | 0.318 | -0.040 | -0.130 |

Covariances:

| | Estimate | Std.Err | z-value | P(> z) | Std.lv | Std.all |
|---------|----------|---------|---------|---------|--------|---------|
| .iWUE ~ | | | | | | |
| .lvul | 0.000 | 0.000 | 1.079 | 0.281 | 0.000 | 0.136 |

Variances:

| | Estimate | Std.Err | z-value | P(> z) | Std.lv | Std.all |
|---------------|----------|---------|---------|---------|--------|---------|
| .VWC | 6.786 | 1.200 | 5.657 | 0.000 | 6.786 | 0.786 |
| .SPItrans | 0.630 | 0.111 | 5.657 | 0.000 | 0.630 | 0.773 |
| .ktx.sa.trans | 0.651 | 0.115 | 5.657 | 0.000 | 0.651 | 0.613 |
| .iWUE | 0.000 | 0.000 | 5.657 | 0.000 | 0.000 | 0.533 |
| .SLAtrans | 1.067 | 0.189 | 5.657 | 0.000 | 1.067 | 0.963 |
| .lvul | 0.001 | 0.000 | 5.657 | 0.000 | 0.001 | 0.660 |

R-Square:

Estimate

| | |
|--------------|-------|
| VWC | 0.214 |
| SPItrans | 0.227 |
| ktx.sa.trans | 0.387 |
| iWUE | 0.467 |
| SLAtrans | 0.037 |
| lvul | 0.340 |