



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA VEGETAL

ESTUDO COMPARATIVO DO COMPORTAMENTO ESTOMÁTICO EM
DUAS ESPÉCIES DO CERRADO: **QUALEA GRANDIFLORA** MART. E
RAPANEA GUIANENSIS AUBL.

Joana Regina Cavalcanti Novaes

Dissertação apresentada ao Departamento
de Biologia Vegetal, da Universidade de
Brasília, como requisito parcial à obtenção
do Grau de Mestre em Ecologia.

ERRATA

Onde se lê:	Leia-se:
pág. 4/3ºpará. : "deram resultados conclusivos" "não deram resultados conclusivos" ..
pág. 6/2ºpará. : (Vochisianaceae)	(Vochysiaceae)
pág. 8/2ºpará. : "e a irregularidade" "e a estacionalidade" ..
pág. 10/5ºpará. : "mantinha-se quase constante" "mantinha-se quase regular" ..
pág. 14/1ºpará. : "modelo de Kanemasu et al. (1969)" "modelo de Kanemasu et al. (1969), com modificações" ..
pág. 16/5ºpará. : "resistência esto- mática" "resistência foliar" ..
pág. 25/3ºpará. : "um espectrofotô- metro de chama" "a técnica de absorção atômica" ..
pág. 74-- "Labouriau, L.F.G., ..., Coara- ci, M." ..	"Labouriau, L.F.G., ..., Fran- co, C. M." ..



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA VEGETAL

ESTUDO COMPARATIVO DO COMPORTAMENTO ESTOMÁTICO EM
DUAS ESPÉCIES DO CERRADO: **QUALEA GRANDIFLORA** MART. E
RAPANEA GUIANENSIS AUBL.

Joana Regina Cavalcanti Novaes

Dissertação apresentada ao Departamento
de Biologia Vegetal, da Universidade de
Brasília, como requisito parcial à obtenção
do Grau de Mestre em Ecologia.

Trabalho realizado junto ao Departamento de Bio
logia Vegetal, do Instituto de Ciências Biológicas da Universi
dade de Brasília, sob a orientação da Professora Linda Styer '
Caldas, com o suporte da Financiadora de Estudos e Projetos da
do ao Programa de Ecologia através de Convênios FUB-FINEP.

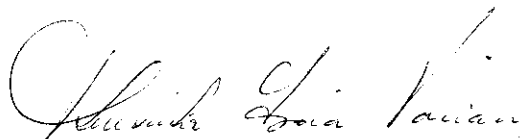
Aprovado por:



Profa. Dra. Linda Styer Caldas
(Orientadora)



Prof. Dr. Colin Edward Johnson
(Membro da Banca Examinadora)



Profa. Dra. Therezinha Isaia Paviani
(Membro da Banca Examinadora)

Aos meus pais,

Ao Celso

À Linda,

com gratidão

ÍNDICE GERAL

	Página
AGRADECIMENTOS	i
LISTA DE FIGURAS	iii
LISTA DE GRÁFICOS	v
LISTA DE TABELAS	vii
RESUMO	viii
SUMMARY	x
1. INTRODUÇÃO	
1.1. Aspectos Gerais	1
1.2. Objetivo do Trabalho	6
1.3. Escolha das Espécies	6
2. ÁREA DE ESTUDOS	7
3. MATERIAL E MÉTODOS	
3.1. Considerações Gerais	10
3.2. Anatomia Foliar	11
3.2.1. Cortes Transversais	11
3.2.2. Número, Dimensão e Classificação dos Estôma tos.	12
3.3. Técnicas Aplicadas	13
3.3.1. Infiltração	13
3.3.2. Porometria	14
3.3.3. Microscopia Eletrônica de Varredura	18
3.4. Fatores Estudados	20
3.4.1. Ácido Abscísico Exógeno	20
3.4.2. Dióxido de Carbono	22
3.4.3. Déficit Hídrico	22
3.4.4. Intensidade de Luz	23
3.4.5. Análise de Nutrientes	24
3.4.6. Fungos	25
4. RESULTADOS	
4.1. Comparação entre Técnicas	27
4.2. Descrição Anatômica	29

4.2.1. <i>Qualea grandiflora</i>	29
4.2.2. <i>Rapanea guianensis</i>	36
4.3. Fatores Estudados	39
4.3.1. Ácido Abscísico Exógeno	39
4.3.2. Dióxido de Carbono	43
4.3.3. Déficit Hídrico	44
4.3.4. Intensidade de Luz	50
4.3.5. Análise de Nutrientes	54
4.3.6. Fungos	60
5. DISCUSSÃO	
5.1. Comparação entre Técnicas para Medidas da Resistência Estomática	61
5.2. Comparação da Anatomia Foliar das Duas Espécies	62
5.3. Fatores Estudados	64
5.3.1. Ácido Abscísico	64
5.3.2. Dióxido de Carbono	65
5.3.3. Déficit Hídrico	65
5.3.4. Intensidade de Luz	66
5.3.5. Análise de Nutrientes	67
5.3.6. Fungos	68
5.3.7. Considerações Finais	68
6. CONCLUSÕES	70

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGRADECIMENTOS

- À Dra. Linda Styer Caldas, pela orientação, estímulo constante, participação e grande amizade;
- Ao Dr. Colin Edward Johnson, do Laboratório de Ecologia da UnB, pelo empréstimo do porômetro e instruções para seu manuseio, pelas sugestões e discussões frutíferas;
- À Dra. Therezinha Isaia Paviani, chefe do Departamento de Biologia Vegetal, pela gentileza de permitir-me a utilização do Laboratório de Morfologia e Morfogênese, além de suas gestões na anatomia das espécies;
- Ao Dr. José Elias de Paula, do Laboratório de Morfologia e Morfogênese, pela disposição com a qual me assistiu e orientou em diversos aspectos anatômicos das espécies e pelo manuseio do fotomicroscópio;
- Ao Dr. Elliot Watanabe Kitajima, do Laboratório de Microscopia Eletrônica, pela permissão de utilizar o dito Laboratório, pelas instruções técnicas e operação do microscópio eletrônico de varredura;
- Ao Dr. Hitoshi Kunoh, da Universidade de Mie, no Japão, que de passagem por Brasília me proporcionou ensinamentos básicos de microscopia eletrônica de varredura, e pela imensa boa vontade com a qual levou amostras fixadas para o Japão e enviou-me fotos e dados estatísticos sobre as mesmas;
- Ao Dr. Hassan Bolkan, do Laboratório de Fitopatologia pela pronta identificação dos fungos isolados;
- Ao Dr. Mundayatan Haridasan, do Laboratório de Ecologia pelas sugestões sobre análise foliar e de solos e por permitir-me a utilização de reagentes e aparelhos da sala de análises;
- Ao Dr. Joseph H. Kirkbride Jr. e Dra. Maria Cristina Garcia Kirkbride, do Herbário da Universidade de Brasília, pela identificação das espécies e sugestões valiosas;

- Ao Inésio Marinho e Salomão Abrahim, técnicos do Laboratório de Ecologia, pela construção e manutenção do porômetro e análise química dos nutrientes, respectivamente;
- Ao José Siqueira e Mardocheu Pereira Rocha, técnicos do Laboratório de Ecologia, pela ajuda no campo sempre que solicitados;
- Ao Eronildes Clementino do Nascimento, técnico do Laboratório de Morfologia e Morfogênese, pela simpatia com a qual sempre me auxiliou na preparação das lâminas;
- À Antonietta Carfero, técnica do Laboratório de Microscopia Eletrônica, pela assistência quando solicitada;
- Ao fotôgrafo Nestor B. Lima, por parte das fotografias e reproduções;
- A todos os colegas do Mestrado em Ecologia e especialmente à Ieda Lúcia da Paixão, Maria Lúcia Meirelles, Leila Cunha de Moura e Sônia Paulino pelo convívio agradável e sugestões interessantes.
- A todos os elos desta cadeia, pela oportunidade de usufruir de sua capacidade, os meus sinceros agradecimentos.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA	Página
1. Aspecto geral da área de estudos.....	8
2. Interior da câmara porométrica.	14
3. Aspecto geral do aparato necessário para medidas Porométricas.	15
4. Montagem do potômetro.	21
5. Aspecto geral das folhas de <i>Qualea grandiflora</i> e <i>Rapanea guianensis</i>	24
6. Detalhe da folha de <i>Qualea grandiflora</i> mostrando danos causados por fungos.	26
7. Corte transversal de folha de <i>Qualea grandiflora</i>	30
8. Superfície abaxial da lâmina foliar de <i>Qualea grandiflora</i> vista ao microscópio eletrônico' de varredura.	31
9. Conjunto de estômatos de <i>Qualea grandiflora</i> ' ao microscópio eletrônico de varredura.	32
10. Vista frontal dos estômatos de <i>Qualea grandiflora</i> , após tratamento com nitrato de cobalto e clarificação.	33
11. Superfície abaxial de <i>Qualea grandiflora</i> apresentando estômatos em vista frontal.	34
12. Observações de estômatos de <i>Qualea grandiflora</i> ao microscópio eletrônico de varredura. .	35

13. Observação de aberturas internas bidivididas em *Qualea grandiflora*. 36
14. Corte transversal de folha de *Rapanea guianensis*. 37
15. Detalhe da superfície abaxial em corte transversal de *Rapanea guianensis*. 38
16. Vista frontal de estômato de *Rapanea guianensis* na microscopia eletrônica de varredura. 39

LISTA DE GRÁFICOS

GRÁFICO	Página
1. Comparação entre porometria e infiltração com isopropanol em <i>Rapanea guianensis</i> . ..	28
2. Resistência foliar de <i>Qualea grandiflora</i> em função da administração de ácido abs-císsico através de potômetro.	41
3. Resistência foliar de <i>Rapanea guianensis</i> em função da administração de ácido abs-císsico através de potômetro.	42
4. Resistência foliar de <i>Qualea grandiflora</i> ao tratamento com CO ₂	43
5. Resistência foliar de <i>Rapanea guianensis</i> ao tratamento com CO ₂	44
6. Resistência foliar de <i>Qualea grandiflora</i> com relação ao destaque da folha na esta-ção seca de 1980.	45
7. Resistência foliar de <i>Qualea grandiflora</i> com relação ao destaque da folha na esta-ção chuvosa de 1981.	46
8. Resistência foliar de <i>Rapanea guianensis</i> com relação ao destaque da folha na esta-ção seca de 1980.	48
9. Resistência foliar de <i>Rapanea guianensis</i> com relação ao destaque da folha na esta-ção chuvosa de 1981.	49
10. Representação da resposta estomática de	

<i>Qualea grandiflora</i> ao escuro na estação seca de 1980.	50
11. Representação da resposta estomática de <i>Qualea grandiflora</i> ao escuro na estação chuvosa de 1981.	51
12. Representação da resposta estomática de <i>Rapanea guianensis</i> ao escuro na estação seca de 1980.	52
13. Representação da resposta estomática de <i>Rapanea guianensis</i> ao escuro na estação chuvosa de 1981.	53
14. Relação entre radiação solar e resistên <u>cia</u> foliar em <i>Qualea grandiflora</i>	55
15. Relação entre radiação solar e resistên <u>cia</u> foliar em <i>Rapanea guianensis</i>	56

LISTA DE TABELAS

TABELA	Página
1. Correlação entre Observação ao Microscópio Eletrônico de Varredura e Resistência Foliar Medida através de Porômetro de Difusão, em <i>Qualea grandiflora</i>	27
2. Correlação entre Observação ao Microscópio Eletrônico de Varredura, Resistência Foliar e Infiltração com Isopropanol em <i>Rapanea guianensis</i>	29
3. Pincelamento da Superfície Abaxial das folhas de <i>Rapanea guianensis</i> com Ácido Abscísico.	40
4. Análise Química do solo na área de estudos.	57
5. Análise Química das folhas de <i>Qualea grandiflora</i>	58
6. Análise Química das folhas de <i>Rapanea guianensis</i>	59

RESUMO

Foi feito um estudo comparativo do comportamento estomático de duas espécies arbóreas do cerrado, *Qualea grandiflora* Mart. (Vochysiaceae) e *Rapanea guianensis* Aubl. (Myrsinaceae).

Partiu-se de dados encontrados na literatura e confirmados por ensaios experimentais de que *Qualea grandiflora* mantinha os estômatos abertos durante a noite e *Rapanea guianensis* não.

O objetivo era averiguar a capacidade dos estômatos de *Qualea grandiflora* de responder a diversos fatores conhecidos por sua influência sobre a abertura estomática.

Estes fatores foram: (a) intensidade luminosa, (b) déficit hídrico; (c) dióxido de carbono; (d) ácido abscísico exógeno; (e) nutrientes contidos nas folhas das espécies, e (f) influência de fungos na superfície foliar.

O trabalho desenvolveu-se no campo, em cerrado "sensu strictu" do Distrito Federal, sob condições edafoclimáticas semelhantes para as duas espécies.

Basicamente, trabalhou-se em duas estações bem demarcadas: estação seca de 1980 (junho-julho) e estação chuvosa de 1981 (janeiro-fevereiro-março).

Estudos anatômicos com microscópio óptico mostraram que os estômatos de *Rapanea guianensis* eram maiores do que os de *Qualea grandiflora* (40,8µm e 21,2µm, respectivamente). Estômatos em diferentes graus de abertura das duas espécies foram vistos ao microscópio eletrônico de varredura.

Valores das resistências foliares foram obtidos com um porômetro de difusão não-ventilado. Os valores de resistências máximas e mínimas para *Rapanea guianensis* foram de 2650 s.cm^{-1} e 60 s.cm^{-1} , enquanto os valores das resistências foliares para *Qualea grandiflora* não atingiram os mesmos valores (máximo e mínimo de 2170 s.cm^{-1} e 150 s.cm^{-1}).

Qualea grandiflora, no entanto, demonstrou uma maior sensibilidade ao ácido abscísico exógeno, fechando seus estômatos em concentrações de 10^{-7} M. de ABA. *Rapanea guianensis* somente respondeu a concentração de 10^{-4} M. Ambas as espécies fecharam seus estômatos no escuro, mas *Qualea grandiflora* mostrou oscilações mais amplas na resistência foliar, quando aplicado o tratamento no escuro.

As duas espécies também fecharam seus estômatos quando as folhas eram destacadas das plantas (indução ao déficit hídrico) e quando expostas a altas concentrações de CO_2 .

Diferenças pequenas foram notadas na habilidade das duas espécies em fechar seus estômatos quando submetidas aos diferentes fatores.

SUMMARY

The stomatal behavior of two woody species of the Cerrado vegetation, *Qualea grandiflora* Mart. (Vochysiaceae) and *Rapanea guianensis* Aubl. (Myrsinaceae), was compared. These two species were chosen because *Qualea grandiflora* has been cited in the literature as a species which maintains its stomates open at night, while preliminary results with *Rapanea guianensis* indicated that it responds normally to the light/dark regime.

The objective of the study was to test the ability of *Qualea grandiflora* stomates to respond to factors known to influence stomatal opening, specifically: (a) light intensity, (b) water deficit, (c) carbon dioxide, (d) exogenous abscisic acid, (e) mineral elements in the leaves, and (f) presence of specific fungi on the leaf surface.

The study was carried out in ^{the} field, in Cerrado sensu strictu of the Distrito Federal, where the two species coexist. Basically the trials were run in the dry season (June-July) of 1980 and the rainy season (January to March) of 1981.

Anatomical studies with the light microscope showed that the stomates of *Rapanea guianensis* are substantially larger than those of *Qualea grandiflora* (40,8µm in length compared to 21,2µm for *Qualea grandiflora*).

Open, closed and partially closed stomates were observed in *Rapanea guianensis* and *Qualea grandiflora* with the scanning electron microscope.

Leaf resistance values were obtained with an unventilated diffusion porometer. Maximum and minimum resistance values for *Rapanea guianensis* were 26,5 s.cm⁻¹ and 0,6 s.cm⁻¹, while *Qualea grandiflora* did not attain such high values (maximum and minimum of 21,7 s.cm⁻¹ and 1,5 s.cm⁻¹). However, *Qualea grandiflora* demonstrated a greater sensitivity to applied abscisic acid, closing its stomates with as little as 10⁻⁷M abscisic acid, whereas *Rapanea guianensis* did not

respond until the concentration was raised to 10^{-4} M. Both species closed their stomates in the dark, but *Qualea grandiflora* showed large oscillations in leaf resistance in the dark. Both species also closed their stomates when the leaves were detached from the plant, thus inducing water deficit, and when the leaves were exposed to high CO_2 concentrations.

Little difference was noted, therefore, in the ability of the two species to close their stomates' in response to the different factors.

1. INTRODUÇÃO

1.1. Aspectos gerais

Os estômatos constituem, na maioria das plantas terrestres, a principal via de transpiração - perda de vapor de água através da parte aérea das plantas (Ferri, 1979).

São formados por duas células epidérmicas especializadas, as células-guardas, que conforme o seu formato ocasionam a abertura e o fechamento dos estômatos (Esau, 1974). Podem estar circundados por células subsidiárias, que são diferentes em forma e estrutura de outras células epidérmicas ou por células vizinhas que não se diferenciam das demais, a não ser fisiologicamente (Fryns-Claessens & Van Cotthem, 1973). Ao conjunto de células-guardas e subsidiárias ou vizinhas denomina-se "complexo estomático", utilizando-se terminologia de Stace (1965), Van Cotthem (1970) e Esau (1974).

Alguns autores têm proposto mecanismos para explicar o movimento dos estômatos em resposta a diversos fatores ambientais (Levitt, 1974; Raschke, 1975).

Certos passos já se encontram bem estabelecidos como a existência de uma "bomba de potássio" permitindo mudanças de turgescência nas células-guardas iniciando, assim, o processo de fechamento ou abertura (Fisher, 1968; Humble & Hsiao, 1969; Levitt & Fisher, 1969; Swaney & Zelitch, 1969; Willmer & Mansfield, 1970; Mansfield & Jones, 1971; Rogers *et al.*, 1979).

Os estômatos de plantas que normalmente se abrem durante o dia, em geral respondem a diversos fatores ambientais.

A resposta dos estômatos à luz é fato bem estabelecido (Scarth, 1932; Meidner & Mansfield, 1965; Swaney & Zelitch, 1969; Egli, 1970; Levitt, 1974; Travis & Mansfield, 1979) e durante algum tempo era atribuída à fotossíntese e conseqüentemente, à concentração intracelular de CO_2 nas células-guardas.

O papel de "sensor à luz" era dado aos cloroplastos das células-guardas (Raschke, 1975). No entanto

to, evidências consideráveis têm surgido com relação à capacidade de abertura estomática ser mais intensa com incidência de luz azul do que luz vermelha, sugerindo a existência de um outro "sensor" que não estaria ligado à fotossíntese (Mansfield & Meidner, 1966). Dois mecanismos parecem, portanto, atuar na abertura fotoativa dos estômatos. Um deles estaria ligado à resposta estomática com relação à concentração intercelular de CO_2 que seria inversamente proporcional ao aumento da fotossíntese. O outro seria sensível predominantemente à luz azul parecendo não estar vinculado à fotossíntese (Sheriff, 1979).

Bem estabelecido, também, é o fato dos estômatos normalmente se abrirem quando a concentração intercelular de CO_2 diminui e se fecharem quando esta aumenta (Heath & Meidner, 1957; Egli, 1970; Neales, 1970; Raschke, 1975; Long & Woolhouse, 1978; Travis & Mansfield, 1979).

Em algumas espécies (Sheriff, 1979) os estômatos só se fecham em concentrações altas de CO_2 na presença de ácido abscísico (ABA).

A resposta dos estômatos a concentração de CO_2 é um fator muito importante controlando a abertura estomática, embora alguns autores tenham demonstrado ausência de resposta de estômatos de algumas espécies em presença de altas concentrações de CO_2 e redução da abertura estomática em resposta à diminuição do nível de CO_2 em relação à níveis normais do ar (Zelitch, 1969; Ludlow & Jarvis, 1971). Esta variação pode ser atribuída a diferenças endógenas entre as espécies (Pallas, 1965).

O mecanismo que causa a mudança de turgor das células-guardas, causando abertura dos estômatos em níveis intercelulares baixos de CO_2 não é ainda conhecido (Sheriff, 1979). O fato desta resposta acontecer mesmo em espécies que não possuem cloroplastos em suas células guardas (Nelson & Mayo, 1975) demonstra que a fotossíntese não é primordial para a resposta dos estômatos à variação da concentração de CO_2 . No entanto, o "sensor" estomático para CO_2 está localizado nas células guardas, mesmo em experimentos feitos

no escuro, demonstrando que as respostas estomáticas ao CO_2 no claro e no escuro seguem o mesmo mecanismo (Raschke, 1975).

A resposta dos estômatos à variações da temperatura não é homogênea e parece estar associada a outros fatores, como "stress" hídrico ou alteração nos processos metabólicos, como, por exemplo, abrindo até chegar a um "ótimo de temperatura" para a fotossíntese da espécie e depois, fechando ao ultrapassar este nível. É provável que a única resposta estomática causada por um efeito direto da temperatura sobre os estômatos seja a abertura em temperaturas altas (Sheriff, 1979). Esta abertura ocorreria diretamente por estímulo aos processos metabólicos (Willmer & Mansfield, 1970).

Os estômatos de muitas espécies respondem a variações da umidade no meio ambiente (Lange *et al.*, 1971; Lösch & Schenk, 1978; Osmond *et al.*, 1979). Quando a umidade diminui, os estômatos tendem ao fechamento, provavelmente devido a "stress" hídrico na epiderme, independente da velocidade e quantidade da transpiração na planta inteira, embora o "stress" hídrico na folha possa aumentar a sensibilidade dos estômatos à umidade (Sheriff, 1979).

Quando sujeitos à "stress" hídrico, a maioria das espécies de plantas terrestres fecham seus estômatos, sendo esta sensibilidade maior do que a resposta à umidade (Sheriff, 1979).

Duas alternativas, neste caso, devem ser consideradas. Uma na qual os estômatos responderiam ao déficit hídrico simplesmente por mudança de turgor nas células guardas, isto é, de maneira passiva (hidropassiva) e outra onde alguns autores (Allaway & Mansfield, 1970; Loveys, 1970; Lenton *et al.*, 1971; Mansfield & Jones, 1971; Horton & Moran, 1972) admitem o aumento da concentração de ácido abscísico (ABA) nas células guardas das espécies estudadas, durante déficit hídrico (hidroativa). Os termos "hidroativa" e "hidropassiva" foram utilizados pela primeira vez por Stålfelt (*in* Raschke, 1975).

Atualmente, em plantas sujeitas a déficit hídrico, o ácido abscísico endógeno é considerado como tendo papel fundamental na regulação das aberturas estomáticas (Wright, 1969; Allaway & Mansfield, 1970; Jones & Mansfield, 1970; Hiron & Wright, 1973; Harrison & Walker, 1975).

A ação do ácido abscísico sobre o complexo estomático parece estar associada ao fluxo de íons K^+ nas células-guardas (Mansfield & Jones, 1971; Horton & Moran, 1972), mas se esta ação é direta ou não, ainda não foi demonstrado (Walton, 1980).

O ácido abscísico é, em condições normais, encontrado no interior dos cloroplastos (Milborrow, 1974). Loveys (1977) e Mansfield et al. (1978) sugeriram que o ácido abscísico não é sintetizado pelo complexo estomático, mas transportado para este do mesófilo.

Estudos sobre a capacidade de células epidérmicas sintetizarem o ABA ^{não} deram resultados conclusivos (Loveys, 1977; Singh et al., 1979) embora a necessidade de células epidérmicas vivas para a atuação do ABA tenha sido demonstrada por Itai & Meidner (1978).

O ABA pode ser transportado a longas distâncias em plantas, via floema e xilema (Hoad, 1973; Alvim et al., 1976).

Little & Eidt (1968), Mittelheuser & Van Steveninck (1969) e Horton (1971) foram os primeiros autores a perceber que o ABA exógeno estabelece o fechamento dos estômatos quando aplicado a folhas intactas ou pedaços da epiderme foliar destacada.

Lancaster et al. (1977), no entanto, mostraram a ineficiência do ABA sobre *Lupinus luteus*, utilizando pedaços de epiderme e folhas inteiras em contato com soluções de ABA e sugeriram, então, que o ácido abscísico não deve ser visto como um regulador universal da abertura estomática em todas as plantas superiores.

A relação entre ABA e CO_2 não está atualmente elucidada (Walton, 1980). Segundo Raschke (1975) os dois fatores interagem. Para Mansfield (1976) os efeitos são mais aditivos do que interativos, enquanto Itai & Meidner (1978) sugeriram que o CO_2 e ABA atuam em sítios diferentes e não interagem.

Fusicoccina é uma toxina produzida por fungos do gênero *Fusicoccum* spp e *Fusarium* spp e sua ação so

bre o mecanismo estomático de diversas espécies de angiospermas tem sido descrita por diversos autores (Turner & Graniti, 1969; Squire & Mansfield, 1972; Schnabl, 1978 e Marré, 1979).

Seu mecanismo de ação com relação ao complexo estomático não está completamente estabelecido mas, de maneira geral, antagoniza a ação do ácido abscísico (Marré, 1979), produzindo abertura estomática e levando os vegetais à murcha das folhas (Squire & Mansfield, 1972).

O efeito direto de deficiências minerais sobre os estômatos não é assunto bem explorado e costuma-se reduzir a deficiências de potássio, devido à sua conhecida ação direta sobre os estômatos (Nagarajah & Ratnasuriya, 1978) ou nitrogênio e potássio juntos (Arens et al., 1958; Wormer, 1965). A deficiência de potássio e nitrogênio aumentam a transpiração e diminuem a mobilidade estomática (Arens et al., 1958; Nagarajah & Ratnasuriya, 1978).

No Brasil, os cerrados são deficientes em vários minerais, principalmente fósforo, nitrogênio e potássio, sendo considerados como "o fator mais imediato para a diferenciação do gradiente campo sujo-cerradão" (Goodland & Ferri, 1979).

Os estudos sobre reações estomáticas costumam dar ênfase à abertura noturna em algumas espécies do cerrado (Labouriau et al., 1964; Valio & Moraes, 1966) e a determinação da curva do comportamento estomático diurno nas espécies, visando a observação de tendência à economia de água ou não (Coutinho & Ferri, 1956; Coutinho & Ferri, 1960; Marinis & Maciel, 1968; Grisi, 1971) utilizando geralmente metodologia rápida e não muito sensível (Alvim & Havis, 1954; Marinis & Maciel, 1968).

Trabalhos feitos por Ferri (1955), Ferri e Coutinho (1958), Arens (1958), Arens (1963) entre outros, dando ênfase às causas do xeromorfismo foliar das espécies do cerrado demonstraram que as espécies do cerrado são mais xeromórficas do que as da caatinga, sem, no entanto, apresentarem sinais de restrição de água através de fechamento dos estômatos.

1.2. Objetivo do trabalho

Foi visado um estudo comparativo entre *Qualea grandiflora* e *Rapanea guianensis*, levando-se em conta a descrita abertura estomática noturna na primeira (Labouriau et al., 1964) e o comportamento estomático "normal" na segunda. Os estudos anatômicos e as respostas das espécies aos fatores que reconhecidamente influenciam no comportamento estomático poderiam dar uma idéia da mobilidade estomática das espécies escolhidas.

1.3. Escolha das espécies

Qualea grandiflora Mart (Vochysianaceae) e *Rapanea guianensis* Aubl. = *Myrsine floribunda* L. (Myrsinaceae) são espécies arbóreas identificadas por diversos autores como sendo comuns no cerrado "sensu lato" (Goodland & Ferri, 1979).

Inicialmente a idéia era estudar comparativamente o comportamento estomático de duas espécies sendo uma com abertura estomática noturna e outra não. Segundo Labouriau et al. (1964), *Qualea grandiflora*, pelo método de infiltração, mantinha os estômatos abertos à noite. Sendo esta espécie comum nos cerrados e, confirmando-se pessoalmente os dados de Labouriau et al. com ensaios feitos em cerrado na região da Península Norte (D.F.), esta foi escolhida.

Segundo observações feitas pelo Dr. C. Johnson (comunicação pessoal, 1980), *Rapanea guianensis* apresentava estômatos facilmente visto ao microscópio ótico e a aplicabilidade do método de infiltração com isopropanol era excelente.

Após ensaios preliminares no campo constatou-se que a espécie apresentava perspectivas interessantes para nossos estudos, servindo como uma "espécie controle" para comparar com o comportamento estomático de *Qualea grandiflora*.

2. ÁREA DE ESTUDOS

De propriedade da Fundação Universidade de Brasília, a Fazenda Água Limpa, com 4.189 hectares, dista cerca de vinte quilômetros do centro de Brasília em direção ao Sul, na região localizada nos paralelos 15°57'S e mediano 47°54'W.

A FAL comporta as formações típicas do cerrado e a área escolhida localiza-se aproximadamente a duzentos metros ao sul da fonte Olho d'Água de Onça, em cerrado "sensu strictu", com estratos herbáceo, arbustivo e arbóreo presentes. Segundo Ratter (1980) *Qualea grandiflora* era abundante na área e também em áreas de cerrado da Fazenda e *Rapanea guianensis* era uma espécie rara na área de cerrado "sensu strictu". No entanto, na área escolhida, *Rapanea guianensis* apresentava uma verdadeira "rede radicular" entre os indivíduos jovens e os adultos provavelmente devido a ação de fogo, segundo o Dr. D. Gifford (comunicação pessoal, 1980). A densidade desta espécie era alta e a diferença entre estas observações pessoais e as de Ratter (1980) deve-se ao fato do uso de transecto na metodologia utilizada por ele, o que exclui alterações localizadas em áreas onde o transecto não passou (Figura 1).

São comuns na área espécies como *Vochysia thyrsoidea* Pohl., *Caryocar brasiliense* Camb., *Didymopanax macrocarpum* (C. & S.) Seem. e *Dalbergia violacea* (Vog.) Malme, entre outras (Ratter, 1980).



Figura 1. Aspecto geral da área de estudos, onde pode-se ver, lado a lado, *Qualea grandiflora*(1) e *Rapanea guianensis*(2).

Clima

De acordo com a classificação de Köppen (1948) o clima da região é Aw, isto é, tropical chuvoso com estação seca no inverno.

A média pluviométrica anual é de aproximadamente 1.600 mm e a ^{estacionalidade} irregularidade das chuvas é característica marcante. Iniciam no final do mês de agosto e setembro, com pancadas ocasionais intercaladas com períodos secos. Atingem o máximo em novembro e dezembro, decaem até o mínimo no trimestre junho-julho-agosto (Codeplan, 1976; Governo do Distrito Federal, 1972).

A umidade relativa do ar entre maio e setembro, estação seca, encontra-se abaixo de 70%, atingindo valores mínimos em agosto e setembro, ocorrendo alguns dias com valores abaixo de 20%. De novembro a maio, mantém-se em tor

no de 70%.

As temperaturas médias anuais de Brasília giram em torno de $20,6^{\circ}\text{C}$, mantendo-se as médias acima de 20°C de agosto a março e não inferiores a 18°C entre abril e julho, podendo ocorrer temperaturas inferiores a 18°C ocasionalmente em junho ou julho, segundo o Departamento Nacional de Meteorologia (Estação de Brasília).

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Considerações gerais

Foram feitas comparações no campo entre as duas espécies com relação ao grau de abertura estomática, características anatômicas e reações aos diversos fatores estudados, em duas épocas anuais: uma na estação seca de 1980 (junho-julho) e outra na época chuvosa de 1981 (janeiro-fevereiro-março).

A separação dos dados em duas épocas baseou-se na hipótese que as características fisioanatômicas podem ser diferentes nas duas fases, já que fisionomicamente a vegetação do cerrado se diferencia (Ferri, 1955; Labouriau et al., 1964; Coutinho & Ferri, 1960; Goodland & Ferri, 1979; Ferri, 1979).

Foram utilizados indivíduos arbóreos de *Qualea grandiflora* com aproximadamente três metros de altura e indivíduos arbóreos e arbustivos de *Rapanea guianensis*. Neste último caso, medidas rápidas utilizando a série de infiltrações com isopropanol foram feitas para averiguação de diferença significativa entre os indivíduos (Labouriau et al., 1964).

Os indivíduos arbustivos de *Rapanea guianensis* apresentavam de 70 a 120 centímetros de altura.

Todas as medidas foram preferencialmente feitas no horário da manhã, entre 9 e 12 horas, utilizando-se dias cuja radiação solar direta mantinha-se quase constante e/ou eram feitas medidas alternadas com folhas das espécies sob as condições naturais do dia para controle de eventuais modificações do comportamento estomático devido a fatores ambientais.

Exsiccatas de ambas as espécies encontram-se depositadas no Herbário da Universidade de Brasília (UB) com as informações seguintes:

Qualea grandiflora Mart.

Brasília, Fazenda Água Limpa, de propriedade da Fundação Universidade de Brasília, a 200 metros aproximadamente ao sul da Fonte Olho d'Água de Onça 15° 57'S e 47° 54'W, 1100m.

Cerrado "sensu strictu".

Árvore de 3,5m de altura.

Leg. Joana Regina S. Cavalcanti 2

Data: 05 de junho de 1980

Rapanea guianensis Aubl.

Brasília, Fazenda Água Limpa, de propriedade da Fundação Universidade de Brasília, a 200 metros aproximadamente ao sul da Fonte Olho d'Água de Onça 15° 57'S e 47° 54'W, 1100m.

Cerrado "sensu strictu".

Árvore de 3m de altura.

Leg. Joana Regina S. Cavalcanti 1

Data: 05 de junho de 1980

3.2. Anatomia foliar

3.2.1. Cortes transversais

Pedaços de folhas das duas espécies, de aproximadamente 1cm^2 , foram cortados e fixados no campo, utilizando-se uma solução de 50% de álcool, 5 % de ácido propiônico, 10% de formol e 35% de água destilada - fixador FPA.

No laboratório, foram desidratados e incluídos em parafina, conforme metodologia de Johansen (1940).

Foram feitos cortes transversais de 10 - 12 μm de espessura em micrótomo rotativo de Spencer.

Parte das lâminas foi corada com safranina e "fast green" e montadas permanentemente em bálsamo do Canadá.

A outra parte foi estocada e corada (Johansen, 1940) especificamente para a visualização de lignina, cutina, suberina e sílica na lâmina foliar, com ênfase nas células-guardas dos estômatos.

Foram, então, feitas observações de particularidades anatômicas das duas espécies e medidas da espessura cuticular, utilizando-se uma ocular micrométrica adaptada ao microscópio ótico.

As fotografias foram tiradas em fotomicroscópio Zeiss - 2.

3.2.2. Número, dimensão e classificação dos estômatos.

Para a observação dos estômatos ao microscópio ótico foram utilizados cortes histológicos à mão livre do material fresco. (Morretes & Ferri, 1959).

No caso de *Rapanea guianensis*, o destaque da epiderme se faz com facilidade e as células do mesófilo que, por acaso, continuam aderidas à epiderme não dificultam sua visualização.

Em *Qualea grandiflora* foram feitos cortes paradérmicos após uma raspagem superficial da epiderme abaxial para retirada de parte dos pêlos presentes. Após a obtenção dos cortes suficientemente profundos para ultrapassar a rede de nervuras acentuadas, sem fazer o mesmo com os estômatos, o material era, então, imerso em solução de nitrito de cobalto 0,4% por duas horas. O nitrito de cobalto causa aparente

mente a dissolução dos pêlos e da cutícula e esta sua capacidade foi descoberta ao acaso, enquanto era ensaiada a observação de precipitados de potássio nas células-guardas, utilizando-se metodologia de Willmer e Mansfield (1970) na qual o nitrito de cobalto era um dos reagentes.

Devido à impossibilidade de se obter cortes sem camadas espessas de mesofilo, procedeu-se à clarificação do material com hipoclorito de sódio a 20% por meia hora (Inandar & Gangadhara, 1975). Após este procedimento, o material foi observado ao microscópio ótico.

Foram feitos cortes em toda extensão da lâmina foliar para averiguação da distribuição dos estômatos.

Para a contagem dos estômatos por milímetro quadrado foram utilizados segmentos da epiderme das regiões mediana, distal e proximal da lâmina foliar de 6 folhas de 3 indivíduos diferentes e utilizado um microscópio com câmara clara.

Para as medidas de dimensões estomáticas, procedeu-se a preparações semelhantes às acima descritas e uma ocular micrométrica foi utilizada.

3.3. Técnicas aplicadas

3.3.1. Infiltração

Foram preparados 50ml de soluções de isopropanol de 10 a 100% e condicionados em tubos plásticos com conta-gotas. Esta bateria era levada ao campo e a metodologia consistia em pingar um gota das soluções sobre a superfície abaxial das folhas para observação da capacidade de infiltração das concentrações (Slavík, 1974).

Foram distinguidas três modalidades de resultados de infiltração: facilmente perceptível e intensa (++) , fraca (+) e negativa (-).

3.3.2. Porometria

Para a obtenção dos dados sobre resistência foliar foi utilizado um porômetro de difusão sem ventilação (Figura 2) construído no Laboratório de Ecologia da UnB, utilizando-se modelo de Kanemasu et al. (1969). *com modificações.*



Figura 2. Interior da câmara porométrica.

O aparelho constava de uma pinça fixadora à qual foi adaptada uma câmara redonda de 3cm de diâmetro, de material plástico transparente, em cuja borda foi colada uma aréola de material sintético, macio e não-poroso, para melhor adaptação às folhas, permitindo a vedação da câmara.

Em seu interior encontrava-se:

- a) um termopar de cobre e "constantan" para medir a diferença entre a temperatura da câmara e da folha;
- b) um diodo para medir a temperatura da câmara e
- c) um bulbo seco e um úmido para medir a umidade do ar da câmara.

Ligado através de pequena mangueira de borracha à câmara encontrava-se um cilindro contendo sílica gel com corante indicador de umidade e, acoplado a este, uma bomba manual de borracha cujo manuseio permitia a entrada de ar seco na câmara do porômetro. (Figura 3).

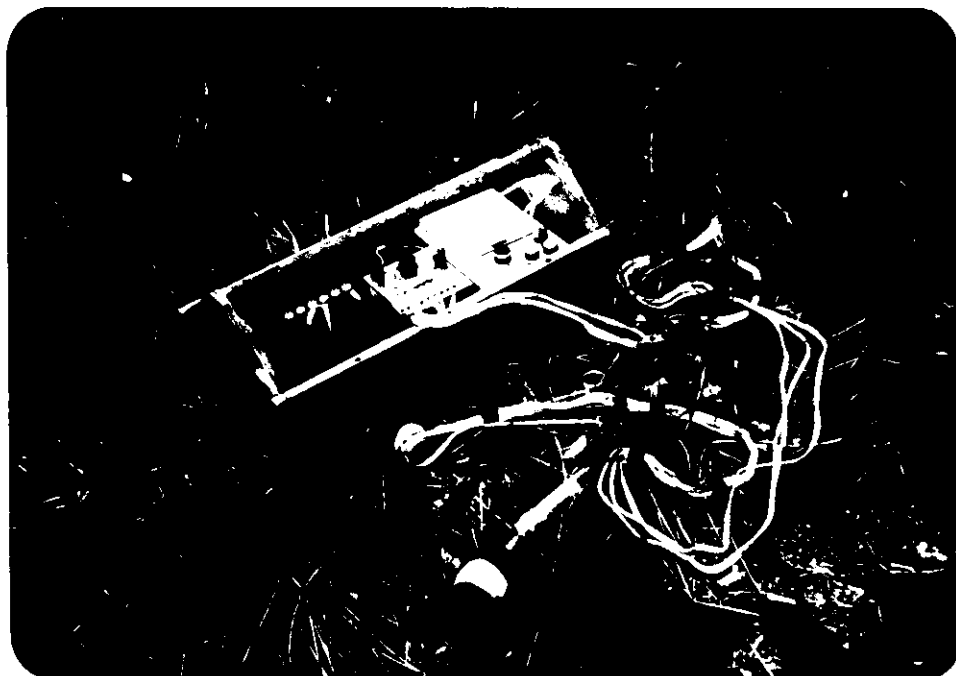


Figura 3. Aspecto geral do aparato necessário para medidas porométricas.

Todos os sensores ficavam ligados, através de fios de cobre encapados, a um selecionador de canais que por sua vez, ficava em contato com um milivoltímetro

que permitia leituras de até 10 μV .

O cabo terminal do diodo era acoplado a uma bateria de 12 volts.

O manuseio do porômetro era feito como descrito abaixo:

- 1º) O porômetro era acoplado na parte mediana das folhas abrangendo a nervura central;
- 2º) Ar seco era bombeado para a interior da câmara até a depressão do bulbo úmido ultrapassar 5°C ;
- 3º) Com o aumento da umidade do ar dentro da câmara a depressão do bulbo úmido voltava até $2,5^{\circ}\text{C}$. Com o auxílio de um cronômetro, o intervalo de tempo necessário para esta subida da umidade era medido (Δt).

O procedimento acima era repetido de 3 a 4 vezes, geralmente o primeiro dado era desprezado (Morrow & Slatyer, 1971) e a média dos valores restantes de Δt utilizada no cálculo das resistências;

- 4º) Com a troca do canal do selecionador obtinha-se a diferença entre a temperatura da câmara e da folha. Neste caso, 1 mV correspondia a $0,04^{\circ}\text{C}$;
- 5º) Utilizando-se um terceiro canal, era obtida, através da leitura do diodo, a temperatura da câmara.

O diodo foi calibrado no laboratório colocando-se o porômetro aberto em situações nas quais a temperatura do ar era variada e, fazendo-se as leituras com o milivoltímetro, foi estabelecida a seguinte correlação:

$$T (^{\circ}\text{C}) = 23,23 + 0,407 \text{ mV} \quad (1)$$

O cálculo da resistência estomática para os dados coletados no campo foi baseado na equação:

$$r = \frac{e_s - \bar{e}}{e_2 - e_1} \cdot \Delta t \cdot K \quad (2)$$

onde:

r = resistência da folha;

e_s = pressão de vapor de água à saturação na temperatura da folha;

$\ln \bar{e} = 0,5 (\ln e_1 + \ln e_2)$

e_2 = pressão de vapor final na câmara = $e_{2,5}$
na temperatura da câmara;

e_1 = pressão de vapor inicial na câmara
= e_5 na temperatura da câmara;

Δt = intervalo de tempo necessário para
 $e_2 - e_1$, e

$K = \frac{l}{d}$, onde d é a distância da folha
até o sensor.

Os valores de e_1 , e_2 e e_5 foram obtidos através de tabelas higrométricas (Meteorological Office, 1978) utilizando-se os valores, em graus Celsius, das temperaturas da câmara e da folha.

Não foram feitas correções para a altitude nem temperatura e cálculos feitos com estas correções demonstraram diferenças mínimas.

Foi tentado a utilização de um porômetro de fluxo viscoso (Milburn, 1979) mas a técnica não se aplicou às espécies em questão.

A calibração geral do porômetro foi feita no laboratório, segundo Kanemasu *et al.* (1969), utilizando-se três placas de plástico com espessura de 0,15cm e orifícios de 0,095cm de diâmetro.

Os orifícios eram equidistantes e as placas possuíam 25; 18,75 e 12,5 poros por mm^2 . As resistências das placas foram calculadas teoricamente com base na equação da primeira lei de Fick para a difusão de gases (Nobel, 1974).

$$R = \frac{C}{J} = \frac{d + r}{D.n.a} \quad (3)$$

C = diferença de concentração do gás dentro e fora do orifício;

J = fluxo;

d = comprimento do poro;

r = raio do poro;

D = coeficiente de difusão do gás;

n = número de poros por área e

a = área média do poro.

Para a difusão do vapor de água a 20°C :

$$D = 0,25\text{cm}^2 \cdot \text{s}^{-1}.$$

As placas foram colocadas entre o porômetro e o papel de filtro saturado de água, procedendo-se às medidas de resistência. Foi medido também o valor da evaporação do papel sem placa.

Com os valores da resistência medidos no porômetro e os valores de resistência calculados para as placas, foi construída uma curva de calibração que é descrita pela seguinte equação.

$$r_{po} = 10,9736 + 5,064 r_{pl} \quad (4)$$

onde: r_{po} = resistência do porômetro e

r_{pl} = resistência da placa.

Esta equação foi utilizada, então, para todos os dados obtidos no campo.

3.3.3. Microscopia Eletrônica de Varredura

Para observações ao microscópio eletrônico de varredura, foram coletadas duas amostras de duas folhas de cada espécie para cada situação.

Inicialmente, em fins de janeiro de 1981, foram coletados, no campo, galhos das duas espécies, mantidos na água por aproximadamente duas horas e então, colocados dentro da câmara escura por mais duas horas. Material deixado à radiação de $228 \text{ W}\cdot\text{m}^{-2}$ também foi fixado. Após o tratamento foram cortados, ainda no escuro, pedaços de aproximadamente $0,25\text{cm}^2$ e mantidos no fixador A de Karnovsky (1965) por 12 horas a 10°C . Foi utilizado, então a metodologia de Shiraishi et al. (1978) e o material observado no microscópio eletrônico de varredura Auto-Scan (ETEC Corporation).

Foram feitas, com o mesmo material, variações experimentais que constaram de sugestões de Turner e Heichel (1977), isto é, observação rápida do material fresco ao microscópio eletrônico de varredura, cobertura com ouro sem fixação e fixação sem cobertura com ouro.

Em março de 1981 foram feitas novas coletas utilizando-se metodologia de H. Kunoh (comunicação pes

soal, 1981).

Neste caso, os galhos das duas espécies não foram destacados, sendo mantidos no escuro no campo por duas e três horas, cortados ainda no escuro rapidamente e imersos em fixador que consiste de uma mistura de glutaraldeído 4% e ácido tânico 0,2% à temperatura ambiente (25°C). Foram feitas também duas amostras de *Qualea grandiflora* submetidas a deficit hídrico (destaque da folha) por duas horas. Com auxílio de uma seringa hipodérmica foi feito vácuo até que o material não flutuasse mais, evidenciando a penetração do fixador nos espaços intercelulares. O material foi trazido para o laboratório e estocado até o dia seguinte, quando o fixador foi substituído por glutaraldeído 4% e ácido tânico 2%. Esta substituição permite a penetração gradual do ácido tânico cujo alto peso molecular (1.701,25) constitui dificuldade para boa penetração.

Após 6 horas o material foi lavado em ácido ósmico 1% por 3 horas. Foi lavado novamente por 6 vezes, 10 minutos cada e procedeu-se à desidratação com acetona, terminando com 3 imersões em acetona 100% e secagem ao ponto crítico (Karnowski, 1965) utilizando CO₂ como solvente.

A esta altura um procedimento especial teve que ser feito com relação às amostras de *Qualea grandiflora*.

Feita a observação na lupa, foi verificada a impossibilidade de visão dos estômatos devido à grande quantidade de pêlos.

Foi procedida a confecção de agulhas finíssimas de fio de tungstênio com extremidades em forma de anzol com a qual os pêlos eram retirados um a um e, então, expulsos da superfície foliar com um micro-expirador feito com um conta-gotas de ponta bem delgada.

Um metalizador Denton DV-502 foi utilizado para a cobertura das amostras com ouro.

Devido a pequenos defeitos no microscópio eletrônico de varredura e da dificuldade de obtenção de material praticamente intacto, novas amostras de *Qualea grandiflora* foram feitas e levadas pelo Dr. H. Kunoh ao Japão, a fim de utilizar o microscópio eletrônico de varredura da Universidade de Mie, o qual possui um micromanipulador no seu

interior, permitindo a retirada dos pêlos com maior aumento, evitando danos excessivos à epiderme.

Foram observados quarenta estômatos de cada tratamento, utilizando-se três escalas para os resultados:

- estômatos fechados (+)
- estômatos semi-abertos (+-)
- estômatos abertos (-)

No caso de *Qualea grandiflora* foram feitas trinta observações para cada tratamento.

A voltagem da aceleração do microscópio eletrônico de varredura foi de 5 KV para o material a fresco, 15 KV para o material fotografado no Japão e 20 KV para o material coberto ou não com ouro no Laboratório de Microscopia da UnB.

3.4. Fatores estudados

3.4.1. Ácido abscísico exógeno

Em novembro de 1980 procedeu-se aos ensaios para estudo do comportamento dos estômatos das duas espécies com relação ao ácido abscísico exógeno. As medidas definitivas foram em janeiro e fevereiro de 1981.

Foram utilizados em cinco ocasiões, 8 folhas de cada uma das espécies em condições semelhantes no campo, isto é, sujeitas à mesma radiação solar, inseridas aproximadamente à mesma altura nos ramos e nos mesmos indivíduos.

Foi utilizado, inicialmente, o método de Lancaster, Mann e Poster (1977), que consta de pincelamento da superfície foliar abaxial com concentrações de $10\bar{M}^7$, $10\bar{M}^6$ e $10\bar{M}^4$ de ácido abscísico -(ABA (+-) cis-trans, Sigma Chem. Co). Após dois pincelamentos de cada concentração de ABA, com intervalo de 10 minutos, em duas folhas, foram feitas medidas porométricas e de infiltração nas seis folhas tratadas e em duas folhas-controle. Esta metodologia não se aplica às folhas de *Qualea grandiflora* devido a grande quantidade de pêlos nas suas superfícies abaxiais.

Foi utilizado posteriormente a montagem de potômetros com ambas as espécies, como descrito a seguir.

Ramos das duas espécies com o mesmo número de folhas foram cortados e, dentro de baldes com água, os caules foram recortados duas vezes para desobstrução dos vasos condutores por possíveis bolhas de ar. Ainda imersos, foram adaptados a mangueiras de borracha acopladas a pipetas de 2 ml e montados os potômetros em suporte de madeira no campo ou nas paredes externas do laboratório de Ecologia da FAL. (Figura 4)

As conexões das mangueiras com o ramo e a pipeta foram vedadas com lanolina, quando necessário.

Seringas hipodérmicas contendo concentrações diferentes de ABA ($10M^{-7}$, $10M^{-6}$ e $10M^{-4}$) foram preparadas e, imediatamente após a absorção da água contida nas pipetas, foram acopladas nas mangueiras (Kozinka, 1966) e os ramos passaram a absorver o ABA nas concentrações utilizadas. Um dos potômetros continuou a receber água pura para controle.



Figura 4. Montagem de potômetro

Estas montagens de potômetros foram feitas periodicamente de novembro a março, em número de 4.

Foram utilizados a série de infiltrações de isopropanol e o porômetro de difusão para medidas intercaladas de dez em dez minutos.

3.4.2. Dióxido de carbono (CO_2)

Foram utilizadas seringas hipodérmicas de 20ml com 10ml de solução de bicarbonato de sódio 2M.

Com auxílio de outra seringa algumas gotas de ácido sulfúrico 1M eram pingadas naquela solução e o êmbolo rapidamente inserido na seringa de maneira a não deixar escapar o CO_2 formado.

Sacos plásticos transparentes eram previamente adaptados a ramos com três ou quatro folhas e fechados de maneira hermética com auxílio de fita gomada e barbante.

Agulhas eram colocadas nas seringas e o ar rico em CO_2 era inserido nos compartimentos plásticos, perfazendo uma concentração de CO_2 cerca de três vezes a concentração normal do ar atmosférico.

Amostras do ar e da concentração de CO_2 dentro dos sacos plásticos foram levadas para o laboratório e analisadas no analisador infra-vermelho de CO_2 (Analytical Development Co.), confirmando os cálculos menos acurados sobre a concentração no interior dos sacos plásticos.

Após meia, uma e duas horas, os sacos plásticos eram abertos e com o porômetro e a série de infiltrações foram medidas as reações estomáticas. As montagens com CO_2 foram feitas no período de janeiro a abril de 1981.

3.4.3. Déficit hídrico

As reações estomáticas das duas espécies foram estudadas removendo-se folhas das plantas e medindo-se, em intervalos variáveis, a resistência foliar através do porôme

tro de difusão e da série de infiltrações com isopropanol.

Estas medidas foram feitas periodicamente abrangendo os meses de junho de 1980 a maio de 1981.

Em março de 1981 foram levadas amostras de folhas destacadas ao microscópio eletrônico de varredura, como descrito no item 3.3.3.

3.4.4. Intensidade de luz

Para as medidas no escuro foi utilizada uma câmara escura confeccionada com fazenda espessa preta com duas aberturas reguláveis com elástico. Uma das aberturas servia para adaptar a câmara ao ramo desejado, mantendo-se a outra extremidade dobrada e fechada com elástico.

Para impedir o aquecimento excessivo da câmara evitava-se radiação solar direta sobre a montagem, utilizando-se anteparo de madeira ou guarda-sol.

As medidas com o porômetro de difusão eram feitas através da rápida introdução deste através da extremidade da câmara. Quando era utilizada a série de infiltrações, uma folha era rapidamente exposta à luz ou destacada da planta.

Foram feitas medidas periódicas sob radiação solar abrangendo as estações seca e chuvosa, utilizando-se intervalos de leituras que variaram de 5 minutos até horas.

Na época chuvosa, foram fixadas amostras das duas espécies mantidas na intensidade de 22.8 W.m^{-2} e ou trás no escuro, para observação ao microscópio eletrônico de varredura, como descrito no item 3.3.3.

As medidas no claro foram feitas também com o porômetro de difusão e a série de infiltrações. A radiação solar foi medida com um solarímetro acoplado a milivoltímetro, calibrado com um radiômetro Kipp no laboratório.

Foram feitas medidas, em julho de 1980 e janeiro de 1981, com intervalos mínimos possíveis (4-5 minutos) entre folhas do mesmo indivíduo, inseridas mais ou menos na mesma radiação solar com o porômetro de difusão. Isto possibilita

ria uma comparação mais adequada de medidas sob condições diferentes porque excluiria diferenças de folha a folha e margem de erro do porômetro.

3.4.5. Análise de nutrientes

Foram retiradas amostras do solo de 0-10 cm e 10-20 cm de profundidade uma vez por mês durante os meses de novembro, janeiro, fevereiro e março em dois locais diferentes da área, com um total de 14 amostras.

Fisionomicamente as folhas das duas espécies eram bastante diferentes (Figura 5); devido à importância dos nutrientes no comportamento estomático (Arens et al., 1958) procedeu-se à análise foliar.



Figura 5. Aspecto geral das folhas de *Qualea grandiflora* e *Rapanea guianensis*.

Amostras das folhas foram feitas nas mesmas ocasiões das de solos, utilizando-se duas amostras de três folhas por indivíduo. Os dois indivíduos foram marcados no campo e as amostras foram retiradas sempre dos mesmos. Houve um total de 26 amostras.

O material foi levado para o Laboratório de Ecologia da UnB e analisado conforme metodologia de Chapman (1957).

Foi utilizado um espectrofotômetro de chama para análise de sódio, magnésio, cálcio, alumínio e potássio, e um fotocolorímetro para análise de fósforo nos dois tipos de amostras.

3.4.6. Fungos

Logo após o início da época chuvosa (outubro) foi observado em *Qualea grandiflora* o aparecimento de manchas escuras e outras esbranquiçadas sobre as lâminas foliares. Estas manchas estavam presentes em todos os indivíduos da área de estudo e, mesmo em outras áreas da Fazenda Água Limpa e no cerrado próximo à Universidade de Brasília, sendo aparentemente causadas, em todas as áreas observadas, por duas espécies de fungos (Figura 6).

Devido a ação da fusicoccina sobre o mecanismo estomático de diversas espécies de angiospermas Squire e Mansfield (1972) e sendo esta toxina encontrada em fungos do gênero *Fusicoccum* spp. e *Fusarium* spp., procedeu-se ao isolamento dos fungos causadores das manchas citadas.

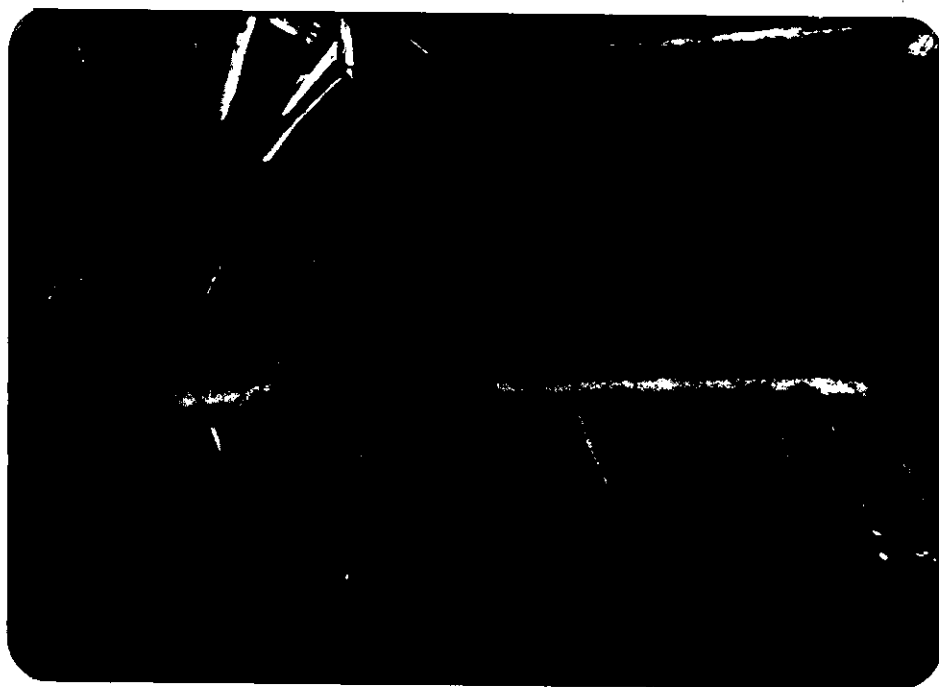


Figura 6. Detalhe da folha de *Qualea grandiflora* mostrando danos causados por fungos.

Folhas de três indivíduos na área foram coletadas em duas ocasiões (janeiro e março) e o isolamento dos fungos foi feito em meio Batata-Dextrose-Agar (BDA), em 6 placas de Petri de cada vez.

Foram identificados pelo Dr. H. Bolkan, do Laboratório de Fitopatologia da UnB.

As folhas de *Rapanea guianensis* aparentemente não apresentavam danos causados por fungos. Os danos consistiam de imperfeições nas bordas e nervura principal provavelmente causados por insetos (Figura 5).

4. RESULTADOS

4.1. Comparação entre técnicas

A comparação entre o método de infiltração por isopropanol e a porometria de difusão só foi possível para *Rapanea guianensis* (gráfico 1), uma vez que *Qualea grandiflora* apresentou resultados na infiltração apenas nos meses de maio, junho e julho de 1980. Após os estudos anatômicos desta espécie chegou-se à conclusão que esta infiltração era falsa, isto é, o aspecto semelhante à infiltração não correspondia à verdade, uma vez que a abundância de pêlos sobre os estômatos impediria sua visualização.

Quanto à microscopia eletrônica de varredura, a correlação com a porometria foi feita nas ocasiões em que o material foi deixado no escuro por duas e três horas e outra ocasião sob radiação de 228 W.m^{-2} , com déficit hídrico (Tabela 1).

Tratamento	Estômatos (M.E.V.)				r_f (s.cm^{-1})
	abertos	fechados	semi-abertos	total	
Escuro (2 horas)	20	7	4	31	13,2
Escuro (3 horas)	7	14	9	30	14,4
Déficit hídrico (2 horas)	6	6	18	30	19,5

Tabela 1. Correlação entre observação ao microscópio eletrônico de varredura e resistência foliar medida através de porômetro de difusão, em *Qualea grandiflora*.

Rapanea guianensis apresentou, com relação aos mesmos tratamentos, resultados apresentados na Tabela 2.

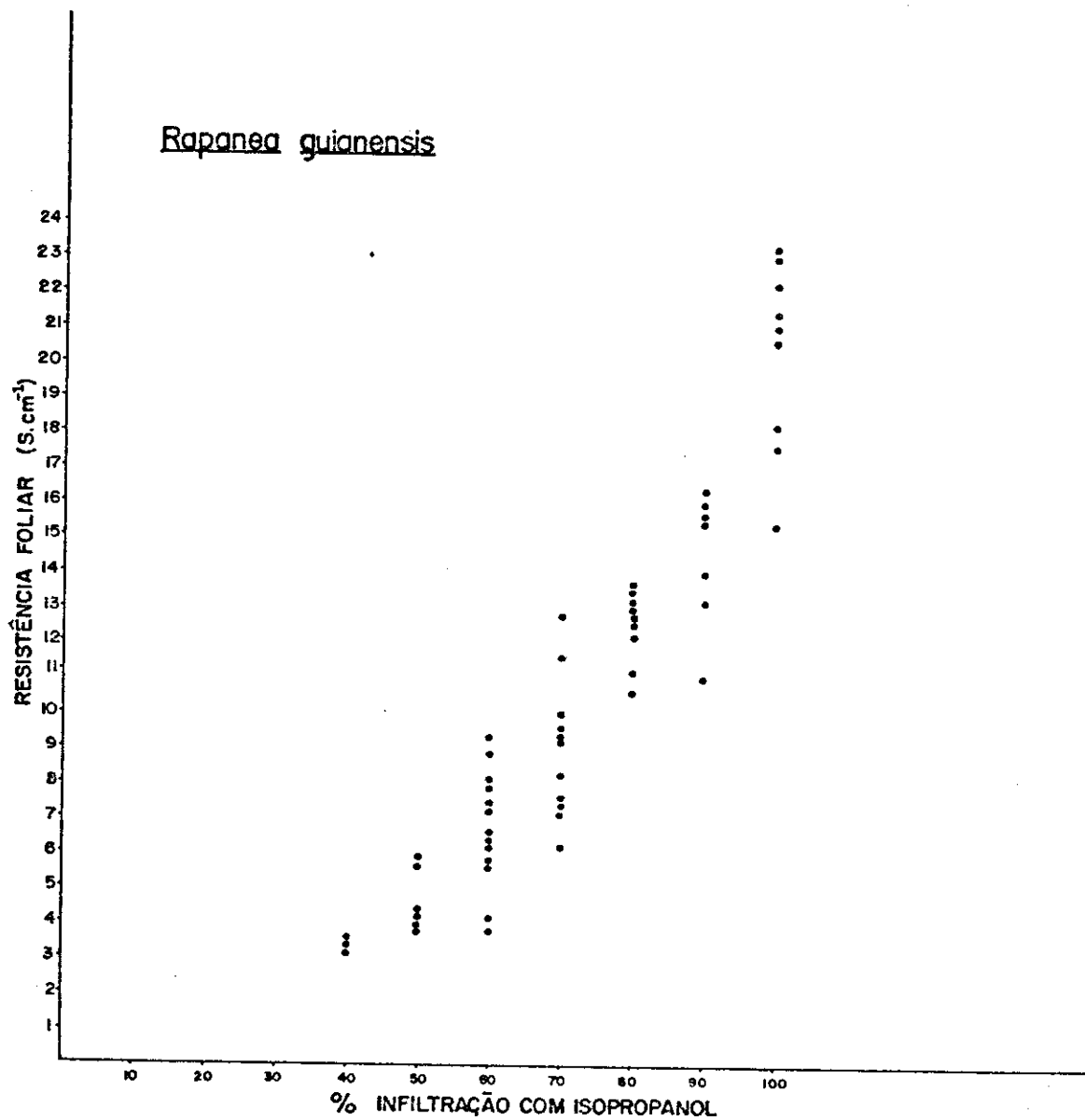


Gráfico 1. Comparação entre porometria e infiltração com isopropanol. Os valores dados para infiltração indicam a menor porcentagem de isopropanol que penetrou na folha. Os dados foram coletados na estação chuvosa de 1981 (janeiro-fevereiro-março).

Tratamento	Estômatos (M.E.V.)			total	r_f (s.cm ⁻¹)	% infiltração com isopropanol
	abertos	fechados	semi-abertos			
Escuro (2 horas)	2	31	7	40	19,4	100%
Escuro (3 horas)	4	25	11	40	20,1	90%
Déficit hídrico (2 horas)	1	34	5	40	24,6	100%

Tabela 2. Correlação entre observação ao microscópio eletrônico de varredura, resistência foliar (porômetro de difusão) e infiltração mínima com isopropanol, em *Rapanea guianensis*.

4.2. Descrição anatômica

4.2.1. *Qualea grandiflora*

A espessura do mesofilo era bem irregular na mesma lâmina foliar com média de 206 μm , com mínimo de 170 μm e máximo de 341 μm .

A cutícula apresentava-se com 4,4 μm em média com espessura mínima de 3,3 μm e máxima de 6,6 μm .

A cutícula da epiderme adaxial apresentava-se constantemente um pouco mais espessa (0,5 μm em média) do que a da superfície abaxial.

As colorações específicas para lignina, suberina e sílica mostraram-se pouco sensíveis para as células-guardas dos estômatos. Com relação à cutina, esta tornou-se bem visível, mas isto aconteceu também nas colorações para montagem permanente com safranina e "fast-green".



Figura 7. Corte transversal de folha de *Qualea grandiflora*, mostrando células epidérmicas adaxiais grandes, cobertas com cutícula. Visualiza-se um feixe vascular. Coloração com safranina e "fast green". Aumento 250x.

A epiderme abaxial apresentava-se coberta de pêlos não-glandulares, unicelulares, tendo em média 52 μ m de comprimento, com mínimo de 36 μ m e máximo de 61 μ m. Estes pêlos foram vistos tanto em cortes transversais a fresco quanto em cortes paradérmicos, formando um emaranhado denso sobre as criptas estomatíferas, como pode ser visto na figura 8.

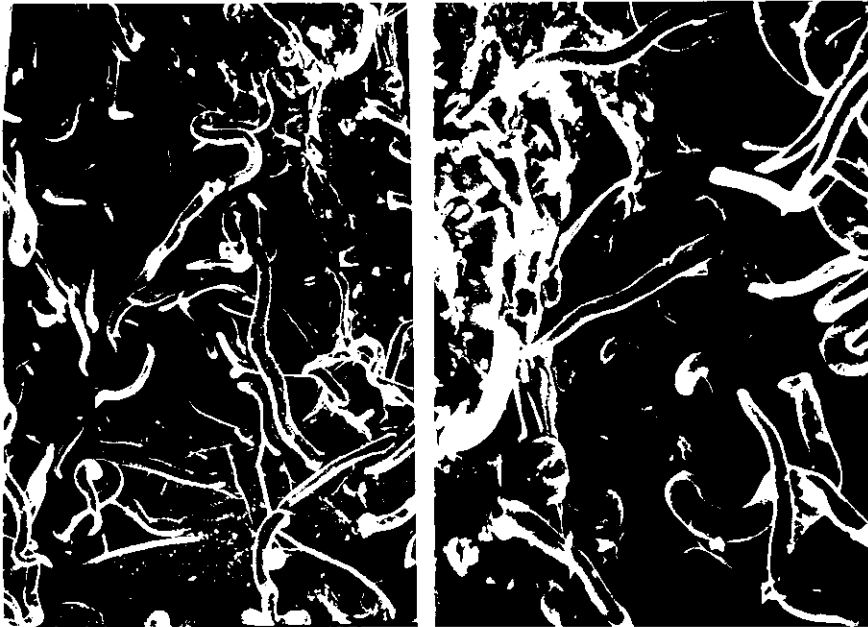


Figura 8. Superfície abaxial da lâmina foliar de *Qualea grandiflora* vista ao microscópio eletrônico de varredura. À esquerda (8-a), apresentando a superfície sem retirada dos pêlos. Aumento de 180x. À direita (8-b) superfície com pêlos parcialmente retirados. Aumento de 400x.

Os estômatos encontravam-se confinados à superfície abaxial (folha hipostomática) e apresentavam-se no interior de cavidades entre as nervuras, distribuindo-se, dentro delas, de maneira agrupada, fato facilmente constatável na microscopia eletrônica de varredura (Figura 9) ou em cortes transversais. No entanto, este fato é pouco visível nos cortes paradérmicos, como mostra a figura 10.



Figura 9. Conjunto de 3 estômatos de *Qualea grandiflora* vistos ao microscópio eletrônico de varredura. Aumento de 500 X.

Os agrupamentos foram em média de 3 estômatos, sendo observados no máximo 5, ocasionando células vizinhas comuns a 2 ou mais estômatos. Embora estejam no interior de "criptas", encontram-se elevados com relação às células epidérmicas imediatamente adjacentes (Figura 9).

Em vista frontal (Figura 10) as células-guardas apresentavam-se reniformes com diâmetro paralelo ao ostíolo de 21,2 μm em média e com diâmetro perpendicular ao ostíolo de 19,5 μm em média. A variação máxima era de 23,1 - 23,1 μm e a mínima de 16,5 - 16,5 μm , respectivamente.

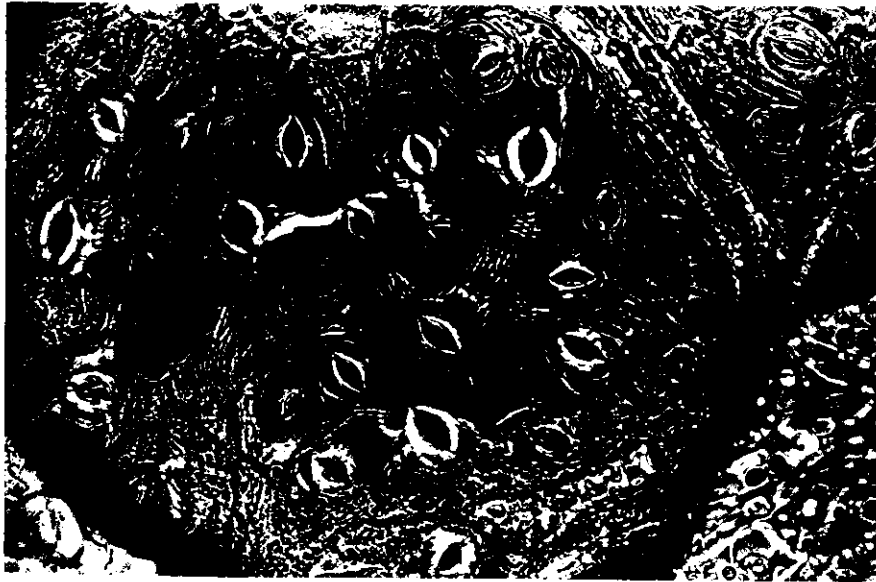


Figura 10. Vista frontal dos estômatos de *Qualea grandiflora*, após tratamento com nitrito de cobalto e clarificação. Observar estriações cuticulares. Aumento de 63 X.

Eram anomocíticos, isto é, não possuíam células subsidiárias.

Com as preparações clarificadas (Fig. 10), a contagem dos estômatos em folhas maduras foi de $675/\text{mm}^2$, variando de 375 a 850. Esta variação foi devida ao grande número de nervuras existentes nas folhas. As folhas novas apresentaram média de 575 estômatos por mm^2 , variando entre 325 a 750.

Foi comum a observação de estriações cuticulares, radiais com relação aos estômatos, sobre as células vizinhas a estes, assim como estômatos obstruídos (Figura 11).



Figura 11. Superfície abaxial de *Qualea grandiflora* apresentando estômatos em vista frontal. Pode-se observar estriações cuticulares radiais e estômatos obstruídos. Aumento de 990 X.

Em geral, os estômatos não se distribuíam sobre as nervuras, com raras exceções (Figura 8.B).

Em cortes transversais as células-guardas apresentavam-se com parede bastante espessa e todas com cristas externas. O lúmen celular era bastante estreito.

Interessante observar nos cortes transversais a dimensão das células epidérmicas adaxiais, alcançando 25% da espessura total do mesofilo (Figura 7).

Nas observações ao microscópio eletrônico de varredura foi constatada a necessidade de se obter o ângulo exato para a visibilidade da fenda estomática interna (Figura 12), que era o ostíolo.

A fenda estomática externa em vista frontal correspondia às cristas externas observadas em cortes transversais que eram saliências de cutina ou cera.



Figura 12. Observações de estômatos de *Qualea grandiflora* ao microscópio eletrônico de varredura. À esquerda, sem observação da abertura interna. À direita, no ângulo certo para observação da fenda estomática interna. Aumentos de 3.770x e 2.660x, respectivamente.

Em raras observações foram vistas fendas estomáticas internas bidivididas (Figura 13).



Figura 13. Observação de aberturas internas bidivididas em *Qualea grandiflora*. Aumentos de 3.060x e 5.000x, respectivamente.

4.2.2. *Rapanea guianensis*

A espessura do mesofilo era de 440,4 μ m, em média, com máximo de 497,0 μ m e mínimo de 397,6 μ m.

Cutícula com espessura média de 12,6 μ m, com mínimo de 10,2 e máximo de 14,3 μ m.

Epiderme abaxial glabra, apresentando células estomáticas ao mesmo nível das outras células epidérmicas ou em suaves depressões (Figuras 14 e 15).



Figura 14. Corte transversal de folha de *Rapanea guianensis*. Observa-se ausência de parênquima paliçádico. Cutícula espessa. Ao centro, na superfície abaxial pode-se ver um estômato. Coloração com safranina e "fast green". Aumento de 250x.

Os estômatos também se localizam somente na epiderme abaxial, sendo facilmente visualizados ao microscópio ótico em cortes paradérmicos.

As células-guardas apresentavam-se reniformes em vista frontal, com diâmetro paralelo ao ostíolo de 40,8 μ m, máximo de 46,2 e mínimo de 36,3 μ m e diâmetro perpendicular ao ostíolo com 33,8 μ m, máximo de 39,6 e mínimo de 33,0 μ m. Possuíam 3 células subsidiárias, sendo denominados, portanto, anisocíticos (Figura 16).

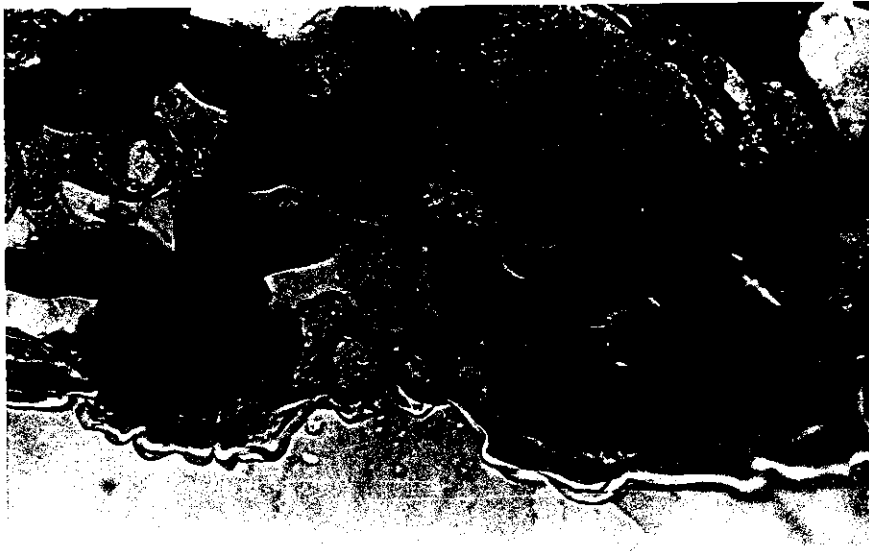


Figura 15. Detalhe da superfície abaxial em corte transversal de *Rapanea guianensis*. Pode-se observar estômato com células-guardas de lúmen grande, com cristas externas e paredes pouco espessas. Coloração com safranina e "fast green". Aumento de 320x.

A contagem dos estômatos não deu diferença significativa entre as porções mediana, distal e proximal das folhas, revelando apenas diferenças nas bordas das lâminas foliares, que acusavam número menor.

As nervuras não eram proeminentes e por isso com observações ao microscópio ótico visualizava-se uma distribuição regular dos estômatos.

Foram contados 150 estômatos por mm^2 em média, com máximo de 175 e mínimo de 100 estômatos, em folhas maduras. As folhas novas apresentavam 275 estômatos por mm^2 em média, com máximo de 325 e mínimo de 225 estômatos.

Em corte transversal, os estômatos apresentavam-se com parede celular pouco espessada e lúmen grande (Figura 15).



Figura 16. Vista frontal de estômato de *Rapanea guianensis* na microscopia eletrônica de varredura. Podem ser vistas três células subsidiárias. Bordas internas do estômato praticamente fechadas. Tratamento com secagem ao ponto crítico e cobertura com ouro. Aumento 1.040x.

Foi comum a observação de nectários extra-florais na superfície abaxial das folhas.

4.3. Fatores estudados

4.3.1. Ácido abscísico exógeno

Os resultados para o pincelamento do ABA em folhas de *Rapanea guianensis* estão apresentados na Tabela 3.

CONCENTRAÇÕES DE ABA	RESISTÊNCIA FOLIAR (s.cm ⁻¹)									
	1		2		3		4		5	
	a	d	a	d	a	d	a	d	a	d
10 ⁻⁷ M	4,3	5,6	4,7	6,2	3,6	5,1	4,2	5,2	4,9	4,6
10 ⁻⁶ M	5,6	6,1	3,9	4,2	4,8	4,6	5,3	5,1	4,2	5,7
10 ⁻⁴ M	4,0	8,2	4,2	9,4	5,1	14,6	4,7	16,1	4,1	13,1

Tabela 3. Pincelamento da superfície abaxial das folhas de *Rapanea guianensis* com ABA. Os números (1 a 5) representam as repetições feitas em diferentes dias de janeiro e fevereiro de 1981. As letras a e d significam antes e depois dos pincelamentos. O intervalo entre os dois era de uma hora. Os dados de r_f representam a média de dois valores obtidos com duas folhas diferentes.

Para a administração do ABA através de potômetros as repetições feitas mostraram a mesma tendência e os gráficos 2 e 3 são representativos desta série.

Em *Qualea grandiflora* as três concentrações de ABA foram capazes de induzir o aumento da resistência foliar. Após 2 horas a resistência foliar do material em montagens potométricas com ABA apresentou-se 2,5 a 3 vezes maior do que o material em montagem com água pura.

Em *Rapanea guianensis*, a sensibilidade da espécie ao ABA só se revelou em concentração mais alta (10⁻⁴M), quando, após 1 hora, a resistência foliar havia duplicado e, após 2 horas, triplicado.

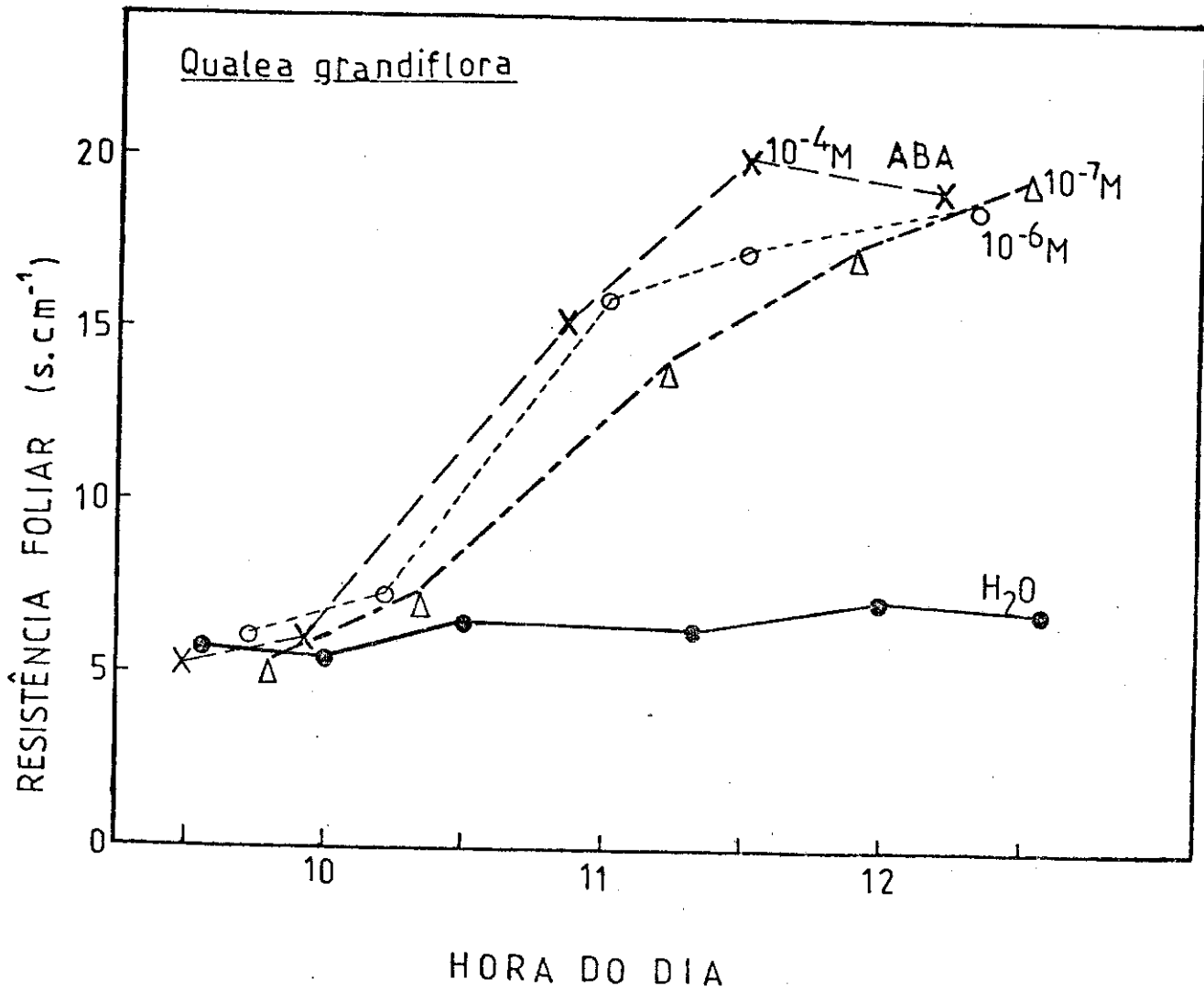


Gráfico 2. Resistência foliar de *Qualea grandiflora* em função da administração de ABA em concentrações de 10^{-4} , 10^{-6} e $10^{-7}M$ através de potômetro.

As concentrações de 10^{-6} e $10^{-7}M$ não causaram em nenhuma das repetições efeito significativo sobre a resistência foliar desta espécie (Gráfico 3).

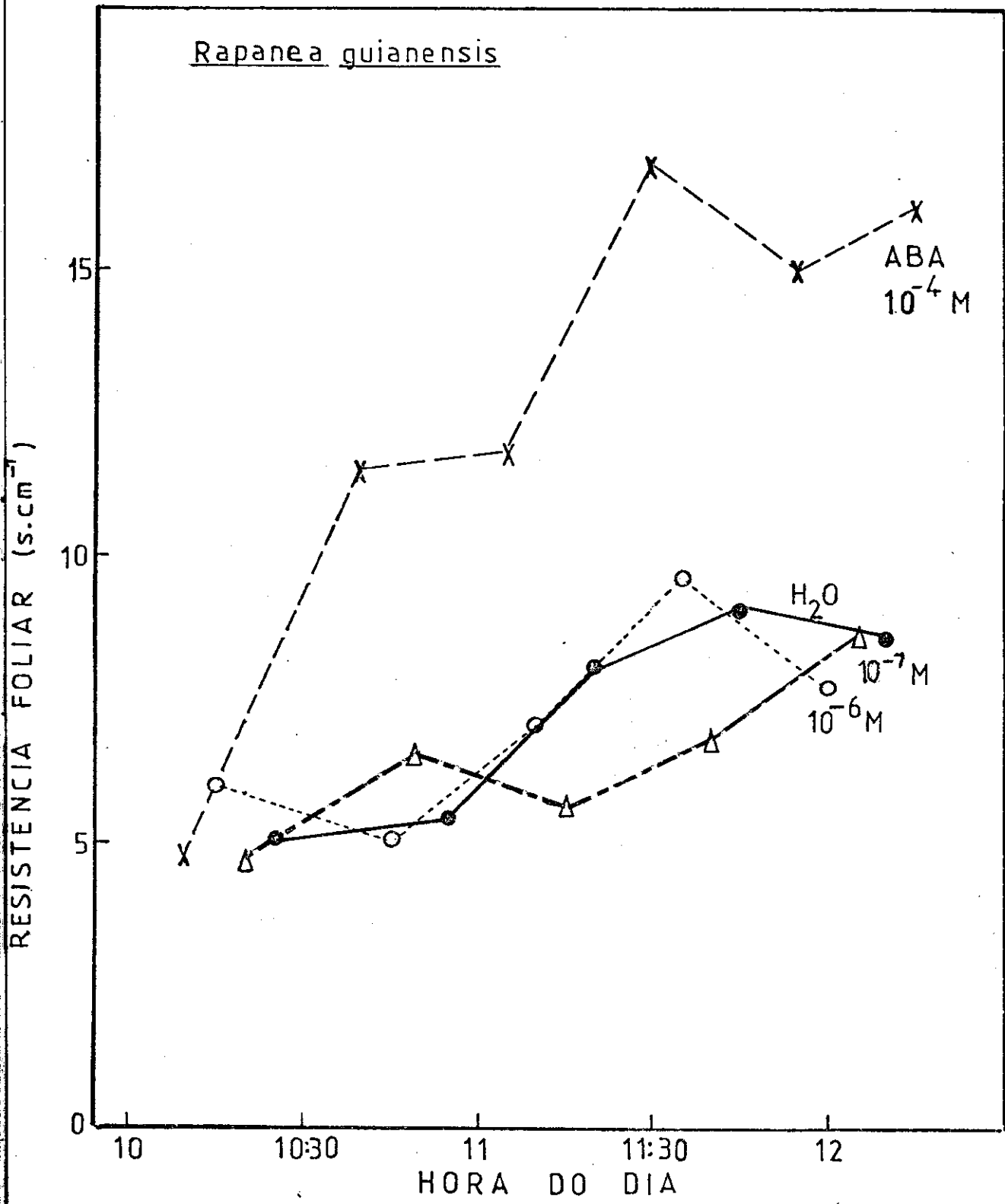


Gráfico 3. Resistência foliar de *Rapanea guianensis* em função da administração de ABA em concentrações de 10⁻⁴, 10⁻⁶ e 10⁻⁷ M através de potômetro.

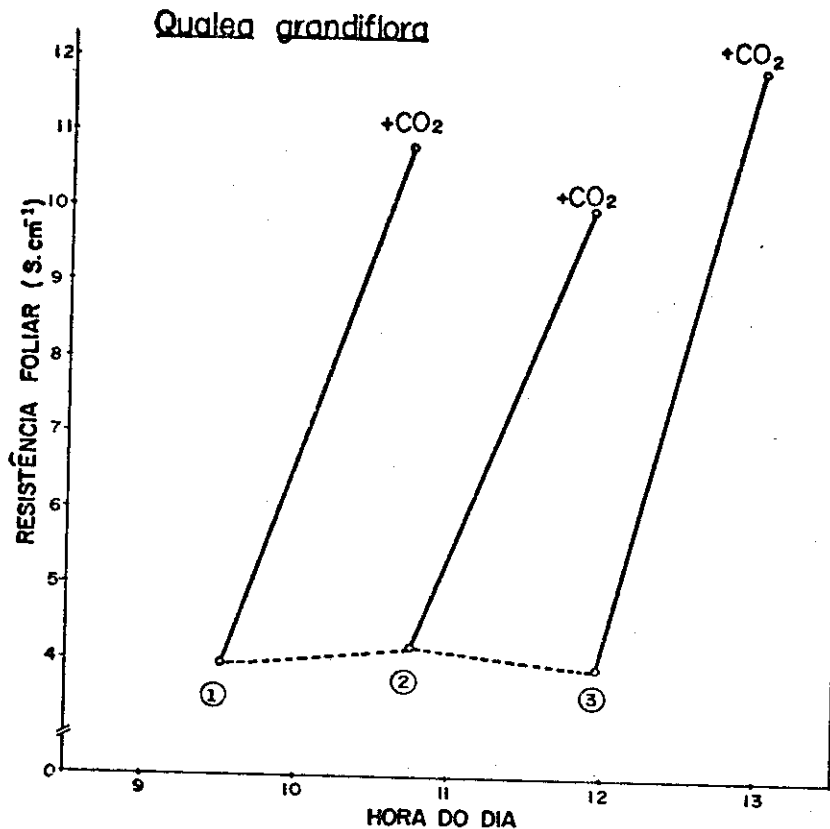


Gráfico 4. Resistência foliar de três folhas de *Qualea grandiflora* do mesmo indivíduo antes e depois de tratamento com 900 ppm de CO₂.

4.3.2. Dióxido de carbono

Os experimentos feitos com 1/2, 1 e 2 horas em *Rapanea guianensis* demonstraram efeitos semelhantes, isto é, a resposta aos tratamentos se efetuava antes de 1/2 hora, uma vez que os resultados nos três intervalos não deram diferenças significativas.

Era considerada uma diferença significativa uma resistência foliar que ultrapassasse as diferenças entre os resultados de um tratamento no mesmo intervalo de tempo.

Em *Qualea grandiflora*, não havia aumento de resistência foliar nos tratamentos de 1/2 hora. Nos de 1 e 2 horas encontrou-se respostas sem diferenças significativas.

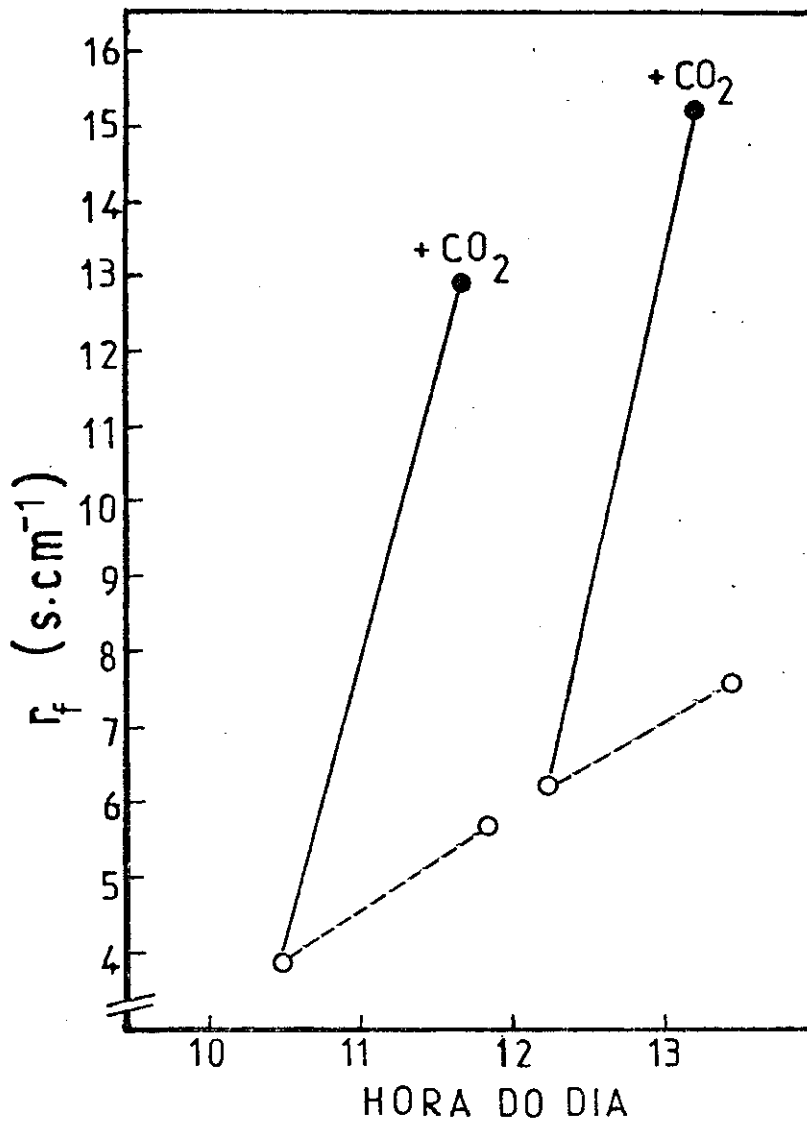


Gráfico 5. Resistência foliar de quatro folhas de *Rapanea guianensis* do mesmo indivíduo a concentrações de CO₂ de 300 ppm (linha pontilhada) e 900 ppm (linha contínua).

Os gráficos 4 e 5 representam os dados obtidos nesta série de experimentos, após intervalos de 1 hora.

4.3.3. Déficit hídrico

Em *Qualea grandiflora*, na estação seca de 1980 (junho, julho) o efeito do destaque da folha sobre a resistência foliar, em geral, levou no mínimo 15 minutos para se

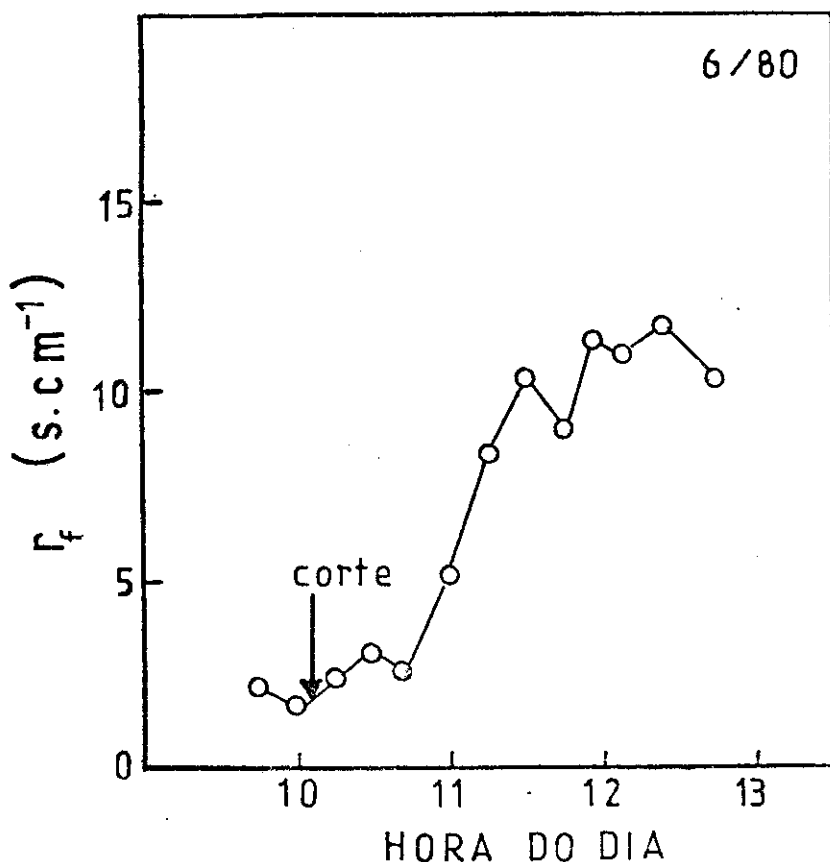


Gráfico 6. Resistência de *Qualea grandiflora* com relação ao destaque da folha, sob radiação solar de $684-741 \text{ Wm}^{-2}$, na estação seca de 1980.

tornar perceptível, uma vez que nesta época, os valores da resistência foliar nas condições ambientais eram baixos (em média, $1 \text{ a } 2 \text{ s.cm}^{-1}$) e as oscilações naturais facilmente ultrapassavam duas ou três vezes os valores mais baixos.

Após uma hora os valores se tornavam aproximadamente 5 vezes mais altos e, de maneira geral, daí por diante, os valores tomados se assemelhavam a oscilações e não à resposta ao tratamento (Gráfico 6).

Na estação chuvosa de 1981 foram obtidos valores de resistência foliar nas condições ambientais cerca de 5 vezes maiores do que na estação seca e a resposta ao destaque da folha tornou-se, em média, o dobro daquela encontrada (Comparação dos gráficos 6 e 7). A resistência foliar, após meia hora já era o dobro do valor da encontrada nas condições'

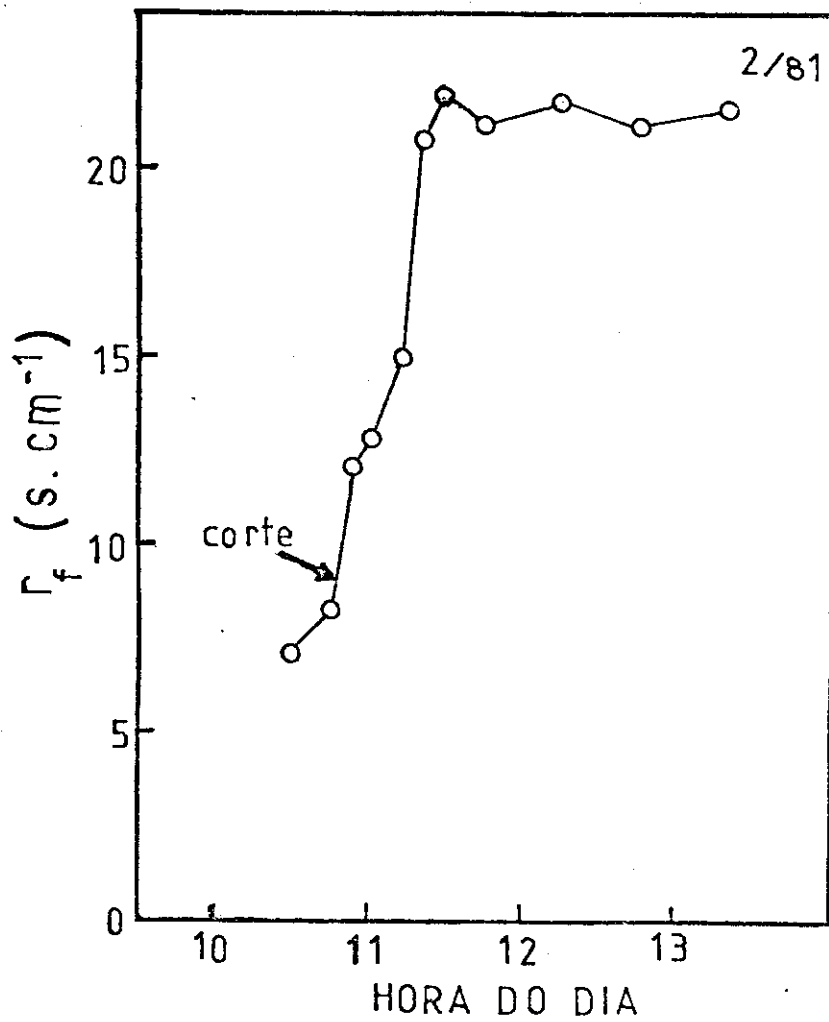


Gráfico 7. Resistência foliar de *Qualea grandiflora* com relação ao destaque da folha, sob radiação solar de $570-627 Wm^{-2}$, na estação chuvosa de 1981.

ambientais. Após uma hora foram obtidos valores acima do triplo dos valores iniciais (Gráfico 7).

Os gráficos 6 e 7 são representativos das diversas repetições feitas nas respectivas épocas.

Em *Rapanea guianensis* os valores mínimos de resistência foliar normalmente encontrados em junho e julho de 1980 eram inferiores a 5 s.cm^{-1} , enquanto em janeiro a fevereiro de 1981 raramente eram abaixo deste valor.

Os valores das medidas de resistência foliar na estação seca de 1980, após meia hora, não diferiam dos obtidos através das medidas com as folhas-controles. Aproximadamente uma hora depois atingiam valores que eram o dobro dos iniciais e após este tempo, alcançavam cerca de 10 vezes os valores iniciais (Gráfico 8).

Na estação chuvosa de 1981, também após aproximadamente uma hora de destaque da folha, as resistências foliares foram alcançando valores significativamente diferentes dos obtidos inicialmente. Após duas horas de destaque, as resistências foliares máximas para o caso foram obtidas (Gráfico 9).

Os valores após uma hora de destaque podem ter sido devidos ao ressecamento total da folha.

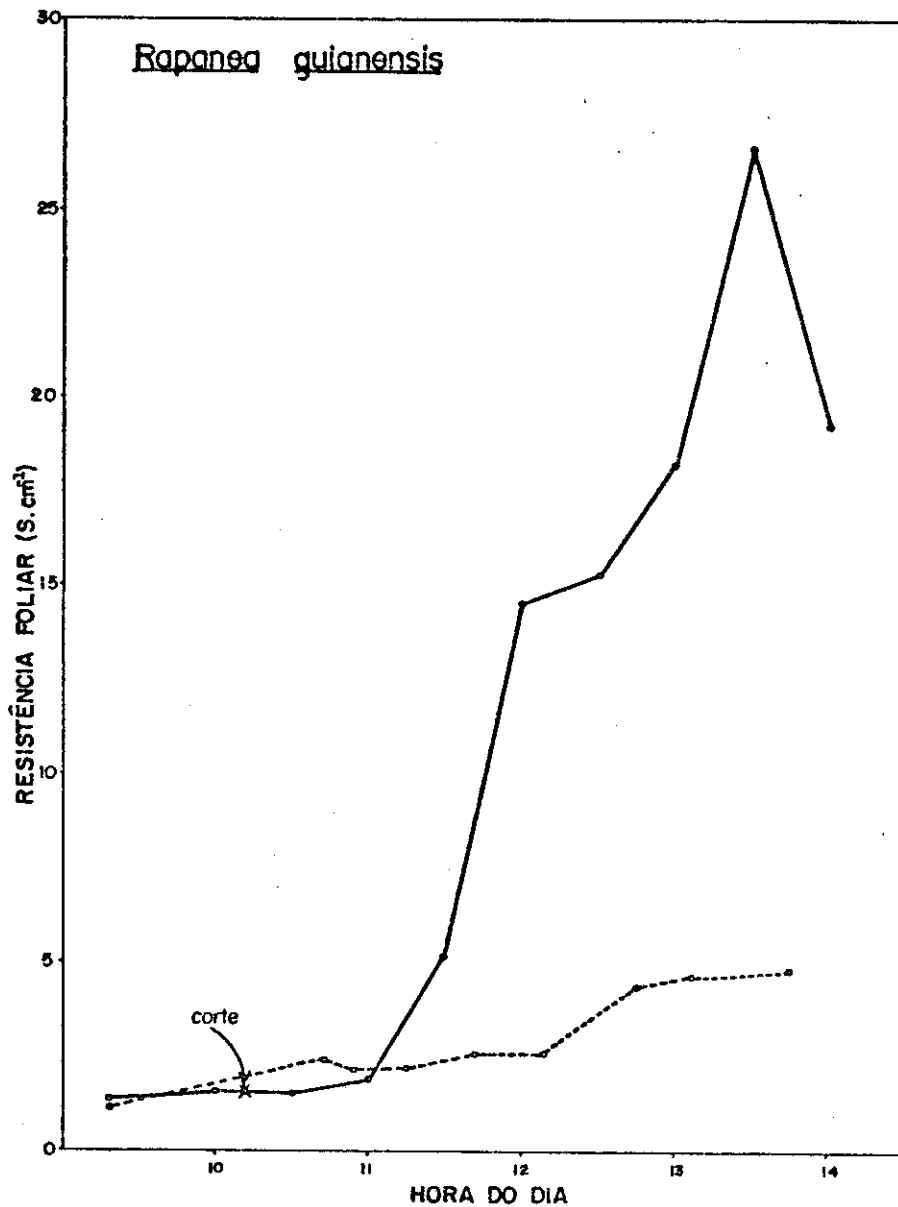


Gráfico 8. Resistência foliar de *Rapanea guianensis* com relação ao destaque da folha (linha contínua). A linha pontilhada representa a folha-controle, do mesmo indivíduo, sob mesmas condições climáticas no campo, na estação seca de 1980.

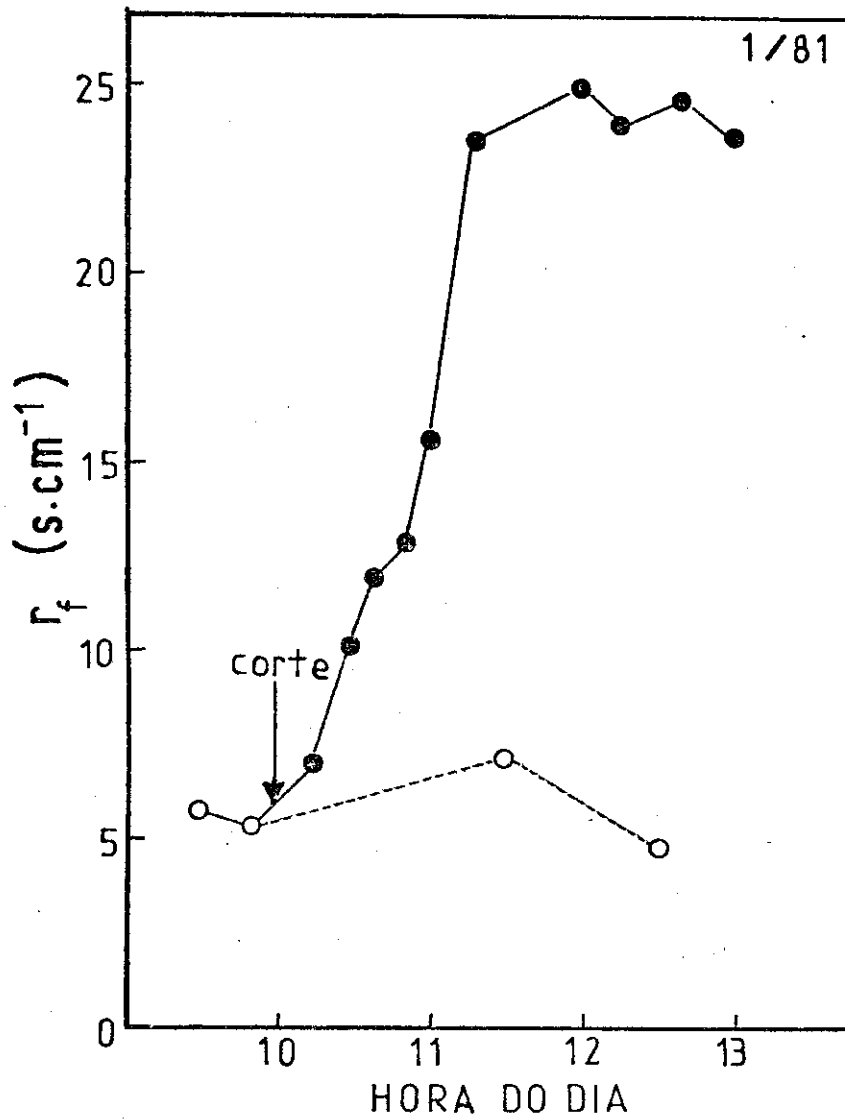


Gráfico 9. Resistência foliar de *Rapanea guianensis* com relação ao destaque da folha (linha contínua). A linha pontilhada representa folha-controle, do mesmo indivíduo, sob mesmas condições climáticas no campo, na estação chuvosa de 1981.

4.3.4. Intensidade de Luz

O gráfico 10 é representativo da série de experimentos com *Qualea grandiflora*, onde pode-se observar a resposta demorada ao tratamento no escuro. Em média, utilizando-se todos os dados coletados no período seco de 1980, obtinha-se resultado significativamente diferente dos dados na luz, após uma hora do material ter sido colocado no escuro.

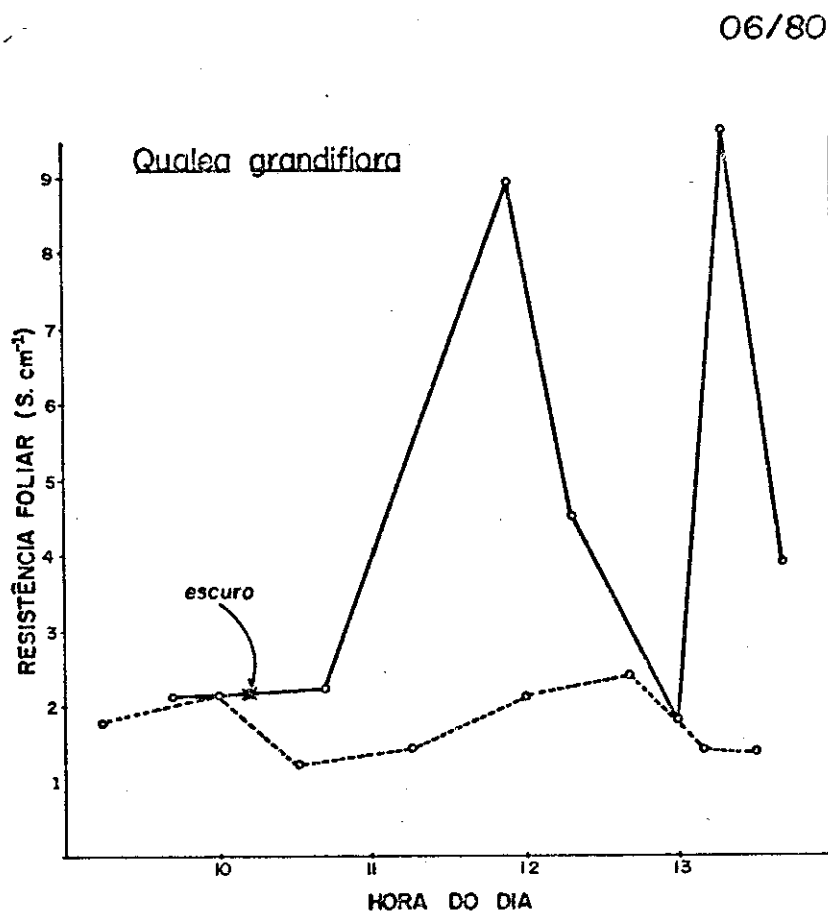


Gráfico 10. Representação da resposta estomática de *Qualea grandiflora* ao escuro (linha contínua). A linha pontilhada representa a folha-controle no mesmo indivíduo, mantida à radiação solar de 570-650 W.m⁻². Dados coletados em junho de 1980.

Qualea grandiflora

01/81

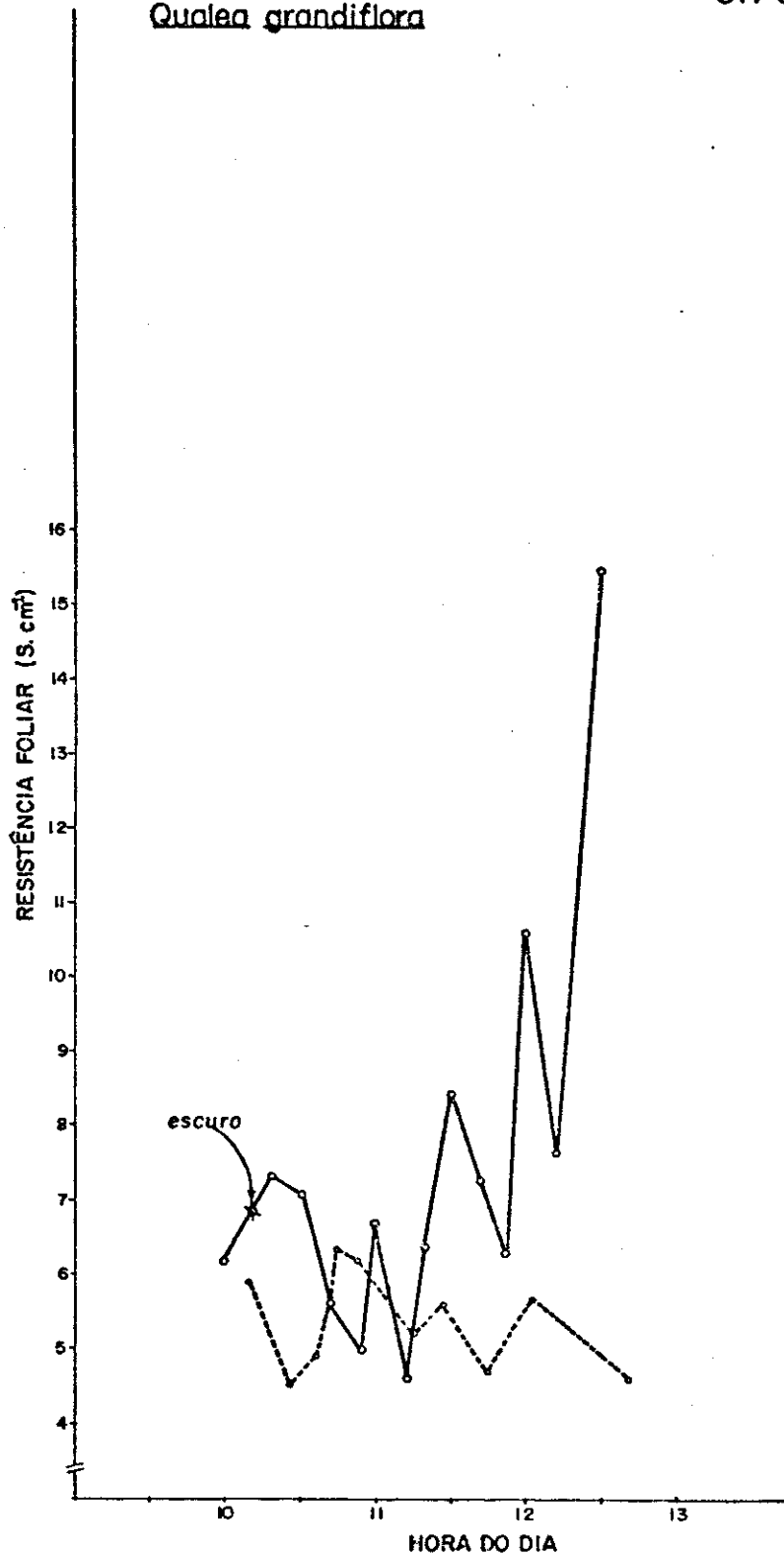


Gráfico 11. Representação da resposta estomática de *Qualea grandiflora* ao escuro (linha contínua). A linha pontilhada representa a folha-controle no mesmo indivíduo, mantida à radiação solar de $598-650 \text{ W.m}^{-2}$. Dados coletados em janeiro de 1981.

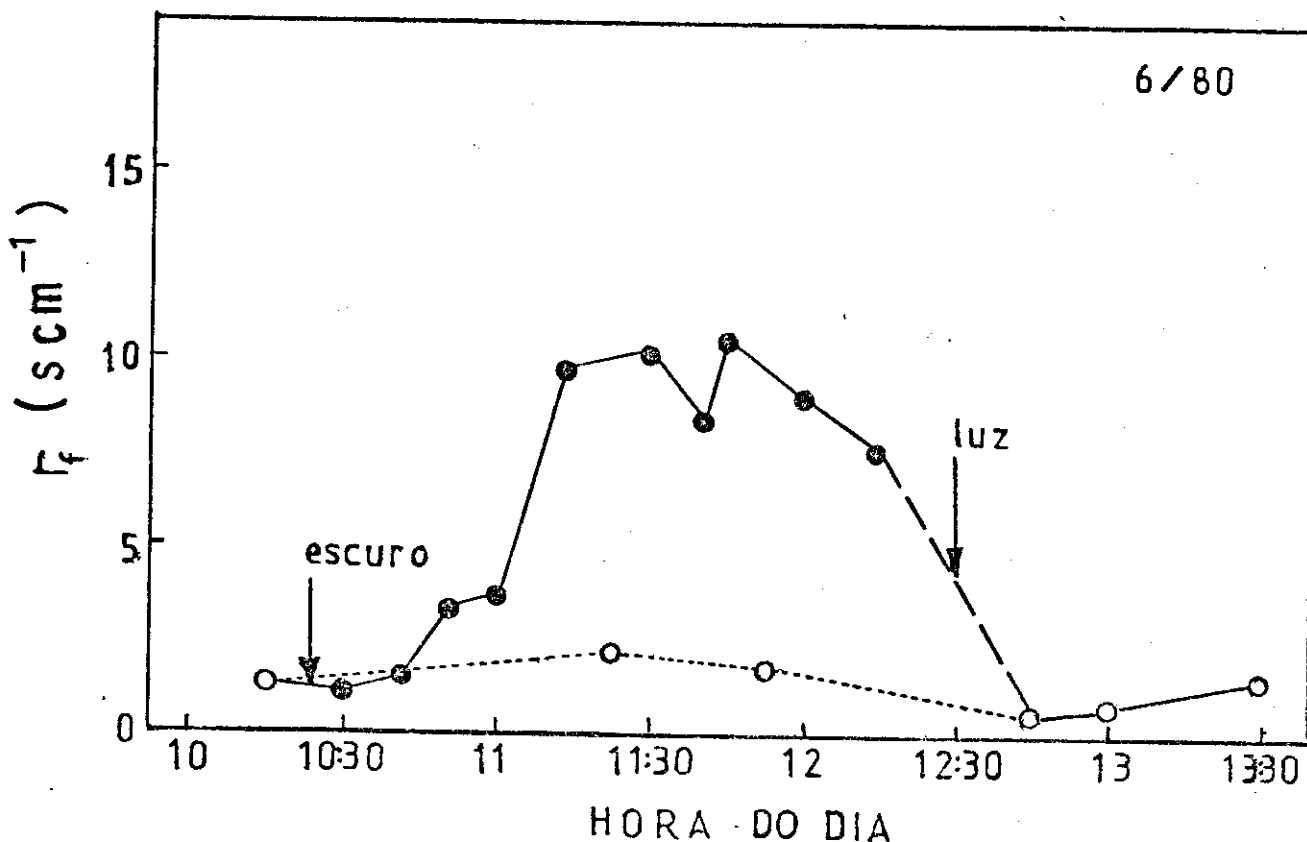


Gráfico 12. Representação da resposta estomática de *Rapanea guianensis* ao escuro (linha contínua). Após duas horas no escuro, a folha foi deixada novamente na luz, sob radiação que variava entre 456 a 570 $W.m^{-2}$, nas quais foram feitas as medidas da folha-controle. Dados coletados em junho de 1980.

No gráfico 11 a resposta de *Qualea grandiflora* ao escuro foi significativamente diferente dos dados coletados na luz após, em média, uma hora e meia. O gráfico representa a série dos experimentos na época chuvosa de 1981.

O gráfico 12 é representativo da série de experimentos feitos testando a resposta da resistência foliar de *Rapanea guianensis* ao escuro, na época seca de 1980. Em toda a série o intervalo de tempo necessário para a resposta à volta da radiação solar foi menor do que a resposta à ausência de luz. Naquele caso a média do intervalo de tempo era de 15 minutos, enquanto no caso do material colocado no escuro, nesta época, o intervalo de tempo médio era de 30 minutos aproximadamente.

No gráfico 13, pode-se observar os resultados na época chuvosa de 1981 (fevereiro). Neste caso, a resistência foliar normalmente encontrada sob radiação solar era de cerca de 5 vezes a encontrada na época seca. Importante ressaltar que as folhas na época seca eram novas, iniciando seu ciclo e não haviam passado ainda pela estação chuvosa.

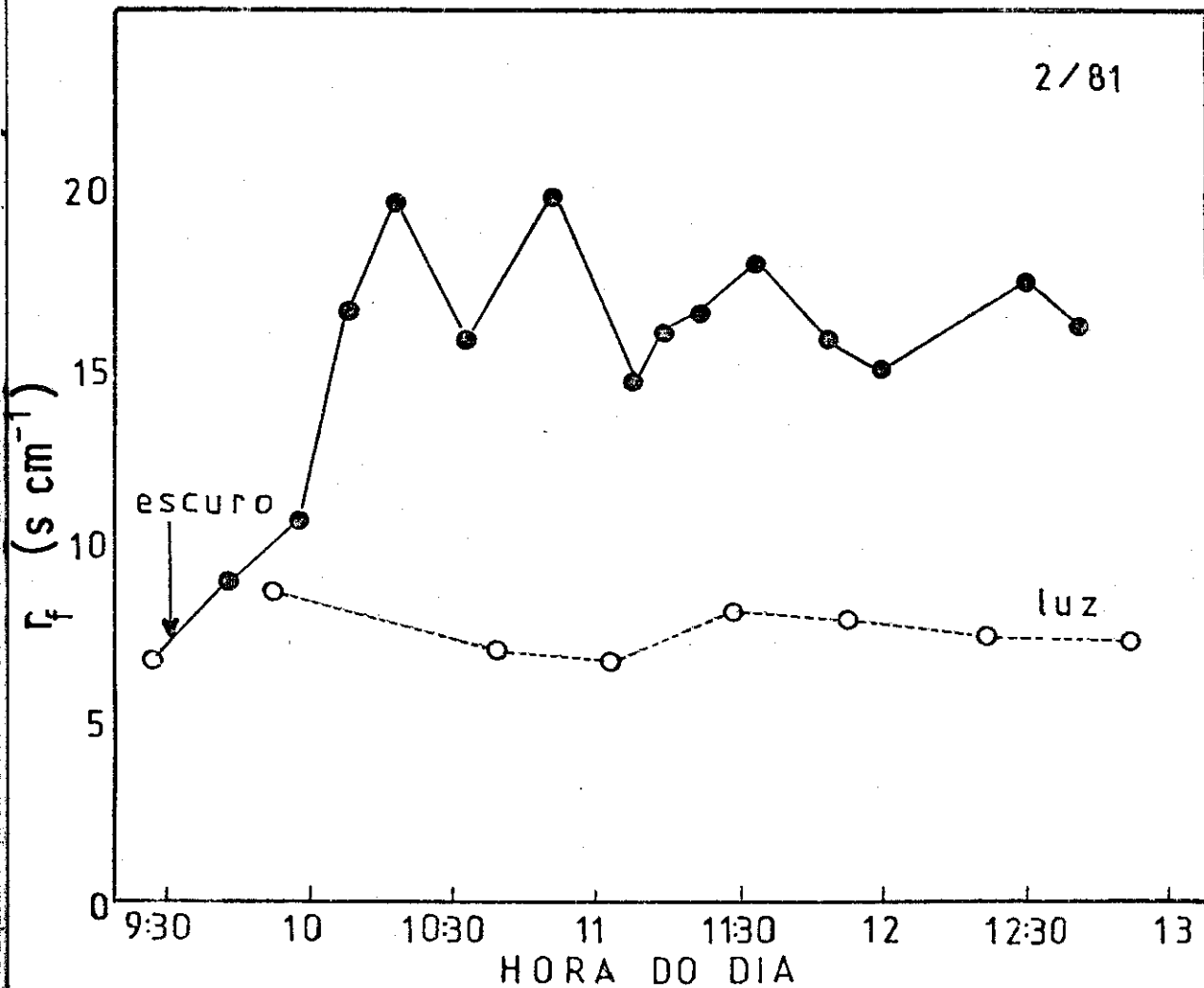


Gráfico 13. Representação da resposta estomática de *Rapanea guianensis* ao escuro na estação chuvosa de 1981 (fevereiro) descrita pela linha contínua. A linha pontilhada apresenta os valores da resistência foliar da folha-controle mantida à radiação solar de 570 a 650 W.m⁻².

A resposta ao escuro demorou em torno de 30 minutos também para ser perceptível.

Neste caso, a folha-controle era do mesmo indivíduo e apresentava-se sob radiação de $598-650 \text{ W.m}^{-2}$.

O gráfico 14 representa a relação entre a radiação solar recebida pelas folhas e a resistência foliar em *Qualea grandiflora*. Utilizou-se, no caso, o mesmo indivíduo para todas as medidas. O gráfico foi construído com as medidas obtidas na estação chuvosa de 1981.

Não foi possível determinar se havia uma faixa de radiação em que a resistência foliar fosse mínima.

No gráfico 15 pode-se observar as mesmas medidas para *Rapanea guianensis*. Aqui foi possível admitir uma faixa em que a resistência foliar era mínima, aproximadamente entre 400 e 700 W.m^{-2} .

4.3.5. Análise de nutrientes

Os dados obtidos na análise de solos encontram-se na Tabela 4.

As tabelas 5 e 6 mostram os resultados obtidos nas análises químicas das folhas de *Qualea grandiflora* e *Rapanea guianensis*, respectivamente.

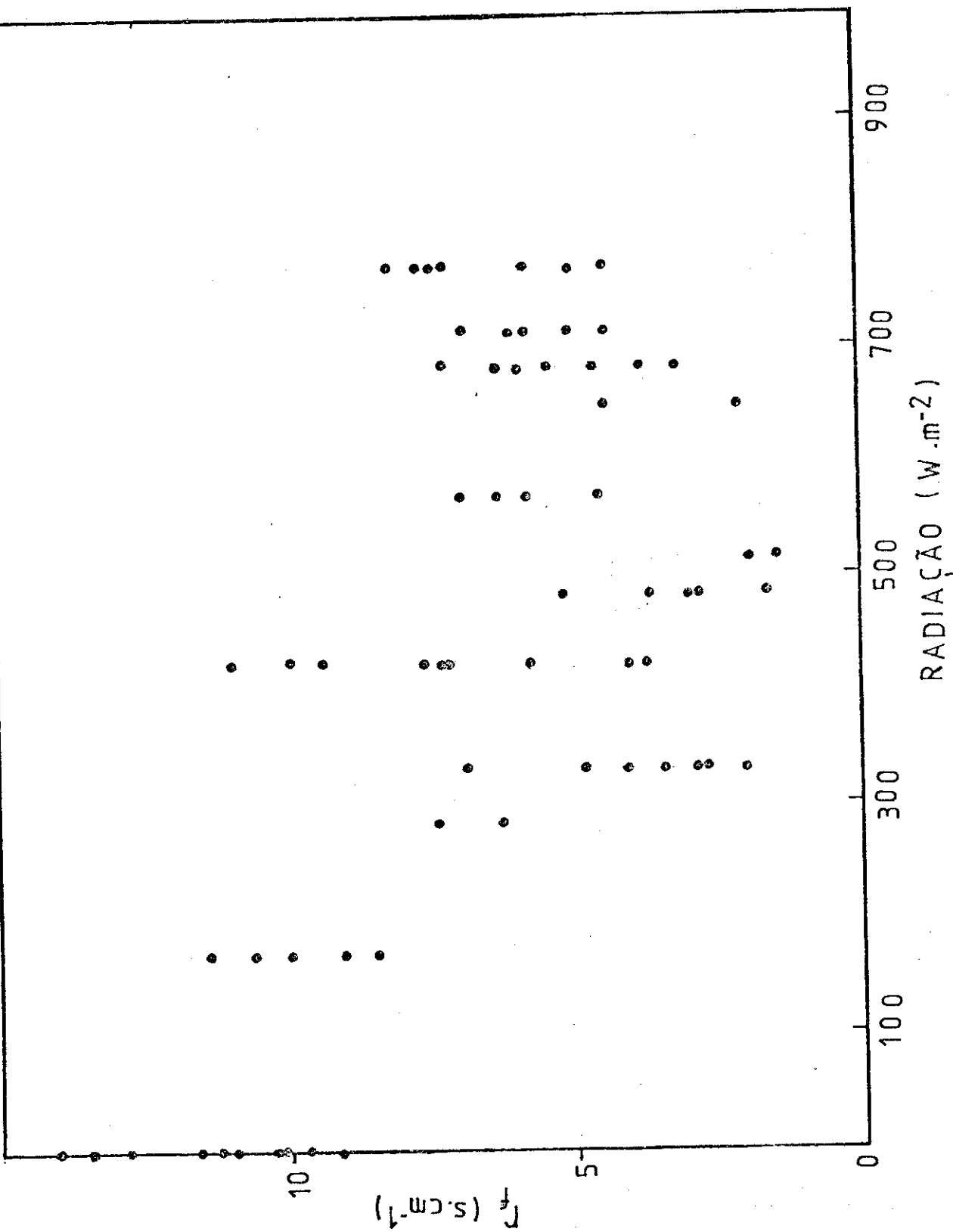


Gráfico 14. Relação entre radiação solar e resistência foliar em *Qualea grandiflora*. Os dados referem-se aos meses de janeiro e fevereiro e foram coletados entre 10:30h e 12:30h.

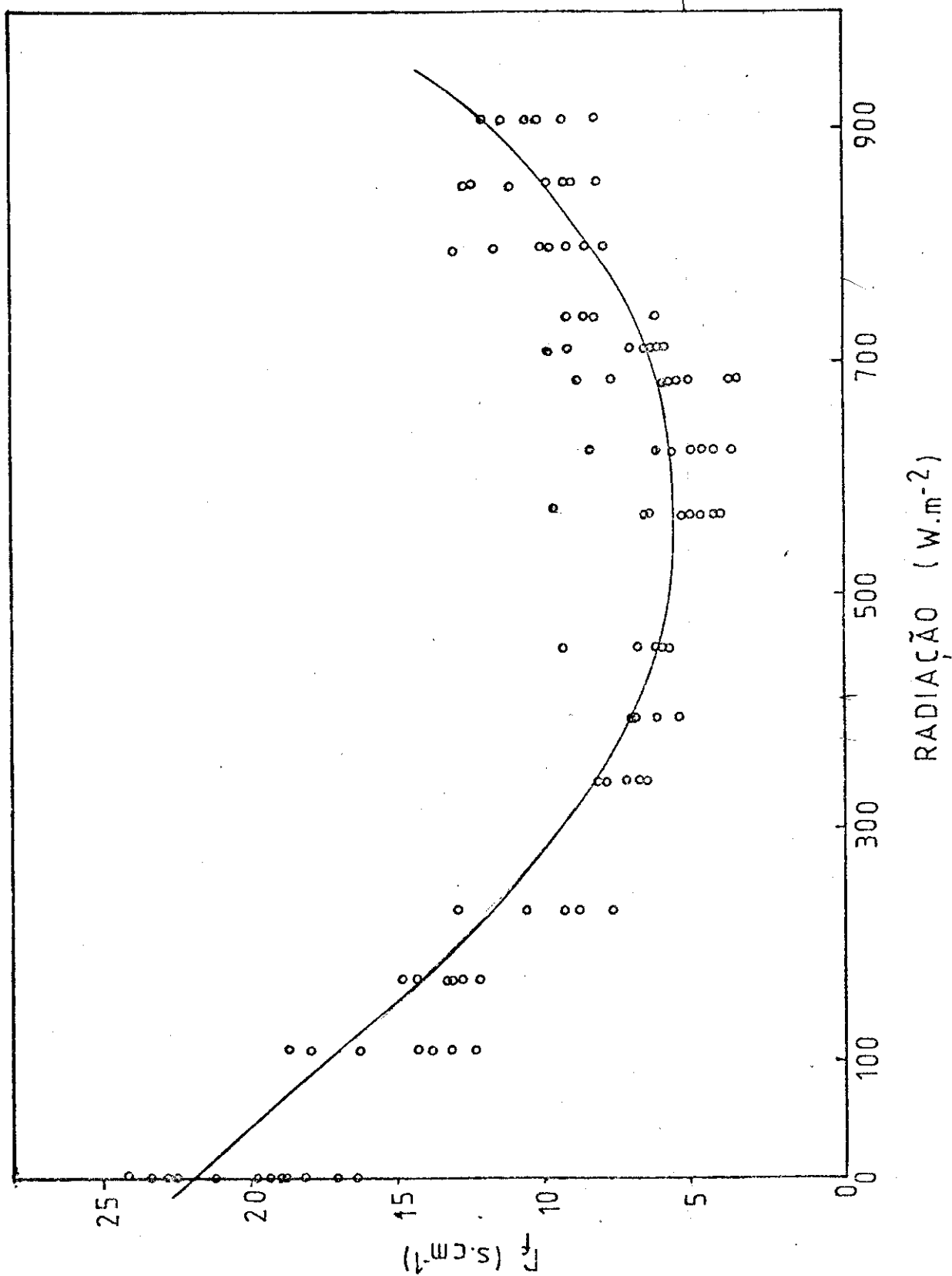


Gráfico 15. Relação entre radiação solar e resistência foliar em *Rapanea guianensis*. Os dados referem-se aos meses de janeiro e fevereiro e foram coletados entre 10:30h e 12:30h.

DATA	PROFUNDIDADE (cm)	CONCENTRAÇÃO DOS ELEMENTOS (m Eq/100g)					
		Ca ⁺⁺	Mg ⁺⁺	K ⁺	Na ⁺	Al ⁺⁺⁺	PO ₄ ⁻⁻⁻⁻
10/11/80	0-10	0,49	0,34	0,072	0,0014	0,76	-
	0-10	0,36	0,23	0,042	0,0020	0,53	-
	10-20	0,23	0,16	0,055	0,0022	0,59	-
	10-20	0,13	0,13	0,056	0,0022	0,57	-
14/01/81	0-10	0,19	0,19	0,074	0,0005	0,84	-
	10-20	0,28	0,19	0,060	0,0010	0,80	-
11/02/81	0-10	0,40	0,29	0,046	0,003	0,86	-
	0-10	0,94	0,51	0,075	0,0010	0,98	-
	10-20	0,31	0,20	0,078	0,0076	0,59	-
	10-20	0,16	0,13	0,055	0,000	0,54	-
11/03/81	0-10	0,30	0,12	0,011	0,0001	0,56	-
	0-10	0,19	0,17	0,069	0,0002	0,76	-
	10-20	0,23	0,10	0,033	0,0000	0,50	-
	10-20	0,11	0,12	0,054	0,0005	0,57	-

Tabela 4. Análise química do solo na área de estudos.

DATA	CARACTERÍSTICAS		CONCENTRAÇÃO DOS ELEMENTOS (ppm)					
			Ca ⁺⁺	Mg ⁺⁺	K ⁺	Na ⁺	Al ⁺⁺	PO ₄ ⁻⁻⁻
10/11/80	1	F.M.	2.535	894	972	147	6.551	500
10/11/80	2	F.M.	2.907	1.128	994	115	7.937	500
14/01/81	1	F.N.	2.387	1.249	1.417	140	9.660	500
	1	F.M.	3.172	858	909	124	8.487	375
	2	F.M.	3.316	1.077	948	94	10.500	375
11/02/81	1	F.M.	2.100	1.111	1.455	102	3.487	750
	1	F.N.	3.172	1.085	824	116	7.800	500
	2	F.N.	1.854	1.327	2.053	117	2.887	375
	2	F.M.	2.812	1.033	807	176	9.825	250
11/03/81	1	F.N.	2.299	1.852	2.940	94	2.272	375
	1	F.M.	2.334	1.818	3.109	112	1.965	550
	2	F.N.	2.764	1.042	788	148	9.025	375
	2	F.M.	2.462	1.068	733	143	9.200	375

Tabela 5. Análise química das folhas de *Qualea grandiflora*. Os números 1 e 2 indicam os indivíduos marcados no campo. As siglas F.N. e F.M. significam "folha nova" e "folha madura", respectivamente.

DATA	CARACTERÍSTICA	CONCENTRAÇÃO DOS ELEMENTOS (ppm)					
		Ca ⁺⁺	Mg ⁺⁺	K ⁺	Na ⁺	Al ⁺⁺⁺	PO ₄ ⁻⁻⁻
10/11/80	1 - FM	6.530	1.318	3.204	160	220	750
	2 - FM	3.868	1.163	4.059	157	262	1.000
14/01/81	1 - FN	4.864	1.111	1.963	117	220	250
	1 - FM	5.358	1.335	1.444	117	237,5	375
	2 - FN	4.468	1.284	3.717	151	237,5	750
	2 - FM	4.972	1.077	2.144	141	192,5	500
11/02/81	1 - FN	5.908	1.577	2.105	79	230	500
	1 - FM	2.596	973	4.240	123	228	1.375
	2 - FN	2.848	1.137	4.126	122	249	1.250
	2 - FM	4.360	929	1.485	110	201	250
11/03/81	1 - FN	2.492	1.050	4.278	190	205	1.250
	1 - FM	4.144	982	2.143	189	205	1.250
	2 - FN	3.496	1.068	4.297	188	230	1.000

Tabela 6. Análise química das folhas de *Rapanea guianensis*. Os números 1 e 2 indicam os indivíduos marcados no campo. As siglas FN e FM significam "folha nova" e "folha madura", respectivamente.

4.3.6. Fungos

Os fungos isolados no laboratório de Fitopatologia no mês de janeiro foram dos gêneros *Phomopsis* sp. *Pestalotia* sp. e *Botryodiplodia* sp., sendo que *Phomopsis* sp. estava presente em 4 das 6 placas de cultura, *Pestalotia* sp. estava em 2 placas e *Botryodiplodia* sp. presente em apenas uma.

Quando isolados novamente em março, apenas os gêneros *Pestalotia* sp. e *Phomopsis* sp. estavam presentes, sendo que o primeiro em 4 e o segundo em 2 placas.

5. DISCUSSÃO

5.1. Comparação entre técnicas para medi- das da resistência estomática

As medidas de resistência estomática' podem ser feitas por diferentes metodologias. De maneira geral, as mais práticas perdem em acuracidade e as mais sofisticadas exigem equipamento sensível e nem sempre de fácil acesso (Slavik, 1974).

Em geral, estudos relativos à resis -
tência estomática tendem a utilizar duas ou mais técnicas na ' tentativa de obter dados mais precisos, principalmente se a espécie não tiver sido estudada neste aspecto (Coutinho & Ferri 1960; Labouriau et al., 1964; Pemadasa & Jeyaseelan, 1977; Ceu lemans et al., 1978).

Das metodologias do presente trabalho, o usado porômetro de difusão de vapor de água mostrou-se a mais eficaz para nossos estudos comparativos, uma vez que a técnica de infiltração não se adaptou à *Qualea grandiflora*, as observa-
ções diretas ao microscópio ótico também não e a microscopia e letrônica de varredura, devido aos pêlos existentes na espécie, tornou-se bastante dispendiosa em tempo, embora com resultados excelentes para a observação direta dos estômatos. A vantagem, no entanto, da microscopia eletrônica de varredura é a visuali-
zação tridimensional das estruturas foliares, dando a idéia exata do posicionamento dos estômatos. Além disto, os cortes preparados com a secagem ao ponto crítico e cobertura com ouro podem ser guardados por vários meses e até anos, permitindo uma verificação posterior, se necessário.

A complexidade da cavidade estomática, muitas vezes coberta com cutícula espessa (Shiraishi et al. , 1978; Pallardy & Kozlowski, 1980) também dificulta a utiliza-
ção de técnicas simples e diretas, como as impressões feitas ' com silicone ou compostos dissolvidos (Leshem & Thaine, 1969).

O porômetro de difusão mede a resis -
tência foliar que é a soma da resistência estomática e da re -

sistência da camada limítrofe (Slavík, 1974). Sendo a resistência da camada limítrofe baixa e mais ou menos constante dentro da câmara do porômetro (ausência de vento) e sendo utilizados dados de mesma época do ano sob mesmas condições climáticas podia-se ter uma idéia sobre o comportamento dos estômatos.

A infiltração é metodologia bem menos sensível mas pode dar idéia do grau de abertura estomática diretamente, (Labouriau et al., 1964) tendo sido de grande utilidade neste trabalho pela rapidez com que se podia, a grosso modo, interpretar o comportamento estomático de *Rapanea guianensis*. A relação entre infiltração e porometria (Gráfico 1) demonstra que, para espécies com superfície abaxial glabra, aquela metodologia pode ser de grande utilidade.

Nenhuma técnica direta e rápida pode ser utilizada em *Qualea grandiflora* devido à alta incidência de pêlos na superfície abaxial.

Na comparação entre os dados obtidos com o porômetro de difusão e a microscopia eletrônica de varredura no tratamento com escuro em *Qualea grandiflora* não houve a correspondência que se poderia esperar, devido às oscilações na resposta da espécie. Em *Rapanea guianensis*, pelo fato das medidas no escuro terem sido mais constantes, houve correlação melhor entre as duas metodologias.

As oscilações estomáticas de espécies expostas às condições "constantes" do campo são motivo de diversos trabalhos e são atribuídas a mudanças de estado de turgor na planta ou a mecanismos de "feed-back" das folhas em relação a variações microclimáticas (Barrs & Klipper, 1968; Lang et al., 1969; Shiraishi et al., 1978; Eliáš, 1979).

5.2. Comparação da anatomia foliar das duas espécies.

Os cortes anatômicos das folhas revelaram características bem distintas entre as duas.

As descrições da anatomia foliar não foram extensas devido a se encontrarem na literatura. *Qualea*

grandiflora foi descrita por Morretes & Ferri (1959) e *Rapanea guianensis* enquadra-se perfeitamente na descrição da família ' por Metcalfe & Chalk (1950).

Qualea grandiflora apresenta muitas características xeromórficas, descritas por Arens (1958), Esau (1974) e Ferri (1979) tais como parênquima paliçádico mais desenvolvido do que o esponjoso, venação densa, bainhas esclerenquimáticas, estômatos ocorrendo em depressões (entre as nervuras), tamanho pequeno dos mesmos, lúmen estreito das células guardas e a abundância de pêlos, principalmente recobrimdo as depressões.

Rapanea guianensis, por sua vez, não apresentou nenhuma das características acima citadas, embora ' tenha crescido sob intensidade luminosa alta, o que poderia acarretar o desenvolvimento daquelas características (Esau, 1974). Não apresentava parênquima paliçádico, as células-guardas dos estômatos, de maneira geral, estavam ao mesmo nível das outras células epidérmicas ou em suaves depressões e não possuía estruturas fortemente esclerificadas. Segundo Esau (1974) estas características são normais em folhas hidromorfas mas também são encontradas em graus diferentes nas plantas herbáceas com condições de moderada quantidade de umidade disponível.

A única característica de planta xeromórfica observada nas folhas de *Rapanea guianensis* foi a apresentação de cristas cuticulares nas células-guardas dos estômatos (Stace, 1965).

Embora a cutícula de *Rapanea guianensis* tenha sido mais espessa do que a de *Qualea grandiflora* isto não representa maior eficiência na economia de água uma vez que é de maior importância a composição química das mesmas do que a espessura (Stace, 1965; Camargo, 1970).

Qualea grandiflora apresentou estômatos obliterados.

Esta obliteração do ostíolo por cera ou cutina foi descrita por Pallardy e Kozlowski (1980) em fo-

ticulares dispostas radialmente às células-guardas dos estômatos devem-se a fatores ambientais, principalmente baixa umidade do ar (Stace, 1965).

A ocorrência de alguns estômatos com fendas internas bidivididas não foi descrita na literatura até o momento e talvez seja devida a início de obliteração nas células-guardas ou a princípio de fechamento das mesmas em forma de 8 (Shiraishi et al., 1978).

O número de estômatos por mm^2 , em *Rapanea guianensis* não mostrou variações amplas devido à ausência de nervuras salientes e a utilização de folhas inseridas mais ou menos à mesma altura dos ramos e sob mesmas condições de radiação solar e outras variações ambientais. Estas variações foram discutidas por Stace (1965).

No caso de *Qualea grandiflora* a variação não foi também muito ampla porque não foi levada em conta a superfície sem estômatos das nervuras, isto é, a distribuição possuía certa regularidade dentro das criptas estomatíferas. Na realidade, devido a saliências e reentrâncias na superfície e interior das criptas não foi permitido uma avaliação correta da distribuição dos estômatos, causa já sugerida por Morretes e Ferri (1959).

5.3. Fatores estudados

5.3.1. Ácido abscísico

O pincelamento da superfície abaxial de *Qualea grandiflora* não foi feito devido à presença dos pêlos que formam uma barreira a qualquer agente externo e, ainda, com a umidade provocada pelo ABA na superfície dos pêlos, formava-se um microclima ideal para o comportamento inverso à atuação do ABA (Lange et al., 1971; Osmond et al., 1979).

A utilização de potômetros para a aplicação do ABA deveu-se ao transporte deste através do xilema e floema descrito por Hoad (1973) e Alvim et al. (1976).

Esta técnica se aplicou adequadamente

às duas espécies e os dados obtidos mostram que *Qualea grandiflora* era mais sensível ao ABA exógeno do que *Rapanea guianensis*. Embora Lancaster et al. (1977) tenham sugerido que não se deve achar que o ABA é um regulador universal da abertura estomática, a resposta positiva de *Rapanea guianensis* à concentração de 10^{-4} M de ABA exclui a não eficiência do mesmo sobre a espécie. A ausência de fechamento estomático desta espécie às concentrações de 10^{-7} e 10^{-6} M de ABA deve ser atribuída a diferenças específicas entre *Rapanea guianensis* e *Qualea grandiflora*.

5.3.2. Dióxido de carbono

Segundo Raschke (1975) a concentração intercelular de CO_2 aumenta linearmente com a concentração externa e, em consequência, a fotossíntese é aumentada. O aumento da concentração intercelular de CO_2 em diversas espécies causa o fechamento dos estômatos (Sheriff, 1979) mas algumas espécies não respondem a este aumento (Zelitch, 1969). No caso presente, as duas espécies seguem o comportamento considerado "normal" pela maioria dos autores, diferindo apenas no intervalo de tempo necessário para uma resposta. Esta diferença pode ser atribuída a diferenças endógenas entre as espécies ou simplesmente à estrutura pilosa das folhas de *Qualea grandiflora* formando uma barreira entre os espaços intercelulares e o meio ambiente.

5.3.3. Déficit hídrico

A resposta das duas espécies ao destaque foliar foi de fechamento estomático, como na maioria das espécies de vegetais superiores (Gráficos 6, 7, 8 e 9).

A diferença entre a resposta de *Qualea grandiflora* na estação seca e chuvosa demonstrou menor resistência foliar na época em que as folhas estavam mais novas (estação seca), ao contrário do que se esperaria, supondo-se um papel para o enrijecimento da folha, principalmente com relação ao espessamento cuticular. No entanto, deve ficar claro que houve a utilização nas duas condições (estação seca e chuvosa) de folhas completamente expandidas, apresentando as mesmas características fisionômicas. Além disto, as medidas da

espessura do mesófilo e cutícula não mostraram tendência de aumento de uma estação para outra, sendo as diferenças máximas representantes de diferença folha a folha e não de estações.

Segundo Martin e Juniper (1970) o espessamento da cutícula pode acontecer em todos os estágios de desenvolvimento das folhas, mas mesmo quando ocorre em folhas maduras não significa que haja maior vedação à transpiração. Pode-se supor que os valores mais altos obtidos nos meses de janeiro, fevereiro e março devem-se ao fato de ter ocorrido maior resistência aerodinâmica que somada com a resistência estomática é detectada pelo porômetro (Slavík, 1974).

5.3.4. Intensidade de luz

As medidas de diferenças entre as folhas do mesmo indivíduo, feitas com o porômetro mostraram que as oscilações existentes em diversas espécies (Barrs & Klipper, 1968; entre outros) podem estar presentes nas duas espécies estudadas, quando sujeitas a condições naturais no campo. mas apresentam, neste caso, amplitude curta.

No escuro entretanto, após o fechamento inicial dos estômatos, estas oscilações apresentavam valores altos. Em *Qualea grandiflora* chegavam a ultrapassar os valores mínimos de resistência foliar encontrados sob radiação solar. As causas destas oscilações foram discutidas no item 5.1. e, no caso, é importante enfatizar a necessidade de se fazer diversas repetições de cada experimento utilizando-se intervalos de tempo diferentes, para que se possa ter uma idéia real do que ocorre em cada situação.

Quanto ao intervalo de tempo necessário para uma resposta ao tratamento do escuro ou qualquer outro fator, como já discutido por Shiraishi et al. (1978), é importante reconhecer a diferença entre fatores endógenos concernentes a cada espécie.

Nos gráficos 14 e 15, onde foram plotados dados obtidos em diversos dias sob diferentes intensidades luminosas e observando-se uma mesma faixa de radiação, po-

de-se ter idéia das variações nos diferentes dias, devido a outros fatores.

Em *Qualea grandiflora* foram obtidos valores de resistência foliar em alguns dias, sem diferenças significativas de outros obtidos no escuro (Gráfico 14). Isto significa que algum fator, excluindo a intensidade de luz, atua sobre a espécie. Como o gráfico foi feito com dados obtidos na estação chuvosa, exclui-se a possibilidade de falta de água no solo (Goodland & Ferri, 1979).

Em *Rapanea guianensis*, a radiação solar (Gráfico 15) demonstrou correlação com a resistência foliar, onde numa faixa de radiação "ótima" esta resistência seria mínima (para a época). Aos níveis de radiação maiores desta faixa "ótima" a resistência foliar tendia a aumentar novamente. A existência desta faixa de intensidade luminosa ideal para a espécie concorda com a teoria de Sheriff (1979) sobre o máximo de fotossíntese possível, para cada espécie, abrindo os estômatos.

5.3.5. Nutrientes

Os dados obtidos de nutrientes no solo são semelhantes aos citados por Goodland e Ferri (1979) para as mostras dos solos de cerrado do Triângulo Mineiro e não demonstram nenhuma novidade: o nível de fosfato foi baixíssimo (não detectável pela metodologia utilizada); o nível de potássio também foi baixo (em média, 0,054 mEq/100g, e o alumínio foi o íon de maior concentração (em média, 0,69m Eq/100g), sem variações sazonais nos níveis coletados.

Nas folhas, a análise dos nutrientes confirmou a propriedade de *Qualea grandiflora* como acumuladora de alumínio (concentrações de Al^{+++} não menores que 1.900ppm., atingindo valores acima de 10.000ppm.) já citada por Goodland e Ferri (1979). Embora citada genericamente como sendo acumuladora de alumínio também (Goodland & Ferri, 1979), *Rapanea guianensis* apresentou na sua análise níveis não superiores a 250ppm., podendo ser, neste caso, classificada segundo Goodland como não-acumuladora de alumínio.

O efeito das deficiências minerais sobre o mecanismo estomático exige experimentos em laboratório bem controlados (Nagarajah & Ratnasuriya, 1978) e, no presente caso, interessante foi observar níveis altos de potássio nas folhas de *Rapanea guianensis* do que nas de *Qualea grandiflora* parecendo estar associado à habilidade da espécie para responder aos fatores estudados.

5.3.6. Isolamento dos fungos em *Qualea grandiflora*

Os fungos isolados não pertenciam aos gêneros *Fusarium* spp. e *Fusicoccum* spp., porém *Phomopsis* sp. pertence a mesma ordem de *Fusicoccum* spp. - Esfaeropsidales. Estudos sobre a produção de fusicoccina por este gênero precisam ser feitos para uma conclusão sobre o assunto. Poderia ser uma resposta à queda das folhas de *Qualea grandiflora* no início da estação seca.

5.3.7. Considerações Gerais

Os valores de resistência foliar encontrados não variavam muito de uma espécie para outra e segundo Nobel (1974) a faixa de resistência estomática para espécies mesófitas oscilava entre 0,5 a 5 s.cm⁻¹ para estômatos abertos. No presente caso, foram feitas medidas de resistência foliar, que é a soma das resistências estomática e aerodinâmica. A média de resistência foliar mínima encontrada, sob condições de campo, foi de aproximadamente 3,0 s.cm⁻¹ para *Qualea grandiflora* e 2,5 s.cm⁻¹ para *Rapanea guianensis*.

Para plantas xerófitas Nobel (1974) calculou valores de resistência estomática acima de 20 s.cm⁻¹, para estômatos abertos.

Como os valores mínimos obtidos no presente trabalho chegaram a faixa menor do que 1 s.cm⁻¹, pode-se supor uma resistência aerodinâmica baixa e os dados obtidos se enquadram na faixa de plantas mesofíticas sugerida por Nobel.

Para os valores de resistência à transpiração cuticular Nobel sugere 30-200 s.cm⁻¹. No caso de *Rapanea guianensis* o valor máximo alcançado com os estômatos submetidos a tratamentos que os induziam ao fechamento foi de 26,5' s.cm⁻¹, e para *Qualea grandiflora* chegou a 21 s.cm⁻¹.

Levando-se em conta os resultados com a microscopia eletrônica de varredura mostrando uma percentagem dos estômatos abertos nos tratamentos de déficit hídrico e escuro, os resultados acham-se coerentes com os sugeridos por Nobel (1974).

6. Conclusões

Qualea grandiflora apresentou-se capaz de fechamento estomático ante todos os tratamentos que induziam, assim como *Rapanea guianensis*.

No presente trabalho, a porometria foi a metodologia mais aplicável, devido principalmente à estrutura foliar de *Qualea grandiflora*. Pode-se concluir que, para estruturas foliares semelhantes a esta, a porometria é o método mais adequado.

Os estômatos de *Rapanea guianensis*, pela facilidade com que são vistos ao microscópio ótico e microscópio eletrônico de varredura, pela adaptação da técnica de infiltração e por serem facilmente destacáveis junto com as outras células epidérmicas do resto do mesofilo constituem excelente material para estudos sobre mecanismo estomático, de maneira geral.

As duas espécies não apresentaram, nas estações seca e chuvosa, restrição à perda de água e as oscilações estomáticas nas condições de campo não apresentaram amplitudes grandes, estando, na maioria das vezes associadas às modificações na intensidade de luz solar incidente.

Embora as duas espécies apresentassem estruturas anatômicas diversas, não houve diferenças significativas nos valores encontrados para a resistência foliar através do porômetro de difusão.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALLAWAY, W.G., MANSFIELD, T.A. 1970. Experiments and observations on the aftereffect of wilting on stomata of Rumex sanguineus. Can. J. Bot. 48:513-521.
- ALVIM, P. de T., HAVIS, J.R. 1954. An improved infiltration series for studying stomatal-opening as illustrated with coffee. Plant Physiol. 29(1): 97-98.
- ALVIM, R., HEWITT, E.W., SAUNDERS, P.F. 1976. Seasonal variation in the hormone content of willow. I. Changes in abscissic acid content and cytokinin activity in the xylem sap. Plant Physiol. 57:474-76.
- ARENS, K. 1958. Considerações sobre as causas do xeromorfismo foliar. Bol. Fac. Fil. Ciênc. e Letr. USP. 224 Botânica 15:25-56.
- ARENS, K. 1963. As plantas lenhosas dos campos cerrados como flora adaptada às deficiências minerais do solo. in Simpósio sobre o cerrado. São Paulo. Ed. USP. 285-303.
- ARENS, K., FERRI, M.G., COUTINHO, L.M. 1958. Papel do fator nutricional na economia d'água de plantas do cerrado. Rev. de Biol. (Portugal) 1 (3/4): 313-324.
- BARRS, H.D., KLIPPER, B. 1968. Cyclic variations in plant properties under constant environmental conditions. Physiol. Plant. 21:711-730.
- CAMARGO, P.N. 1970. Princípios de nutrição foliar. Editora Agrônômica Ceres. São Paulo. 118 pp.
- CEULEMANS, R., IMPENS, I., LEMEUR, R., MOERMANS, R., SANSUDDIN, Z. 1978. Water movement in soil-poplar-atmosphere system: II. Comparative study of the transpiration regulation during water stress situations in four diff-poplar clones. Oecol. Plant. 13(2):139-146.

- CHAPMAN, H.D. 1957. Methods of Analysis for soils, plants and waters. Oxford-London-New York. Blackwell Scientific Publications.
- CODEPLAN, 1976. Diagnóstico do espaço natural do D.F. Brasília, 300 pp.
- COUTINHO, L.M., FERRI, M.G. 1956. Transpiração de plantas permanentes do cerrado na estação das chuvas. Rev. Bras. Biol. 16:501-518.
- COUTINHO, L. M., FERRI, M.G. 1960. Transpiração e comportamento estomático de plantas permanentes do cerrado em Campo do Mourão - Paraná. Bol. Fac. Fil. Ciênc. e Letr. USP - 247. Botânica. 17:119-130.
- EGLI, D.B. 1970. Photosynthetic rate of three soybean communities as related to carbon dioxide levels and solar radiation. Agron. J. 62:411-414.
- ELIÁŠ, P. 1979. Stomatal oscillations in adult forest trees in natural environment. Biol. Plant. 21(1): 71-74.
- ESAU, K. 1974. Anatomia das plantas com sementes. São Paulo. Editora da USP. 293 pp.
- FERRI, M.G. 1955. Contribuição ao conhecimento da ecologia do cerrado e da caatinga. Bol. Fac. Fil. Ciênc. e Letr. USP.
- FERRI, M.G. 1979. Fisiologia Vegetal. Editora Pedagógica e Universitária Ltda. Ed. da USP. São Paulo. Vol.1 350 pp.
- FERRI, M.G., COUTINHO, L.M. 1958. Contribuição ao conhecimento da ecologia do cerrado. Estudo comparativo da economia d'água da vegetação em Emas (São Paulo), Campo Grande (Mato Grosso) e Goiânia (Goiás). Bol. da Fac. Fil. Ciênc. e Letr. USP. 224. Botânica 15:103-150.
- FISCHER, R.A. 1968. Role of potassium in stomatal opening in the leaf of Vicia faba. Plant Physiol. 47:555-58.

- X FRYNS-CLAESSENS, E. VAN COTTHEM, W. 1973. A new classification of the ontogenetic types of stomata. Bot. Rev. 1(39): 71-138.
- GOODLAND, R.J.A. FERRI, M.G. 1979. Ecologia do cerrado. Editora Itatiaia. São Paulo. Ed. da USP - São Paulo. 193 pp.
- GOVERNO DO DISTRITO FEDERAL, 1972. Inventário Florestal do Distrito Federal. Centro de Pesquisas Florestais da UFP. Curitiba 198 pp.
- GRISI, B. 1971. Contribuição ao conhecimento da ecologia vegetal dos cerrados. Balanço hídrico de dois espécimes de Ouratea spectabilis (Mart.) Engl. in III Simpósio sobre o cerrado: 86-99. São Paulo. Ed. USP e Ed. Edgard Blucher.
- HARRISON, M.A. WALKER, D.C. 1975. Abscisic acid metabolism in water-stressed bean leaves. Pl. Physiol Lancaster 56:250-54.
- HEATH, O.V.S. MEIDNER, H. 1957. Effects of carbon dioxide and temperature on stomata of Allium cepa L. Nature 180:181-2.
- HIRON. R.W.P. WRIGHT, S.T.C. 1973. The role of endogenous ABA in the response of plants to stress. J. Exp. Bot. 24:769-81.
- HOAD, G.V. 1973. Effect of moisture stress on abscisic acid levels in Ricinus communis L. with particular reference to phloem exudate. Planta. 113:367-72.
- HORTON, R.F. 1971. Stomatal opening: the role of abscisic acid. Can. J. Bot. 49:583-85.
- HORTON, R.F. MORAN, L. 1972. Abscisic acid inhibition of potassium flux into stomatal guard cells. Z. Pflanzenphysiol. 66: 193-96.
- HUMBLE, G.D. HSIAO, T.C. 1969. Specific requirement of potassium for light-activated opening of stomata in epidermal strips. Plant. Physiol. 44: 230-34.
- INANDAR; J.A., GANGADHARA, M: 1978. Effect of growth regulators on stomatal structured and development in the cotyledons of Legenaria leucantha (Duch.) Rusby. Aust. J. Bot. 23:13-254

- ITAI, C., MEIDNER, H. 1978. Functional epidermal cells are necessary for abscisic acid effects on guard cells.
J. Exp. Bot. 29:765-70.
- JOHANSEN, D.A. 1940. Plant Microtechnique. Mc Graw-Hill Book Company. New York and London. 390 pp.
- JONES, R.J., MANSFIELD, T.A. 1970. Suppression of stomatal opening in leaves treated with ABA. J. Exp. Bot. 21:714-19.
- KANEMASU, E.T., THURTELL, G.W., TANNER, C.B. 1969. Design, calibration and field use of a stomatal diffusion porometer.
Plant Physiol. 44:881-85.
- KARNOWSKY, M.J. 1965. A formaldehyde-glutaraldehyde fixative of high osmolarity for use in electron microscopy.
J. Biochem. Biol. Cytol. 27:139.
- KÖPPEN, W. 1948. Climatologia. Fundo de Cultura Econômica. Pânico 63, México (DF) 298 pp.
- KOZINKA, V. 1966. The effect of high concentrations of growth substances on water uptake. Biol. Plant. 8:235-245.
- LABOURIAU, L.F.G., VALIO, J.F.M., MACALHÃES, A.C., COARACI, M. 1964. Nota sobre a abertura estomática noturna em plantas dos cerrados. An. Acad. Bras. Ciênc. 36:465-477.
- LANCASTER, J.E., MANN, J.D., PORTER, N.G. 1977. Ineffectiveness of abscisic acid in stomatal closure of yellow lupin, Lupinus luteus var. weiko III. J. Exp. Bot. 28:184-191.
- LANG, A.R.G., KLEPPER, B., CUMMING, M.J. 1969. Leaf water balance during oscillation of stomatal aperture.
Plant Physiol. 44:826-830.
- LANGE, O.L., LOSCH, R., SCHULZE, E.D., KAPPEN, L. 1971. Responses of stomata to changes in humidity. Planta (100):76-86.

- LENTON, J.R., PERRY, V.M., SAUNDERS, P.F. 1971. The identification and quantitative analysis of abscisic acid in plant extracts by gas-liquid chromatography. Planta. 96:271-80.
- LESHEM, Y., THAINE, R. 1969. A note on the measurement of stomatal aperture. New Phytol. 68(4):1047-49 .
- LEVITT, J. 1974. The mechanism of stomatal movement - once more. Protoplasma 82:1-17.
- LEVITT, J., FISCHER, R.A. 1969. Stomatal opening: role of potassium uptake. Science (163):494.
- LITTLE, C.H.A., EIDT, D.C. 1968. Effects of abscisic acid on budbreak and transpiration in woody species. Nature 220:498 - 99.
- LONG, S.P., WOOLHOUSE, H.W. 1978. The responses of net photosynthesis to vapour pressure deficit and CO₂ concentration in Spartina townsendii (sensu lato) a C₄ species from a cool temperature climate. J. Exp. Bot. 29(110): 567-578.
- LÖSCH, R., SCHENK, B. 1978. Humidity responses of stomata and the potassium content of guard cells. J. Exp. Bot. 29(110) 781-788.
- LOVELESS, A.R. 1962. Further evidence to support a nutritional interpretation of scleromorphy. Ann. Bot. 26:551-561.
- LOVEYS, B.R. 1977. The intracellular location of abscisic acid in stressed and non-stressed leaf tissue. Physiol. Plant. 40:6-10.
- LUDLOW, M.M., JARVIS, P.G. 1971. Photosynthesis in Sitka Spruce (Picea sitchensis (Bong.) Carr.
I. General characteristics. J. App. Ecol. 8:925-953.
- MANSFIELD, T.A. 1976. Delay in the response of stomata to abscisic acid in CO₂ - free air. J. Exp. Bot. 27:559-64.

- MANSFIELD, T.A., JONES, R.J. 1971. Effects of ABA on K^+ uptake and starch content of stomatal guard cells. Planta 101:147-154.
- MANSFIELD, T.A., MEIDNER, H. 1966. Stomatal opening in light of different wavelenghts: effects of blue light independent of carbon-dioxide concentration. J. Exp. Bot. 17:510-21.
- MANSFIELD, T.A., WELLBURN, A.R., MOREIRA, T.J.S. 1978. The role of abscisic acid and farnesol in the alleviaton of water stress. Philos. Trans. R. Soc. London Ser. B. 284:471-82.
- MARINIS, G. de., MACIEL, H.E.T. 1968. Ecologia de Copaifera langsdorfii (Leg.) Desf. I- Proteção cuticular e estomatar contra a perda de água. R. Agric. Piracicaba. 43(2):55-61.
- MARRÉ, E. 1979. Fusicoccin: a tool in plant physiology. Ann. Rev. Plant Physiol. 30:273-88.
- MARTIN, J.T., JUNIPER, B.E. 1970. The cuticles of plants. Edward Arnold (Publishers) Ltd. Edinburgh. 347 pp.
- MEIDNER, H., MANSFIELD, T.A. 1965. Stomatal responses to illumination. Biol. Rev. (Cambridge). 40:483-507.
- METCALFE, C.R., CHALK, L. 1950. Anatomy of the dicotyledons. Vol. I e II. Clarendon Press. Oxford.
- METEOROLOGICAL OFFICE. 1978. Hygrometric tables. Part. III - Second Edition. Her Majesty's Stationery Office. London.
- MILBORROW, B.V. 1974. The chemistry and physiology of ABA. Annu. Rev. Plant. Physiol. 25:259-307.
- MILBURN, J.A. 1979. An ideal viscous flow porometer. J. Exp. Bot. 30(118): 1021-1034.

- MITTELHEUSER, C.J., VAN STEVENINCK, R.F.M. 1969. Rapid action of ABA on photosynthesis and stomatal resistance. Planta 97:83-86.
- MORRETES, B.L., FERRI, M.G. 1959. Contribuição ao estudo da anatomia das folhas de plantas do cerrado. Bol. Fac. Fil.Ciênc. e Letr. USP 243. Botânica 16:7-70.
- MORROW, P.A., SLATYER, R.O. 1971. Leaf temperature effects on measurements of diffusive resistance to water vapour transfer. Plant Physiol. 47:559-561.
- NACARAJAH, S., RATNASURIYA, G.B. 1978. The effect of phosphorus and potassium deficiencies on transpiration in tea (Camellia sinensis). Physiol. Plant. 42:103-108.
- NEALES, T.F. 1970. Effect of ambient carbon dioxide concentration on the rate of transpiration of Agave americana in the dark. Nature (Lond.) 228:880-882.
- NELSON, S.D., MAYO, J.M. 1975. The occurrence of functional non-chlorophyllous guard cells in Paphyopedilum spp. Can.J. Bot. 53:1-7.
- NOBEL, P.S. 1974. Introduction to biophysical plant physiology. W.H. Freeman and Company. San Francisco. 488 pp.
- OSMOND, C.B., LUDLOW, M.M., DAWIS, R., COWAN, J.R., POWLES, S. B., WINTER, K. 1979. Stomatal responses to humidity in Opuntia inermis in relation to control of CO₂ and H₂O exchange patterns. Oecol. 41(1): 65-76.
- PALLARDY, S.G., KOZLOWSKI, T.T. 1979. Stomatal response of Populus clones to light intensity and vapor pressure deficit. Pl. Physiol. 64(1): 112-14.
- PALLAS, J.E. 1965. Transpiration and stomatal opening with changes in carbon dioxide content of the air. Science 147: 171-173 .

- PEMADASA, M.A., JEYASEELAN, K. 1977. Further observations on stomatal responses to sodium azide. New Phytol. 78:83-89.
- RASCHKE, K. 1975. Stomatal Action. Ann. Rev. Plant. Physiol. 26:309-40.
- RATTER, J.A. 1980. Notes on the vegetation of Fazenda Água Limpa (Brasília, D.F., Brasil) Royal Botanic Garden, Edinburgh.
- ROGERS, C.A., POWELL, R.D., SHARPE, P.J.H. 1979. Relationship of temperature to stomatal aperture and potassium accumulation in guard cells of Vicia faba. Plant. Physiol. 63:388-91.
- SCARTH, G.W. 1932. Mechanism of the action of light and other factors on stomatal movement. Plant. Physiol. 7:481-504.
- SCHANABL, H. 1978. The effect of Cl^- upon the sensitivity of starch-containing and starch-deficient stomata and guard cell protoplasts toward K ions, fusaric acid and ABA. Planta 144:95-100.
- SHERIFF, D.W. 1979. Stomatal aperture and the sensing of the environment by guard cells. Plant, Cell and Environ. 2:15-22.
- SHIRAIISHI, M., HASHIMOTO, Y., KURAIISHI, S. 1978. Cyclic variations of stomatal aperture observed under the scanning electron microscope. Plant. Cell Physiol. 19(4): 637-45.
- SINGH, B.N., GALSON, E., DASHEK, W., WALTON, D.C. 1979. Abscisic acid levels and metabolism in the leaf epidermal tissue of Tulipa gesneriana L. and Commelina communis L. Planta 146: 135-138.
- SLAVÍK, B. 1974. Methods of studying plant water relations. Publishing House of the Czechoslovak Academy of sciences. Springer Verlag-Berlin. 384 pp.

- SQUIRE, G.R., MANSFIELD, T.A. 1972. Studies of the mechanism of action of fusicoocin, the fungal toxin that induces wilting, and its interaction with abscisic acid. Planta 105:71-78.
- STACE, C. A. 1965. Cuticular studies as an aid to plant taxonomy. Bull. Brit. Museum (Botany) 4(1):1-78.
- SWANEY, B.L., ZELITCH, I. 1969. Direct determination of K ion accumulation in guard cells in relation to stomatal opening in light. Plant Physiol. 44:1350-54.
- TRAVIS, A.J., MANSFIELD, T.A. 1979. Stomatal responses to light and CO₂ are dependent on K Cl concentration. Planta, Cell and Environ. 2:319-323.
- TURNER, N.C., GRANITI, A. 1969. Fusicoocin: a fungal toxin that opens stomatal. Nature 223(6): 1070-71.
- TURNER, N.C., HEICHEL, G.H. 1977. Stomatal development and seasonal changes in diffusive resistance of primary and regrowth foliage of red oak (Quercus rubra L.) and red maple (Acer rubrum L.). New Phytol. 78(1): 71-81.
- VALIO, I.F.M., MORAES, V. 1966. Nota sobre a fixação noturna de CO₂ em plantas do cerrado. Arq. Bot. S.P. 4(2):101-104.
- VAN COTTEN, W.R.J. 1970. A classification of stomatal types. Bot. Jour. Linn. Soc. 63:235-297.
- WALTON, D.C. 1980. Biochemistry and physiology of abscisic acid. Ann. Rev. Plant Physiol.: 453-489.
- WILLMER, C.M., MANSFIELD, T.A. 1970. Effects of some metabolic inhibitors and temperature on ion stimulated stomatal opening in detached epidermis. New Phytol. 28:933-992.
- WORMER, T.M. 1965. The effect of soil moisture, N fertilization and some meteorological factors on stomatal aperture of Coffea arabica L. Ann. Bot. (Lond.) 29:523-539.

WRIGHT, S.T.C. 1969. ABA, the growth inhibitor induced in detached wheat leaves by a period of wilting. Nature 224:719-20.

ZELITCH, I. 1969. Stomatal control. Ann. Rev. Plant Physiol. 20: 329-350.