

INSTITUTO NACIONAL DE PESQUISAS DA AMAZÔNIA
UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZÔNAS
PROGRAMA INTEGRADO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA TROPICAL E
RECURSOS NATURAIS

CARACTERÍSTICAS ESTOMÁTICAS EM ESPÉCIES
ARBÓREAS DA AMAZÔNIA CENTRAL

MIGUEL ANGELO BRANCO CAMARGO

Manaus, AM

2009

MIGUEL ANGELO BRANCO CAMARGO

**CARACTERÍSTICAS ESTOMÁTICAS EM ESPÉCIES
ARBÓREAS DA AMAZÔNIA CENTRAL.**

ORIENTADOR: DR. RICARDO ANTONIO MARENCO

Fonte financiadora: FAPEAM PIPT 1746/08 - Projeto PRJ-05-127/ 141 - MCT/INPA

Dissertação apresentada ao Programa Integrado de Pós-Graduação em Biologia Tropical e Recursos Naturais do convênio INPA / UFAM, como parte dos requisitos para obtenção do título de mestre em Ciências Biológicas na área de concentração de Botânica.

Manaus, AM

2009

FICHA CATALOGRÁFICA

Camargo, Miguel Ângelo Branco

Características Estomáticas em Espécies Arbóreas da Amazônia Central/
Miguel Ângelo Branco Camargo –
Manaus: INPA/UFAM
2009.

52 p. ilustr.

Dissertação de Mestrado - Área de concentração Botânica.

1. Floresta amazônica 2. Aclimação foliar 3. Densidade estomática

Sinopse:

Estudou-se os tipos e distribuição de estômatos em uma floresta primária localizada no Km 60 da Br-174, Amazonas. Aspectos como efeito da luminosidade na densidade estomática e no comprimento das células-guarda, foram avaliados.

Palavras-chave:

Floresta amazônica, Densidade estomática, Complexo estomático.

Aos meus pais Zélia e João Camargo, meus irmãos e ao meu orientador Dr. Ricardo A. Marengo.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

À Mãe Natureza, pela saúde, motivação, oportunidades, capacidade física e intelectual para desenvolver o trabalho e acreditar em Deus.

Ao Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia.

À Universidade Federal do Amazonas.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa de estudo concedida.

Ao meu orientador Dr. Ricardo Antônio Marengo, pela sua participação intelectual, seu incentivo e dedicada orientação e a toda equipe de trabalho do Laboratório de Fisiologia de Árvores (INPA), em especial, aos amigos Saul A. Veras, José C. Rodrigues, Daniela P. Dias, Keila R. Mendes, Helena Cristina, Nilvanda Magalhães, Simone Verdes e Gracilene Costa.

Aos pesquisadores e amigos do Laboratório de Fitopatologia – INPA - Dra Rosalee A. Coelho Neto, MSc. Luiz Alberto G. Assis e Sra. Marilene.

Aos pesquisadores e amigos do LABAF/UFAM - Dra. Maria Silvia Mendonça, MSc. Andréa de Oliveira, Dra. Resiliane Prata, Dr. Alexandre Silva, Manuel Roberto e Mariana Cassino.

Aos professores doutores Florian Wittman, Maria Tereza e Eduardo Nagao, pelas suas contribuições como membros da banca de qualificação.

Aos professores da banca examinadora Dra. Profa. Veridiana Scudeller, Dra. Marisa Santos, Dra. Lúcia Maia, Dra. Daniela D. Fries, Dr. Rodrigo Kelson;

A todos os professores do Curso de Botânica do INPA.

À Coordenadora e Secretárias do curso de botânica – Dra. Maria Lúcia Absy, Helcineide R. de Andrade e Giselle C. Marques.

Aos funcionários do CPST/ INPA – MSc. Tércia Neves, Sra. Valdecira, Sr. Alcione e Sr. Jesus.

Aos colegas de mestrado das turmas de 2007 e 2008.

À minha irmã Profa. Laurisana Camargo.

GRATO.

RESUMO

O Clima na Amazônia é fortemente influenciado pela vegetação, pois, grande parte da precipitação nesta região, provém da água transpirada pela própria floresta. Na planta, as trocas gasosas com o ambiente são realizadas, principalmente, através dos estômatos. Desta forma, os estômatos exercem influência nos ciclos de carbono e água do planeta. O principal objetivo deste trabalho foi determinar as características estomáticas em dez espécies arbóreas da Amazônia, em duas condições de luminosidade: dossel e sub-bosque. Além disso, em plantas crescendo no sub-bosque estudou-se a relação do comprimento das células-guarda (CG) e densidade (DE) com a condutância estomática (g_s). Os complexos estomáticos foram estudados com auxílio de um microscópio óptico, dissociando as epidermes por meio de compostos químicos. Já g_s foi medida nas arvores do sub-bosque da floresta com auxílio de um analisador de gás infravermelho. A irradiância no sub-bosque foi de aproximadamente 1% da luz solar que atinge o dossel da floresta, com pouca variação entre os microsítios do sub-bosque ($P > 0,05$). Na população de plantas estudadas (dossel e sub-bosque), DE variou de 100 a 700 estômatos por mm^2 e o comprimento das CG de 8 a 25 μm , observando-se uma relação inversa entre DE e comprimento das CG. Os estômatos foram menores nas folhas do dossel do que naquelas do sub-bosque. Houve diferenças nas características foliares entre folhas de dossel e sub-bosque. A relação entre o comprimentos das CG e g_s foi positiva, mas negativa entre g_s e DE. A maior parte (90%) da variação na condutância estomática foi devida à variação no tamanho das células-guarda, a diferença (10%) foi devido à contribuição da DE. Todas as espécies estudadas apresentaram folhas hipoestomáticas, tendo a maioria (90%) folhas homoestomáticas (apenas um tipo de estômatos). Os principais tipos de complexos estomáticos encontrados foram: anisocíticos (40%), anomocíticos (20%) e paracíticos (40%). Foi concluído que o tamanho das células-guarda desempenha papel relevante na determinação de g_s . O fato da maior parte das espécies apresentarem folhas homoestomática abre a possibilidade em se utilizar as características dos complexos estomáticos em trabalhos de taxonomia que envolvem espécies florestais da Amazônia.

ABSTRACT

The climate in the Amazon region is strongly influenced by vegetation, therefore, much of the precipitation in this region comes from the water transpired by the forest it self. In plants, gas exchange between the plant and the environment is carried out mainly through the stomata. Thus, stomata functioning influences carbon and water cycles. The main objective of this study was to determine stomatal characteristics in ten tree species in the Amazon, in two light conditions: canopy and forest understory. In addition, in plants growing in the forest understory it was also studied the relationship between guard-cells (GC) length and stomatal density (DE) and stomatal conductance (g_s). The stomatal complex were studied using an optical microscope, dissociating the epidermis using chemical compounds. Whereas, g_s was measured in the forest understory with an infrared gas analyzer. The irradiance in the forest understory was about 1% of sunlight that reaches the forest canopy, with little variation between the forest understory microsites ($P > 0.05$). In the population of plants studied (canopy and forest understory), DE ranged from 100 to 700 stomata per mm^{-2} and the length of CG from 8 to 25 μm , with an inverse relationship between length of CG and DE. CG length was lower in the forest canopy than in the forest understory. There were differences in leaf traits between leaves from the canopy and those of the forest understory. The relationship between of CG length and g_s was positive, but negative between g_s and DE. Most of variation (90%) in g_s was due to variation in GC size, the difference (10%) was due to the contribution of DE. All examined species had hypostomatic leaves, and most of them (90%) were homoestomatics (only one type of stomata). The main types of stomatal complexes were: anisocitics (40%), anomocytics (20%) and paracytics (40%). It was concluded that the size of GC, plays an important role in determining g_s . The fact that most species have homoestomátic leaves open the possibility in using stomatal complex traits in plant taxonomy involving Amazonian trees.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	IX
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	3
2.1. OS ESTÔMATOS: ESTRUTURA E FUNÇÃO	3
2.2. PRINCIPAIS TIPOS ESTOMÁTICOS.....	4
2.3. IMPORTÂNCIA DOS ESTÔMATOS PARA ECOFISIOLOGIA DA PLANTA.....	8
2.4. INFLUÊNCIA DOS ESTÔMATOS NA FOTOSSÍNTESE E TRANSPIRAÇÃO	11
3. OBJETIVOS	11
3.1. OBJETIVOS ESPECÍFICOS:.....	12
4. MATERIAL E MÉTODOS	12
4.1. <i>ÁREA DE ESTUDO</i>	12
4.3. <i>DENSIDADE E CARACTERIZAÇÃO DOS ESTÔMATOS</i>	14
4.4. <i>FATORES AMBIENTAIS ENVOLVIDOS</i>	15
4.5. <i>IRRADIÂNCIA E UMIDADE RELATIVA</i>	15
4.6. <i>RELAÇÃO DENSIDADE, ESPESSURA DA FOLHA, COMPRIMENTO ESTOMÁTICO E ÁREA FOLIAR ESPECÍFICA</i>	15
4.7. <i>FOTOSSÍNTESE (A_{MAX}) E CONDUTÂNCIA ESTOMÁTICA FOLIAR (G_s)</i>	16
4.8. <i>ANÁLISE ESTATÍSTICA</i>	16
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	17
5.1. <i>DESCRIÇÃO DO AMBIENTE E SUA RELAÇÃO COM A DISTRIBUIÇÃO ESTOMÁTICA</i>	17
5.2. <i>CONDUTÂNCIA ESTOMÁTICA (G_s), DENSIDADE ESTOMÁTICA (DE) E COMPRIMENTO DAS CÉLULAS-GUARDA (CG)</i>	18
5.3. <i>ÁREA FOLIAR ESPECÍFICA E ESPESSURA DA FOLHA</i>	26
5.4. <i>RELAÇÃO ENTRE ESPÉCIES E SEUS RESPECTIVOS TIPOS ESTOMÁTICOS</i>	28
5.5. <i>VALOR TAXONÔMICO DOS TIPOS ESTOMÁTICOS</i>	29
6. CONCLUSÕES	34
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	36

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 - Estômatos em formato de haltere e reniforme	5
FIGURA 2 - Principais tipos estomáticos descritos na literatura.....	6
FIGURA 3 - Orientações das células subsidiárias (1+2 em A; 2+2 em B) do complexo estomático do tipo laterocítico.....	8
FIGURA 4 - Área de estudo.....	13
FIGURA 5 - Radiação solar diurna no dossel e no sub-bosque da floresta.....	17
FIGURA 6 - Variação da espessura foliar em função do ambiente (dossel e sub-bosque) nas dez espécies estudadas.....	19
FIGURA 7 - Relação entre espessura foliar e densidade estomática.....	19
FIGURA 8 - Variação da densidade estomática em função do ambiente (dossel e sub-bosque) nas dez espécies estudadas.....	21
FIGURA 9 - Variação do comprimento das células-guarda (CG) entre plantas do dossel e do sub-bosque (A). Relação entre o comprimento das células-guarda e densidade estomática nos dois estratos da floresta (dossel e sub-bosque; B).....	22
FIGURA 11 - Relação entre o comprimento das células-guarda (CG) e a densidade estomática.....	23
FIGURA 12 - Relação entre condutância estomática foliar em função do comprimento das células-guarda e densidade estomática.....	25

FIGURA 12 - Variação de área foliar específica entre as dez espécies estudadas nos dois estratos da floresta (dossel e sub-bosque).....	27
FIGURA 13 - Fotomicrografia das três espécies do gênero <i>Protium</i> estudadas.....	30
FIGURA 14 - Fotomicrografia de <i>P. macrophylla</i> (Lam.) Eyma., <i>P. guianensis</i> Aubl. e <i>Minquartia guianensis</i> Aubl.....	31
FIGURA 15 – Fotomicrografia de <i>Eschweilera bracteosa</i> (Poepp. & Endl.) Miers e <i>E. coriacea</i> (DC.) Mart. ex Berg.....	32
FIGURA 16 - Fotomicrografia de <i>R. guianensis</i> Aubl. e <i>R. paniculata</i> (Mart.) Kuntze...	33

1. INTRODUÇÃO

As florestas tropicais abrigam mais de 50% das espécies do planeta, contêm cerca de 40% da biomassa terrestre e anualmente fixam, via fotossíntese, em torno de seis vezes a quantidade de carbono liberada anualmente para a atmosfera, como resultado da queima de combustíveis fósseis (Lewis et al., 2004). Devido à enorme quantidade de carbono armazenado nas florestas tropicais (de 150 a 200 t C ha⁻¹; Clark et al., 2001), pequenas mudanças nesses estoques podem levar a grande mudança na concentração do carbono atmosférico. De acordo com Malhi et al. (2002), a perda de 30% das florestas nativas (até 1990) tem contribuído para um aumento de 45% na concentração de CO₂ atmosférico, favorecendo assim, o efeito estufa, fenômeno que lentamente está causando uma elevação na temperatura do planeta (0,26 °C década⁻¹). O aquecimento global tem provocado inúmeras modificações na atmosfera do nosso planeta, incluindo uma maior frequência dos fenômenos de “El Niño”, alteração no regime das chuvas e intensificação do período de estiagem em várias regiões da Amazônia (Fearnside, 1995; Lewis et al., 2004). A modificação no padrão de chuva de uma região pode alterar a dinâmica da floresta, uma vez que o estresse hídrico tem uma ação negativa na fisiologia dos estômatos e no acúmulo de biomassa pela floresta (Phillips et al., 2009)

Em resposta ao déficit hídrico, as plantas regulam a transpiração pela diminuição da condutância estomática, isso pode ocasionar uma redução da fotossíntese devido a correlação que existe entre fotossíntese e condutância dos estômatos (Wong et al., 1979). Além do efeito imediato dos fatores do ambiente (irradiância, CO₂, disponibilidade de água) no funcionamento dos estômatos, mudanças na distribuição e densidade destas estruturas podem, também, afetar a condutância estomática (Maherali et al., 2002).

A densidade e distribuição dos estômatos na superfície foliar variam em função da espécie (Al Afas et al., 2006) e de fatores ambientais, tais como variação na umidade do ar (Bakker, 1991; Nejad & Van Meeteren, 2005), disponibilidade de água (Gindell, 1969; Quarrie & Jones, 1977), e concentração de CO₂ no ambiente

(Woodward, 1987; Woodward & Kelly, 1995). Segundo Woodward (1987), os níveis de CO₂ global aumentaram 60 μmol mol⁻¹ nos últimos 200 anos, variando de 280 μmol mol⁻¹ (período pré-industrial) para 380 μmol mol⁻¹ no presente. Conforme o autor, esta mudança causou o um decréscimo na densidade estomática de 67%.

Em geral, acredita-se que a densidade estomática diminui com o aumento da concentração de dióxido de carbono no ambiente (Croxdale, 2000). Porém, alguns pesquisadores têm mostrado que o aumento na concentração de CO₂ no ar pode não influenciar (Tricker et al., 2005) ou até aumentar a densidade estomática (Ferris & Taylor, 1994). Na superfície da folha, os estômatos podem ocorrer em igual número em ambas as faces, em números totalmente distintos (folhas anfiestomáticas) ou estar presentes em apenas uma das faces, comumente na face inferior (folhas hipoestomáticas, Parkhurst, 1978). Nas folhas anfiestomáticas a densidade de estômatos é geralmente maior na face inferior ou abaxial e, como no caso da densidade estomática, a distribuição de estômatos na superfície da folha também pode ser influenciada por fatores ambientais (Volenikova & Ticha, 2001; Tari, 2003).

O efeito da irradiância na distribuição de estômatos ainda é contraditório. Por exemplo, *Scrophularia californica* C. e *Ambrósia cordifolia* apresentam folhas anfiestomáticas quando cresce em campos abertos, mas tem folhas hipoestomáticas quanto crescem em ambientes sombreados (Mott et al., 1982). Entretanto, a distribuição de estômatos na superfície da folha não é afetada em *Arnica cordifolia* Hook (Young & Smith, 1980), mostrando a necessidade de se conduzir mais estudos para se conhecer melhor o efeito da irradiância na distribuição dos estômatos na superfície da folha.

Se as plantas são capazes de ajustar-se fisiológica e anatomicamente às variações ambientais, então o desempenho funcional da planta pode ser aumentado com resultado da aclimatação ao meio físico, por exemplo, alterando a densidade e tamanho dos estômatos (Ceulemans et al., 1995). A potencialidade de aclimatação dos vegetais às variáveis ambientais justifica a condução de pesquisas que visem estudar como a fisiologia e a anatomia da planta, especificamente a densidade de estômatos,

varia em função de alterações no ambiente, objetivando ainda, alcançar o entendimento do efeito das variações do ambiente nos padrões de densidade e distribuição dos estômatos na folha. Isto pode contribuir para a elaboração de modelos mais precisos que visem prognosticar como a vegetação da Amazônia pode responder às mudanças climáticas previstas para as próximas décadas ou como as variáveis estomáticas respondem às modificações súbitas na irradiância do entorno. Este último aspecto é de suma importância ao se levar em consideração que estudiosos estimaram para o ano 2050 que 40% da Floresta Amazônica será eliminada (Soares Filho et al., 2006), o que implicaria numa mudança drástica nas variáveis ambientais nesta região. Assim sendo, este trabalho teve como objetivo caracterizar a distribuição e os tipos de aparatos estomáticos, nas superfícies abaxial e adaxial da folha, determinar a relação existente entre densidade estomática e comprimento do poro estomático, bem como, relacionar densidade estomática com valores de condutância estomática (g_s) no sub-bosque, visando elucidar os padrões estruturais adaptativo em espécies arbóreas da Amazônia Central.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Os estômatos: estrutura e função

Estômatos são pequenos orifícios localizados principalmente na superfície das folhas que controlam diretamente a entrada de CO_2 e a perda de água via transpiração (Al Afas et al., 2006; Bussis et al., 2006). Sob condições de estresse hídrico, a redução da transpiração torna-se primordial (Dong & Zhang, 2000) e essa redução acontece por meio de vários mecanismos como o enrolamento foliar, perda sazonal de folhas, adensamento e aumento da impermeabilidade cuticular. Contudo, o principal mecanismo de controle da transpiração é via estômatos. O termo *estômato* vem do latim que significa orifício ou poro e refere-se, no seu sentido mais amplo, ao espaço denominado *poro estomático*, formado pelo par de células que o constitui, chamadas de *células-guarda*. Os estômatos possuem ainda um conjunto de células adjacentes às células-guarda, que se diferem ou não das demais células da epiderme. Quando as células na linha mais próxima das células-guarda (adjacentes) não se

diferem das demais células da epiderme, elas são chamadas de *células vizinhas*, mas quando estas células diferenciam-se em textura, tamanho ou até mesmo em forma, são denominadas *subsidiárias*. O conjunto formado pelo estômato, mais as células vizinhas ou subsidiárias, constitui o complexo estomático ou aparato estomático (Metcalf & Chalk, 1950; Esau, 1960; Pant, 1965; Stace, 1965; Van Cotthem, 1970; Wilkinson, 1979; Baranova, 1987, 1992; Carpenter, 2005).

Os tipos estomáticos podem ser diferentes entre os grupos de plantas, mas, ocasionalmente, vários tipos estomáticos podem aparecer em uma mesma planta dando origem ao *polimorfismo* (Timonin, 1986). Plantas que apresentam polimorfismo estomático são também chamadas de heteroestomáticas (Baranova, 1992). Segundo a terminologia proposta por Baranova (1992), a planta que apresenta apenas um tipo de complexo estomático (ou somente tipo estomático) é chamada de *homoestomática*. Neste trabalho, usou-se o termo “heteroestomaticidade” para referir-se a dois ou mais tipos estomáticos ocorrendo na mesma folha e o termo “polimórfico” para descrever variações em um determinado tipo estomático, ou seja, no caso de haver diferenças estruturais no tamanho, textura e forma de qualquer parte de um mesmo tipo de complexo estomático.

Quanto à distribuição dos estômatos na folha, a planta pode possuir folhas hiperestomáticas (epiestomáticas), quando os estômatos estão presentes apenas na superfície adaxial da folha; anfiestomáticas, com estômatos em ambas as superfícies; ou hipoestomáticas quando os estômatos estão dispostos apenas abaxialmente (Esau, 1960).

2.2. Principais tipos estomáticos

Existem relatos de que o aparecimento dos estômatos contribuiu largamente para que a planta pudesse se adaptar aos mais diversos ambientes (Hetherington & Woodward, 2003), devido ao controle estomático sob a perda de água pelo vegetal. Para isso, os estômatos podem sofrer modificações em sua posição na epiderme e até mesmo em seu formato. Na folha, os estômatos podem ocorrer em criptas

(criptoestômatos), abaixo da linha da epiderme, ou estar expostos (faneroestômatos) com parte deles proeminentes (Esaú, 1960). Criptoestômatos estão geralmente associados a ambientes secos, podendo haver divergido dos faneroestômatos há 55-35 milhões de anos, época em que o clima tornou-se mais árido (Hill, 1994). No que tange a forma, existem dois tipos principais de estômatos: haltere, muito comum em gramíneas, e reniforme presente na maioria das dicotiledôneas (Figura 1). Estudos em gramíneas têm mostrado que o formato de haltere confere uma abertura maior e mais rápida, representando vantagem para a fotossíntese e eficiência no uso da água, quando comparadas com espécies de estômatos reniformes (Grantz & Assmann, 1991).

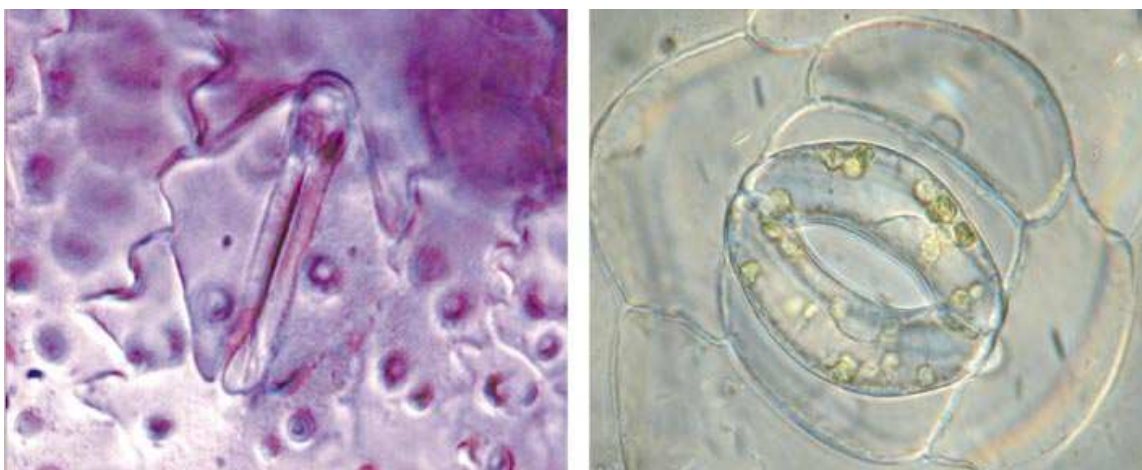


Figura 1. Estômatos em formato de haltere típico de gramíneas (esquerda) e um estômato reniforme presente em várias outras espécies como *Arabidopsis* e *Commelina* (direita) – conforme Hetherington & Woodward (2003).

Em função da presença e posição das células subsidiárias com relação às células-guarda, quatorze tipos morfológicos de estômatos estão descritos na literatura (Dilcher, 1974; Baranova, 1992). São eles: Anomocítico, anisocítico, paracítico, diacítico, actinocítico, enciclocítico (ciclocítico), tetracítico, pericítico, desmocítico, polocítico, staurocítico, hemiparacítico, laterocítico e stefanocítico. A seguir, a descrição de cada tipo:

Anomocítico - Estômatos envolvidos por um número limitado de células que não se diferenciam na forma ou tamanho das outras células da epiderme (Figura 2 A).

Anisocítico – Estômatos envolvidos por três células, das quais, uma é geralmente menor do que as outras duas (Figura 2 B).

Paracítico – Duas ou mais células acompanham cada célula-guarda, dispostas ao longo do eixo de abertura estomática, podendo ser acompanhada por um par de células subsidiárias com parede em comum (holoparacítico; Figura 2 C), ou não, envolvendo completamente o estômato chamado de braquiparacítico.

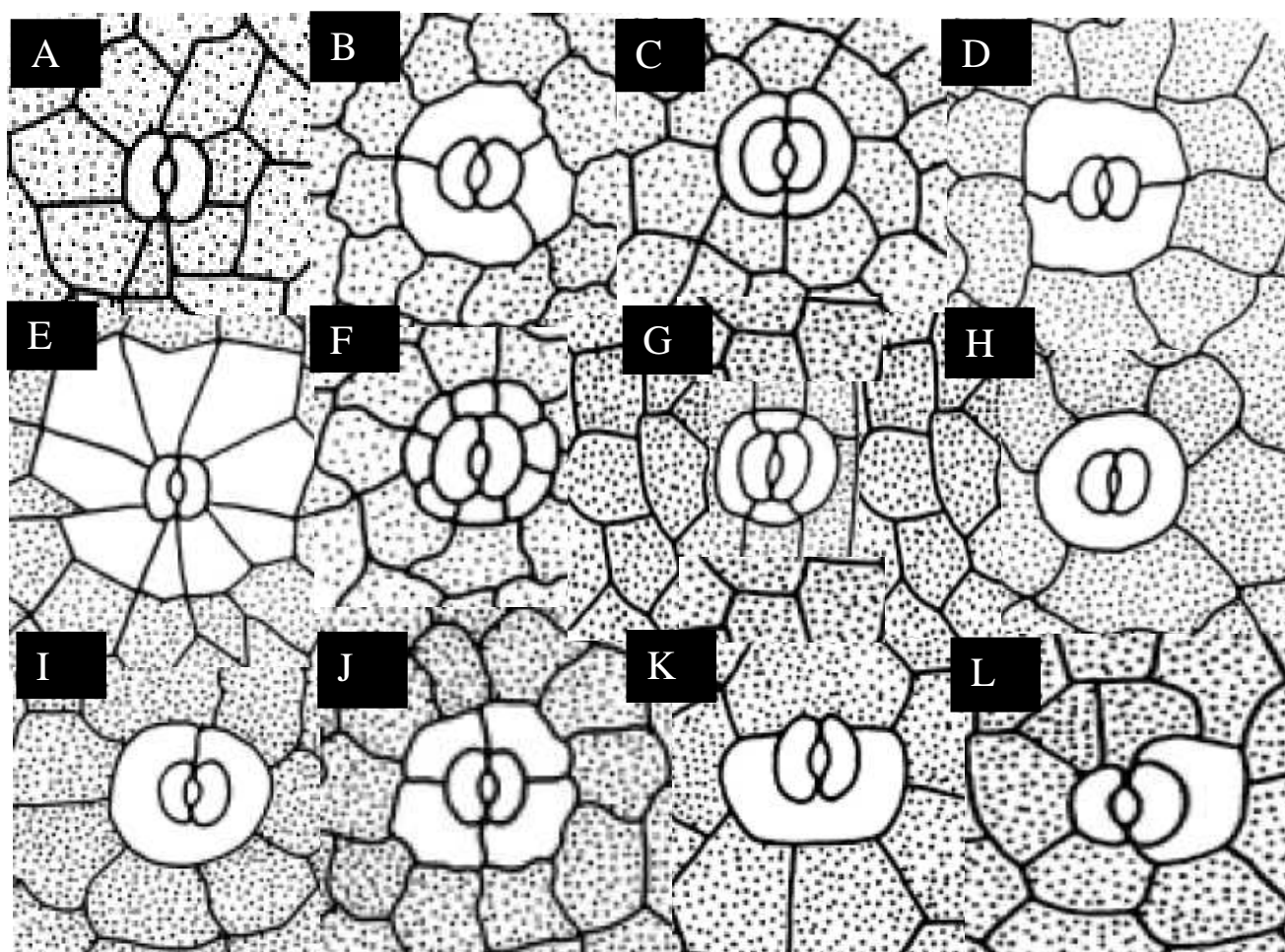


Figura 2. Principais tipos estomáticos descritos na literatura – anomocítico em **A**, anisocítico (**B**), paracítico (**C**), diacítico (**D**), actinocítico (**E**), ciclocítico (**F**),

tetracítico (**G**), pericítico (**H**), desmocítico (**I**), staurocítico (**J**), polocítico (**K**) e hemiparacítico (**L**) (Adaptado de Dilcher, 1974)

Diacítico – Quando um par de células envolve o estômato, cujas junções das mesmas formam um ângulo reto com as células-guarda (Figura 2 D).

Actinocítico – Estômatos com cinco ou mais células alongadas envolvendo as células-guarda (Figura 2 E).

Ciclocítico – Anel simples com cinco ou mais células envolvendo o estômato (Figura 2 F).

Tetracítico – Quatro células adjacentes envolvendo as células-guarda (Figura 2 G).

Pericítico – Estômatos envolvidos por uma única célula; não há uma parede anticlinal juntando as células (Figura 2 H).

Desmocítico – Apenas uma célula envolvendo a célula-guarda, mas com uma parede celular anticlinal ligando o estômato com as células subsidiárias (Figura 2 I).

Staurocítico – Estômato envolvido por quatro (às vezes três ou cinco) células subsidiárias iguais, com paredes anticlinais, arranjadas aleatoriamente em forma de cruz ao longo do eixo do poro estomático (Figura 2 J).

Polocítico – Estômato parcialmente envolvido por uma única célula subsidiária exceto em um pólo da célula-guarda. A ligação é sempre situada em uma ponta distal da célula-guarda (Figura 2 K).

Hemiparacítico - Célula subsidiária única, envolvendo parcialmente ou completamente uma das células-guarda (paralela ou eixo de abertura do poro); a outra

célula-guarda apresenta três ou mais células epidérmicas normais envolvendo-a (Figura 2 L).

Laterocítico – Caracterizado por três ou mais células subsidiárias laterais que podem ser orientadas nas proporções 1+2 (Figura 3 A), 1+3, 2+2 (Figura 3 B), 2+3 e 3+3.

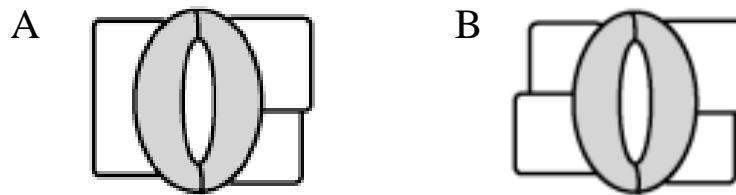


Figura 3. Duas das possíveis orientações das células subsidiárias(1+2 em A; 2+2 em B) do complexo estomático do tipo Laterocítico. Fonte: Carpenter (2000).

Stefanocítico – Compreende uma roseta mais ou menos bem definida com quatro ou mais células adjacentes fracamente especializadas (Baranova, 1987).

2.3. Importância dos estômatos para ecofisiologia da planta

A superfície adaxial da folha exposta a condições de seca, comporta menos ou nenhum estômato (Tari, 2003), e ainda, em plantas do deserto, a diminuição da densidade de estômatos acompanhada do baixo comprimento do poro, além da diferenciação morfológica da folha, caracteriza uma adaptação para conservar água na planta (Dong & Zhang, 2000). Os comprimentos médios dos estômatos podem não diferir entre estádios sucessionais de uma floresta e não apresentar uma relação aparente com a densidade estomática (Boeger & Wisniewski, 2003). Porém, vários estudos apontam uma relação inversa entre essas duas variáveis (Tanner & Kapos, 1982), sendo evidente que, a densidade e o tamanho estomático mudam de forma compensatória com relação às trocas de CO₂ e vapor d'água na planta (Beerling & Woodward, 1997). Dessa forma, o controle do movimento estomático está diretamente

relacionado com o nível de adaptação da planta ao ambiente terrestre (Parkhurst, 1978). A densidade estomática pode também estar ligada ao grau de esclerofilia de uma planta, sendo que estômatos menores e maiores densidades estomáticas geralmente estão associadas às folhas xeromórficas, enquanto que o inverso é observado em mesófitas (Fahn & Cutler, 1992). Aumento da densidade estomática, maior espessura do parênquima paliçádico, alta prevalência de esclerênquima e menor área foliar ocorrem em espécies adaptadas a estádios sucessionais primários e secundários de uma floresta (Boeger & Wisniewski, 2003), correspondendo às adaptações foliares para ambientes secos.

Nas folhas anfiestomáticas, o número de estômatos por unidade de área (densidade estomática) é comumente maior na epiderme abaxial do que na adaxial (Silva et al., 1989; Tari, 2003; Al Afas et al., 2006). Em geral, a distribuição dos estômatos (abaxial, adaxial ou em ambas as faces da folha) não depende muito das variáveis ambientais, sendo, principalmente, determinada por variáveis morfológicas e fisiológicas como espessura foliar e condição hídrica da planta (Purkhurst, 1978). Segundo o autor, folhas anfiestomáticas apresentam vantagens quando a concentração interna de CO₂ limita a fotossíntese, como pode ocorrer em plantas de ambientes ensolarados, ou seja, com alta demanda evaporativa e alta irradiância. Estes fatores ambientais são responsáveis pelo engrossamento da lâmina foliar e distribuição de estômatos em uma ou nas duas faces da folhas.

Apesar de a condição anfiestomática apresentar vantagens no processo difusivo do CO₂, existe uma predominância de folhas hipoestomáticas na natureza, sendo menos freqüentes em ambientes xerofílicos do que em mesofílicos e quase ausentes ou vestigiais em plantas aquáticas (Purkhurst, 1978). Ao contrário, folhas epiestomáticas ou hiperestomáticas, são incomuns em plantas terrestres (Pridgeon, 1994).

Plântulas crescendo no interior de uma floresta tropical passam por mudanças bruscas na quantidade de luz, estando sujeitas a incidências de luz que variam com o horário do dia, época do ano, movimentação de copas, ou devido à queda de outros vegetais em sua volta (Osunkoya & Ash, 1991, Lee et al., 1997).

Dessa forma, a densidade dos estômatos não varia somente interespecificamente, mas também intra-especificamente devido a fatores ambientais durante o desenvolvimento da planta, geralmente aumentando mais nas folhas expostas ao pleno sol (Boardman, 1977; Abrams & Kubiske, 1990) e com diferenças significativas entre a base, o meio e o ápice da folha (Silva et al., 1989).

Durante o desenvolvimento da folha, além da influência da luminosidade na formação dos estômatos, ocorre uma relação quantitativa entre a densidade estomática e a área foliar (Gay & Hurd, 1975), de maneira que a densidade estomática decresce até cessar o processo de expansão foliar. Assim, a densidade final de estômatos é influenciada pelo ambiente luminoso durante a fase de desenvolvimento da folha. Além disso, estimou-se que, desde o período pré-industrial, houve a diminuição em 40% da densidade dos estômatos (Mott et al., 1982), isso pelo fato da densidade estomática diminuir com o aumento nos níveis de CO₂ da atmosfera.

Por outro lado, fatores endógenos também interferem na densidade estomática. Berger & Altmann (2000), propuseram que o gene SDD1 atua como um indutor de protease envolvida na mediação de um sinal que controla a diferenciação de células-guarda, aumentando de 2 à 4 vezes a densidade de estômatos em espécies *sdd1* mutantes, sem alterar outras características morfológicas da folha. Isso pode significar que interações por competição podem ser afetados por apenas alguns genes da planta e que diferenças genéticas individuais podem ter implicações ao nível de população (Alwerdt et al., 2006).

Dependendo da espécie e condições ambientais, os estômatos podem variar entre 10 e 80 μm de comprimento e ocorrer em densidades de 5 à 1000 estômatos por mm^2 , observando-se uma relação negativa entre o comprimento do poro e o aumento do estresse hídrico (Hetherington & Woodward, 2003). Entretanto, essa tendência não parece ser universal, pois, em alguns casos, o aumento da densidade estomática não necessariamente causa uma redução no tamanho dos estômatos (Tari, 2003). Adaxialmente, a densidade de estômatos aumenta com a altitude, provavelmente como resultado da mudança na concentração de CO₂ no gradiente de altitude (Woodward et

al., 2002), pois se sabe que aumentando a quantidade de CO₂ no ambiente, reduz-se a densidade de estômatos na planta (Hetherington & Woodward, 2003). Folhas de árvores jovens podem apresentar maior densidade, o que melhora o desempenho fotossintético (Schluter et al., 2003). Porém, a baixa densidade estomática pode ser compensada pelo aumento da abertura do poro estomático em muitas espécies (Bussis et al., 2006).

2.4. Influência dos estômatos na fotossíntese e transpiração

A água perdida por evapotranspiração é um importante regulador dos regimes de chuva na Amazônia (Salati, 1983). Dessa forma, a perda de água que ocorre via estômatos é ecologicamente importante, pois 24 a 40% da precipitação anual na Amazônia (600 a 1000 mm.ano⁻¹) provém de vapor d'água transpirado na própria floresta (Jackson et al., 2001), demonstrando a relevância de se elucidar os padrões estomáticos, visto sua enorme influência nos ciclos de carbono e água do planeta (Cramer et al., 2001). Hetherington & Woodward (2003) relatam que, tanto a difusão de CO₂ para os espaços intercelulares da folha, como a saída de vapor d'água, são controladas pelos mecanismos de abertura e fechamento dos estômatos. Entretanto, a demanda das enzimas fotossintéticas relacionada com o suprimento de CO₂ para os cloroplastos, são os traços mais relevantes do processo fotossintético (Farquar et al., 1980).

A condutância estomática pode ser determinada a partir da taxa de transpiração da folha (Salisbury & Ross, 1992), e ainda, a estimativa da condutância estomática pode ser obtida a partir dos valores de densidade e dimensões do poro estomático, conforme foi descrito por Campbell & Norman (1998).

3. OBJETIVOS

Determinar o efeito do estrato florestal (dossel e sub-bosque) na densidade estomática e tamanho das células-guarda em 10 espécies de terra firme na Amazônia Central.

3.1. Objetivos específicos:

Determinar as médias e as amplitudes da densidade, tamanho das células-guarda, área foliar específica e espessura da folha para cada espécie no dossel e no sub-bosque;

Determinar a variação na área foliar específica, espessura da folha e densidade de estômatos entre ambientes de dossel e sub-bosque;

Determinar a relação entre a densidade estomática e o tamanho das células-guarda em cada espécie.

Relacionar densidade estomática e tamanho das células-guarda com os valores máximos de condutância estomática e fotossíntese no sub-bosque da floresta.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Área de estudo

O material botânico foi coletado na Estação Experimental de Silvicultura Tropical (Núcleo ZF2), área de pesquisa da Coordenação de Pesquisa de Silvicultura Tropical (CPST) do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA). A área de estudo está localizada numa floresta de terra firme (área de platô) a 105 m de altitude acima do nível do mar (02° 36' 21" lat. Sul, 60° 08' 11" long. Oeste), localizada no km 60 da Br-174, Amazonas (Figura 4).

O clima é do tipo "Am" (RADAM, 1978), com uma precipitação média anual de 2240 mm, O período mais chuvoso oscila entre dezembro e maio, e o mais seco (em torno de 100 mm mês⁻¹) entre agosto e novembro. O local estudado possui uma irradiância máxima oscilando entre 1600 e 2000 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ no dossel da floresta. A temperatura média oscila entre 23 e 24°C ao alvorecer e entre 33 e 34°C nos horários mais quentes do dia. A umidade relativa do ar pode variar entre 70% ao meio dia e 100% à noite (Marenco et al., 2007).

O relevo é levemente ondulado e a maioria das ondulações é formada por pequenos platôs (Chauvel, 1982). A topografia dos transectos apresenta-se disposta em seqüências de platôs, encostas e baixios. Os solos dos platôs são caracterizados por apresentar textura argilosa sendo constituídos principalmente por Latossolo Amarelo (Ferraz et al., 1998). A quantidade de CO₂ no sub-bosque da área de estudo oscilou em torno de 400 - 500 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, sendo medida com um analisador de gás infravermelho (LI-6400, Li-Cor, Lincoln, NE, EUA) como um parâmetro adicional na análise dos dados.

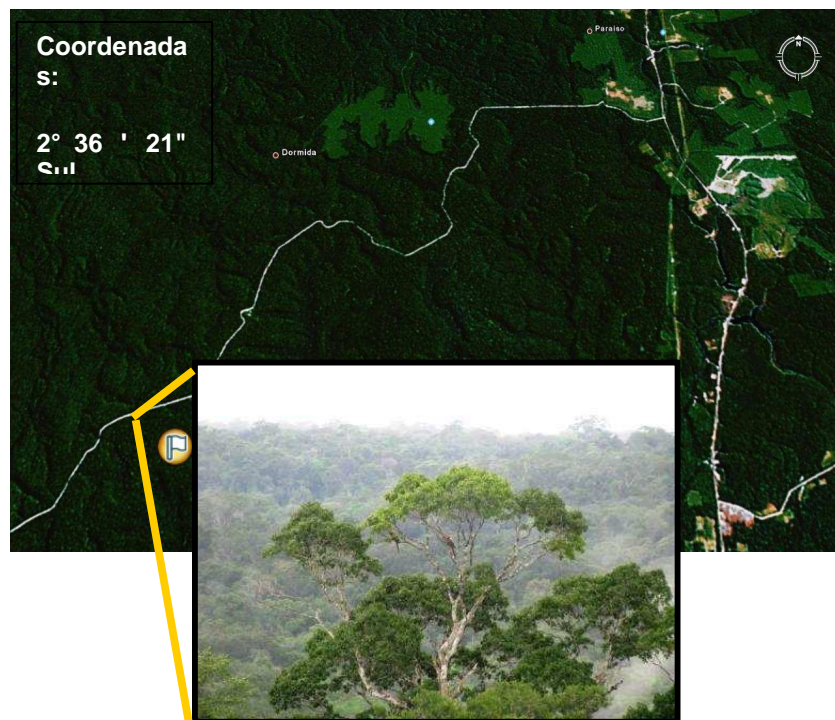


Figura 4 – Área de estudo, localizada a 60 km ao Norte de Manaus na reserva ZF2 do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA).

4.2. Material vegetal

Pesquisas realizadas nas proximidades da área deste estudo, como as de Oliveira & Amaral (2004); Higuchii et al. (1998), apresentaram que as famílias Sapotaceae, Lecythidaceae, Burceraceae e Lauraceae foram mais frequentes e/ou dominantes, sendo os gêneros *Pouteria*, *Eschweilera* e *Protium* os mais abundantes.

Assim, para estudar as características estomáticas e o efeito do estrato florestal na densidade de estômatos, foram escolhidas 10 espécies com três repetições em cada estrato da floresta (dossel e sub-bosque), sendo avaliadas aquelas espécies que apresentam maior número de indivíduos na reserva e com grande potencial madeireiro como: *Eschweilera bracteosa* (Poepp. & Endl.) Miers e *E. coriacea* (DC.) Mart. ex Berg. (Lecythidaceae); *Protium appiculatum* Swart, *P. decandrum* (Aulb.) March. e *P. hebetatum* Daly (Burseraceae); *Pouteria guianensis* Aulb. e *P. macrophylla* (Lam.) Eyma. (Sapotaceae); *Miquartia guianensis* Aulb. (Olacaceae), *Rinorea paniculata* (Mart.) Kuntze e *R. guianensis* Aulb. (Violaceae).

As amostras botânicas coletadas, férteis (flores ou frutos) ou não, foram prensadas e submetidas à secagem em estufa (65°C) por 48 horas. Em seguida, essas amostras foram identificadas através da morfologia comparada com as exsecatas disponíveis nos herbários do INPA e de literatura especializada (Ribeiro et al., 1999). Os nomes botânicos apresentados foram conferidos com a página da WEB do Missouri Botanical Garden (www.mobot.org/W3T/Search/vas.html).

4.3. Densidade e caracterização dos estômatos

Para a determinação da densidade estomática (DE), uma impressão da superfície foliar foi obtida com acetato de celulose, mais especificamente com esmalte incolor, conforme descrito por North (1956). O molde foi retirado da região mediana, próximo da nervura principal de ambas as faces da folha.

Para a contagem e determinação do tamanho das células-guarda, foram avaliadas cinco folhas por planta em quatro campos diferentes por folha (constituindo 20 contagens por planta) com auxílio de um microscópio óptico (Zeiss, Alemanha).

Os tipos estomáticos foram observados através da dissociação das epidermes foliares. Para isso, cortes de até 1 cm² foram retirados da porção mediana da folha e colocados em solução de ácido acético glacial e peróxido de hidrogênio, 1:1 (v/v). Em seguida, o conjunto foi deixado em estufa à 60 °C por 48 horas (Kraus & Arduin, 1997). O tipo estomático foi descrito levando em consideração a posição das

células adjacentes ao estômato com relação às células-guarda, conforme foi descrito por Esau (1960). Foram obtidos registros fotográficos de todos os tipos estomáticos, com auxílio de uma máquina Canon Sx100-IS (China) acoplada ao mesmo microscópio citado anteriormente.

4.4. Fatores ambientais envolvidos

Em cada espécie foram determinadas a densidade e comprimento das células-guarda em amostras foliares coletadas de árvores em estágio juvenil (antes de atingir o dossel) e estágio avançado (com suas copas no dossel da floresta) de dois estratos da floresta (dossel e sub-bosque). Para isso, foram coletadas amostras provenientes de folhas (folíolos no caso de *Protium*) completamente expandidas de cada planta (dossel e sub-bosque) para um total de três plantas por espécie totalizando 30 plantas por estrato.

4.5 Irradiância e umidade relativa

O fluxo de fótons foi determinado utilizando um sensor quântico conectado a um datalogger (LI-1400; Li-Cor, EUA). Os valores de irradiância foram coletados em intervalos de 10 minutos, das 5:00 às 18:00 horas, entre outubro de 2007 e setembro de 2008, objetivando verificar a luminosidade no dossel. A umidade relativa e a temperatura do ar foram determinadas utilizando sensores “Humitter” 50Y(X) (Vaisa, Oyj, Finlândia) acoplados a um datalogger (LI – 1400 Licor, Lincoln, NE, USA). Já a fração de céu visível no sub-bosque foi medida utilizando um analisador de dossel e índice de área foliar – IAE - (LAI 2000, Li-Cor, EUA).

4.6. Relação densidade, espessura da folha, comprimento estomático e área foliar específica

Para a determinação da espessura foliar, cortes transversais a mão livre foram feitos na região mediana da folha, sem incluir a nervura principal. A espessura foi medida no aumento de 1000x com auxílio de uma retícula micrometrada acoplada à ocular do microscópio (precisão de 1 μm). O comprimento das células-guarda dos

estômatos, foi medido em quatro estômatos por campo, totalizando 20 estômatos por planta, escolhidos ao acaso. No caso de *Protium* que possui folhas compostas, as avaliações foram feitas apenas em folíolos.

Para a determinação da área foliar específica (relação entre a área foliar e biomassa de folhas), foi utilizado um integrador de área foliar (LI-3050, Li-Cor).

Foi avaliada a influência da luminosidade na morfologia foliar nos diferentes estratos da floresta (dossel e sub-bosque), utilizando dois índices de esclerofilia: Área foliar específica (Witkowski & Lamont, 1991), onde AFE = área foliar/peso seco foliar ($\text{cm}^2 \text{g}^{-1}$); Índice de Esclerofilia (IE) de Rizzini (1976), sendo $\text{IE} = \text{peso seco (g)}/2 \times \text{área foliar (cm}^2\text{)}$. Esses dados permitiram determinar uma relação entre a densidade estomática e o padrão de adaptação da planta nos diferentes estratos da floresta.

4.7. Fotossíntese (A_{max}) e condutância estomática foliar (g_s).

No intuito de correlacionar o comprimento das células-guarda (CG) e DE com a fotossíntese máxima e condutância dos estômatos, A_{max} e g_s foram medidas com um analisador de gás infravermelho (LI-6400, Li-Cor, Lincoln, NE, EUA). Para tais fins, foram selecionadas folhas (ou folíolos no caso de *Protium*) completamente expandidas e em bom estado fitossanitário. Devido à dificuldade de alcançar as folhas no dossel da floresta, A_{max} e g_s foram medida apenas no sub-bosque da floresta.

4.8 Análise estatística.

O efeito do estrato (dossel x sub-bosque) nas variáveis estudadas (características estomáticas, área foliar específica e espessura da folha) foi analisado mediante análise de variância (ANOVA) a 5% de probabilidade. Utilizou-se o programa SAEG 9,0 da Universidade Federal de Viçosa. A relação entre densidade estomática, tamanho dos estômatos e g_s foi analisada por meio de regressão múltipla.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Descrição do ambiente e sua relação com a distribuição estomática.

Durante o período de estudo, a irradiância (Q) atingiu valores máximos de aproximadamente $1300 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. No sub-bosque da floresta, a luminosidade foi apenas 1% da quantidade total de luz que atingiu o dossel durante o período mais seco do ano (Figura 5). Esse resultado concorda com Marengo & Vieira (2005), que observaram que a luminosidade no sub-bosque da floresta é comumente menor do que 1% da radiação solar plena que atinge o dossel. Essa diferença na luminosidade do ambiente entre os dois estratos da floresta pode provocar alterações morfológicas nas folhas das espécies capazes de sobreviverem e se estabelecerem nestes ambientes (Osunkoya & Ash, 1991). Não houve diferença no nível de luminosidade entre as plantas avaliadas no sub-bosque da floresta, visto que a irradiância entre os diferentes microsítios apresentou pouca variação ($P > 0,05$). Nos diferentes microsítios, o índice de área foliar (IAF) oscilou entre 3.8 e 6.0, concordando com valores descritos para a Amazônia (McWilliams et al., 1993).

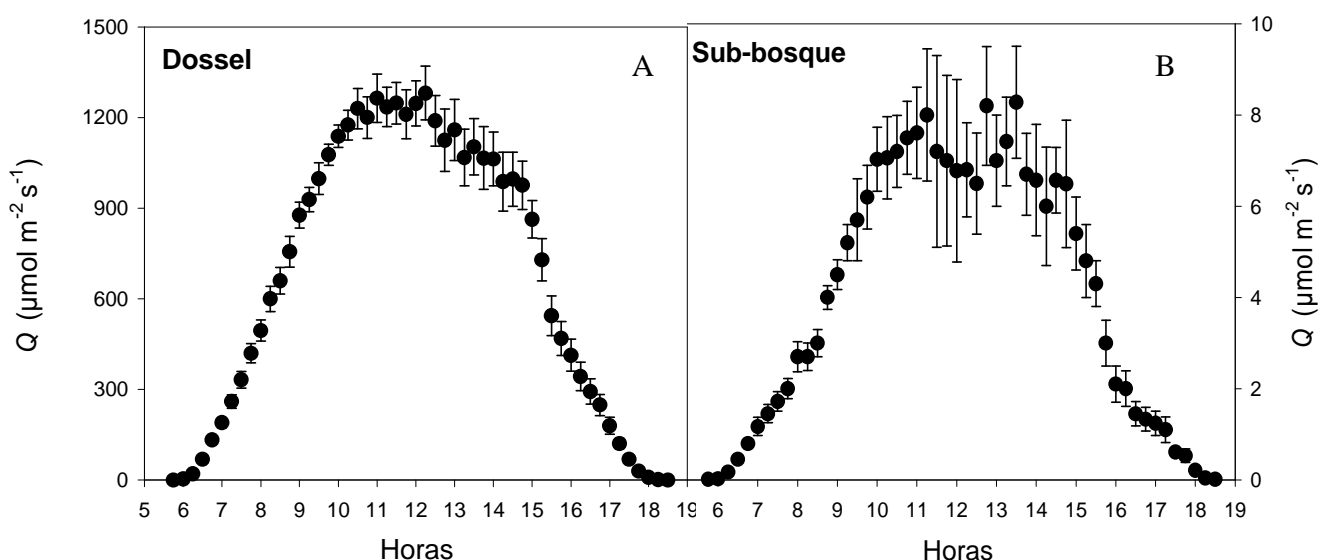


Figura 5 – Variação diurna da radiação solar (Q) no dossel (A) e no sub-bosque (B) da floresta.

Em todas as espécies, as folhas foram hipoestomáticas. Existem poucos estudos que tratam da disposição de estômatos nas folhas, porém, trabalhos que levam em conta as variáveis ambientais, mostram que folhas anfiestomáticas são mais comuns em espécies de ambientes secos (Purkhust, 1978; Wood, 1934). Esse trabalho suporta a hipótese de que folhas hipoestomáticas são mais comuns em ambientes mesofílicos (Kramer, 1969), como é o caso da floresta amazônica, ao contrário do que sugerem outros autores (Pyykko, 1966; Napp-zinn, 1988). Segundo Purkhust (1978), os estômatos facilitam as trocas gasosas diminuindo a resistência da folha para a difusão dos gases. Assim, tanto o CO₂ como o vapor d'água, atravessam a barreira imposta pela camada limítrofe e o tecido epidérmico por meio dos poros estomáticos, assim, a localização dos estômatos na folha (um ou ambos os lados) afeta a resistência do mesofilo para a difusão do dióxido de carbono.

A localização de estômatos na folha pode estar de alguma forma, relacionada com a espessura foliar, pois o percurso de difusão de gases (CO₂), aumenta com a espessura do mesofilo (Purkhust 1978). Mas apesar disso, também não houve folhas anfiestomáticas no dossel da floresta, mesmo com o aumento expressivo da espessura foliar ($P < 0,05$; Figura 6) em todas as espécies. No entanto, o aumento da densidade estomática em função do aumento da espessura foliar foi altamente significativo ($r^2 = 0.95^{**}$; Figura 7). Sabe-se que o aumento na espessura foliar em plantas expostas a condições de sol pleno é uma característica de proteção dos fotossistemas, podendo aumentar a assimilação de carbono na planta (Claussen, 1996; Niinemets et al., 1998; Gómez et al., 2008).

5.2. Condutância estomática (g_s), densidade estomática (DE) e comprimento das células-guarda (CG).

Houve significativa diferença na densidade estomática (DE) entre espécies de um mesmo estrato florestal (dossel ou sub-bosque). As espécies do gênero *Protium* apresentaram uma maior densidade de estômatos (700 por mm²), seguidos de *Eschweilera* (300), *Pouteria* e da espécie *Minquartia guianensis* (em torno de 200 estômatos mm⁻²).

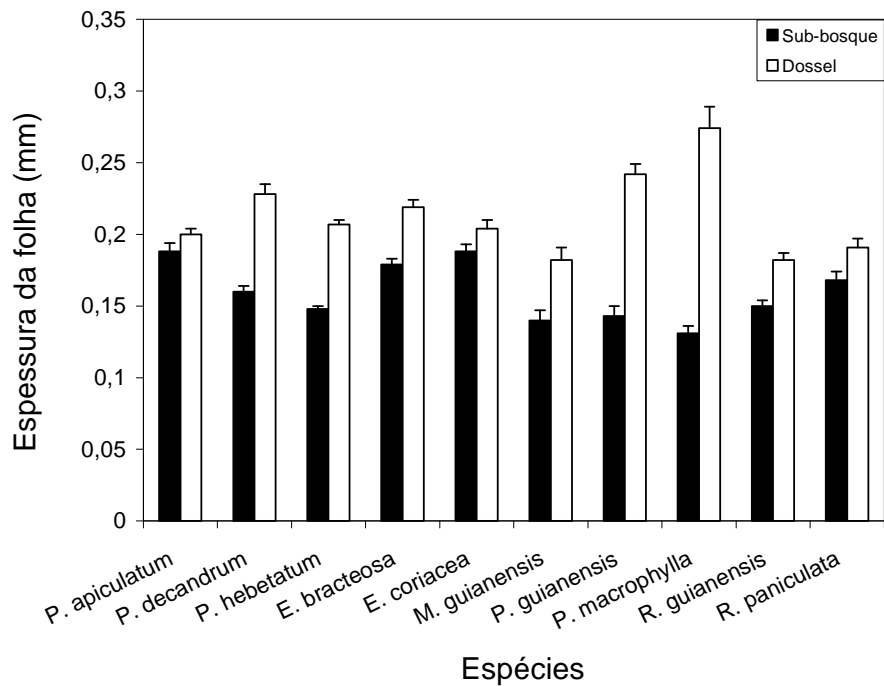


Figura 6 - Variação da espessura foliar em dez espécies florestais da Amazônia em função do ambiente luminoso (dossel e sub-bosque). A análise de variância mostrou que houve diferença significativa ($P \leq 0,05$) entre plantas do dossel (barras brancas) e do sub-bosque (barras escuras) para todas as espécies.

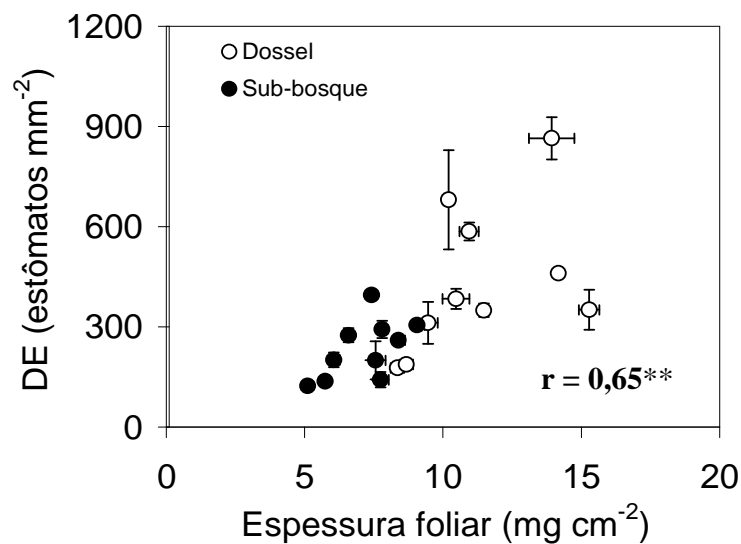


Figura 7 – Relação entre espessura foliar e densidade estomática (DE). Dados coletados em 10 espécies florestais no sub-bosque (●) e 10 no dossel (○). Cada símbolo representa a média de três plantas e cinco folhas por planta (** altamente significativo aos 5% de probabilidade).

Rinorea guianensis e *R. paniculata*, também foram significativamente diferentes das outras espécies com menores valores de densidade estomática (150 estômatos mm^{-2} aproximadamente). A diferença de densidades estomáticas entre espécies, assim como os seus valores máximos e mínimos podem ser visualizada na Tabela 1.

Tabela 1. Médias e amplitudes (entre parênteses) da densidade estomática (DE), área foliar específica (AFE), espessura foliar e tamanho das células-guarda. Cada valor representa a média de seis plantas (três em cada estrato) e cinco folhas por planta.

Espécies	DE (Estômatos mm^{-2})	AFE ($\text{cm}^2 \text{g}^{-1}$)	Espessura (mm)	Tamanho (μm)
<i>P. apiculatum</i>	555,7 A* (192 – 1091)	103 A (87 – 127)	0,196 A (0,14 – 0,3)	10 A (5,4 – 14,6)
<i>P. decandrum</i>	677 B (273 – 1101)	100 B (54 – 135)	0,2 A (0,12 – 0,34)	11,3 B (7,4 – 18,6)
<i>P. hebetatum</i>	462 C (182 – 757,7)	117 A (78 – 157)	0,184 A (0,13 – 0,27)	11,14 A (9,2 – 14,6)
<i>E. bracteosa</i>	304 D (182 – 464,7)	104 A (83 – 143)	0,2 A (0,14 – 0,33)	20 C (16,4 – 26,5)
<i>E. coriacea</i>	348 D (141 – 555)	111 A (76,5 – 143)	0,12 A (0,14 – 0,33)	19 C (14 – 24)
<i>M. guianensis</i>	256 D (81 – 515)	139,5 A (87- 214)	0,161 A (0,04 – 0,43)	9,2 C (6,16 – 18,5)
<i>P. guianensis</i>	267 D (81 – 606)	93 B (60 – 156,6)	0,2 B (0,08 – 0,45)	14,5 D (7,7 – 22,3)
<i>P. macrophylla</i>	265 D (70 – 545)	121,4 A (70 – 176)	0,166 A (0,012 – 0,42)	12,8 E (6,16 – 20)
<i>R. guianensis</i>	150 E (60 – 242)	160,5 C (102,4 – 230)	0,166 B (0,11 – 0,33)	21,15 F (13,8 – 27,7)
<i>R. paniculata</i>	167 E (91 – 313,2)	140 C (99,4 – 176)	0,181 B (0,12 – 0,31)	20,17 G (15,4 – 29,26)

* Médias seguidas pelas mesmas letras nas colunas não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$).

Existem diversos fatores que determinam ou influenciam a densidade estomática. Gómez & Hamzah (1980) apresentaram a ocorrência de diferentes densidades estomáticas em clones e até mesmo entre folhas de uma planta, havendo

uma maior DE em folhas mais maduras e com maior exposição ao sol. De igual forma, Eensalu et al. (2008) observou uma relação positiva entre DE e disponibilidade de luz em folhas de diferentes partes das copas arbóreas. A densidade estomática foi maior em folhas coletadas no dossel da floresta (Figura 8). Desta forma, as espécies que mais aumentaram sua densidade estomática durante a transição para o dossel da floresta foram as dos gêneros *Protium* e *Pouteria* (Tabela 1).

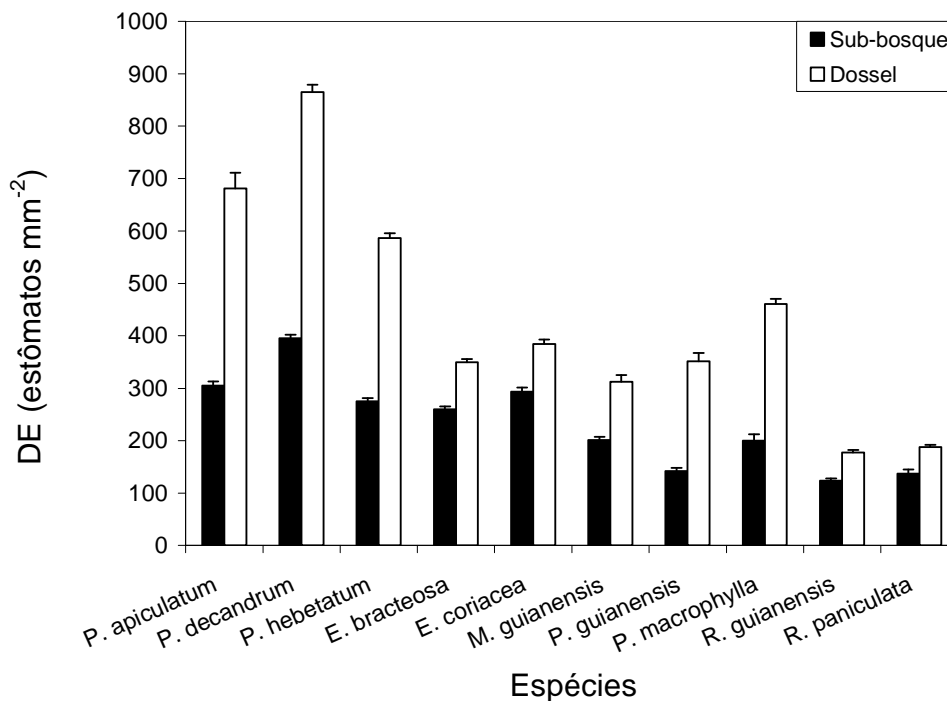


Figura 8 – Variação da densidade estomática (DE) em dez espécies arbóreas na Amazônia Central. A análise de variância mostrou que houve diferença significativa ($P \leq 0,05$) entre plantas do dossel (barras brancas) e do sub-bosque (barras escuras) para todas as espécies. Cada barra representa a média de três plantas e cinco folhas por planta.

Diferentes condições ecológicas podem provocar variações estruturais em folhas, assim, fatores ambientais podem ocasionar a xeromorfia. Sendo o aumento da densidade estomática, um importante componente para caracterizar o nível de adaptação da planta ao ambiente (Salisbury, 1927; Shields, 1950). O aumento da DE foliar apresenta uma relação inversa com o comprimento das células-guarda, porém, no

dossel da floresta, onde houve maiores valores de densidade estomática foliar, nem todas as espécies apresentaram menores tamanhos estomáticos (Figura 9).

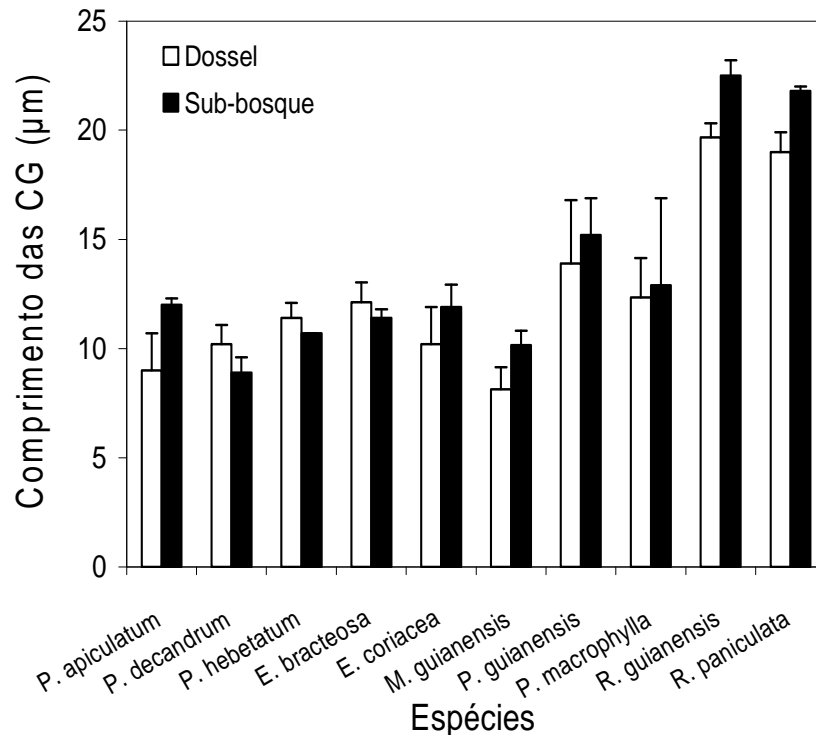


Figura 9 – Variação do comprimento das células-guarda (CG) entre plantas do dossel (barras brancas) e do sub-bosque (barras escuras). Cada barra representa a média de três plantas e cinco folhas por planta.

O aumento da densidade estomática foi acompanhado de uma diminuição do comprimento dos estômatos nas dez espécies estudadas (Figura 10). Estes resultados concordam com os que foram obtidos por Hetherington & Woodward (2003); Dong & Zhang (2000); Ohsumi et al. (2007); Büssis et al. (2006). A densidade e o tamanho estomático são parâmetros importantes para fisiologia vegetal por apresentarem relação com a condutância estomática (g_s). No sub-bosque da floresta, g_s apresentou uma relação negativa com a densidade estomática ($r = -0,53^*$), valores mais altos de g_s foram encontrados em plantas com maior tamanho estomático ($r = 0,57^*$; Figura 11). A análise de regressão multivariada mostrou que a maior parte (90%) da variação na condutância estomática foi devido à variação no tamanho das células guardas (CG), ao passo que DE contribuiu com apenas 10% da variação em g_s .

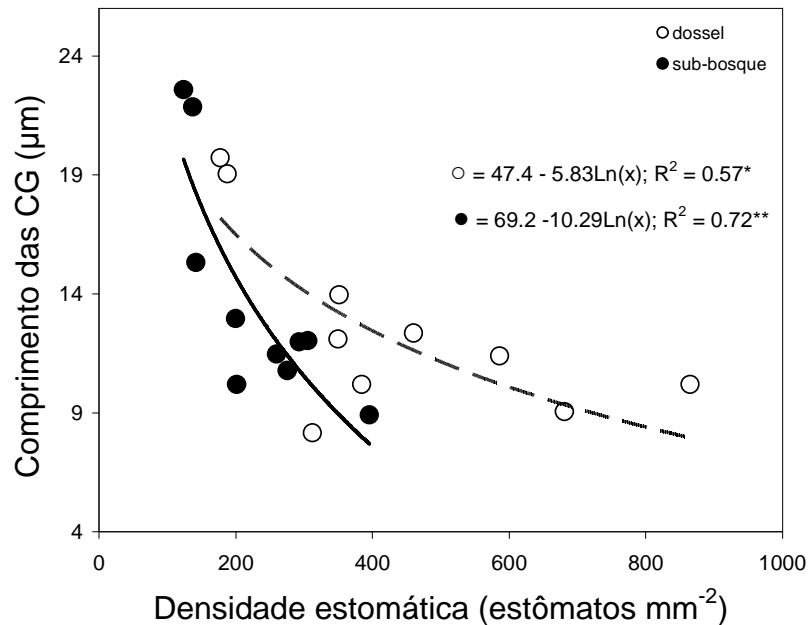


Figura 10 - Relação entre o comprimento das células-guarda (CG) e a densidade estomática, dossel (linha tracejada) e no sub-bosque da floresta (linha contínua). *, = significativo ($P < 0,05$); **, altamente significativo ($P < 0,01$).

Assim, nas plantas estudadas (do sub-bosque), o comprimento das células-guarda exerce maior influência na condutância da folha do que a densidade estomática. Em contraste, Xu & Zhou (2008) verificaram que um aumento na condutância estomática, seguido de uma maior assimilação de carbono pela folha, está correlacionado positivamente com a densidade estomática. Ohsumi et al. (2007) não encontraram relação entre densidade de estômatos e condutância estomática. Esses mesmos autores verificaram que plantas com maior comprimento estomático apresentam maior g_s , evidenciando que o comprimento estomático possui maior influência sobre a g_s do que a densidade de estômatos na folha. Vários trabalhos têm mostrado que DE tende a ser maior em folhas de sol do que em folhas desenvolvidas em condições sombreadas (Broadman, 1977; Abrams & Kubiske, 1990; Lockheart et al., 1998). Isto ocorre de maneira compensatória devido à diminuição do tamanho estomático (Büßis et al., 2006). Entretanto deve-se mencionar que estômatos grandes tender a se fechar mais lentamente (Aasamaa et al., 2001), o que pode ser uma desvantagem em condições de alta irradiância - com alto déficit de pressão de vapor d'água - como ocorre no dossel da floresta. Porém, no sub-bosque da floresta (sob

baixa irradiância), quanto maior for o tamanho das CG, maior é a g_s . Foi encontrada, neste estudo, uma diferença no déficit de pressão de vapor (DPV) entre as plantas ($P < 0,05$ entre microsítios do sub-bosque) avaliadas neste ambiente, provavelmente devido à variação nos horários de medição (medições realizadas com temperatura e umidade ambiente). Uma variação no *status* hídrico foliar pode ocasionar diminuição da g_s em plantas, devido ao maior controle estomático em função do teor de água foliar, particularmente do potencial hídrico das células-guarda. Por isso, pode ocorrer um maior impacto do DPV na g_s em folhas do dossel, por estarem expostas a maior variação no estado hídrico (Eensalu et al., 2008). Apesar da relação direta entre fotossíntese (A_{max}) e condutância estomática, não houve relação de A_{max} com DE e CG. Este estudo mostra que em condições de sub-bosque, quanto maior o tamanho das células-guarda, maior é a condutância estomática. Porém, quanto a fotossíntese, a luminosidade parece ser o fator preponderante. A variação no tamanho das CG mostra o alto poder adaptativo que os estômatos conferem às plantas na dinâmica de uma floresta tropical.

Além da diferença na densidade estomática entre espécies de um mesmo estrato florestal, houve ainda, diferença estatística entre espécies do mesmo gênero ($P < 0,05$), como ocorreu em *Protium*; assumindo-se que a luminosidade é a mesma para todas as espécies, esses resultados mostram que existem fatores intrínsecos envolvidos no processo da gênese estomática que atuam independentemente das alterações na irradiância, como por exemplo, o próprio genoma da planta (Schluter et al., 2003). Essas diferenças podem corresponder a adaptações selecionadas na planta (Alwerdt et al., 2006), para competir por recursos em decorrência da alta densidade de plantas em áreas caracterizadas como platô na floresta amazônica.

Dessa forma, maior densidade estomática e menor comprimento de CG, podem resultar em vantagens competitivas. Oliveira & Amaral (2004), nessa mesma área de estudo, verificaram que as espécies mais frequentes e mais dominantes (tendo-se como critério o índice de valor de importância, IVI), foram *Protium apiculatum* e *Eschweilera bracteosa*, que são espécies que apresentaram altos valores de densidade estomática no presente estudo. Isto indica que dentre outros fatores como solo e

dispersão de sementes, a maior densidade estomática pode estar relacionada com o melhor desempenho fisiológico das árvores dessas espécies que se destacam por seu grande porte e dominância.

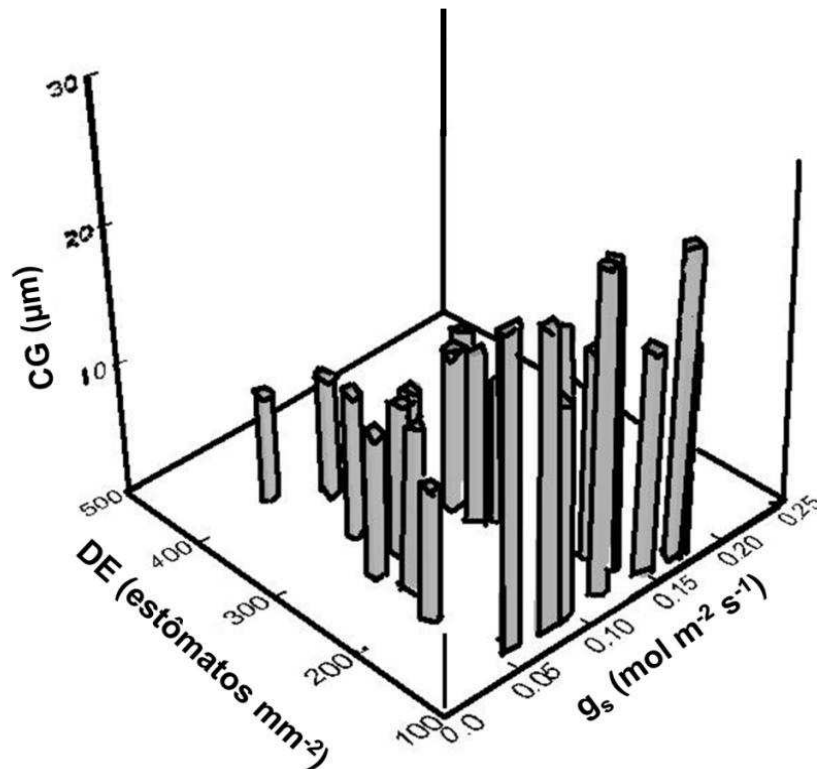


Figura 11 – Relação entre condutância estomática (g_s) e comprimento das células-guarda (CG) e densidade estomática (DE) em arvoretas de espécies florestais crescendo no sub-bosque da floresta. A relação entre g_s e comprimento das CG e DE pode ser descrita pela equação: $g_s = 0,083 + 0,00227CG - 0,000075DE$ ($r^2 = 0,37^{**}$). **, altamente significativo ($P < 0,01$).

A dominância de *Protium* e *Eschweilera*, assim como, de *Pouteria* (Higuchi et al., 1998), pode ser, em parte, relacionada com a plasticidade fenotípica dessas espécies, e, dentre as manifestações do fenótipo, destacamos as características estomáticas. Assim, a relação densidade x comprimento estomático pode significar um processo de otimização da relação CO_2 absorvido / água transpirada e um aumento na velocidade de resposta dos estômatos para melhorar as trocas gasosas sob condições de alta irradiância, seja no dossel, ou sob abertura de clareiras naturais que são muito

comuns na floresta. Porém, neste estudo, estômatos menores que 10 μm , passaram a não responder mais ao aumento da densidade, assim como a densidade não apresentou valores menores do que 60 estômatos mm^{-2} (ver Figura 10), devendo ser este, o limite modulativo destas espécies.

5.3. Área foliar específica e espessura da folha.

Em uma planta, diferentes condições de luminosidade do ambiente, podem ainda, afetar a absorção específica de nitrogênio (quantidade de nitrogênio absorvido por unidade de tempo e unidade de massa da raiz), que está fortemente relacionada com a área foliar específica (AFE) (Osoné et al., 2008). Este trabalho encontrou uma maior AFE em plantas sob condições de sub-bosque do que nas plantas do dossel da floresta (Figura 12). Assim, em espécies florestais, as folhas do dossel da floresta tendem a diminuir sua área foliar específica e aumentar em espessura (Figura 6) com o aumento da exposição ao sol.

A planta tende a reduzir o tamanho de suas folhas (e aumentar a espessura) sob condições de alta luminosidade e, com isso, melhoram-se as trocas de calor com a atmosfera, pois, folhas pequenas possuem menor espessura da camada limítrofe favorecendo as trocas de calor. Por outro lado, conforme foi mostrado neste estudo, folhas de dossel tendem a apresentar maior densidade estomática; o que melhora o controle da transpiração devido a maior velocidade de abertura e fechamento de estômatos menores (Gaba & Black, 1983). Na floresta, o CO_2 oscila em torno de 400-450 $\mu\text{mol mol}^{-1}$ (Araujo et al., 2008) sugerindo que o fator decisivo para determinar AFE e DE é a luminosidade (Lee et al., 2000).

Sabe-se que plantas pioneiras tendem a desenvolver adaptações para se proteger de condições extremas do ambiente, aproveitando melhor os seus recursos (Bazzaz, 1979). Nestas plantas, a AFE é geralmente menor do que em plantas de estágio sucessional avançado (Boeger & Wisniewski, 2003), provavelmente pela relação que existe entre luminosidade e espessura da folha (Thompson et al., 1992). Nas espécies florestais esta relação pode ser bem mais complexa. Dentre estas adaptações podemos citar o aumento da espessura foliar, densidade estomática,

diminuição das dimensões da folha e do conteúdo de nitrogênio (Gaba & Black, 1983; Goulet & Bellefleur, 1986; Sobrado, 2008). Enquanto que, em uma floresta densa, onde os solos são bem drenados estando protegidos da perda de água por evaporação

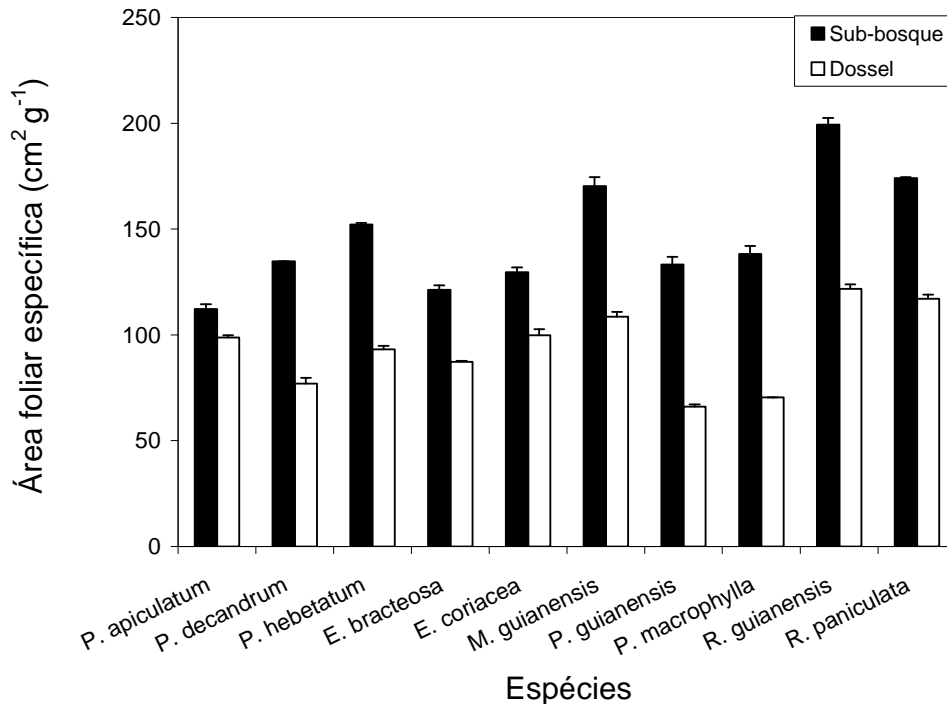


Figura 12 – Variação de AFE entre as dez espécies estudadas, mostrando as diferenças entre plantas do dossel (barras brancas) e do sub-bosque (barras escuras). O ANOVA mostrou diferença significativa ($P < 0,05$) nos valores de AFE entre o dossel e do sub-bosque.

direta, as plantas (mesófitas) podem nunca sofrer estresse hídrico prolongado ou, ainda, *fotoinibição*, porque suas folhas podem estar, tanto expostas ao sol, como também, sob diferentes níveis de sombreamento (Kaiser, 1987; Sobrado, 2008).

Rizzini (1976) definiu que plantas esclerófilas apresentam índice de esclerofilia $IE > 0,6$ e plantas mesófilas apresentam $IE < 0,6$ baseando-se em características que denotam a plasticidade foliar ($IE = m/2 \times AF$ – onde m é a massa e AF corresponde à área foliar). Apesar de todas as plantas, no local desse estudo, serem caracterizadas como mesófilas, o IE foi significativamente diferente entre as folhas do dossel e sub-bosque ($P < 0,01$), sendo menor nas arvores jovens (sub-bosque = $0,02 \pm 0,004$) do que nas copas arbóreas expostas ao sol (dossel = $0,031 \pm$

0,008). Isso evidencia que, em uma floresta primária, mesmo as plantas mesófilas sofrem alterações morfológicas que lhes conferem adaptações às diferentes condições micro-ambientais vigentes. No presente estudo, as folhas apresentaram-se mais espessas, com maior peso seco, maior densidade estomática, menor comprimento das células-guarda e menor AFE no dossel da floresta. Fahn & Cutler (1992) identificam algumas dessas características como estratégias para aumentar a resistência cuticular contra a perda de água.

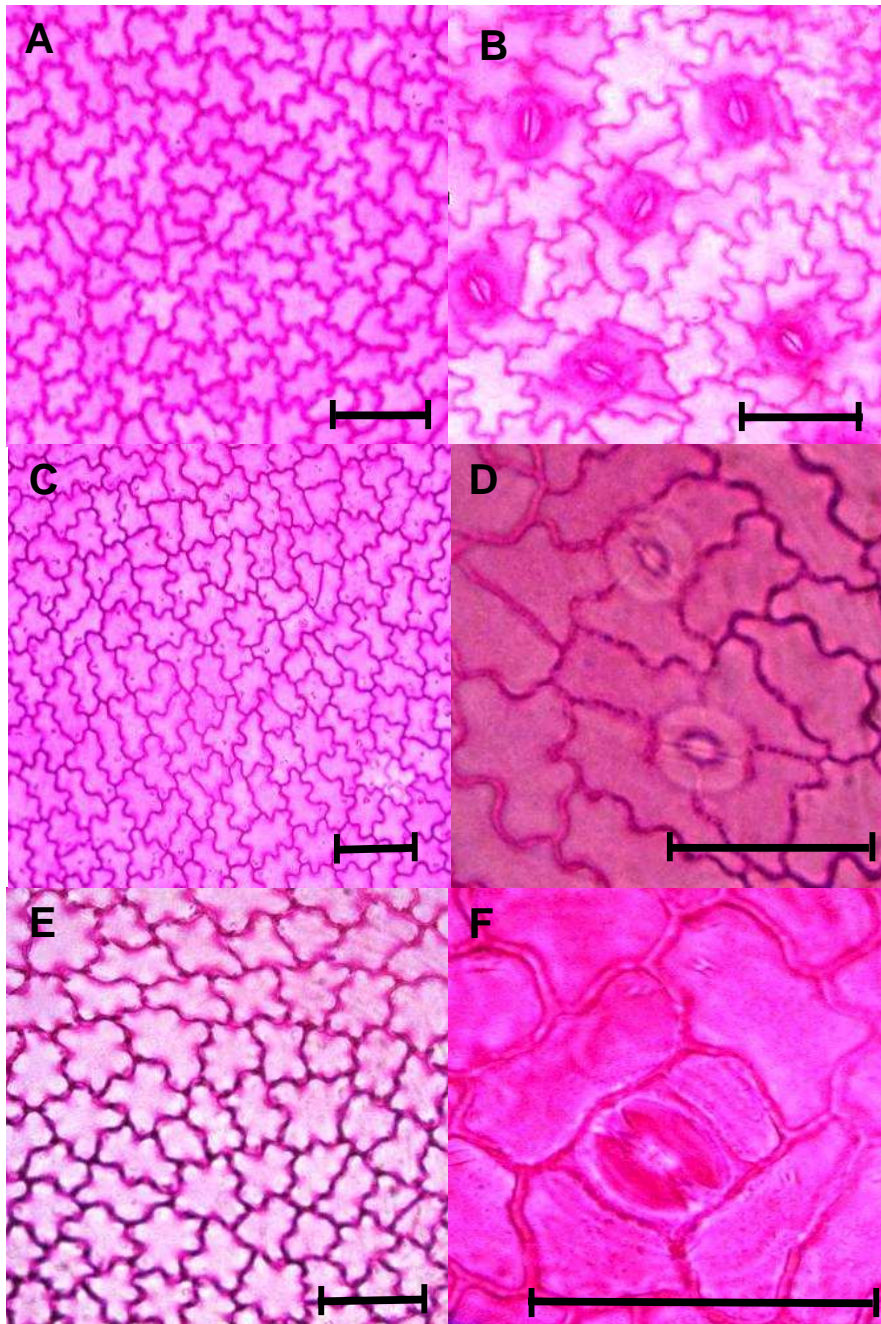
5.4. Relação entre espécies e seus respectivos tipos estomáticos

Dentre as dez espécies estudadas, *Protium apiculatum* e *Protium decandrum* apresentaram o tipo anomocítico (Figura 13 B e D), *P. hebetatum* apresentou um tipo estomático diferente das outras espécies de *Protium* avaliadas, possuindo apenas quatro células adjacentes, duas delas, diferem-se das demais células da epiderme apenas pelo tamanho, enquanto que as outras duas não apresentam diferença. Por esse motivo, o complexo estomático de *P. hebetatum* foi classificado como braquiparacítico (Figura 13 F). *Eschweilera bracteosa* (Figura 15 B e C) e *E. coriacea* (Figura 15 E) apresentaram aparato estomático paracítico. Nesse gênero não houve diferença entre seus aparatos estomáticos. Ambas, *E. bracteosa* e *E. coriacea*, apresentam semelhança ainda, na estrutura das células-guarda que possui uma proeminência central com a mesma profundidade e largura das mesmas (Figura 15 F). A espécie *Minuartia guianensis* (Figura 14 F) possui estômatos do tipo paracítico com um anel duplo de quatro células envolvendo que, segundo Dilcher (1974), caracteriza-o como antifiparacítico. *Pouteria macrophylla* (Figura 14 B), *P. guianensis* (Figura 14 D) e as espécies do gênero *Rinorea* (Figura 16 B e D) apresentaram estômatos do tipo anisocítico. A espécie *Pouteria macrophylla* apresentou variações no seu tipo de complexo estomático, podendo aparecer os tipos pericítico, anisocítico, laterocíticos 2 + 2 e raramente ciclocítico. As paredes anticlinais e tangenciais que estão presentes nas células subsidiárias desta espécie são mais lineares e suaves do que nas células epidérmicas, aparentando uma ontogenia derivada de divisões nas células que ficam em contato com o estômato. Em alguns casos, as divisões celulares deixam traços

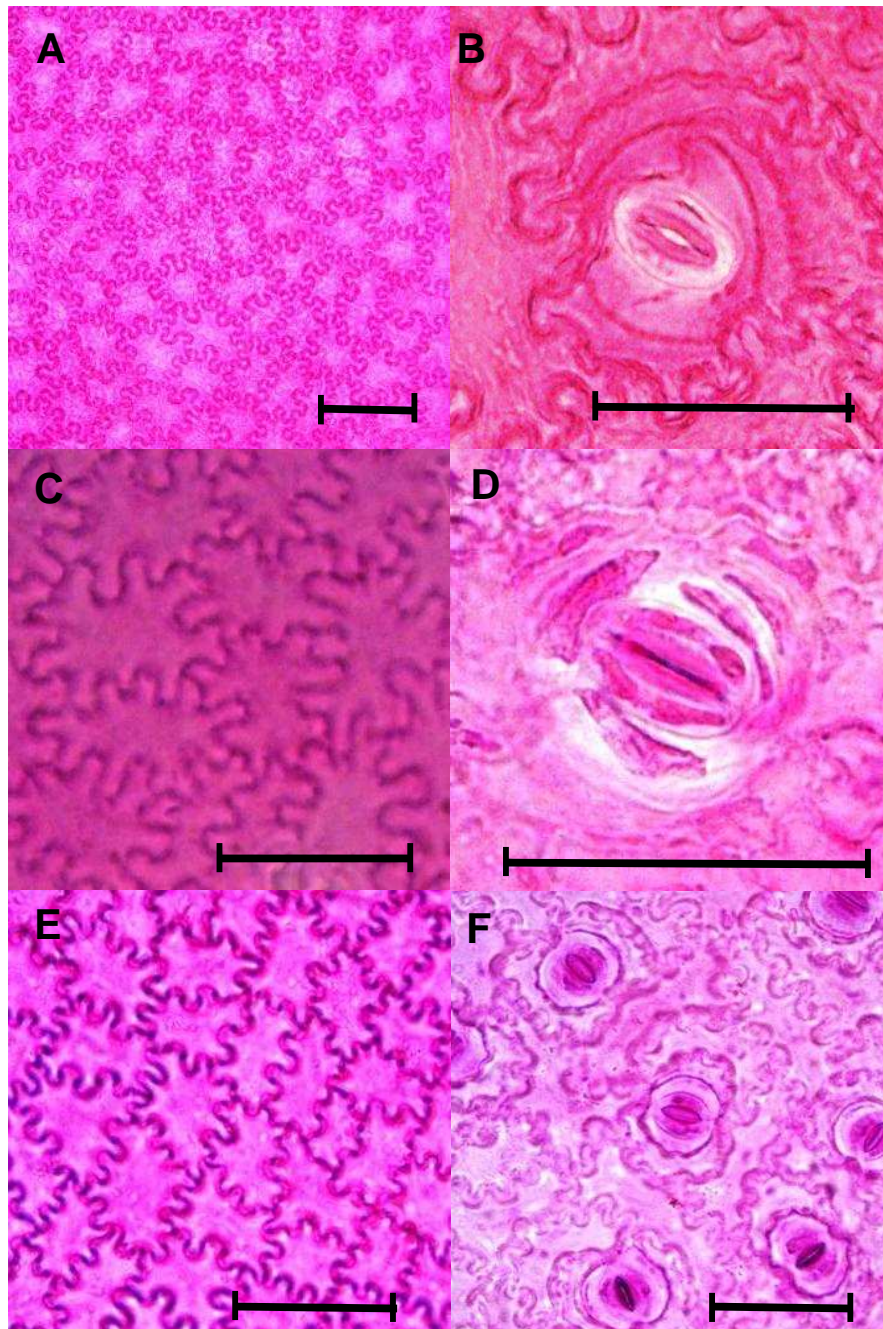
semelhantes a espiral, podendo até mesmo formar um círculo em volta do estômato (aparência pericítica), porém existe uma predominância do tipo anisocítico nas plantas avaliadas. *Pouteria guianensis* claramente apresentou tipo anisocítico com folhas homoestomáticas. Os complexos estomáticos de *Rinorea guianensis* e *R. paniculata*, foram do tipo anisocíticos, sendo as duas espécies homoestomáticas. Entretanto, *Rinorea paniculata* pode apresentar complexo estomático frequentemente anfianisocíticos, ou seja, com um segundo anel envolvendo as três células em contato com o estômato, este, podendo ser incompleto (Dilcher, 1974).

5.5. Valor taxonômico dos tipos estomáticos.

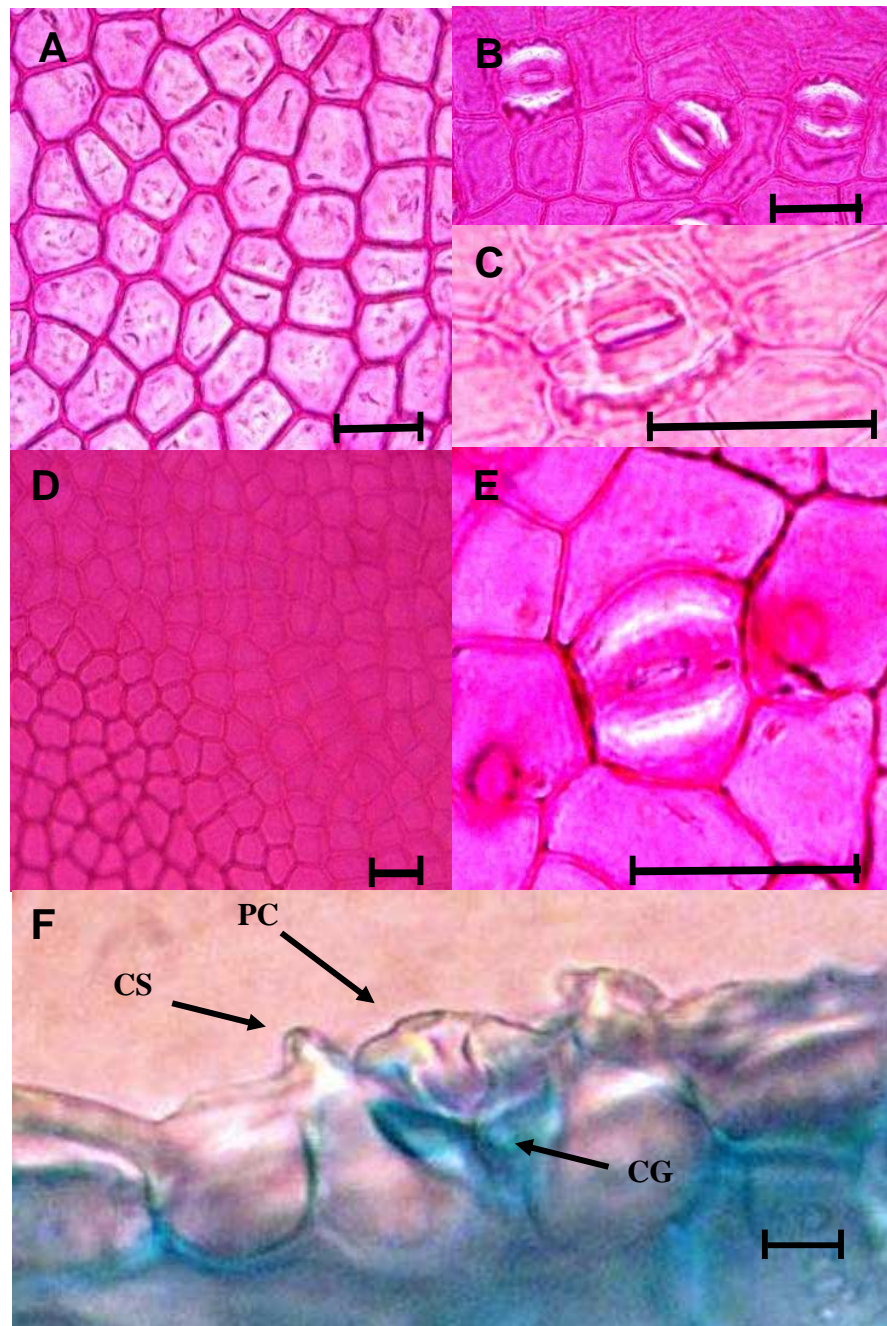
Diversos autores verificaram instabilidade na organização do complexo estomático obtendo para um único táxon, dois ou vários tipos estomáticos (Metcalf & Chalk, 1950; Raju & Rao, 1977; Baranova, 1986). Mesmo para uma única espécie, podem ocorrer vários tipos estomáticos, conforme foi observado em *Piper betle* L., na qual houve uma predominância de estômatos tetracíticos, com uma pequena porcentagem (10%) de anisocíticos e 20% de estômatos rodeados por mais de cinco células concêntricas (Pant & Banerji, 1965). Também existem relatos de variações nos tipos estomáticos em uma única folha (Baas & Kool, 1983; Van Welzen & Baas, 1984). O fato de existirem folhas heteroestomáticas é usado como argumento para diminuir o valor taxonômico do complexo estomático (Timonin, 1986). Porém, no presente trabalho, verificou-se uma predominância de folhas homoestomáticas. Das espécies estudadas, 90% apresentaram um único tipo de complexo estomático em suas folhas. Os complexos estomáticos de *Protium apiculatum* e *P. decandrum*, podem ser usados, futuramente, para diferenciar estas duas espécies, visto a complexidade taxonômica deste gênero. Devido às células adjacentes não se destacarem das demais células da epiderme, o complexo estomático de *P. apiculatum* e *P. decandrum* foi considerado anomocítico. A homogeneidade intra-específica de aparatos estomáticos serve de argumento para evidenciar a importância deste caractere para taxonomia de algumas espécies da Amazônia.



Figuras 13. Fotomicrografia de folhas de *Protium apiculatum* Swart (A e B), *P. decandrum* (Aulb.) March (C e D) e *P. hebetatum* Daly (E e F). Face adaxial (A, C e E) e abaxial (B, D e F). As barras correspondem a 40 μm . Imagens dos painéis A-F foram obtidas de folhas do sub-bosque.



Figuras 14. Fotomicrografia da face adaxial (A, C e E) e abaxial (B, D e F) de folhas de *Pouteria macrophylla* (A e B), *P. guianensis* (C e D) e *Miquartia guianensis* (E e F). As barras correspondem a 40 µm. Imagens dos painéis A-F foram obtidas de folhas do sub-bosque.



Figuras 15. . Fotomicrografia da face adaxial (A e D) e abaxial (B, C e E) de folhas de *Eschweilera bracteosa* (A, B e C) e *E. coriacea* (D e E). Corte transversal do estômato de *E. coriacea*. PC, proeminência central das células-guarda; CG, células-guarda; CS, células subsidiárias. As barras em A, B, C, D e E correspondem a 20 μm . Em F: Barra = 5 μm . Imagens dos painéis A-F foram obtidas de folhas do sub-bosque.

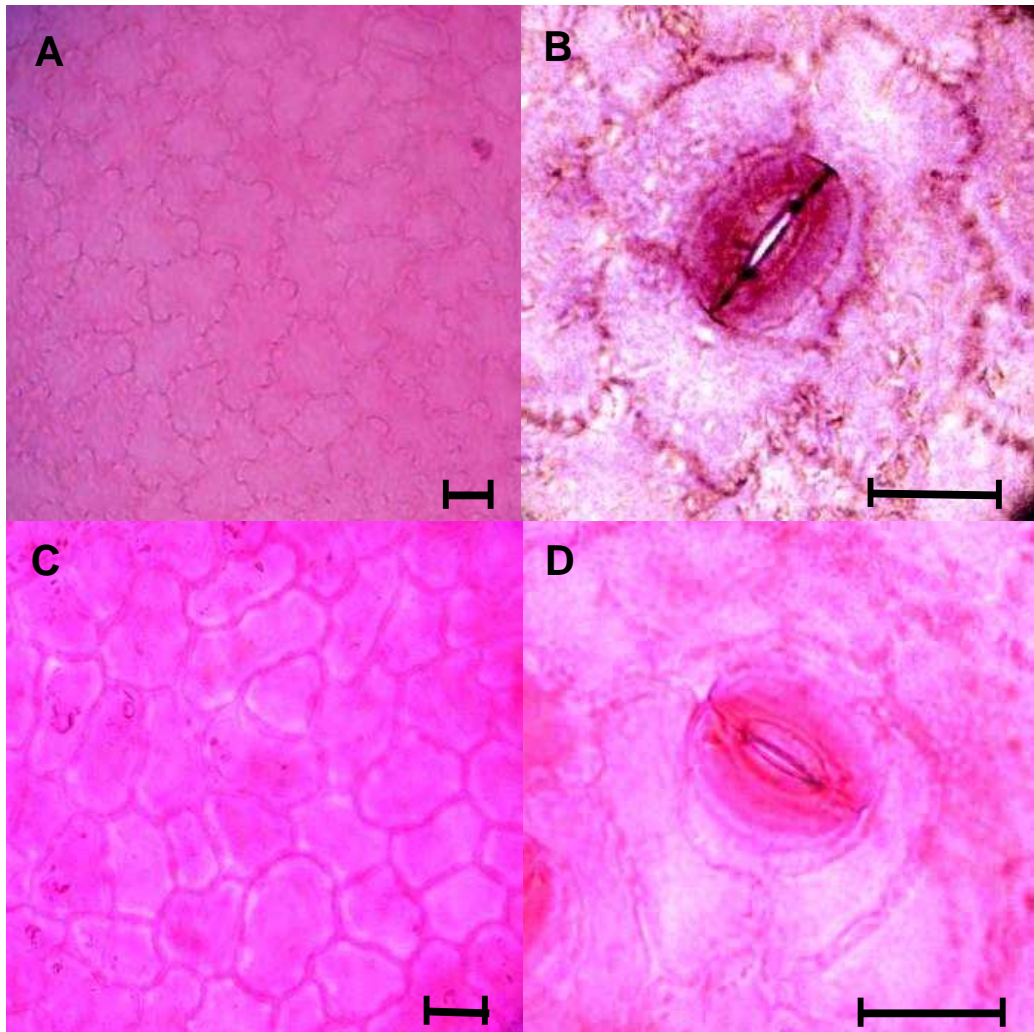


Figura 16. Fotomicrografia da face adaxial (A e C) e abaxial (B e D) de folhas de *Rinorea guianensis* (A e B) e *R. paniculata* (C e D). As barras correspondem a 20 μm . Imagens dos painéis A-D foram obtidas de folhas do sub-bosque.

6. CONCLUSÕES

A densidade estomática e o tamanho estomático variam segundo o estrato da floresta (sub-bosque ou dossel da floresta). As características estomáticas e o grau de plasticidade adaptativa demonstram que *Protium apiculatum*, *P. decandrum* e *P. hebetatum* são espécies com alto potencial para serem pesquisadas para o uso na recuperação de áreas degradadas ou plantios comerciais. As espécies *Pouteria guianensis* e *Pouteria macrophylla*, apresentaram um alto potencial modulativo (plasticidade fenotípica) entre dossel e sub-bosque. *Rinorea guianensis* e *R. paniculata* apresentarem folhas com baixas DE e estômatos maiores dentre todas as espécies avaliadas, demonstrando serem espécies com maior plasticidade fenotípica, quanto ao comprimento de suas células-guarda, sendo a redução de CG, sua principal adaptação (dentre as variáveis estudadas) para as condições de dossel

Em todas as espécies, a irradiância aumentou a densidade estomática indicando adaptação das plantas durante seu crescimento e desenvolvimento em ambiente natural. Da mesma forma, valores elevados de condutância estomática foram relacionados com maiores comprimentos das células-guarda.

Entre espécies, o menor tamanho estomático é compensado pelo aumento da DE, proporcionando um maior controle estomático para perda de água, pois estômatos menores, respondem com maior rapidez as condições ambientais adversas.

Mesmo havendo um aumento significativo da espessura foliar, a distribuição anfiestomática não ocorreu nem no sub-bosque e nem no dossel da floresta, evidenciando que o fato das folhas serem anfiestomática, epiestomáticas ou hipoestomáticas está mais relacionado a mecanismos adaptativos de longo prazo (adaptação evolutiva) do que a mudanças ambientais que ocorre ao longo da vida do indivíduo – como a aclimação ao ambiente físico.

Finalmente, houve a predominância de estômatos anisocíticos neste estudo, encontrados em *Pouteria guianensis*, *P. macrophylla*, *Rinorea guianensis* e *Rinorea paniculata*. Estômatos anomocíticos foram encontrados apenas em *P. apiculatum* e *P.*

hebetatum. Parásitos foram encontrados em *Mimosa guianensis*, *E. bracteosa* e *E. paniculata*. Desta forma, todas as espécies estudadas, exceto *Pouteria macrophylla*, apresentaram folhas visivelmente homioestomáticas demonstrando que esta característica pode possuir um alto valor taxonômico para diversas árvores da Amazônia.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aasamaa, K., Sober, A.; Rahi, M. 2001. Leaf anatomical characteristics associated with shoot hydraulic conductance, stomatal conductance and stomatal sensitivity to changes of leaf water status in temperate deciduous trees. *Australian Journal Plant Physiology*, 28: 765–774.
- Abrams, M.D. & Kubske, M.E. 1990. Leaf structural characteristic of 31 hardwood and conifer tree species in central Wisconsin: Influence of light regime and shade-tolerance rank. *Forest Ecology and Management*, 31: 245-253.
- Al Afas, N.; Marron, N.; Ceulemans, R. 2006. Clonal variation in stomatal characteristics related to biomass production of 12 Poplar (*Populus*) clones in a short rotation coppice culture. *Environmental and Experimental Botany*, 58: 279–286.
- Alwerdt, J.L.; Gibson, D.J.; Ebbs, S.D.; Wood, A.J. 2006. Intraspecific interactions in *Arabidopsis thaliana* and the stomatal mutants *tmm 1 – 1* and *sdd 1 – 2*. *Biologia Plantarum*, 50: 205–209.
- Araújo, A.C.; et al. 2008. Nocturnal accumulation of CO₂ underneath a tropical forest canopy along a topographical gradient. *Ecological Applications*, 18: 1406–1419
- Baas, P. & Kool, R. 1983. Comparative leaf anatomy of *Heisteria* (Olacaceae). *Blumea*, 28: 367-388.
- Bakker, J.C. 1991. Effects of humidity on stomatal density and its relation to leaf conductance. *Scientia Horticulturae*, 48: 205–212.
- Baranova, M. 1986. Comparative stomatographic investigations in the family Chloranthaceae. Pages 12-19 *In: Problems of paleobotany*. Soviet Sciences Press, Leningrad. (in Russian)
- Baranova, M.A. 1987. Historical development of the present classification of morphological types of stomates. *Botanical Review* 53: 53–79.
- Baranova, M.A. 1992. Principles of comparative stomatographic studies of flowering plants. *Botanical Review*, 58: 49–99.
- Bazzaz, F.C. 1979. The physiological ecology in plant succession. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 10: 351-371.
- Beerling, D.J. & Woodward, F.I. 1997. Changes in land plant function over the phanerozoic: reconstructions based on the fossil record. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 124: 137–153.

- Berger, D. & Altmann, T. 2000. A subtilisin-like serine protease involved in the regulation of stomatal density and distribution in *Arabidopsis thaliana*. *Genes & Development*, 14: 1119–1131.
- Boardman, N.K. 1977. Comparative photosynthesis of sun and shade plants. *Annual Review. Plant Physiology*, 28: 355-377.
- Boeger, M.R.T. & Wisniewski, C. 2003. Comparação da morfologia foliar de espécies arbóreas de três estádios sucessionais distintos de floresta ombrófila densa (Floresta Atlântica) no Sul do Brasil. *Revista Brasileira Botânica*, 26: 61-72.
- Bussis, D.; Von Groll, U.; Fisahn, J.; Altman, T. 2006. Stomatal aperture can compensate altered stomatal density in *Arabidopsis thaliana* at growth light conditions. *Functional Plant Biology*, 33: 1037–1043.
- Campbel, G.S. & Norman, J.M. 1998. An introduction to environmental biophysics. Springer, New York.
- Carpenter K.J. 2005. Stomatal architecture and evolution in basal angiosperms. *American Journal of Botany*, 92: 1595–1615.
- Ceulemans, R.; Vanpraet, L.; Jiang, X. N. 1995. Effects of CO₂ enrichment, leaf position and clone on stomatal index and epidermal-cell density in Poplar (*Populus*). *New Phytologist*, 131: 99-107.
- Chauvel, A. 1982. Os latossolos amarelos, álicos, argilosos, dentro dos ecossistemas das bacias experimentais do INPA e da região vizinha. *Acta Amazonica*, 12: 47–60.
- Clark, D.A.; Brown, S.; Kicklighter, D.W.; Chambers, J. Q.; Thomlinson, J.R.; Ni, J.; Holland, E.A. 2001. Net Primary production in tropical forests: An evaluation and synthesis of existing field data. *Ecological Applications*, 11: 371-384.
- Claussen, J.W. 1996. Acclimation abilities of three tropical rainforest seedlings to an increase in light intensity. *Forest Ecology and Management*, 80: 245-255.
- Cramer, W. et al. 2001. Global response of terrestrial ecosystem structure and function to CO₂ and climate change: results from six dynamic global vegetation models. *Global Change Biology*, 7: 357–373.
- Croxdale, J.L. 2000. Stomatal patterning in angiosperms. *American Journal of Botany*, 87: 1069-1080.
- Dilcher, D.L. 1974 Approaches to the identification of angiosperm leaves. *Botanical Review*, 40: 1-157.
- Dong, X.J. & Zhang, X.S. 2000. Special stomatal distribution in *Sabina vulgaris* in relation to its survival in a desert environment. *Trees*, 14: 369-375.

Eensalu E.; Kupper P.; Sellin A.; Rahi M.; Söber A.; Kull O. 2008 Do stomata operate at the same relative opening range along a canopy profile of *Betula pendula*?. *Functional Plant Biology*, 35: 103–110.

Esau, K. 1960, *Anatomy of seed plants*. John Willey & Sons: New York, 376 p.

Fahn, A. & Cutler, D. 1992. Xerophytes. Gebrüder Borntraeger, Berlin.

Farquhar G.D.; von Caemmerer S.; Berry J.A. 1980. A biochemical model of photosynthetic CO₂ assimilation in leaves of C₃ species. *Planta*, 149: 78-90.

Fearnside, P.M. 1995. Potential impacts of climatic change on natural forests and forestry in Brazilian Amazonia. *Forest Ecology & Management*, 78: 51-70.

Ferraz, J.; Ohta, S.; Salles, P.C. 1998. Distribuição dos Solos ao Longo de Dois Transectos em Floresta Primária ao Norte de Manaus (AM). In: *Pesquisas Florestais para Conservação da Floresta e Reabilitação de Áreas Degradadas da Amazônia*. N. Higuchi, M.A.A. Campos, P.T.B. Sampaio e J. dos Santos (editores). pp.111-143.

Ferris, R.; Taylor, G. 1994. Stomatal characteristics of four native herbs following exposure to elevated CO₂. *Annals of Botany*, 73: 447-453.

Gaba, V. & Black, M. 1983. The control of cell growth by light. In: W Shropshire, H Mohr, eds, *Encyclopedia of Plant Physiology*, Vol 16A. Springer Verlag, New York, pp 358-400.

Gay, A.P. & Hurd, R.G. 1975. The influence of light on stomatal density in the tomato. *New Phytologist*, 75: 37-46.

Gindel, I. 1969. Stomata constellation in leaves of cotton, maize and wheat plants as a function of soil moisture and environment. *Physiologia Plantarum*, 22: 1143-1151.

Gomes, I.A.C. et al. 2008. Alterações morfofisiológicas em folhas de *Coffea arabica* L. cv. "Oeiras" sob influência do sombreamento por *Acacia mangium* Willd. *Ciência Rural*, 38: 109-115.

Gomez J.B. & Hamzah, S.B. 1980. Variations in leaf morphology and anatomy between clones of *Havea*. *Journal of the Research Institute of Malaysia*, 28: 157-172.

Goulet, F. & Bellefleur, P. 1986. Leaf morphology plasticity in response to light environment in deciduous tree species and its implication on forest succession. *Can. Journal Forest Research*, 16: 1192-1195.

Grantz, D.A. & Assmann, S.M. 1991. Stomatal response to blue-light—water-use efficiency in sugarcane and soybean. *Plant, Cell and Environment*, 14: 683–690.

- Hetherington, A.M. & Woodward, F.I. 2003. The role of stomata in sensing and driving environmental change. *Nature*, 424: 901-908.
- Higuchi, N.; Santos, J. dos; Vieira, G.; Ribeiro, R.J.; Sakurai, S.; Ishizuka, M.; Sakai, T.; Tanaka, N.; Saito, S. 1998. Análise estrutural da floresta primária da Bacia do Rio Cuieiras, ZF-2, Manaus -AM, Brasil. In: *Pesquisas Florestais para Conservação da Floresta e Reabilitação de Áreas Degradadas da Amazônia*. N. Higuchi, M.A.A. Campos, P.T.B. Sampaio e J. dos Santos (editores). pp.51-81.
- Hill, R.S. (ed.) History of the Australian Vegetation (Cambridge Univ. Press, Cambridge, 1994).
- Jackson, R.B. et al. 2001. Water in a changing world. *Ecological Applications*. 11: 1027–1045.
- Kaiser, W.M. 1987. Effect of water deficit on photosynthetic capacity. *Physiologia Plantarum*, 71: 142-149.
- Kramer, P.J. 1969. *Plant and soil water relationships: A modern synthesis*. McGraw-Hill, New York.
- Kraus, J.E. & Arduin, M. Manual básico de métodos em morfologia vegetal – Seropédica, RJ: EDUR, 1997.
- Lee, D.W. Baskaran, K. Mansor, M. Mohamad, H. and Yap, S. K. 1997. Effects of light intensity and spectral quality on seedling development of two Southeast Asian *Hopea* species. *Oecologia*, 110: 1–9.
- Lee, D.W.; Oberbauer, S.F.; Johnson, P. Krishnapilay, B.; Mansor, M.; Mohamad, H.; Yap S. K. 2000. Effects of irradiance and spectral quality on leaf structure and function in seedlings of two southeast asian *Hopea* (Dipterocarpaceae) species. *American Journal of Botany* 87: 447–455.
- Lewis, S.L.; Malhi, Y.; Phillips, O. L. 2004. Fingerprinting the impacts of global change on tropical forests: Philosophical transactions of the Royal Society of London – B, 359: 437- 462.
- Luckheart, M.J.; Poole, I.; van Bergen, P.F.; Evershed, R.P. 1998. Leaf carbon isotope compositions and stomatal characters: important considerations for paleoclimate reconstructions. *Organic Geochemistry*, 29: 1003-1008.
- Maherali, H.; Reid, C.D.; Polley, H.W.; Johnson, H.B.; Jackson, R.B. 2002. Stomatal acclimation over a subambient to elevated CO₂ gradient in a C₃/C₄ grassland. *Plant Cell and Environment*, 25: 557-566.
- Malhi, Y.; Meir, P.; Brown, S. 2002. Forests, carbon and global climate. *Philosophical Transaction of the Royal Society of London – B*, 360: 1567-1591.

Marenco, R.A.; Neves, T.S.; Camargo, M.A.B.; Dias, D.P.; Costa, G.F. e Rodrigues, J.C. 2007. Fotoinibição dinâmica da fotossíntese em árvores de dossel da Amazônia Central. *Revista Brasileira de Biociências*, 5: 150-152.

Marenco, R.A.; Vieira, G. 2005. Specific leaf area and photosynthetic parameters of tree species in the Forest understorey as a function of the microsite light environment in central Amazônia. *Journal of Tropical Forest Science*, 18: 121-126.

McWilliam, A.L.C., Roberts, J.M., Cabral, O.M.R., Leitão, M.V.B.R., Costa, A.C.L. Maitelli, G.T., Zamparoni, C.A.G.P. 1993. Leaf area index and above ground biomass of terra firme rain forest and adjacent clearings in Amazonia. *Functional Ecology*, 7: 310-317.

Metcalf, C.R., & Chalk, L. 1950. Anatomy of the dicotyledons, 2. vols. Clarendon Press, Oxford, UK.

Moot, K.A. Gibson, A.C, O'leary JW. 1982. The adaptive significance of amphistomatic leaves. *Plant Cell Environment*, 5: 455-460.

Napp-zinn, K. 1988. Anatomie der Blattes. Gerbrudes Borntraeger, Berlin, 2: 764 p.

Nejad, A.R.; Van Meeteren, U. 2005. Stomatal response characteristics of *Tradescantia virginiana* grown at high relative air humidity. *Physiologia Plantarum*, 125: 324-332.

Niinemets, U. et al. 1998. An analysis of light effects on foliar morphology, physiology, and light interception in temperate deciduous woody species of contrasting shade tolerance. *Tree Physiology*, 18: 681-696.

North, C.A. 1956. Technique for measuring structural features of plant epidermis using cellulose acetate films. *Nature*, 178: 1186–1187.

Ohsumi, A.; Kanemura, T.; Homma, K.; Horie, T.; Shiraiwa, T. 2007. Genotypic variation of stomatal conductance in relation to stomatal density and length in rice (*Oryza sativa* L.). *Plant Production Science*, 10: 322-328.

Oliveira, A.N. & Amaral, L.L. 2004. Florística e fitossociologia de uma floresta de vertente na Amazônia Central, Amazonas, Brasil. *Acta Amazônica*, 34: 21- 34.

Osone, Y. Ishida, A.; Tateno, M. 2008. Correlation between relative growth rate and specific leaf area requires associations of specific leaf area with nitrogen absorption rate of roots. *New Phytologist* 179: 417–427.

Osunkoya. O. A.; Ash, J. E. 1991. Acclimation to a change in light regime in seedlings of six Australian rainforest tree species. *Australian Journal of Botany*, 39: 591-605.

- Pant, D.D. 1965. On the ontogeny of stomata and other homologous structures. *Plant Sciences Series (Allahabad)* 1: 1–24.
- Pant, D.D. & Benerji, R. 1965. Structure and ontogeny of stomata in some Piperaceae. *Journal of the Linnean Society, Botany*. 59: 223-228.
- Parkhurst, D.F. 1978. The adaptive significance of stomatal occurrence on one or both surfaces of leaves. *Journal of ecology*, 66: 367-383.
- Phillips, O.L. et al. 2009. Drought sensitivity of the Amazon rainforest. *Science*, 323: 1344 – 1347
- Pridgeon A.M. 1994. Systematic leaf anatomy of caladeniinae (Orchidaceae). *Botanical Journal of the Linnean Society*, 114: 31–48.
- Pyykko, M. 1966. The leaf anatomy of East Patagonian xeromorphic plants. *Annales botanici Fennici*, 3: 453-622.
- Quarrie, S.A.; Jones, H.G. 1977. Effects of abscisic acid and water stress on development and morphology of wheat. *Journal of Experimental Botany*, 28: 192-203.
- Radam-Brasil. 1978. Programa de Integração Nacional. Levantamento de Recursos Naturais. V. 18 (Manaus) - RADAM (projeto) DNPM, Ministério das Minas e Energia. Brasil. 626p.
- Raju, V.S. & Rao P.N. 1977. Variations in the structure and development of foliar stomata in the Euphorbiaceae. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 75: 69-97.
- Ribeiro, J.E.L.S, Hopkins, M.J.G.; Vicentini, A.; Sothers, C.A.; Costa, M.A.S.; Brito, J.M.; Souza, M.A.D.; Martins, L.H.P.; Lohmann, L.G.; Assunção, P.A.C.L.; Pereira, E.C.; Silva, C.F.; Mesquita, M.R.; Procópio, L.C. 1999. *Flora da Reserva Ducke. Guia de Identificação das Plantas Vasculares de uma Floresta de Terra-firme na Amazônia Central*, Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Manaus, 793pp.
- Rizzini, C.T. 1976. Tratado de fitogeografia do Brasil. v.1. Edusp/Hucitec, São Paulo.
- Salati, E. 1983. O clima atual dependeu da floresta. In Salati, E. (Ed.). *Amazônia: desenvolvimento, integração e ecologia*. Brasiliense, São Paulo. Pp. 15 – 44.
- Salisbury, E.J. 1927. On the causes and ecological significance of stomatal frequency, with special reference to the woodland flora. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London*, 216: 1-65.
- Salisbury, F. B.; Ross, C. W. 1992. *Plant physiology*. [s.1.], Wadsworth Pub. 682p.

- Schluter, U.; Muschak, M.; Berger, D.; Altmann, T. 2003. Photosynthetic performance of an *Arabidopsis* mutant with elevated stomatal density (sdd1-1) under different light regimes. *Journal of Experimental Botany*, 54: 867-874.
- Shields, L.M. 1950. Leaf xeromorphy as related to physiological and structural influences. *Botanical Review*, 16: 399-477.
- Silva, L.C.; Costa J.T.A.; Alves, J.F. 1989. Densidade e distribuição dos estômatos em folhas de *Gossypium* sp. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 24: 835 – 839.
- Soares Filho, B.S. et al. 2006. Modelling conservation in the Amazon basin. *Nature*, 440: 520-523.
- Sobrado, M.A. 2008. Leaf and photosynthetic characteristics of pioneer and forest species in tropical montane habitats. *Photosynthetica*, 46: 604-610.
- Stace, C.A. 1965. Cuticular studies as an aid to plant taxonomy. *Bulletin of the British Museum (Natural History) Botany*, 4: 3–78.
- Tanner, E.V.J. & Kapos, V. 1982. Leaf structure of Jamaican upper montane rain-forest trees. *Biotropica*, 14: 16-24.
- Tari, I. 2003. Abaxial and adaxial stomatal density, stomatal conductances and water status of bean primary leaves as affected by paclobutrazol. *Biologia Plantarum*, 47: 215–220.
- Thompson W.A., P. E. Kriedemann, and Craig I. E. 1992. Photosynthetic response to light and nutrients in sun-tolerant and shade tolerant rainforest trees. I. Growth, leaf anatomy and nutrient content. *Australian Journal of Plant Physiology* 19: 1–18.
- Timonin, A.K. 1986. On the taxonomic value of stomatal characteristics and evolution of the stomatal complexes in flowering plants. *Bjull. Moscovsk. Obshech. Isp. Prir., Otd. Biol.* 91: 72–81. (in Russian)
- Tricker, P.J. et al. 2005. Stomatal conductance and not stomatal density determines the long-term reduction in leaf transpiration of *Poplar* in elevated CO₂. *Oecologia*, 143: 652-660.
- Van Cotthem, W.R.J. 1970. A classification of stomatal types. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 63: 235–246.
- Van Welzen, P.C. & Baas. 1984. A leaf anatomical contribution to the classification of the Linaceae complex. *Blumea*, 29: 453-479.

- Voleníková, M. & Tichá, I. 2001. Insertion profiles in stomatal density and sizes in *Nicotiana tabacum* L. plantlets. *Biologia Plantarum*, 44: 161–165.
- Wilkinson, H.P. 1979. The plant surface (mainly leaf). In C. R. Metcalfe and L. Chalk [eds.], *Anatomy of the dicotyledons*, 2nd ed., vol. 1, 97– 165. Clarendon Press, Oxford, UK.
- Witkowski, E.T.F., Lamont, B.B. 1991. Leaf specific mass confounds leaf density and thickness. *Oecologia*, 88: 486-493.
- Wong S.C, Cowan I.R, Farquhar G.D. 1979. Stomatal conductance correlates with photosynthesis. *Nature*, 282:424-426.
- Wood, J.G. 1934. The physiology of xerophytism in Australian plants. The stomatal frequencies, transpiration and osmotic pressures of sclerophyll and tomentose-succulent leaves plants. *Journal of Ecology*. 22: 69-85.
- Woodward, F.I. 1987. Stomatal numbers are sensitive to Increases in CO₂ from preindustrial Levels. *Nature*, 327: 617-618.
- Woodward, F.I.; Kelly, C.K. 1995. The influence of CO₂ concentration on stomatal density. *New Phytologist*, 131: 311-327.
- Woodward, F.I.; Lake, J.A.; Quick, W.P. 2002. Stomatal development and CO₂: ecological consequences. *New Phytologist*, 153: 477-484.
- Xu, Z. & Zhou, G. 2008. Responses of leaf stomatal density to water status and its relationship with photosynthesis in a grass. *Journal of Experimental Botany*, 59: 3317–3325.
- Young D.R. & Smith W.K. 1980. Influence of sunlight on photosynthesis, water relations, and leaf thickness in the understory species *Arnica cordifolia*. *Ecology*, 61: 1380-1390.