

JONATHAN WESLEY FERREIRA RIBEIRO

**ASPECTOS DO NICHOS DE REGENERAÇÃO EM DUAS ESPÉCIES
DE *Gochnatia* (ASTERACEAE) EM COMUNIDADE DE CERRADO**

ASSIS

2014

JONATHAN WESLEY FERREIRA RIBEIRO

**ASPECTOS DO NICHOS DE REGENERAÇÃO EM DUAS ESPÉCIES
DE *Gochnatia* (ASTERACEAE) EM COMUNIDADE DE CERRADO**

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências e Letras de Assis – UNESP – Universidade Estadual Paulista para a obtenção do título de Mestre em Biociências (Área de Conhecimento: Caracterização e Aplicação da Diversidade Biológica).

Orientadora: Dra. Rosana Marta Kolb

ASSIS

2014

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Biblioteca do Instituto Educacional de Assis – I E D A

Ribeiro, Jonathan Wesley Ferreira
R484a Aspectos do nicho de regeneração em duas espécies de *Gochnatia*
(Asteraceae) em comunidade de cerrado / Jonathan Wesley Ferreira
Ribeiro. Assis, 2014
92 f. il.

Dissertação de Mestrado – Faculdade de Ciências e Letras
de Assis – Universidade Estadual Paulista.
Orientadora: Dra. Rosana Marta Kolb

1. *Gochnatia barrosii*. 2. *Gochnatia polymorpha*. 3. Germinação.
4. Plasticidade fenotípica. 5. Anatomia foliar. I. Título.

CDD 634.6

Aos meus pais, Jonas e Edna, dedico.

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela vida e por permitir a concretização desta etapa.

Aos meus pais, Jonas e Edna, e a minha irmã (Grazi) e cunhado (Thiago), por todo amor, carinho e apoio incondicional nesta caminhada.

A Dra. Rosana Kolb, pela excelente orientação, paciência e amizade.

A Raquel e aos queridos amigos de laboratório, Carina, Graciele, Luiz Felipe, Milena, Suellen e Thais, por toda ajuda e colaboração no projeto, e pela amizade. Aos estagiários, Alison, Diego, Edivaldo, Guilherme e Henrique, pela ajuda em diversas etapas do projeto.

Aos colegas e amigos da Pós-Graduação, em especial, Érika, Flávia, Milena, Priscila, Vanessa e Yara, pelo auxílio nos experimentos e principalmente pela amizade.

Aos amigos distantes, pela amizade verdadeira, incentivo e apoio neste processo, especialmente ao Pedro, por toda ajuda.

Aos doutores (as) Darío Palmieri, Mônica Bertão, Regildo da Silva e Ciro Branco por cederem seus laboratórios e/ou equipamentos para a realização de partes deste estudo.

A Dra. Giselda Durigan pela leitura crítica e preciosas contribuições no texto durante a banca de qualificação.

Ao Dr. Massanori Takaki por realizar as medidas de V/VE, leitura crítica do texto e sugestões durante a banca.

Ao Dr. Luiz Fernando de Almeida pelo auxílio nas medidas de fluorescência, leitura crítica do texto e sugestões durante a banca.

Ao doutorando Danilo M. Franco pelo auxílio nas medidas de fluorescência.

Aos funcionários Gilberto e Allan pelo auxílio na parte experimental.

A FAPESP (processo 2013/03748-6) e a PROPG da UNESP pelas bolsas de mestrado concedidas.

Ao Instituto Florestal do Estado de São Paulo (COTEC) pela permissão para realização das coletas do material vegetal e medidas ambientais na Estação Ecológica de Assis.

Muito obrigado!

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO GERAL	11
REFERÊNCIAS	20
CAPÍTULO 1 – Nicho de germinação em duas espécies de <i>Gochnatia</i> (Asteraceae) ocorrentes no Cerrado	26
Resumo.....	27
Introdução.....	28
Material e métodos.....	30
Resultados.....	34
Discussão.....	41
Agradecimentos.....	45
Referências.....	45
CAPÍTULO 2 – Plasticidade morfofisiológica à luz em duas espécies de <i>Gochnatia</i> (Asteraceae) ocorrentes no Cerrado	50
Resumo.....	51
Introdução.....	52
Material e métodos.....	55
Resultados.....	61
Discussão.....	72
Agradecimentos.....	77
Referências.....	77
CONCLUSÕES GERAIS	84
APÊNDICE	85

LISTA DE TABELAS

Capítulo 1

Tabela 1. Temperatura (°C) na superfície do solo em diferentes micro-habitats na Estação Ecológica de Assis, SP, nos meses de outubro de 2012 e janeiro de 2013 em dois períodos do dia (8 e 12h).....35

Tabela 2. Porcentagem de sombreamento natural ao nível do solo em diferentes ambientes de cerrado *sensu stricto*, cerradão e em pleno sol, durante o período da manhã (8h) e tarde (12h) na Estação Ecológica de Assis, SP.....36

Tabela 3 – Resumo da Anova fatorial (axb) para o efeito de temperaturas constantes e luz sobre a germinação (G) e tempo médio de germinação (TMG) de cipselas de espécies de *Gochnatia*.....36

Tabela 4 – Porcentagem de germinação (G) e tempo médio de germinação (TMG) de cipselas de espécies de *Gochnatia* em diferentes temperaturas constantes de incubação na luz e no escuro.....37

Tabela 5 – Resumo da Anova fatorial (axb) para o efeito de temperaturas alternadas e luz sobre a germinação (G) e tempo médio de germinação (TMG) de cipselas de espécies de *Gochnatia*.....38

Tabela 6 – Porcentagem de germinação (G) e tempo médio de germinação (TMG) de cipselas de espécies de *Gochnatia* em diferentes temperaturas alternadas de incubação na luz e no escuro.....39

Capítulo 2

Tabela 1 – Comprimento do caule (cm), diâmetro do colo (mm) e índice de estiolamento ($\text{cm}\cdot\text{mm}^{-1}$) em plantas de *Gochnatia barrosii* e *G. polymorpha* submetidas a diferentes níveis de sombreamento (0, 50, 70 e 98%).....62

Tabela 2 – Concentração ($\mu\text{g}\cdot\text{cm}^2$) de pigmentos fotossintéticos em folhas de plantas de <i>Gochnatia barrosii</i> e <i>G. polymorpha</i> submetidas a diferentes níveis de sombreamento (0, 50, 70 e 98%).....	66
Tabela 3 – Atributos morfo-anatômicos foliares de plantas de <i>Gochnatia barrosii</i> e <i>G. polymorpha</i> submetidas a diferentes níveis de sombreamento (0, 50, 70 e 98%).....	68
Tabela 4 – Índice de plasticidade fenotípica (IPF) em relação à luz de atributos de crescimento, fisiológicos e morfo-anatômicos para <i>Gochnatia barrosii</i> e <i>G. polymorpha</i>	72

LISTA DE FIGURAS

Introdução Geral

Figura 1 – Indivíduo adulto (A), inflorescência (B) e cipselas (C) de <i>Gochnatia barrosii</i> ; e indivíduo adulto (D), tronco (E) e inflorescência (F) de <i>G. polymorpha</i>	18
---	----

Capítulo 1

Figura 1 – Temperaturas e precipitação mensal durante o ano de 2012 no município de Assis, SP.....	34
Figura 2 – Figura 2. Porcentagem de germinação e tempo médio de germinação (TMG) de cipselas de <i>Gochnatia barrosii</i> (A e B) e <i>G. polymorpha</i> (C e D) respectivamente, sob luz com diferentes razões de vermelho e vermelho extremo (V/VE 0,1; 0,5; 7,2).....	40
Figura 3 – Porcentagem de germinação e tempo médio de germinação (TMG) de cipselas de <i>Gochnatia barrosii</i> (A e B) e <i>G. polymorpha</i> (C e D) respectivamente, em diferentes potenciais osmóticos (MPa).....	41

Capítulo 2

Figura 1 – Biomassa seca das folhas (A; D), caule (B; E) e raízes (C; F) em plantas de *Gochnatia barrosii* (■) e *G. polymorpha* (▲) submetidas a diferentes níveis de sombreamento (0, 50, 70 e 98%).....61

Figura 2 – Condutância estomática (g_s) (A; B) e rendimento quântico potencial do PSII (F_v/F_m) (C; D) em folhas de plantas de *Gochnatia barrosii* (■) e *G. polymorpha* (▲) submetidas a diferentes níveis de sombreamento (0, 50, 70 e 98%).....63

Figura 3 – Curvas de saturação de luz em plantas de *Gochnatia barrosii* (A e C) e *G. polymorpha* (B e D) crescidas em diferentes níveis de sombreamento (0, 50, 70 e 98%). Taxa aparente de transporte de elétrons (ETR) (A e B), e quenching não fotoquímico (NPQ) (C e D).....65

Figura 4 – Seções transversais de folha de *Gochnatia barrosii* (A-D) e *G. polymorpha* (E-H), submetidas a diferentes níveis de sombreamento. A e E – 0%, B e F – 50%, C e G – 70%, e D e H – 98% de sombreamento.....70

Figura 5 – Posição dos indivíduos de *G. barrosii* (B) e *G. polymorpha* (P) submetidos a diferentes níveis de sombreamento (0 - plena luz; 50 - 50% sombreamento; 70 - 70% de sombreamento e 98 - 98% de sombreamento) nos dois primeiros componentes principais.....71

RIBEIRO, Jonathan Wesley Ferreira. **Aspectos do nicho de regeneração em duas espécies de *Gochnatia* (Asteraceae) em comunidade de Cerrado**. 2014. 92f. Dissertação (Mestrado em Biociências). – Faculdade de Ciências e Letras, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Assis, 2014.

RESUMO

Entender quais fatores determinam a distribuição ecológica das plantas é de suma importância para a conservação das suas espécies. As espécies *Gochnatia barrosii* e *G. polymorpha* apresentam padrões de distribuição distintos nas fitofisionomias do Cerrado, com *G. polymorpha* ocupando um maior número de micro-habitats em relação a *G. barrosii*. Diante disto, o objetivo deste estudo foi avaliar se os habitats preferenciais das espécies *G. barrosii* e *G. polymorpha* são distintos por restrições de água, temperatura ou de luz durante as fases iniciais de desenvolvimento, e também se o nicho de regeneração está relacionado com a distribuição ecológica das espécies em diferentes fitofisionomias do Cerrado. Foi avaliado o potencial germinativo das cipselas dessas espécies submetidas a diferentes fatores ambientais (temperaturas, qualidade de luz e disponibilidade de água) sob condições controladas. Além disso, avaliaram-se as respostas de crescimento, de atributos fisiológicos e morfo-anatômicos foliares em plantas submetidas a diferentes níveis de sombreamento em casa de vegetação. A espécie *G. polymorpha* apresentou maior amplitude térmica com porcentagens de germinação elevadas; mostrou ainda melhor desempenho nas respostas germinativas frente a diferentes situações, com menor sensibilidade à luz e maior tolerância ao estresse hídrico do que *G. barrosii*. Ambas as espécies apresentaram plasticidade fenotípica, sendo capazes de alterar suas características de crescimento, sua morfo-anatomia e fisiologia foliar em resposta aos diferentes níveis de sombreamento. Porém, a espécie *G. polymorpha* apresentou maior plasticidade fenotípica em relação a *G. barrosii*. Sendo assim, conclui-se que os fatores água, luz e temperatura são limitantes para a germinação das cipselas, sendo a luz um importante filtro ambiental também para o desenvolvimento inicial das plantas, e conseqüentemente, para a distribuição espacial destas espécies no Cerrado. As características de germinação e desenvolvimento das plantas em resposta aos diferentes fatores ambientais testados foram similares entre as espécies, não sendo possível afirmar, portanto, que os nichos de regeneração são distintos. No entanto, o nicho de regeneração nas espécies estudadas está relacionado com a distribuição ecológica em diferentes micro-habitats, explicando em parte o padrão de distribuição distinto dessas espécies no Cerrado.

Palavras-chave: Germinação. Temperaturas. Luz. Estresse hídrico. Plasticidade fenotípica. Sombreamento. Anatomia foliar.

RIBEIRO, Jonathan Wesley Ferreira. **Regeneration niche aspects of two *Gochnatia* species (Asteraceae) in Cerrado community**. 2014. 92p. Dissertation (Master's degree in Biosciences). – Faculty of Sciences and Languages of Assis, São Paulo State University, Assis, 2014.

ABSTRACT

Understanding which factors determine the ecological distribution of plants is very important for the conservation of their species. The *Gochnatia barrosii* and *G. polymorpha* species exhibit distinct patterns of distribution in the Cerrado phytophysognomies, with the species *G. polymorpha* occupying a larger number of micro-habitats in relation to *G. barrosii*. Given these facts, it was aimed to evaluate if the preferential habitats for *G. barrosii* and *G. polymorpha* species are distinct for water, temperature or light during the initial growth stages, and also if the regeneration niche is related to ecological distribution of species in different vegetation types from Cerrado. We evaluated the germinative potential of the cypselae of both species submitted to different environmental factors (temperature, light quality, water availability) under controlled conditions. Moreover, we evaluated the response of growth, physiological attributes and morphoanatomical leaf attributes from plants submitted to different shading levels under greenhouse conditions. The species *G. polymorpha* presented higher thermal amplitude, with high germination rates; it even showed better responses facing different situations, with lesser light sensibility and higher hydric stress tolerance than *G. barrosii*. Both species presented phenotypic plasticity, being able to change their growth, morphoanatomical and physiological leaf characteristics in response to different levels of shading. However, the *G. polymorpha* species showed greater phenotypic plasticity compared to *G. barrosii*. Therefore, it was concluded that the water, light and temperature are limiting for germination cypselae, being light an important environmental filter also for the initial development, and thus, for the spatial distribution of these species in the Cerrado vegetations. The germination characteristics and development of plants in response to different environmental factors were similar between species; therefore, it is not possible to say that the regeneration niches are distinct. Moreover, the regeneration niche of the studied species is related to the ecological distribution in different micro-habitats, explaining at least in part the different distribution pattern of these species in Cerrado phytophysognomies.

Keywords: Germination. Temperature. Light. Hydric stress. Phenotypical plasticity. Shading. Foliar anatomy.

INTRODUÇÃO GERAL

Um dos maiores desafios na pesquisa em ecologia de comunidades vegetais é entender quais os processos que determinam a distribuição das espécies, principalmente em florestas tropicais, onde a riqueza de espécies arbóreas, por exemplo, pode alcançar aproximadamente 300 espécies por hectare coexistindo de maneira estável (THOMAS et al., 1998; SILVERTOWN, 2004).

A coexistência implica na sobreposição espaço-temporal na distribuição de algumas espécies, sendo que as populações são limitadas por fatores comuns e por interações antagônicas (GIACOMINI, 2007). Uma das explicações da teoria ecológica clássica para este fenômeno é o “princípio da exclusão competitiva”, que afirma que a convivência estável entre diferentes espécies só é possível quando elas ocupam nichos ecológicos diferentes (GAUSE, 1934; CHESSON, 1991; SILVERTOWN, 2004).

O princípio da exclusão competitiva geralmente é bem aplicado para explicar a coexistência e/ou partilhamento de recursos em espécies animais, onde o nicho trófico, por exemplo, é observado facilmente; no caso das plantas, entender a coexistência não é tão simples, pois todos os vegetais consomem exatamente os mesmos recursos, como CO₂, luz, água e nutrientes minerais (GRUBB, 1977; SILVERTOWN, 2004).

Em plantas, a coexistência é facilitada por variações na competição entre as espécies ao longo de gradientes ambientais. Com isso, a riqueza de espécies é largamente dependente da heterogeneidade ambiental, em conjunto com adaptações às condições físicas (MURRAY; GARCIA, 2002). Assim, as diferenças nas habilidades competitivas das espécies devem ser contrabalanceadas por

diferenças de nicho para que se tenha uma coexistência estável entre as espécies (KOBE, 1999; GIACOMINI, 2007).

Hutchinson (1957) definiu o nicho de uma espécie como um conjunto de n-dimensões, cada qual representando um fator ou recurso importante para a espécie em um espaço n-dimensional (nicho multidimensional). Dessa forma, podem-se descrever os limites ou intervalos de atividade de cada espécie de uma comunidade ao longo de cada uma das dimensões de seu ambiente. Essas dimensões incluem fatores físicos, químicos e biológicos (RICKLEFS, 2010).

O nicho ecológico em plantas é composto por quatro componentes básicos: o nicho de hábitat, que são os limites físicos e químicos tolerados, o nicho de forma de vida, que é a expressão do tamanho e produtividade anual, o nicho fenológico, que é o padrão de desenvolvimento sazonal, e o nicho de regeneração, que expressa os limites de condições abióticas e bióticas toleradas e/ou requeridas durante o processo de regeneração de uma espécie (GRUBB, 1977). Neste último caso, as diferenças de nicho entre espécies coexistentes podem já se manifestar durante os primeiros estágios de desenvolvimento, como por exemplo, nas fases de germinação de sementes e desenvolvimento de plântulas (GRUBB, 1977; RANIERI et al., 2012).

Nas espécies simpátricas *Lavoisiera cordata* Cogn. e *L. francavillana* Cogn., foram observadas diferenças no comportamento germinativo das sementes quando submetidas a diferentes temperaturas constantes (15, 20, 25 e 30°C), indicando diferenças adaptativas na germinação, contribuindo para a diferenciação de nicho e ocupação de diferentes ambientes (RANIERI et al., 2003). Da mesma forma, Ranieri et al. (2012) encontraram diferenças no nicho de germinação para as espécies

simpátricas *Sinningia rupicola* (Mart.) Wiehler e *S. allagophylla* (Mart.) Wiehler em relação à temperatura ótima de germinação.

Já na fase de plântula, as espécies *Mimosa clausenii* Benth., *M. decorticans* Barneby, *M. heringeri* Barneby e *M. setosissima* Taub. apresentaram diferenciação de nicho possivelmente por adaptações distintas às condições edáficas (SIMON; HAY, 2003).

A germinação e o desenvolvimento das plântulas são fases críticas do ciclo de vida dos vegetais superiores (VILLALOBOS; PELÁEZ, 2001), sendo a sobrevivência das plantas a estes eventos crucial para o crescimento e manutenção das populações (MELO et al., 2004). Muitos fatores interferem nesses eventos, sendo a água, a temperatura e a luz os fatores principais na influência ou controle desses processos (BASKIN; BASKIN, 1998; BENECH-ARNOLD; SÁNCHEZ, 1995; BEWLEY; BLACK, 1994).

A disponibilidade de água consiste num fator crucial para a germinação, pois este processo tem início apenas após a embebição da semente, que leva à reidratação dos tecidos e ativação do metabolismo, culminando na emergência da raiz primária (LARCHER, 2006). A temperatura também atua como fator limitante principalmente para a germinação de sementes, pois afeta individualmente todos os processos germinativos, agindo principalmente na velocidade de embebição de água pela semente e em todas as reações metabólicas do processo, afetando assim a germinação total e a velocidade de germinação (CARVALHO; NAKAGAWA, 2000; MARCOS-FILHO, 2005).

A luz, por sua vez, consiste em um importante recurso para as plantas, provendo energia para a síntese de todas as moléculas orgânicas na fotossíntese e

ainda sendo responsável pela modulação da morfogênese de tecidos e órgãos em todas as fases de desenvolvimento (CARVALHO; TAKAKI; AZEVEDO, 2011).

A percepção do ambiente luminoso é mediada através de fotorreceptores, que são caracterizados pelo comprimento de onda que podem perceber (SULLIVAN; DENG, 2003). As clorofilas apresentam pico de absorção na luz azul (430nm) e na vermelha (660nm); os fotorreceptores da família dos fitocromos apresentam pico de absorbância nas luzes vermelho e vermelho-extremo (600-750nm); criptocromos e fototropinas nas regiões UVA e azul (320-500nm) e os carotenoides com pico de absorbância também na região do azul (BRIGGS; HUALA, 1999; CARVALHO et al., 2011; CASAL et al., 2003).

Os fitocromos constituem uma família de cromoproteínas com duas formas estáveis nos tecidos vegetais, sendo os responsáveis pela sensibilidade das sementes à luz (SMITH, 2000). Estão presentes nas células sob duas formas fotoconversíveis (MANCINELLI, 1994), simbolizadas como Fv e Fve; a primeira é a forma inativa, absorve luz vermelha (V: 600-700nm) e por fotoconversão altera sua estrutura para a forma Fve, forma ativa responsável pela promoção de diversos processos, incluindo a germinação, absorvendo luz vermelho-extremo (VE: 700-750nm) e voltando à forma inativa Fv (BEWLEY; BLACK, 1994; SMITH, 2000).

Sementes podem apresentar diferentes respostas à luz de acordo com as formas de fitocromo que controlam a germinação. Tais respostas podem se apresentar basicamente como sementes que germinam apenas na presença de luz (induzidas pela luz V e inibidas pela luz VE), sementes que germinam na ausência de luz e aquelas insensíveis à luz, que germinam em ambas as condições (TAKAKI, 2001). Já o fluxo de fótons entre 400 e 700nm do espectro solar, denominado de radiação fotossinteticamente ativa (RFA), é responsável pela excitação das

moléculas de clorofila, iniciando o fluxo de energia necessário para a fotossíntese (MONTEITH, 1972). O nível de irradiância ($\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$) da RFA é um fator determinante que interfere no crescimento e desenvolvimento das plântulas (KUREPIN et al., 2011).

Assim, características do ambiente como o sombreamento causado pela presença de dossel, a deposição de serapilheira e presença de estrato herbáceo-arbustivo podem alterar a composição espectral da luz, bem como diminuir a amplitude térmica (FENNER; THOMPSON, 2005) na superfície do solo e reduzir a irradiância da RFA (FRANCO, 2002), influenciando a germinação e o desenvolvimento das plantas, respectivamente.

Em condições de sombreamento, onde os níveis de irradiância são menores, plântulas podem ampliar a eficiência da captura de luz através do aumento da razão clorofila b/a, do aumento de área foliar e da redução da razão raiz/parte aérea (MELO et al., 2004). Em níveis distintos de luz, cada espécie pode mostrar crescimento relativo maior do que outra para sobreviver. Este particionamento do ambiente de luz fornece uma explicação para a dinâmica sucessional e sugere que a coexistência e a diversidade de espécies arbóreas tropicais são parcialmente mantidas através da diferenciação de nicho (KOBÉ, 1999).

Neste contexto, estudos que visam o conhecimento da ecologia de regeneração são importantes, pois permitem saber o grau de vulnerabilidade das espécies frente a mudanças climáticas e ambientais (HOFFMANN, 2000), além de fornecer conhecimento para o desenvolvimento de técnicas em ecologia da restauração.

Coopera-se, dessa forma, para a conservação da biodiversidade, principalmente quando se trata de ecossistemas tropicais, localizados, em sua

maioria, em regiões do mundo que apresentam rápida expansão das populações e aumento na demanda por alimentos, colocando assim, ecossistemas megadiversos e complexos em risco (KLINK; MACHADO, 2005).

O Brasil é reconhecido por abrigar a maior biodiversidade do mundo, e o bioma do Cerrado figura entre as regiões biodiversas do planeta de maior necessidade para conservação (MYERS et al., 2000). O Cerrado é o segundo maior bioma brasileiro, ocupando cerca de 21% do território do país (KLINK; MACHADO, 2005), compondo cerca de 1/3 da biota brasileira e cerca de 5% da diversidade de fauna e flora mundiais (BATALHA; MANTOVANI, 2001). Atualmente registra-se 11,627 espécies vegetais vasculares, sendo 44% endêmicas (MENDONÇA et al., 2008; WALTER, 2006). Nesse sentido, o Cerrado é a savana tropical mais diversificada do mundo (KLINK; MACHADO, 2005).

O estado de São Paulo apresenta um dos quadros mais intensos de devastação do Cerrado. Com a evolução tecnológica da agricultura, sua vegetação passou por rápida supressão nas últimas décadas (DURIGAN et al., 1999). Atualmente, estima-se que reste menos de 12% da cobertura original do bioma no estado (SÃO PAULO, 2005). Menos de 10% da área total de remanescentes encontra-se protegida em Unidades de Conservação Estaduais (SÃO PAULO, 1997). Uma das poucas áreas remanescentes corresponde à Estação Ecológica de Assis, localizada no município de Assis, que abriga um dos maiores fragmentos de Cerrado no estado (SÃO PAULO, 1997). Sua vegetação é classificada como cerrado *sensu lato*, com o predomínio da fisionomia de cerradão, ocorrendo também fisionomias de cerrado *sensu stricto* e florestas paludículas (ROSSATTO; TONIATO; DURIGAN, 2008).

No estado de São Paulo duas espécies simpátricas do gênero *Gochnatia* são particularmente comuns e dominantes em áreas de borda do cerradão (ROSSATO; KOLB, 2012). *Gochnatia barrosii* Cabrera (cambará-veludo) é um arbusto que pode alcançar 2 m de altura (Figura 1- A, B e C). Além do estado de São Paulo, a espécie é encontrada no sul de Minas Gerais, Goiás, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul e Paraná, ocupando áreas de cerrado *sensu stricto* e campos cerrados (DURIGAN et al., 2004; CRIA, 2013). Já *Gochnatia polymorpha* (Less.) Cabrera (candeia ou cambará) é uma árvore (Figura 1- D, E e F) que pode alcançar de 6-15 m de altura, ocorrendo nos estados da Bahia, Espírito Santo, Goiás, Minas Gerais, Mato Grosso do Sul, São Paulo, Rio de Janeiro, Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul (LORENZI, 2000). A espécie é generalista, ocorrendo frequentemente em estádios iniciais da sucessão florestal. É encontrada comumente no Cerrado, porém também está presente em outras formações florestais, como floresta ombrófila densa, floresta ombrófila mista, floresta ombrófila densa altomontana, floresta estacional semidecidual, mata ciliar e mata paludosa (SÃO PAULO, 2003).

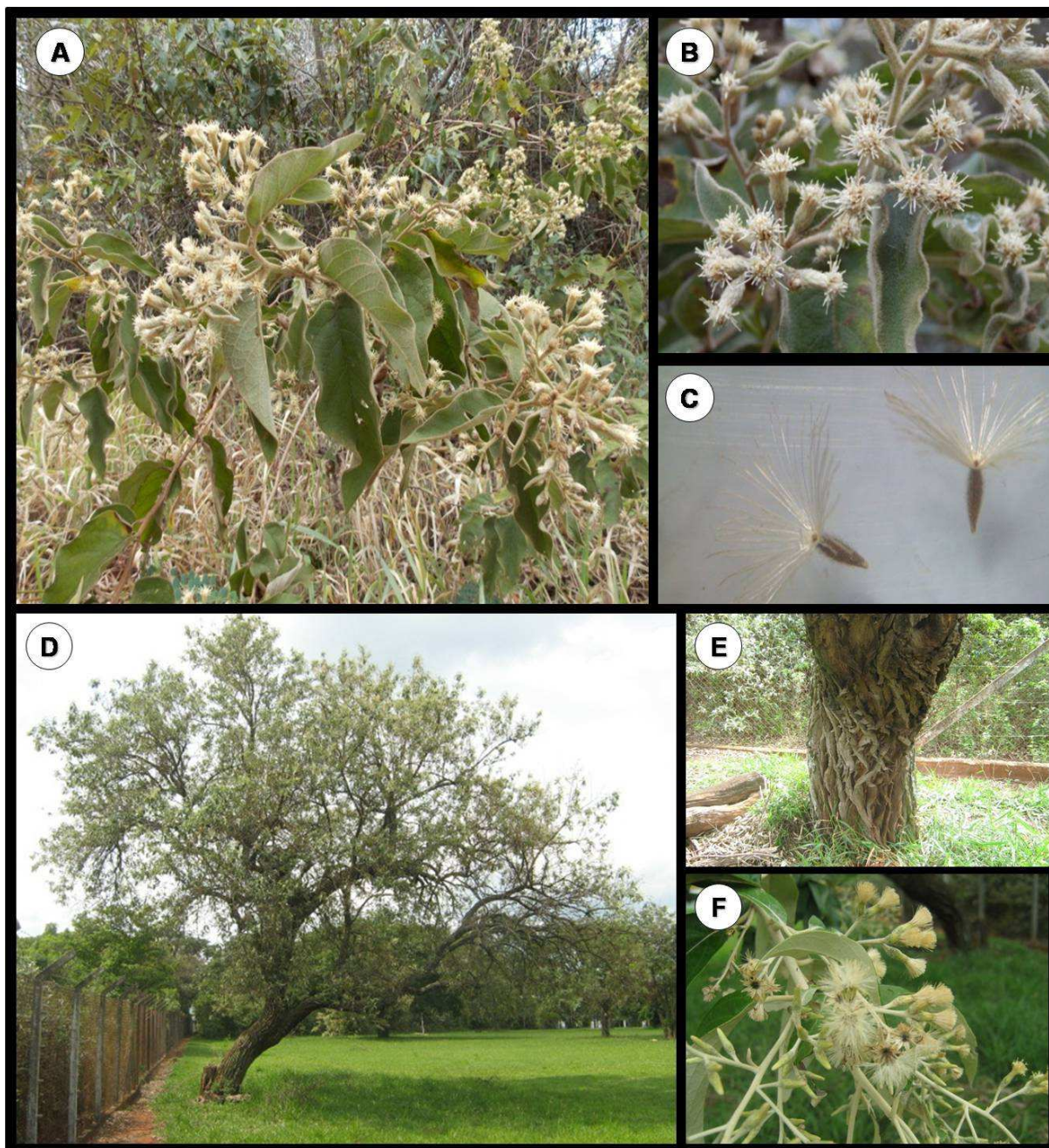


Figura 1. Indivíduo adulto (A), inflorescência (B) e cipselas (C) de *Gochnatia barrosii*; e indivíduo adulto (D), tronco (E) e inflorescência (F) de *G. polymorpha*.

Na Estação Ecológica de Assis, a espécie *G. barrosii* é encontrada em ambientes de cerrado *sensu stricto* e em bordas de cerradão. Desta forma, está restrita a ambientes mais abertos, enquanto a espécie *G. polymorpha* pode ser encontrada em matas ciliares, cerradão e cerrado *sensu stricto*, desde o interior até

as bordas desses ambientes (ROSSATTO; KOLB, 2012). Segundo Rossato e Kolb (2012), os indivíduos adultos de *G. barrosii* e *G. polymorpha* apresentam diferenças estruturais e funcionais em suas folhas, indicando que estas espécies possuem adaptações distintas e exploram o ambiente de forma diferente.

Diante do exposto, o objetivo deste estudo foi avaliar se os habitats preferenciais dessas espécies são distintos por restrições de água, temperatura ou de luz durante as fases iniciais de desenvolvimento. E ainda, avaliar a relação entre o nicho de regeneração e a distribuição ecológica em escala de micro-habitats no Cerrado. Para tanto, foi avaliado o potencial germinativo das cipselas (sementes) dessas espécies submetidas a diferentes temperaturas constantes e alternadas e em qualidades luminosas diferentes, e estresse hídrico simulado. Além disso, avaliou-se a plasticidade fenotípica à luz durante o desenvolvimento inicial das plantas em diferentes níveis de sombreamento.

Dessa forma, este estudo pretendeu responder às seguintes questões: (i) As duas espécies de *Gochnatia* ocupam nichos de regeneração diferentes? (ii) O nicho de regeneração pode explicar a distribuição das espécies de *Gochnatia* em escala local de micro-habitats em diferentes fitofisionomias do Cerrado? (iii) Diferenças no nicho de regeneração podem contribuir para a diferenciação de nicho nos indivíduos adultos?

Espera-se encontrar maior amplitude de nicho de regeneração para a espécie *G. polymorpha*, uma vez que a espécie ocorre em vários tipos de formações vegetacionais, ocupando maior número de micro-habitats quando comparada à *G. barrosii*. Portanto, é esperado também que esta espécie apresente maior habilidade competitiva na germinação de cipselas em diferentes condições de disponibilidade

de água, temperatura e luz; bem como maior plasticidade à luz durante o desenvolvimento inicial de plantas sob diferentes níveis de sombreamento.

Esta dissertação está organizada na forma de artigos, que por sua vez, foram considerados como capítulos. Os artigos estão formatados de acordo com as instruções para preparação de manuscritos da revista *Plant Species Biology*, porém nem todas as recomendações foram atendidas devido ao fato desde documento também seguir a instrução normativa para formatação de dissertação do programa de pós-graduação em Biociências.

No primeiro capítulo são apresentados os resultados referentes à germinação de cipselas das espécies de *Gochnatia* estudadas, onde especificamente é investigada a relação entre o nicho de germinação e a distribuição ecológica em escala local de micro-habitats dessas espécies no Cerrado. No segundo capítulo são apresentados os resultados referentes à plasticidade morfofisiológica das plantas de *Gochnatia* em resposta a um gradiente de luz.

REFERÊNCIAS

- BASKIN, C.C.; BASKIN, J.M. **Seeds**: Ecology, biogeography, and evolution of dormancy and germination. San Diego: Academic Press, 1998. 666p.
- BATALHA, M.A.; MANTOVANI, W. Floristic composition of the cerrado in the Pé-do-Gigante reserve (Santa Rita do Passa Quatro, Southeastern Brazil). **Acta Botanica Brasilica**, v. 15, p. 289-304, 2001.
- BENECH-ARNOLD, R.; SÁNCHEZ, R.A. 1995. Modeling weed seed germination. In: KIGEL, J.; GALILI, G. (Eds.). **Seed development and germination**. New York: Academic Press. 1995. p. 545-566.

- BEWLEY, J.D.; BLACK, M. **Seeds**: Physiology of development and germination. New York: Plenum, 1994. 445p.
- BRIGGS, W.R.; HUALA, E. Blue-light photoreceptors in higher plants. **Annual Reviews of Cell and Developmental Biology**, v. 15, p. 33-62, 1999.
- CARVALHO, N.M.; NAKAGAWA, J. **Sementes**: ciência, tecnologia e produção. 4 ed. Jaboticabal: FUNEP, 2000. 429p.
- CARVALHO, R.F.; TAKAKI, M.; AZEVEDO, R.A. Plant pigments: the many faces of light perceptions. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 33, p. 241-248, 2011.
- CASAL, J.J. et al. Light, phytochrome signalling and photomorphogenesis in *Arabidopsis*. **Photochemical and Photobiological Sciences**, v. 2, p. 625-636, 2003.
- CHESSON, P. A need for niches? **Trends in Ecology & Evolution**, v. 6, p. 26-28, 1991.
- CRIA. **Centro de Referência em Informação Ambiental**. 2013. Disponível em <<http://www.splink.org.br>>. Acesso em: 13 fev. 2013.
- DURIGAN, G. et al. Inventário florístico do cerrado na Estação Ecológica de Assis, SP. **Hoehnea**, v. 26, p. 149-172, 1999.
- DURIGAN, G. et al. **Plantas do Cerrado Paulista**: Imagens de uma paisagem ameaçada. São Paulo: Páginas & Letras, 2004. 475p.
- FENNER, M.; THOMPSON, K. **The Ecology of Seeds**. Cambridge: University Press, 2005. 250p.
- FRANCO, A.C. Ecophysiology of woody plants. In: OLIVEIRA, P.S.; MARQUIS, R.J. (Eds.). **The Cerrados of Brazil**: Ecology and Natural History of a Neotropical Savanna. Washington: Columbia University Press, 2002. p. 178-197.

- GAUSE, G.F. **The Struggle for Existence**, Baltimore: Williams and Wilkins, 1934. 163p.
- GIACOMINI, H.C. Os mecanismos de coexistência de espécies como vistos pela teoria ecológica. **Oecologia Brasiliensis**, v. 11, p. 521-543, 2007.
- GRUBB, P.J. The maintenance of species richness in plant communities: the importance of the regeneration niche. **Biological Reviews**, v. 52, p. 107-145, 1977.
- HOFFMANN, W.A. Post-establishment seedling success in the Brazilian Cerrado: a comparison of savanna and forest species. **Biotropica**, v. 32, p. 62-69, 2000.
- HUTCHINSON, G.E. The multivariate niche. **Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology**, v. 22, p. 415-421, 1957.
- KLINK, C.A.; MACHADO, R.B.A. Conservação do Cerrado brasileiro. **Megadiversidade**, v. 1, p. 147-155, 2005.
- KOBE, R.K. Light gradient partitioning among tropical tree species through differential seedling mortality and growth. **Ecology**, v. 80, p. 187-201, 1999.
- KUREPIN, L.V. et al. The interaction of light irradiance with auxin in regulating growth of *Helianthus annuus* shoots. **Plant Growth Regulation**, v. 65, p. 255-262, 2011.
- LARCHER, W. **Ecofisiologia vegetal**. São Carlos: Rima, 2006. 531p.
- LORENZI, H. **Árvores brasileiras**: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil. v. 1, 3. ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2000. 352p.
- MANCINELLI, A.L. The physiology of phytochrome action. In: KENDRICK, R.E.; KRONENBERG, G.H.M. (Eds.). **Photomorphogenesis in plants**. 2. ed. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 1994. p. 211-269.
- MARCOS FILHO, J. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. Piracicaba: FEALQ, 2005. 495p.

MELO, F.P.L. et al. Recrutamento e estabelecimento de plântulas. In: FERREIRA, A.G.; BORGHETTI, F. (Eds.). **Germinação: do básico ao aplicado**. Porto Alegre: Artmed, 2004. p. 237-249.

MENDONÇA, R.C. et al. Flora vascular do cerrado: checklist com 12.356 espécies In: SANO, S.M.; ALMEIDA, S.P.; RIBEIRO, J.F. (Eds.). **Cerrado: ecologia e flora**. v. 2, Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2008. p. 422-442.

MONTEITH, J.L. Solar radiation and productivity in tropical ecosystems. **Journal of Applied Ecology**, v. 9, p. 747-766, 1972.

MURRAY, K.G.; GARCIA C.M. Contributions of seed dispersal and demography to recruitment limitation in a Costa Rican Cloud Forest. In: LEVEY, D.J.; GALETTI, W.R. (Eds.). **Seed dispersal and Ecology, Evolution and Conservation**. San Jose: CAB International, 2002. p. 323-338.

MYERS, N. et al. Biodiversity hotspots for conservation priorities. **Nature**, v. 403, p. 853-858, 2000.

RANIERI, B.D. et al. Germinação de sementes de *Lavoisiera cordata* cogn. e *Lavoisiera francavillana* cogn. (Melastomataceae), espécies simpátricas da serra do Cipó, Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, v. 17, p. 523-530, 2003.

RANIERI, B.D. et al. Testing the regeneration niche hypothesis with Gesneriaceae (tribe Sinningiae) in Brazil: Implications for the conservation of rare species. **Austral Ecology**, v. 37, p. 125-133, 2012.

RICKLEFS, R.E. **A economia da natureza**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2010. 546p.

ROSSATTO, D.R.; KOLB, R.M. Structural and functional leaf traits of two *Gochnatia* species from distinct growth forms in a sclerophyll forest site in Southeastern Brazil. **Acta Botanica Brasilica**, v. 26, p. 849-856, 2012.

ROSSATTO, D.R.; TONIATO, M.T.Z.; DURIGAN, G. Flora fanerogâmica não-arbórea do cerrado na Estação Ecológica de Assis, Estado de São Paulo. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 31, p. 409-424, 2008.

SÃO PAULO (Estado) Secretaria de Estado do Meio Ambiente. **Inventário florestal da vegetação natural do Estado de São Paulo**. São Paulo: Instituto Florestal, Biota/Fapesp, Atlas, 2005.

SÃO PAULO (Estado). Secretaria de Estado do Meio Ambiente. **Cerrado**: bases para a conservação e uso sustentável das áreas de cerrado do Estado de São Paulo. São Paulo: Série Probio/SP, 1997. 113p.

SÃO PAULO (Estado). Secretaria de Estado do Meio Ambiente. **Resolução SMA nº 47 de 26 de novembro de 2003**. 2003. Disponível em: <<http://www.ambiente.sp.gov.br/legislação/2003/11/>>. Acesso em: 13 fev. 2013.

SILVERTOWN J. Plant coexistence and the niche. **Trends in Ecology and Evolution**, v. 19, p. 605-611, 2004.

SIMON, M.F.; HAY, J.D.V. Comparison of a common and rare species of *Mimosa* (Mimosaceae) in Central Brazil. **Austral Ecology**, v. 28, p. 315-326, 2003.

SMITH, H. Phytochromes and light signal perception by plants – an emerging synthesis. **Nature**, v. 407, p. 585-591, 2000.

SULLIVAN, J.A.; DENG, X.W. From seed to seed: the role of photoreceptors in *Arabidopsis* development. **Developmental Biology**, v. 260, p. 289-297, 2003.

TAKAKI, M. New proposal of classification of seeds based on forms of phytochrome instead of photoblastism. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v. 13, p. 104-108, 2001.

THOMAS, W.W. et al. 1998. Plant endemism in two forests in southern Bahia, Brazil. **Biodiversity and Conservation**, v. 7, p. 311- 322, 1998.

VILLALOBOS, A.E.; PELÁEZ, D. Influences of temperature and water stress on germination and establishment of *Prosopis caldenia* Burk. **Journal of Arid Environments**, v. 49, p. 321-328, 2001.

WALTER, B.M.T. 2006. **Fitofisionomias do bioma Cerrado: síntese terminológica e relações florísticas**. 2006. 389 f. Tese (Doutorado em Ecologia) – Departamento de Ecologia, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade de Brasília, Brasília, 2006.

CAPÍTULO 1**Nicho de germinação em duas espécies de
Gochnatia (Asteraceae) ocorrentes no Cerrado**

Jonathan Wesley Ferreira Ribeiro¹; Rosana Marta Kolb¹

1. Programa de Pós-Graduação em Biociências, Departamento de Ciências Biológicas, Faculdade de Ciências e Letras de Assis, Univ Estadual Paulista – UNESP. Av. Dom Antônio, 2100, 19806-900, Assis, São Paulo, Brasil.

Nicho de germinação em duas espécies de *Gochnatia* (Asteraceae) ocorrentes no Cerrado

Resumo

Diversos estudos investigaram a relação entre amplitude de nicho de germinação e distribuição ecológica e geográfica em espécies vegetais e resultados contraditórios têm sido encontrados. Dessa forma, o objetivo deste estudo foi avaliar se os requerimentos de germinação das sementes estão relacionados com a distribuição ecológica de duas espécies simpátricas de *Gochnatia* em escala local de micro-habitats de duas fitofisionomias do Cerrado (cerrado *sensu stricto* e cerradão), com *G. polymorpha* ocupando o maior número deles. Experimentos de germinação em laboratório foram desenvolvidos para determinar a amplitude térmica de germinação, a influência da luz e de diferentes potenciais osmóticos sobre as respostas germinativas das cipselas. Os resultados mostraram que a amplitude térmica de germinação das duas espécies estudadas está relacionada com as temperaturas nos diferentes micro-habitats de ocorrência. Os dados obtidos mostram ainda, que a espécie *G. polymorpha*, em comparação com a espécie congênica *G. barrosii*, apresenta maior amplitude de nicho de germinação, pois apresenta maior amplitude térmica com porcentagens de germinação elevadas, menor sensibilidade à luz e maior tolerância ao estresse hídrico, favorecendo a germinação e estabelecimento da espécie em um maior número de micro-habitats no Cerrado, o que é coerente com seu caráter generalista.

Palavras-chave: Nicho de regeneração, cipselas, tolerância ambiental, cerrado *sensu stricto*, cerradão.

Introdução

A amplitude de condições nas quais uma semente pode germinar é reconhecida como o nicho de germinação, que consiste em um dos aspectos chave do nicho de regeneração em plantas (Grubb 1977), podendo determinar a distribuição ecológica e geográfica em espécies vegetais (Brändle *et al.* 2003; Donohue *et al.* 2010).

Diversos estudos investigaram a relação entre amplitude de nicho de germinação e distribuição ecológica e geográfica em espécies vegetais e resultados contraditórios têm sido encontrados (Thompson *et al.* 1998; Thompson *et al.* 1999; Brändle *et al.* 2003; Thompson & Ceriani 2003; Kissmann *et al.* 2012; Ranieri *et al.* 2012; Silveira *et al.* 2012; Kissmann & Habermann 2013). Portanto, as evidências da associação dos requerimentos de germinação com a distribuição ecológica e/ou geográfica nas espécies vegetais ainda são inconsistentes (Donohue *et al.* 2010).

De maneira geral, sementes apresentam adaptações para os habitats nos quais a espécie se reproduz, aumentando as chances de germinação na época ideal. Entender estas relações torna-se essencial para ações de conservação da flora (Baskin & Baskin 1998; Mota & Garcia 2013; Garcia *et al.* 2014).

Entre os diversos fatores que compõem o nicho de germinação, a temperatura, a luz e a disponibilidade de água têm sido descritos como os mais importantes, atuando no controle da germinabilidade, do tempo de germinação e da dormência de sementes de várias espécies tropicais e subtropicais (Baskin & Baskin 1998; Probert 2000; Smith 2000; Fernández-Pascual *et al.* 2013; Mota & Garcia 2013; Silveira *et al.* 2013).

Em habitats heterogêneos, tais fatores tendem a apresentar grande variação no espaço e no tempo, principalmente entre diferentes fisionomias vegetais (Kissmann *et al.* 2012; Salazar *et al.* 2012). Características dos ecossistemas como o sombreamento causado pela presença de dossel, deposição de serapilheira e presença de estrato herbáceo-arbustivo podem

alterar a composição espectral da luz, bem como atenuar a intensidade luminosa e diminuir a amplitude térmica na superfície do solo, influenciando dessa forma na germinação de sementes. Já a disponibilidade de água consiste num fator limitante principalmente em ecossistemas com precipitações sazonais (Vasquez-Yanes *et al.* 1990; Fenner & Thompson 2005).

Espécies que apresentam distribuição em diversos micro-habitats geralmente mostram maior tolerância às variações dos diferentes fatores ambientais (Rossato & Kolb 2010), podendo conferir dessa forma, uma maior amplitude de nicho de germinação (Thompson *et al.* 1999; Donohue *et al.* 2010; Ranieri *et al.* 2012).

Em se tratando de habitats heterogêneos, o Cerrado brasileiro é caracterizado por precipitações sazonais e marcante heterogeneidade fisionômica, possuindo um gradiente ecológico bastante contrastante em relação às características abióticas, como luz, temperatura e umidade na superfície do solo (Kissmann *et al.* 2012; Salazar *et al.* 2012). O Cerrado é considerado um *hotspot* para a conservação da biodiversidade mundial (Myers *et al.* 2000); estima-se que a diversidade de plantas esteja em torno de 12 mil espécies, sendo 44% endêmicas (Mendonça *et al.* 2008; Walter 2006), muitas das quais encontram-se ameaçadas pela fragmentação e perda de habitats decorrentes de intensas atividades humanas.

A vegetação do Cerrado apresenta fisionomias florestais, savânicas e campestres, que divergem estruturalmente e funcionalmente entre si. Entre as fitofisionomias florestais, o cerradão é uma vegetação com predominância de árvores, com cobertura arbórea de cerca de 90%. Entre as fitofisionomias savânicas, o cerrado *sensu stricto* ou cerrado típico caracteriza-se pela presença de árvores baixas, com dossel descontínuo (Ribeiro & Walter 2008).

Considerando a importância da compreensão dos fatores que determinam a distribuição das espécies vegetais nos ecossistemas, o objetivo deste estudo foi avaliar se os requerimentos de germinação das sementes estão relacionados com a distribuição ecológica

de duas espécies simpátricas de *Gochnatia* em escala local de micro-habitats de duas fitofisionomias do Cerrado (cerrado *sensu stricto* e cerradão), que constituem um gradiente ecológico com diferentes condições para a germinação de sementes (Sales *et al.* 2013). Experimentos em laboratório foram desenvolvidos para determinar a amplitude térmica de germinação, a influência da luz e de diferentes potenciais osmóticos sobre as respostas germinativas das sementes.

A espécie arbórea *G. polymorpha* apresenta maior distribuição nos diferentes micro-habitats do Cerrado em relação à espécie arbustiva *G. barrosii*, portanto, espera-se que: i) sementes de *G. polymorpha* apresentem maior tolerância a diferentes condições ambientais de temperatura, luz e disponibilidade de água, e assim, maior amplitude de nicho de germinação, favorecendo o estabelecimento da espécie em um número maior de micro-habitats no Cerrado em relação à espécie *G. barrosii*; ii) os requerimentos de germinação estejam relacionados com as condições de temperatura, luz e disponibilidade de água dos micro-habitats nos quais as espécies ocorrem.

Material e métodos

Espécies estudadas

Em áreas de Cerrado no estado de São Paulo, duas espécies simpátricas do gênero *Gochnatia* (Asteraceae) são particularmente comuns e dominantes em áreas de borda do cerradão (Rossato & Kolb 2012). *Gochnatia barrosii* Cabrera (cambará-veludo) é um arbusto que pode alcançar 2 m de altura, é encontrada predominantemente em fitofisionomias savânicas no Cerrado, principalmente no cerrado *sensu stricto*, porém também é encontrada em bordas de cerradão, de forma que está restrita a ambientes mais abertos. Por outro lado, *Gochnatia polymorpha* (Less.) Cabrera (candeia ou cambará) é uma árvore que pode alcançar

de 6-15 m de altura, ocorrendo em matas ciliares, cerradão e cerrado *sensu stricto*, desde o interior até as bordas desses ambientes (Rossatto & Kolb 2012).

Coleta de sementes e área de estudo

As sementes (cipselas) foram coletadas de 12 indivíduos por espécie em outubro de 2012 (*G. barrosii*) e em janeiro de 2013 (*G. polymorpha*) na Estação Ecológica de Assis (EEA; 22°33'65''- 22°36'68''S; 50°22'29''-50°23'00''W), uma unidade de proteção integral dos recursos naturais localizada no oeste do estado de São Paulo, Brasil. O clima na EEA de acordo com a classificação de Köppen é de transição entre Cwa e Cfa, sendo caracterizado como subtropical, com chuvas concentradas entre os meses de outubro a maio, e estação seca de junho a setembro. As médias anuais de precipitação e temperatura são de 1400 mm e 21,8°C, respectivamente. O relevo regional é suave-ondulado, com altitudes que variam entre 520 a 590 m (Secretaria do Meio Ambiente 1997), sendo os solos do tipo Latossolo Vermelho Distrófico, Argissolo Vermelho-Amarelo Eutrófico e Argissolo Vermelho-Amarelo Distrófico (Bognola *et al.* 1996). A vegetação na EEA é classificada como cerrado *lato sensu* (Oliveira-Filho & Ratter 2002), com predomínio da fisionomia de cerradão (Pinheiro & Durigan 2009), que é uma formação florestal com características escleromórficas e altura média do estrato arbóreo variando de 8 a 15 m, apresenta dossel contínuo e cobertura arbórea que pode chegar a 90%. Também ocorre a fisionomia de cerrado *sensu stricto*, caracterizada por estrato arbóreo e arbustivo-herbáceo definidos, com árvores distribuídas aleatoriamente sobre o terreno em diferentes densidades e dossel descontínuo (Ribeiro & Walter 2008), sendo que a cobertura arbórea média na área de estudo é de 46,3% (Pinheiro & Durigan 2009).

Condições ambientais na área de estudo

A temperatura superficial do solo foi medida a uma profundidade de 1 cm, utilizando termômetro digital. A irradiância da luz ($\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$) foi medida próximo à superfície do solo com sensor esférico acoplado a um fotômetro Li-cor (Li-250A, Biosciences, Lincoln, USA). As medidas foram realizadas por volta das 08:00 e das 12:00 horas, nos meses de outubro de 2012 e janeiro de 2013, em diferentes micro-habitats: pleno sol, borda de cerrado *sensu stricto*, interior de cerrado *sensu stricto*, borda de cerradão e interior de cerradão. Os dados de precipitação e temperatura ambiente foram obtidos a partir da base de dados online do Centro Integrado de Informações Agrometeorológicas (CIIAGRO), do Governo do Estado de São Paulo.

Testes de germinação

Para avaliar o efeito da temperatura sobre a germinação, as cipselas foram submetidas às temperaturas constantes de 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35 e 40°C, e alternadas de 15-30, 20-30, 25-30 e 25-35°C, sob fotoperíodo de 12 horas de luz branca (lâmpadas fluorescentes 20W, aprox. $60 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$) e sob escuro contínuo. Foram utilizadas quatro repetições de 25 cipselas por tratamento, acondicionadas em caixas gerbox® forradas com papel filtro umedecido com água destilada. Na condição de escuro o gerbox foi envolvido em papel laminado.

Foi avaliado o efeito da alteração da composição espectral da luz sobre a germinação através da exposição das cipselas à luz de sombreamento (baixa razão V/VE), com razões de V/VE de 0,1 e 0,5, comparada com grupo controle com razão V/VE de 7,2, simulando luz de clareira (alta razão V/VE). O experimento com luz de sombreamento foi conduzido em sala com temperatura alternada controlada de 25-30°C, sob quatro lâmpadas incandescentes (duas de 25W e duas de 60W, fornecendo irradiância de aproximadamente $60 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$) e

fotoperíodo de 12 horas. No grupo controle, as cipselas foram expostas a luz branca (lâmpadas fluorescentes) em câmara de germinação com alternância de temperaturas de 25-30°C e 12 horas de fotoperíodo. Para os tratamentos de luz de sombreamento, as caixas gerbox foram envolvidas em papel laminado e fita adesiva (Silver Tape®) e as tampas encapadas com película plástica tipo insulfim® com diferentes níveis de filtragem da luz, produzindo razões V/VE de 0,1 e 0,5 ao nível das cipselas, simulando a luz filtrada por dossel (Simão *et al.* 2008). Para todos os tratamentos foram utilizadas quatro repetições de 25 cipselas em caixas gerbox forradas com papel filtro umedecido com água destilada. As razões de V/VE foram obtidas com o auxílio de um espectroradiômetro LI-1800 (LI-COR U.S.A).

O efeito do estresse hídrico sobre a germinação foi simulado através de soluções de polietileno glicol (PEG 6000) nos potenciais osmóticos de -0,2, -0,4, -0,6, -0,8, -1,0 MPa (Villela *et al.* 1991), e comparados com um grupo controle (0 MPa) contendo apenas água destilada. Para cada potencial osmótico foram utilizadas cinco repetições de 20 cipselas, dispostas em placas de petri (9 cm de diâmetro) contendo quatro folhas de papel de filtro e 12 mL da solução a ser testada. As placas de petri foram vedadas com filme de PVC transparente e mantidas em câmara de germinação (Eletrolab®) sob temperatura constante de 25°C sob fotoperíodo de 12 horas de luz branca (lâmpadas fluorescentes 20W, aprox. $60 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$).

A semente da cipsela foi considerada como germinada quando apresentou protrusão da raiz primária de no mínimo 1 mm de comprimento. A leitura dos testes foi realizada a cada 24 horas e concluída após 30 dias para todos os experimentos realizados. A avaliação da germinação dos testes nas condições de escuro e vermelho-extremo foi realizada em sala escura sob luz verde de segurança (Amaral-Baroli & Takaki 2001). Constatou-se através de um teste prévio (dados não apresentados) que a luz verde não interfere na germinação das cipselas nas espécies estudadas. Os parâmetros avaliados foram porcentagem de germinação e tempo médio de germinação de acordo com Labouriau (1983).

Análise estatística

Os dados em porcentagem foram transformados em *arco seno* ($x/100^{0,5}$); todos os dados foram testados quanto à normalidade (teste de Shapiro-Wilk, $\alpha=0,05$) e homogeneidade das variâncias (teste de Cochran ou Levene, $\alpha=0,05$) e submetidos à Anova simples ou fatorial (axb) seguida pelo teste de Tukey ($p<0,05$).

Resultados

Durante o período do estudo foi observado que o pico de dispersão das cipselas ocorreu no mês de outubro para *G. barrosii* e janeiro para *G. polymorpha*. Esta observação está de acordo com o relatado por outros autores, que indicam como época de dispersão os meses de outubro a dezembro para *G. barrosii* e de dezembro a fevereiro para *G. polymorpha* (Durigan *et al.* 1999). Dessa forma, as duas espécies dispersam seus diásporos no período das chuvas, quando as temperaturas médias (outubro a janeiro) variam de 16-20°C (mínimas), 23-25°C (médias) e 27-31°C (máximas), e a quantidade de chuva durante o período pode chegar a 800 mm (Figura 1).

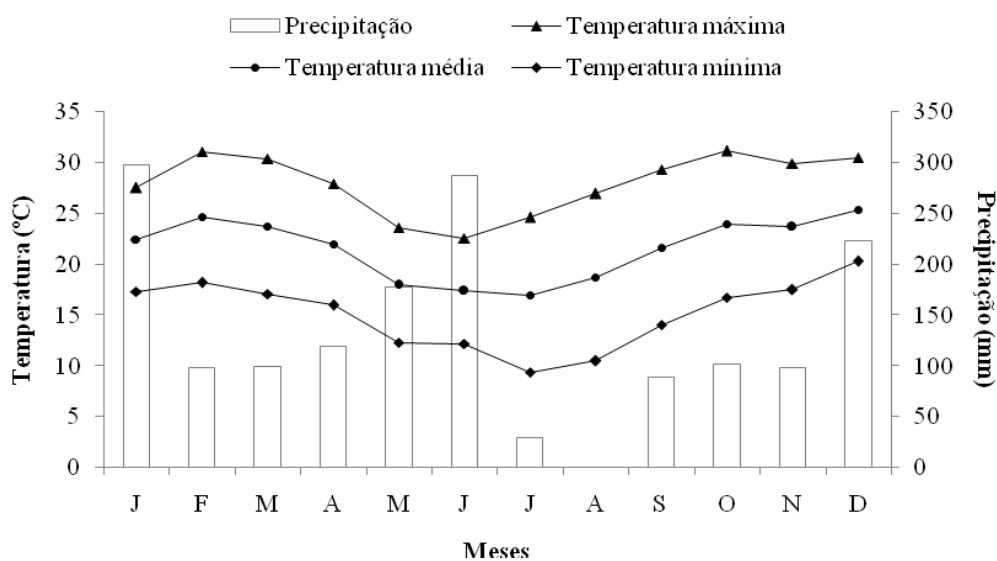


Figura 1. Temperaturas e precipitação mensal durante o ano de 2012 no município de Assis, SP.

Na área do estudo, a temperatura na superfície do solo foi sempre superior em ambientes de cerrado *sensu stricto* do que em ambientes de cerradão, independente do período do dia ou do mês. Entretanto, as temperaturas nesses ambientes foram sempre mais amenas do que aquelas em ambiente sem cobertura vegetal (pleno sol) (Tabela 1).

Tabela 1. Temperatura (°C) na superfície do solo em diferentes micro-habitats na Estação Ecológica de Assis, SP, nos meses de outubro de 2012 e janeiro de 2013 em dois períodos do dia (8 e 12h).

	cerrado <i>sensu stricto</i>		cerradão		pleno sol
	interior	borda	interior	borda	
<u>Outubro</u>					
Manhã	26,0 ± 0	27,2 ± 1,3	24,0 ± 0	24,0 ± 0	28,2 ± 0,8
Tarde	29,2 ± 1,6	28,7 ± 0,6	26,2 ± 0,3	28,3 ± 0,6	36,7 ± 2,0
<u>Janeiro</u>					
Manhã	25,3 ± 1,5	26,7 ± 0,6	23,0 ± 0	24,0 ± 0	31,7 ± 0,6
Tarde	32,7 ± 3,1	32,8 ± 4,2	27,0 ± 0,6	28,4 ± 1,1	49,6 ± 0,5

*Os valores indicam média ± desvio padrão.

Em relação à intensidade da luz nos diferentes micro-habitats, o cerradão apresentou níveis de sombreamento superior ao cerrado *sensu stricto*, nos dois meses em que as medidas foram tomadas. No mês de outubro, a porcentagem de sombreamento da vegetação no cerrado *sensu stricto* variou de 67 a 75% entre interior e borda; para o cerradão o sombreamento foi de 79 a 98%. Em janeiro o sombreamento natural foi de 64 a 79% no cerrado *sensu stricto* e de 84 a 98% no cerradão (Tabela 2).

Tabela 2. Porcentagem de sombreamento natural ao nível do solo em diferentes ambientes de cerrado *sensu stricto*, cerradão e em pleno sol, durante o período da manhã (8h) e tarde (12h) na Estação Ecológica de Assis, SP.

	cerrado <i>sensu stricto</i>		cerradão		Pleno sol
	interior	borda	interior	borda	
<u>Outubro</u>					
Manhã	75	75	98	90	0
Tarde	75	67	97	79	0
<u>Janeiro</u>					
Manhã	76	68	98	95	0
Tarde	79	64	98	84	0

As diferentes temperaturas constantes e a presença ou ausência da luz influenciaram significativamente a porcentagem e o tempo médio de germinação em ambas as espécies, e a interação entre temperatura e luz também foi significativa (Tabela 3). Ambas as espécies germinaram na faixa de temperatura entre 10 – 35°C na luz e 10 – 30°C no escuro, sendo que as maiores taxas de germinação foram alcançadas nas temperaturas de 15, 20 e 25°C sob luz branca e 15, 20 e 25°C no escuro em *G. barrosii*, e em 15, 20, 25°C na luz e 10, 15, 20 e 25°C no escuro para *G. polymorpha* (Tabela 4). No entanto, a espécie *G. polymorpha* apresentou germinação mais eficiente – acima de 60% – em uma maior faixa de amplitude térmica (10 – 30°C na luz e 10 – 25°C no escuro) enquanto que em *G. barrosii* esta amplitude foi de 15 – 30°C na luz e 15°C e 20°C no escuro (Tabela 4).

Tabela 3. Resumo da Anova fatorial (axb) para o efeito de temperaturas constantes e luz sobre a germinação (G) e tempo médio de germinação (TMG) de cipselas de espécies de *Gochnatia*.

	<i>Gochnatia barrosii</i>		<i>Gochnatia polymorpha</i>	
	G	TMG	G	TMG
Temperaturas (F; p)	189,0 <0,001	10,3 <0,001	347,6 <0,001	758,1 <0,001
Luz (F; p)	83,1 <0,001	21,8 <0,001	5,4 =0,020	5,9 =0,020
Interação (F; p)	11,9 <0,001	3,2 =0,039	11,9 <0,001	12,2 <0,001

F – valor teste F; p – probabilidades.

Tabela 4. Porcentagem de germinação (G) e tempo médio de germinação (TMG) de cipselas de espécies de *Gochnatia* em diferentes temperaturas constantes de incubação na luz e no escuro.

Temperaturas °C	<i>Gochnatia barrosii</i>		<i>Gochnatia polymorpha</i>	
	Luz	Escuro	Luz	Escuro
<i>G (%)</i>				
5	0 d	0 d	0 d	0 d
10	5,0 ± 5,0 d	1,0 ± 2,0 d	73,0 ± 3,8 c	95,0 ± 6,0 ab
15	84,0 ± 7,3 ab	61,0 ± 18,9 bc	97,0 ± 3,8 ab	96,0 ± 3,3 ab
20	90,0 ± 5,2 a	71,0 ± 6,0 abc	99,0 ± 2,0 a	98,0 ± 2,3 ab
25	88,0 ± 7,3 a	54,0 ± 9,5 c	97,0 ± 3,8 ab	94,0 ± 2,3 ab
30	65,0 ± 15,0 bc	4,0 ± 3,3 d	87,0 ± 8,9 bc	39,0 ± 13,2 c
35	3,0 ± 3,8 d	0 d	2,0 ± 2,3 d	0 d
40	0 d	0 d	0 d	0 d
<i>TMG^(dias)</i>				
5	-	-	-	-
10	-	-	21,8 ± 0,9 d	19,1 ± 0,7 e
15	19,9 ± 1,3bc	20,6 ± 1,4c	9,8 ± 0,1 bc	9,6 ± 0,1 cd
20	13,6 ± 1,7a	19,5 ± 1,3bc	5,7 ± 0,1 a	5,6 ± 0,1 a
25	15,3 ± 0,7ab	21,4 ± 1,3c	5,6 ± 0,2 a	7,1 ± 0,3 b
30	21,5 ± 2,4c	23,6 ± 5,7c	9,0 ± 0,3 b	11 ± 1,4 d
35	-	-	-	-
40	-	-	-	-

Média ± desvio padrão seguida pela mesma letra não difere estatisticamente pelo teste de Tukey ($p < 0,05$); as letras comparam colunas e linhas para cada espécie; (-) não calculado.

Para as cipselas de *G. barrosii* a germinação foi sempre maior na luz, independentemente da temperatura. No entanto, diferenças significativas entre luz e escuro ocorreram apenas nas temperaturas de 25 e 30°C. Em *G. polymorpha*, diferenças significativas na germinação das cipselas entre luz e escuro ocorreram apenas na temperatura de 10°C. Sendo que nesta temperatura houve maior germinação no escuro. Nas demais temperaturas, as médias de germinação foram elevadas (>96%) e similares (Tabela 4). As cipselas germinaram em menor tempo nas temperaturas de 20 e 25°C na luz em relação ao escuro em *G. barrosii* (13,6 e 15,3 dias, respectivamente) e em *G. polymorpha* o menor tempo

de germinação ocorreu nas temperaturas de 20 e 25°C na luz e 20°C no escuro (5,7, 5,6 e 5,6 dias, respectivamente) (Tabela 4).

Em relação à germinação em temperaturas alternadas, houve efeito significativo das temperaturas sobre a porcentagem e tempo médio de germinação em ambas as espécies. Por outro lado, a presença ou não da luz influenciou apenas a porcentagem de germinação. A interação entre temperatura e presença ou não de luz foi significativa apenas em *G. barrosii* (Tabela 5). Para *G. barrosii* as temperaturas alternadas de 25-30°C na luz proporcionaram maior porcentagem e menor tempo médio de germinação, e em *G. polymorpha* as temperaturas alternadas de 25-30°C na luz e 20-30°C no escuro proporcionaram as maiores porcentagens de germinação em menor tempo (Tabela 6). As cipselas de *G. polymorpha* apresentaram germinação acima de 70% em um maior número de regimes de temperaturas alternadas (15-30, 20-30 e 25-30°C na luz) em relação a *G. barrosii*, que apresentou o mesmo desempenho apenas nos regimes térmicos de 20-30 e 25-30°C (Tabela 6).

Tabela 5. Resumo da Anova fatorial (axb) para o efeito de temperaturas alternadas e luz sobre a germinação (G) e tempo médio de germinação (TMG) de cipselas de espécies de *Gochnatia*.

	<i>Gochnatia barrosii</i>		<i>Gochnatia polymorpha</i>	
	G	TMG	G	TMG
Temperaturas (F; <i>p</i>)	81,5 <0,001	21,8 <0,001	121,2 <0,001	80,0 <0,001
Luz (F; <i>p</i>)	78,5 <0,001	2,1 =0,162	24,0 <0,001	0,03 =0,851
Interação (F; <i>p</i>)	11,9 <0,001	8,3 =0,002	1,9 =0,144	2,2 =0,131

F – valor teste F; *p* – probabilidades

Para *G. barrosii* a diminuição da razão de vermelho e vermelho extremo (V/VE) da luz afetou os parâmetros de germinação avaliados. A partir da razão 0,5 a porcentagem de germinação foi reduzida ($F=98,3$; $p<0,01$) e o tempo médio de germinação aumentou em relação ao grupo controle ($F=20,8$; $p=0,00$) (Figura 2).

Tabela 6. Porcentagem de germinação (G) e tempo médio de germinação (TMG) de cipselas de espécies de *Gochnatia* em diferentes temperaturas alternadas de incubação na luz e no escuro.

Temperaturas °C	<i>Gochnatia barrosii</i>		<i>Gochnatia polymorpha</i>	
	Luz	Escuro	Luz	Escuro
<i>G (%)</i>				
15-30	36,0 ± 5,6 bc	18,0 ± 7,6 cd	71,0 ± 8,8 abc	57,0 ± 8,8 b
20-30	75,0 ± 11,0 a	43,0 ± 11,0 b	85,0 ± 8,2 a	80,0 ± 9,7 ac
25-30	84,0 ± 11,7 a	31,0 ± 10,0 bc	89,0 ± 6,0 a	63,0 ± 12,8 bc
25-35	4,0 ± 3,2 d	0 d	16,0 ± 8,6 d	1,0 ± 2,0 d
<i>TMG (dias)</i>				
15-30	24,7 ± 1,9 c	24,4 ± 1,6 bc	18,7 ± 1,6 c	20,7 ± 2,5 c
20-30	22,5 ± 0,5 bc	20,9 ± 0,8 b	13,6 ± 0,4 b	12,5 ± 1,6 ab
25-30	16,9 ± 0,8 a	22,5 ± 2,7 bc	10,6 ± 0,4 ab	10,1 ± 1,0 a
25-35	-	-	23,5 ± 4,1*	-

Média ± desvio padrão seguida pela mesma letra não difere estatisticamente pelo teste de Tukey ($p < 0,05$); as letras comparam colunas e linhas para cada espécie; (-) não calculado; *não foi incluso na Anova fatorial.

As cipselas de *G. polymorpha* apresentaram menor sensibilidade à alteração da razão V/VE em comparação com *G. barrosii*, com a germinação afetada apenas pela razão 0,1, sendo que na razão 0,5 não houve diferença significativa em relação ao grupo controle (7,2) para os dois parâmetros avaliados (Germinação: $F=275$, $p < 0,01$; TMG: $F=3,93$, $p=0,09$) (Figura 2).

O estresse hídrico simulado com PEG 6000 interferiu na germinação de ambas as espécies. No entanto, o limite de tolerância ao estresse divergiu entre as espécies (Figura 3). A porcentagem de germinação de cipselas de *G. barrosii* foi afetada a partir do potencial osmótico de -0,4 MPa, a partir do qual a germinação foi drasticamente reduzida, sendo que o limite de tolerância ao estresse osmótico foi até -0,8 MPa, quando apenas 2% das cipselas germinaram ($F=102,2$; $p < 0,01$) (Figura 3).

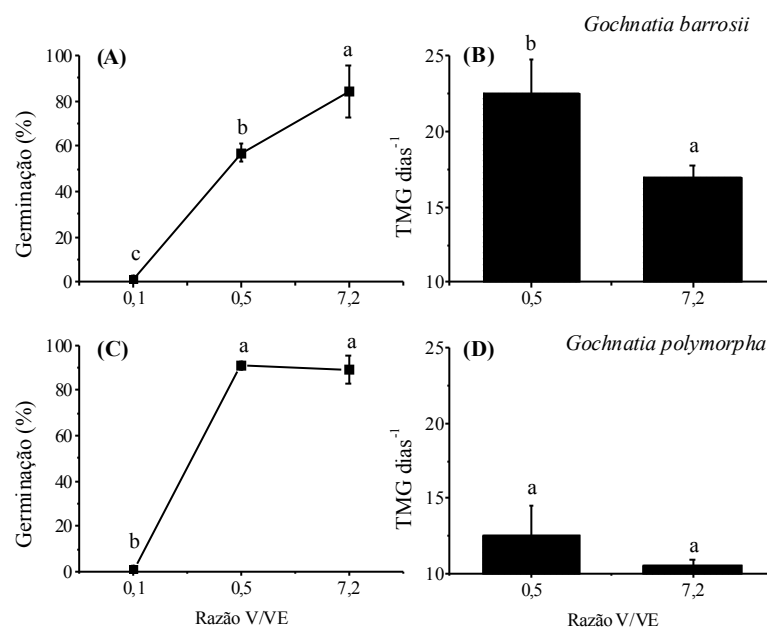


Figura 2. Porcentagem de germinação e tempo médio de germinação (TMG) de cipselas de *Gochnatia barrosii* (A e B) e *G. polymorpha* (C e D) respectivamente, sob luz com diferentes razões de vermelho e vermelho extremo (V/VE 0,1; 0,5; 7,2). Os gráficos representam média \pm desvio padrão. Letras diferentes indicam diferença significativa entre diferentes qualidades de luz ($p < 0,05$).

O tempo médio de germinação foi afetado a partir de -0,2 MPa, quando houve um aumento progressivo do tempo médio de germinação conforme se reduziu o potencial osmótico ($F=93,6$; $p < 0,01$) (Figura 3). As cipselas de *G. polymorpha* apresentaram alta porcentagem de germinação (>80%) até o potencial osmótico de -0,4 MPa. No potencial de -0,6 MPa a porcentagem decresceu, porém ainda sem apresentar diferença significativa dos tratamentos anteriores (Figura 3). As cipselas desta espécie germinaram ainda nos potenciais osmóticos de -0,8 e -1,0 MPa. Porém, a germinabilidade foi muito baixa nestas condições ($F=88,5$; $p < 0,01$). O estresse hídrico simulado interferiu também no tempo médio de germinação, que aumentou progressivamente a partir do potencial de -0,4 MPa ($F=33,2$; $p < 0,01$) (Figura 3).

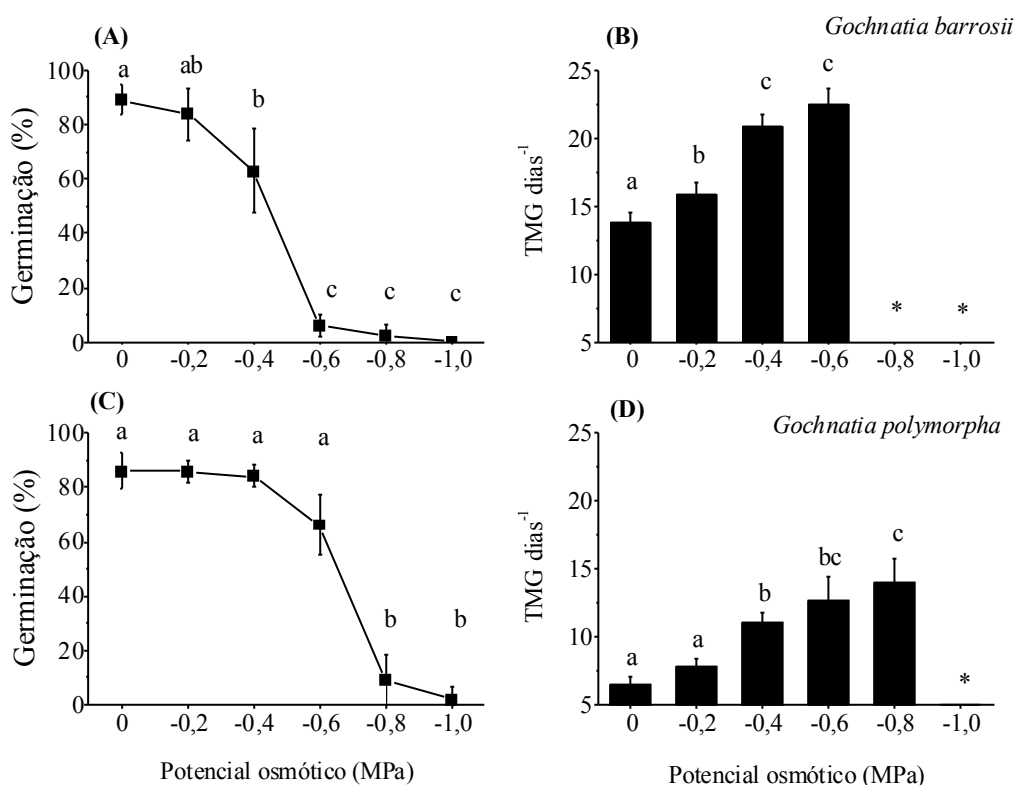


Figura 3. Porcentagem de germinação e tempo médio de germinação (TMG) de cipselas de *Gochnatia barrosii* (A e B) e *G. polymorpha* (C e D) respectivamente, em diferentes potenciais osmóticos (MPa). Os gráficos representam média \pm desvio padrão. Letras diferentes indicam diferença significativa entre os diferentes potenciais osmóticos ($p < 0,05$). (*) não calculado.

Discussão

A amplitude de temperaturas dentro da qual a germinação ocorre pode estar relacionada com a variação térmica a que as plantas estão expostas naturalmente (Baskin & Baskin 1998). Os resultados apresentados mostram que, para as duas espécies de *Gochnatia*, a variação da temperatura ambiente (Figura 1) e da superfície do solo (Tabela 1) nos diferentes micro-habitats de cerradão e cerrado *sensu stricto* está dentro da amplitude térmica de germinação nas duas espécies (10 – 35°C na luz; 10 – 30°C no escuro), e também próxima das temperaturas ótimas (20 e 25°C constante na luz em *G. barrosii*; e 20 e 25°C constante na luz

ou 20°C no escuro em *G. polymorpha*; ou 25-30°C alternadas sob luz para as duas espécies e 20-30°C alternadas em *G. polymorpha*) (Tabelas 4 e 6).

A percepção da luz ambiente é essencial para as diferentes fases de desenvolvimento dos vegetais, podendo indicar à planta sua localização no espaço e no tempo. Para algumas espécies, a percepção da luz durante a fase inicial do ciclo de vida pode ser determinante para indicar o momento ideal para germinação das sementes ou para o desenvolvimento da plântula (Smith 2000). Neste estudo, a resposta à luz foi dependente da temperatura de incubação nas duas espécies. Porém, este efeito foi mais evidente em cipselas de *G. barrosii*, espécie que apresentou tendência ou mesmo menores taxas de germinação significativas sob escuro contínuo em todas as temperaturas. Por outro lado, as cipselas de *G. polymorpha* apresentaram sensibilidade à luz apenas na temperatura de 10°C (Tabela 4) no caso das temperaturas constantes, e sob temperaturas alternadas apresentou menor inibição da germinação no escuro quando comparada a *G. barrosii* (Tabela 6).

O sombreamento do dossel da floresta pode diminuir a razão V/VE da luz incidente sobre o solo, já que as copas das árvores atuam como um filtro da luz, podendo inibir a germinação de certas espécies (Vasquez-Yanes *et al.* 1990; Casal & Sánchez 1998; Smith 2000).

Os resultados indicam que as espécies germinam preferencialmente em ambientes abertos (V/VE 7,2), com maior disponibilidade de luz como, por exemplo, nos micro-habitats de interior e borda do cerrado *sensu stricto* e eventualmente na borda do cerradão (Tabela 2). Ambas as espécies foram capazes de germinar na razão V/VE de 0,5, indicando que podem germinar no sub-bosque sob dossel (interior do cerradão; Tabela 2). Entretanto, a espécie *G. barrosii* foi mais sensível à alteração da qualidade de luz, tendo sua germinação diminuída nesta condição (V/VE 0,5), o que pode explicar ao menos em parte a ausência desta espécie no interior do cerradão e sua ocorrência em áreas alteradas e borda deste ambiente. A

germinação das espécies de *Gochnatia* estudadas é completamente inibida sob dossel muito fechado (V/VE 0,1).

A respeito das diferenças na sensibilidade à luz observada entre as duas espécies, estas provavelmente se devem a diferentes proporções na quantidade de fitocromo inativo (Fv) e ativo (Fve) preexistentes nas sementes dessas espécies (Casal & Sánchez 1998).

A resposta à alteração da qualidade da luz é bastante variável entre espécies tropicais. Por exemplo, sob condições de laboratório, as espécies *Cecropia obtusifolia* Bertol. e *Piper umbellatum* L. tiveram a germinação drasticamente reduzida em razões V/VE abaixo de 0,8 (<20%) (Vasquez-Yanez *et al.* 1990). Por outro lado, algumas espécies não apresentam inibição da germinação quando expostas a baixas razões de V/VE, como em *Acacia polyphylla* DC. (Araújo-Neto *et al.* 2003) e *Hylocereus setaceus* (Sal-Dick ex DC.) (Simão *et al.* 2007). A inibição da germinação em baixas razões de V/VE pode ser um importante mecanismo para evitar a germinação de sementes de espécies heliófitas em áreas sombreadas (Vazquez-Yanes & Orozco-Segovia 1993). Este fenômeno pode ser atribuído a maior necessidade de luz para germinação em cipselas de *G. barrosii*, uma vez que esta espécie tem sua distribuição associada a habitats com maior disponibilidade de luz no Cerrado.

Além da temperatura e da luz, outro fator que pode limitar a distribuição das espécies no ambiente é a disponibilidade de água. O processo de absorção de água pela semente durante a germinação pode ser dividido em três fases; na fase I a quantidade de água aumenta substancialmente através da diferença de potencial hídrico entre a semente e o meio. Durante a fase II, o conteúdo de água é mantido relativamente constante e os processos metabólicos requeridos para o crescimento do embrião são ativados, sendo que nesta fase ainda há tolerância à desidratação. A fase III é marcada por aumento no conteúdo de água da semente, que acontece devido à absorção associada ao início do crescimento do embrião e, uma vez iniciada, perde-se rapidamente a tolerância à desidratação (Ferreira & Borghetti 2004).

A embebição em potenciais hídricos reduzidos diminui o conteúdo de água das sementes e aumenta a duração da fase II, que atrasa a protrusão da radícula na fase III (Perez *et al.* 2001). Este fenômeno pode ser observado nas duas espécies de *Gochmatia*, que apresentaram atraso na emissão da radícula a partir do potencial osmótico de -0,2 MPa, sendo que a terceira fase da embebição não se completou em cipselas de *G. barrosii* que foram mantidas no potencial de -1,0 MPa (Figura 3). As cipselas de *G. barrosii* apresentaram menor tolerância ao estresse hídrico simulado com PEG 6000. Porém, a disponibilidade de água para a germinação das cipselas no Cerrado talvez não seja um fator limitante para ambas as espécies, já que dispersam seus diásporos durante a estação chuvosa e apresentam altas porcentagens de germinação dentro do período de 30 dias.

Os resultados obtidos neste estudo suportam a hipótese de que a espécie *G. polymorpha* apresenta maior amplitude de nicho de germinação, pois apresenta maior tolerância a diferentes fatores ambientais em comparação com *G. barrosii*. As cipselas de *G. polymorpha* apresentaram maior amplitude térmica com porcentagens de germinação elevadas, menor sensibilidade à luz e maior tolerância ao estresse hídrico. Tais características podem favorecer a germinação da espécie desde fisionomias mais abertas (cerrado *sensu stricto*) até as mais fechadas (cerradão), ou mesmo através da ocupação mais eficiente de clareiras no cerradão, podendo explicar ao menos em parte a distribuição dos indivíduos adultos desta espécie desde o interior até as bordas nas duas formações fisionômicas de Cerrado estudadas e, também, em formações florestais secundárias.

Agradecimentos

Os autores agradecem ao Dr. Massanori Takaki por realizar as medidas das razões V/VE das películas plásticas, ao Dr. Ciro C.Z. Branco por emprestar o sensor de luz e ao

Instituto Florestal do Estado de São Paulo por permitir a realização do estudo na EEA. Este estudo foi realizado com apoio financeiro da FAPESP (Proc. nº 2013/03748-6).

Referências

- Amaral-Baroli A. & Takaki M. (2001) Phytochrome controls achene germination in *Bidenspilosa* L. (Asteraceae) by very low fluence response. *Brazilian Archives of Biology and Technology* **44**: 121–124.
- Araújo-Neto J. C., Aguiar I. B. & Ferreira V. M. (2003) Efeito da temperatura e da luz na germinação de sementes de *Acacia polyphylla* DC. *Revista Brasileira de Botânica* **26**: 249–256.
- Baskin C. C. & Baskin J. M. (1998) *Seeds: Ecology, Biogeography, and Evolution of Dormancy and Germination*. Academic Press.
- Bognola I. A., Joaquim A. C., Prado H., Menk J. R. F. & Lepsch, I. F. (1996) Levantamento pedológico semidetalhado da Folha de Assis. Escala 1:100.000. Secretaria da Agricultura, São Paulo.
- Brändle M., Stadler J., Klotz S. & Brandl R. (2003) Distributional range size of weedy plant species is correlated to germination patterns. *Ecology* **84**: 136–144.
- Casal J. J. & Sánchez R. (1998) Phytochromes and seed germination. *Seed Science Research* **8**: 317–329.
- Donohue K., Casas R. R., Burghardt L., Kovach K. & Willis C. G. (2010) Germination, postgermination adaptation, and species ecological ranges. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* **41**: 293–319.
- Durigan G., Bacic M. C., Franco G. A. D. C. & Siqueira M. F. (1999) Inventário florístico do cerrado na Estação Ecológica de Assis, SP. *Hoehnea* **26**: 149–172.
- Fenner M. & Thompson K. (2005) *The Ecology of Seeds*. Cambridge: University Press, Cambridge.

- Fernández-Pascual E., Jiménez-Alfaro B. & Díaz T. E. (2013) The temperature dimension of the seed germination niche in fen wetlands. *Plant Ecology* **214**: 489–499.
- Ferreira A. G. & Borguetti F. (2004) Germinação: do básico ao aplicado. Porto Alegre: Artmed.
- Garcia Q. S., Oliveira P. G. & Duarte D. M. (2014) Seasonal changes in germination and dormancy of buried seeds of endemic Brazilian Eriocaulaceae. *Seed Science Research* **10**: 1–5.
- Grubb P. J. (1977) The maintenance of species richness in plant communities: the importance of the regeneration niche. *Biological Reviews* **52**: 107–145.
- Kissmann C. & Habermann G. (2013) Seed germination performances of *Styrax* species help understand their distribution in Cerrado areas in Brazil. *Bragantia* **72**: 199–207.
- Kissmann C., Tozzi H. H., Martins S. & Habermann G. (2012) Germination performance of congeneric *Styrax* species from the Cerrado *sensu lato* areas and their distribution pattern in different physiognomies. *Flora* **207**: 673–681.
- Labouriau L. G. (1983) A germinação das sementes. Washington: Secretaria Geral da Organização dos Estados Americanos – OEA.
- Larcher W. (2006) Ecofisiologia vegetal. São Carlos: Rima.
- Mendonça R. C., Felfili J. M., Walter B. M. T., Silva-Junior M. C., Filgueiras T. S., Nogueira P. E. & Fagg C. W. (2008) Flora vascular do cerrado: checklist com 12.356 espécies. In: Sano S. M., Almeida S. P. & Ribeiro J. F. (Eds.). Cerrado: ecologia e flora. Embrapa Informação e Tecnologia, pp. 422-442 .
- Merritt D. J. & Dixon K. W. (2011) Restoration seed banks – A matter of scale. *Science* **332**: 424–425.
- Morgan J. W. (1999) Effects of population size on seed production and germinability in an endangered, fragmented grassland plant. *Conservation Biology* **13**: 266–273.

- Mota L. A. S. & Garcia Q. S. (2013) Germination patterns and ecological characteristics of *Vellozia* seeds from high-altitude sites in south-eastern Brazil. *Seed Science Research* **23**: 67–74.
- Myers N., Mittermeier R. A., Mittermeier C. G., Fonseca G. A. B. & Kent J. (2000) Biodiversity hotspots for conservation priorities. *Nature* **403**: 853–858.
- Oliveira-Filho A. T. & Ratter J. A. (2002) Vegetation physiognomies and woody flora of the Cerrado biome. In: Oliveira P. S. & Marquis R. J. (Eds.), *The Cerrados of Brazil: Ecology and Natural History of a Neotropical Savanna*. Columbia University Press, New York, pp. 91–120.
- Perez S. C. J. G. A., Fanti S. C. & Casali C. A. (2001) Influência da luz na germinação de sementes de canafistula submetidas ao estresse hídrico. *Bragantia* **60**: 155–166.
- Pinheiro E. S. & Durigan G. (2009). Dinâmica espaço-temporal (1962-2006) das fitofisionomias em unidade de conservação do Cerrado no sudeste do Brasil. *Revista Brasileira de Botânica* **32**: 441–454.
- Probert R. J. (2000) The role of temperature in germination ecophysiology. In: Fenner M., (ed.) *Seeds: The ecology of regeneration in plant communities*. Wallingford, UK: CAB International.
- Ranieri B. D., Pezzini F. F., Garcia Q. S., Chautems A. & França M. G. C. (2012) Testing the regeneration niche hypothesis with Gesneriaceae (tribe Sinningiae) in Brazil: Implications for the conservation of rare species. *Austral Ecology* **37**: 125–133.
- Ribeiro J. F. & Walter B. M. T. (2008) As principais fitofisionomias do bioma Cerrado. In: Sano S. M., Almeida S. P. & Ribeiro J. F. (Eds.), *Cerrado: Ecologia e Flora*. Embrapa, Brasília, pp. 151-199.

- Rossatto D. R. & Kolb R. M. (2010) *Gochnatia polymorpha* (Less.) Cabrera (Asteraceae) changes in leaf structure due to differences in light and edaphic conditions. *Acta Botanica Brasilica* **24**: 605–612.
- Rossatto D. R. & Kolb R. M. (2012) Structural and functional leaf traits of two *Gochnatia* species from distinct growth forms in a sclerophyll forest site in Southeastern Brazil. *Acta Botanica Brasilica* **26**: 849–856.
- Salazar A., Goldstein G., Franco A. C. & Miralles-Wilhelm F. (2012) Differential seedling establishment of woody plants along a tree density gradient in Neotropical savannas. *Journal of Ecology* **100**: 1411–1421.
- Sales N. M., Pérez-García, F. & Silveira F. A. O. (2013) Consistent variation in seed germination across an environmental gradient in a Neotropical savanna. *South African Journal of Botany*, **87**: 129–133.
- Secretaria do Meio Ambiente. (1997) Estação Experimental e Ecológica de Assis. São Paulo, Secretaria do Meio Ambiente.
- Silveira F. A. O., Fernandes G. W. & Lemos-Filho J. P. (2013) Seed and seedling ecophysiology of neotropical Melastomataceae: implications for conservation and restoration of savannas and rainforests. *Annals of the Missouri Botanical Garden* **99**: 82–99.
- Simão E., Nakamura A. T. & Takaki M. (2008) Use of insulfilm[®] like plastic filter to simulate canopy filtered light for germination test. *Naturalia* **31**: 28–33.
- Simão E., Socolowski F. & Takaki M. (2007) The epiphytic Cactaceae *Hylocereus setaceus* (Salm-Dick ex DC.) Ralf Bauer seed germination is controlled by light and temperature. *Brazilian Archives of Biology and Technology* **50**: 655–662.
- Smith H. (2000) Phytochromes and light signal perception by plants – an emerging synthesis. *Nature* **407**: 585–591.

- Thompson K. & Ceriani R. M. (2003) No relationship between range size and germination niche width in the UK herbaceous flora. *Functional Ecology* **17**: 335–339.
- Thompson K., Gaston K. J. & Band S. R. (1999) Range size, dispersal and niche breadth in the herbaceous flora of central England. *Journal of Ecology* **87**: 150–155.
- Thompson K., Hodgson J. G. & Gaston K. J. (1998) Abundance-Range size relationships in the herbaceous flora of central England. *Journal of Ecology* **86**: 439–448.
- Vasquez-Yanes C., Orozco-Segovia A., Rincón E., Sánchez-Coronado M. E., Huante P., Toledo J. R. & Barradas V. L. (1990) Light beneath the litter in a tropical forest: effect on seed germination. *Ecology* **71**: 1952–1959.
- Vasquez-Yanes C. & Orozco-Segovia A. (1993) Patterns of seed longevity and germination in the tropical rainforest. *Annual Review of Ecology and Systematics* **24**: 69–87.
- Villela F. A., Doni-filho L. & Sequeira E. L. (1991) Tabela de potencial osmótico em função da concentração de polietileno glicol 6.000 e da temperatura. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* **26**: 1957–1968.
- Walter B. M. T. (2006) Fitofisionomias do bioma Cerrado: síntese terminológica e relações florísticas. Tese de doutorado, Universidade de Brasília, Brasília.

CAPÍTULO 2**Plasticidade morfofisiológica à luz em duas espécies de *Gochnatia*
(Asteraceae) ocorrentes no Cerrado**

Jonathan Wesley Ferreira Ribeiro¹; Davi Rodrigo Rossatto²; Rosana Marta Kolb¹

1. Departamento de Ciências Biológicas, Faculdade de Ciências e Letras de Assis, Univ Estadual Paulista – UNESP. Av. Dom Antonio, 2100, 19806-900, Assis, São Paulo, Brasil.

2. Departamento de Biologia Aplicada à Agropecuária, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Univ Estadual Paulista – UNESP. Via de Acesso Prof. Paulo Donato Castellane, s/nº, zona rural, 14884-000, Jaboticabal, São Paulo, Brasil.

Plasticidade morfofisiológica à luz em duas espécies de *Gochnatia* (Asteraceae) ocorrentes no Cerrado

Resumo

A luz consiste num dos fatores mais importantes para o estabelecimento e desenvolvimento de plantas, e em habitats heterogêneos, a alta plasticidade à luz pode conferir vantagens adaptativas para a obtenção de recursos em condições luminosas contrastantes. As espécies simpátricas *Gochnatia barrosii* e *G. polymorpha* apresentam padrões distintos de distribuição nas fitofisionomias de Cerrado, com *G. polymorpha* ocupando um maior número de microhabitats em relação a *G. barrosii*. Assim, o objeto deste estudo foi analisar a plasticidade fenotípica em resposta à luz em duas espécies de *Gochnatia*, bem como se o grau de plasticidade entre estas espécies pode indicar a capacidade de ocupação de diferentes microhabitats no Cerrado. Foram avaliadas as respostas de crescimento, de atributos fisiológicos e morfo-anatômicos foliares em plantas de *Gochnatia barrosii* e *G. polymorpha* submetidas a diferentes níveis de sombreamento (0, 50, 70 e 98%) em casa de vegetação. A plasticidade fenotípica foi estimada através do índice de plasticidade fenotípica (IPF) considerando todas as variáveis analisadas. Os resultados obtidos revelaram que ambas as espécies estudadas apresentam plasticidade fenotípica à luz para as características avaliadas. No entanto, a espécie *G. polymorpha* apresentou maior plasticidade em relação a *G. barrosii*, o que está de acordo com o caráter generalista desta espécie, sendo encontrada em uma ampla variedade de habitats no Cerrado.

Palavras chave: Plasticidade fenotípica, fluorescência da clorofila, pigmentos fotossintetizantes, anatomia foliar, ecofisiologia.

Introdução

Entre os diferentes fatores ambientais que interferem no estabelecimento e crescimento de plântulas, a luz é um dos mais importantes, pois influe diretamente na capacidade de aquisição de carbono, nas taxas de crescimento e conseqüentemente nos padrões de mortalidade (Gómez-Aparicio *et al.* 2006; Montgomery 2006; Valladares 2003). A disponibilidade de luz é extremamente variável de acordo com a estruturação de formações vegetais e pode ser um dos fatores que determinam a distribuição das plantas em escala local (Hoffmann *et al.* 2004).

No Cerrado brasileiro há uma ampla variedade de fitofisionomias, que variam desde formações campestres, passando por formações savânicas, até florestais (Oliveira & Ratter 2002; Ribeiro & Walter 2008), que são determinadas em virtude de variações em propriedades físico-químicas do solo, regimes de fogo, profundidade do lençol freático, micro-clima e topografia (Oliveira & Ratter 2002; Assis *et al.* 2011; Rossatto *et al.* 2012). Tais fitofisionomias possuem divergências estruturais e funcionais entre si, apresentando uma marcante diferença em relação à cobertura de dossel e densidade de árvores (Oliveira & Ratter 2002). Tais diferenças estruturais levam a variações no microclima da superfície do solo e afetam drasticamente a quantidade de radiação solar que adentra as diferentes fisionomias (Kissmann *et al.* 2012; Salazar *et al.* 2012). Essa heterogeneidade ambiental consiste num importante fator limitante ao estabelecimento de plantas a partir de sementes, interferindo nos processos de germinação de sementes, emergência e estabelecimento de plântulas entre os diferentes tipos fitofisionômicos (Hoffmann *et al.* 2004; Salazar *et al.* 2011; Kissmann *et al.* 2012; Salazar *et al.* 2012; Ribeiro & Borguetti 2013).

No Cerrado é comum a ocorrência de regiões ecotonais entre formações savânicas e florestais, apresentando diferenças na densidade arbórea e na cobertura do dossel (Hoffmann *et al.* 2005). Entre as fitofisionomias florestais, o cerradão é uma vegetação com

predominância de árvores formando um dossel contínuo com uma cobertura arbórea de cerca de 90%. E entre as fitofisionomias savânicas, o cerrado *sensu stricto* ou cerrado típico caracteriza-se pela presença de árvores baixas, com dossel descontínuo e cobertura arbórea de cerca de 50% (Pinheiro & Durigan 2009; Ribeiro & Walter 2008).

Espécies que ocorrem em habitats heterogêneos geralmente apresentam uma considerável plasticidade fenotípica em resposta à luz (Lee *et al.* 2000; Souza *et al.* 2010). A Plasticidade fenotípica é a habilidade de um organismo de alterar sua morfologia e/ou fisiologia em resposta a mudanças nas condições ambientais, sendo particularmente importante para plantas devido ao modo de vida sésil (Schlichting 1986). Pode ocorrer em diferentes níveis, podendo ser morfológica, anatômica e/ou fisiológica. Além disso, o grau de plasticidade fenotípica pode apresentar variações interespecíficas, intraespecíficas e mesmo entre diferentes atributos funcionais (Boeger *et al.* 2008; Cardoso & Lomônaco 2003; Portes *et al.* 2010; Sachéz-Goméz *et al.* 2006; Souza *et al.* 2010; Valladares *et al.* 2000).

A plasticidade é especialmente importante para plantas que ocorrem em habitats heterogêneos, uma vez que a alta plasticidade pode conferir vantagens adaptativas para a obtenção de recursos em condições ambientais contrastantes, permitindo assim, a exploração de nichos distintos e ampliando as possibilidades de distribuição da espécie ao longo de gradientes ambientais (Boeger *et al.* 2008; Sultan 2003).

A folha é um dos órgãos vegetais mais plásticos, e também o mais exposto às variáveis ambientais (Fahn 1986) e, por essa razão, modificações de suas características em vários níveis podem ser observadas (Boeger *et al.* 2008; Rossatto & Kolb 2010; Rossatto *et al.* 2010). Folhas sujeitas a diferentes condições de radiação solar podem apresentar alterações na concentração dos pigmentos fotossintetizantes (Gonçalves *et al.* 2001). Além disso, modificações da anatomia foliar podem permitir a manutenção e proteção do aparato fotossintético, mantendo-o em funcionamento mesmo em condições adversas (Silva *et al.* 2010).

Considerando a importância da disponibilidade de luz para o estabelecimento e desenvolvimento inicial de espécies vegetais, e que os diferentes tipos fitofisionômicos do Cerrado possuem regimes de luz distintos, neste estudo, avaliamos o crescimento e respostas fisiológicas e morfo-anatômicas foliares de duas espécies simpátricas de *Gochnatia* (Asteraceae) sob diferentes níveis de sombreamento, para verificar se estas espécies apresentam plasticidade fenotípica em resposta à luz, e se o grau de plasticidade pode indicar a capacidade de ocupação de diferentes micro-habitats no Cerrado.

As espécies de *Gochnatia* apresentam diferenças no padrão de distribuição entre as fitofisionomias do Cerrado. A espécie *Gochnatia barrosii* Cabrera (cambará-veludo) é um arbusto que pode alcançar 2 m de altura, é encontrada predominantemente em fitofisionomias savânicas no Cerrado, principalmente no cerrado *sensu stricto*, porém também é encontrada em bordas de cerradão, desta forma está restrita a ambientes mais abertos (Durigan *et al.* 2004). Já a espécie *Gochnatia polymorpha* (Less.) Cabrera (candeia ou cambará) é uma árvore que pode alcançar de 6-15 m de altura, ocorrendo em matas ciliares, cerradão e cerrado *sensu stricto*, desde o interior até as bordas desses ambientes (Durigan *et al.* 1999; Rossatto & Kolb 2012).

Devido ao fato de ambas as espécies ocorrerem naturalmente em habitats heterogêneos, espera-se que ambas apresentem plasticidade em resposta à luz (Lee *et al.* 2000), entretanto, espera-se encontrar maior plasticidade para plantas de *G. polymorpha*, já que esta espécie apresenta uma distribuição mais ampla, em diferentes micro-habitats no Cerrado quando comparada à *G. barrosii*.

Material e métodos

Coleta de sementes e área de estudo

As sementes (cipselas) foram coletadas de 12 indivíduos por espécie em outubro de 2012 (*G. barrosii*) e em janeiro de 2013 (*G. polymorpha*) na Estação Ecológica de Assis (EEA; 22°33'65''- 22°36'68''S; 50°22'29''-50°23'00''W), uma unidade de proteção integral dos recursos naturais localizada no oeste do estado de São Paulo, Brasil. O clima na EEA de acordo com a classificação de Köppen é Cwa e Cfa, caracterizado como subtropical, com chuvas concentradas entre os meses de outubro a maio, e estação seca de junho a setembro. As médias anuais de precipitação e temperatura são de 1400 mm e 21,8°C respectivamente. O relevo regional é suave-ondulado, em altitudes que variam entre 520 a 590 m (Secretaria do Meio Ambiente 1997), sendo os solos do tipo Latossolo Vermelho Distrófico, Argissolo Vermelho-Amarelo Eutrófico e Argissolo Vermelho-Amarelo Distrófico (Bognola *et al.* 1996). A vegetação na EEA é classificada como cerrado *lato sensu* (Oliveira-Filho & Ratter 2002) com predomínio da fisionomia de cerradão (Pinheiro & Durigan 2009), que é uma formação florestal com características escleromórficas e altura média do estrato arbóreo variando de 8 a 15 m, apresenta dossel contínuo e cobertura arbórea que pode chegar a 90%. Também ocorre a fisionomia de cerrado *sensu stricto*, caracterizada por estrato arbóreo e arbustivo-herbáceo definidos, com árvores distribuídas aleatoriamente sobre o terreno em diferentes densidades e dossel descontínuo (Ribeiro & Walter 2008), sendo que a cobertura arbórea média na área de estudo é de 46,3% (Pinheiro & Durigan 2009).

Condições experimentais

Cipselas previamente germinadas foram semeadas (uma unidade) em copos plásticos (50 ml) contendo solo de Cerrado e mantidos em laboratório. Noventa dias após a emergência, as plântulas foram transplantadas para sacos de polietileno (13,5 cm diâmetro x

30 cm altura) contendo solo de Cerrado e levadas para casa de vegetação. Nesta ocasião, as plântulas possuíam de 0,78 a 1,14 cm de altura, 0,78 a 1,13 cm de comprimento de raiz, 0,65 a 0,68 mm de diâmetro do colo e tinham de 3,1 a 3,4 folhas.

Foram utilizados quatro níveis de sombreamento: 98% (aprox. $29 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$), 70% (aprox. $424 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$), 50% (aprox. $679 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$), obtidos com telas tipo sombrite de cor preta, e 0% (aprox. $1395 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$). As medidas de irradiância (sob os sombrites e na ausência deles) foram realizadas próximo ao meio-dia com um sensor esférico acoplado a um fotômetro Li-cor (Li-250A, Biosciences, Lincoln, USA). Os níveis de sombreamento foram definidos a partir de medidas de irradiância obtidas em campo, em áreas de ocorrência natural das espécies estudadas. O tratamento de 50% de sombreamento simula condições de clareiras no cerradão, o tratamento de 70%, bordas e interior do cerrado *sensu stricto*, e o tratamento de 98% o sub-bosque sob dossel fechado do cerradão.

Análise de crescimento

As seguintes medidas foram tomadas para cada tratamento: comprimento do caule e da raiz (cm), massa seca do caule, da raiz e das folhas (g), área foliar total (cm^2), diâmetro do colo (mm) e número de folhas. Foi determinado o índice de estiolamento (comprimento do caule/diâmetro do colo) como uma medida alométrica relacionada à estratégia de evitar a sombra (Sánchez-Gómez *et al.* 2006). As medidas foram realizadas 240 dias após o transplante (que ocorreu 90 dias após a emergência). Para a realização das medidas, cada planta foi considerada como uma repetição, sendo o número amostral de 10 plantas por tratamento, com exceção do tratamento de 98%, onde a mortalidade reduziu o n amostral para 4.

Para a medida do caule foi considerada a distância entre o colo até a gema apical, e o diâmetro do colo foi medido com paquímetro digital, de precisão de 0,05 mm. Para a retirada

das raízes, os sacos plásticos foram cortados verticalmente e o solo removido com jatos finos de água. Para determinação da massa seca, o material foi coletado, acondicionado em sacos de papel e mantido em estufa a 80°C durante 48 horas. Após secagem, foram pesados separadamente em balança analítica. A determinação da área foliar total foi feita através da digitalização das folhas de cada indivíduo com scanner e as medidas realizadas com o software imageJ[®] de domínio público.

Atributos fisiológicos

Medidas foram realizadas no terço inferior de folhas (uma por planta) completamente expandidas do segundo ou terceiro nó de cinco plantas de cada tratamento. As medidas foram tomadas entre as 09:00 e 11:00 horas de um dia ensolarado no mês de março de 2014 em casa de vegetação, onde a temperatura e umidade relativa do ar ambiente eram em média de $32,9 \pm 0,4$ °C e $64,8 \pm 2,2$ % respectivamente.

A condutância estomática (g_s) foi medida com um porômetro (modelo sc-1, Decagon Devices, USA). Foram tomados dados de fluorescência da clorofila utilizando uma curva de saturação luminosa utilizando um fluorômetro portátil, modelo Junior PAM (Gademann Instruments GmbH, Wurzburg, Germany), com um fibra óptica de 1,5 mm de diâmetro e uma fonte de luz de diodo azul (485 ± 40 nm). Foi realizada uma curva “rápida” de fluorescência utilizando-se procedimentos padrões (White & Critchley 1999), o tempo total para realização da curva foi de 88 s, com 10 s de intervalo entre os flashes actínicos de luz (duração de 0,8s cada flash). Os flashes foram realizados em uma ordem de intensidade crescente. Os parâmetros de fluorescência da eficiência quântica efetiva, rETR (taxa relativa de transporte de elétrons) e NPQ (quenching não fotoquímico) foram calculados utilizando o software WINCONTROL (2.133/03.00) utilizando procedimentos usuais através de curvas rápidas de luz (Genty *et al.* 1989), utilizando-se um fator de absorbância de 0,84 e um valor de 0,5 para

absorção de luz para o PSI e PSII. Todas as medidas de fluorescência da clorofila foram realizadas em folhas previamente aclimatadas ao escuro por 30 minutos.

Para determinação de pigmentos fotossintéticos dois discos foliares (0,6 cm² cada) foram coletados do terço inferior das mesmas folhas onde foram realizadas as medidas de fluorescência. Os discos foliares foram pesados e em seguida macerados num almofariz com pistilo em 3,75 mL de acetona 80%, as amostras foram recolhidas em tubos de ensaio sendo centrifugadas a 3000 rpm durante 3 minutos. Após a centrifugação o sobrenadante foi coletado (2 mL) e transferido para uma cubeta de quartzo. Em seguida, as clorofilas (a, b e totais) e carotenoides totais foram quantificados através de espectrofotometria seguindo as equações propostas por Lichtenthaler (1987), sendo os resultados expressos em microgramas por centímetro quadrado ($\mu\text{g}\cdot\text{cm}^2$). Para evitar a fotodegradação dos pigmentos, a coleta do material vegetal foi realizada em laboratório na penumbra e a extração feita em sala escura climatizada ($22,0\pm 2,0^\circ\text{C}$) sob luz verde. O peso exato dos discos foliares bem como o volume final após extração de cada amostra foi anotado para ajustar os cálculos finais.

Atributos morfo-anatômicos

Para análise dos tecidos foliares foram realizadas seções transversais de regiões medianas do limbo a partir das mesmas folhas utilizadas para medição das variáveis fisiológicas. Os segmentos foram fixados em FAA 70 por 48 horas (Johansen 1940), sendo após desidratados em série etílica e incluídos em parafina. As seções foram obtidas com espessura de 8-10 μm , sendo coradas com azul de astra e fucsina básica, tendo entellan como meio de montagem. As medidas para cada um dos caracteres foliares (espessura da cutícula da face adaxial, epiderme da face abaxial e adaxial, do parênquima paliçádico e lacunoso, e total) foram tomadas a partir de imagens capturadas em lentes objetivas de 20x, com um total de 10 medidas por indivíduo analisado, utilizando-se um microscópio óptico da Zeiss, modelo Axio

Scope A1, acoplado a uma câmera digital Zeiss, modelo AxioCam MRc. Todas as medidas foram tomadas, com uso da ferramenta “zoom” quando necessário, utilizando-se o programa Axiovision 4.7. A partir das medidas de espessura dos parênquimas paliçádico e lacunoso foi calculada a razão entre esses tecidos (parênquima paliçádico/lacunoso).

As características estomáticas foram analisadas a partir de segmentos das mesmas folhas (uma amostra de $\pm 1 \text{ cm}^2$ foi retirada entre a margem e a nervura principal da lâmina foliar, na porção mediana do semilímbo). A dissociação das epidermes foliares foi realizada com uma solução 1:1 de ácido acético glacial e peróxido de hidrogênio, a $\pm 70^\circ\text{C}$, pelo tempo necessário para a total dissociação das epidermes (modificado de Franklin 1945). Quando não foi possível utilizar a técnica de dissociação das epidermes foi empregada a técnica de impressão da epiderme, utilizando cola universal para o processo, como descrito por Segatto *et al.* (2004). Após este processo, as epidermes foram lavadas com água destilada, colocadas sobre lâminas e coradas com safranina. A glicerina foi utilizada como meio de montagem. Foram analisados a densidade estomática, o comprimento e a largura das células-guarda (estômatos). As contagens dos estômatos foram feitas em três campos (definidos aleatoriamente) por indivíduo amostrado, na lente objetiva de 20x. O tamanho dos estômatos foi medido em no mínimo 3 campos diferentes, definidos aleatoriamente, totalizando 60 estômatos, com a lente objetiva de 20x. A ferramenta “zoom” foi utilizada quando necessário, a fim de que as medidas pudessem ser obtidas com precisão.

Para a determinação da área foliar específica (AFE), segmentos de aproximadamente 1 cm^2 foram coletados entre a margem e a nervura mediana a partir das mesmas folhas utilizadas nas determinações fisiológicas e morfo-anatômicas. Os segmentos secos foram pesados individualmente em balança analítica e a área obtida da mesma forma como foi descrito anteriormente para área foliar total.

Análise estatística

Os dados foram analisados através do teste Anova seguida pelo teste de Tukey ou LSD ($p < 0,05$). Para o índice de estiolamento, também foi aplicado o teste t-Student. Todos os dados foram testados quanto à normalidade (teste de Shapiro-Wilk, $\alpha = 0,05$) e homogeneidade das variâncias (teste de Levene, $\alpha = 0,05$), e quando não atenderam estes pressupostos foram transformados para Log_{10} , porém são apresentados nas figuras e tabelas os dados originais.

A análise de componentes principais (PCA) foi realizada para visualizar a posição dos indivíduos de *G. barrosii* e *G. polymorpha* submetidos a diferentes níveis de sombreamento (0, 50, 70 e 98% de sombreamento) nos dois primeiros componentes principais para os parâmetros de crescimento, fisiológicos e estruturais foliares (morfo-anatômicos). Todos os parâmetros foram padronizados e transformados em Log_{10} antes da análise. Para a PCA foi utilizado o método de matriz de variância-covariância (Gotelli & Ellison 2004). Apenas os dois eixos mais significantes são apresentados nesta análise. A PCA foi feita utilizando o software Past 2.17b (Hammer *et al.* 2001).

Índice de plasticidade fenotípica

O índice de plasticidade fenotípica (IPF) foi calculado para as variáveis descritas na tabela 4. Onde: $\text{IPF} = (\text{média máxima} - \text{média mínima}) / \text{média máxima}$, com resultados variando de 0 a 1 (Valladares *et al.* 2000). Os valores de IPF foram calculados considerando os valores médios máximos e mínimos dentre todos os tratamentos de sombreamento em cada parâmetro avaliado.

Resultados

Atributos de crescimento

De maneira geral, houve maior alocação de biomassa nos diferentes órgãos vegetais nas condições de 0 a 70% de sombreamento, com drástica redução da biomassa sob 98% de sombreamento para ambas as espécies (*G. barrosii*: folhas $F=251,8$, $p<0,01$; caule $F=242,6$, $p<0,01$; raiz $F=358,1$, $p<0,01$; *G. polymorpha*: folhas $F=583,4$, $p<0,01$; caule $F=306,2$, $p<0,01$; raiz $F=691,1$, $p<0,01$) (Figura 1).

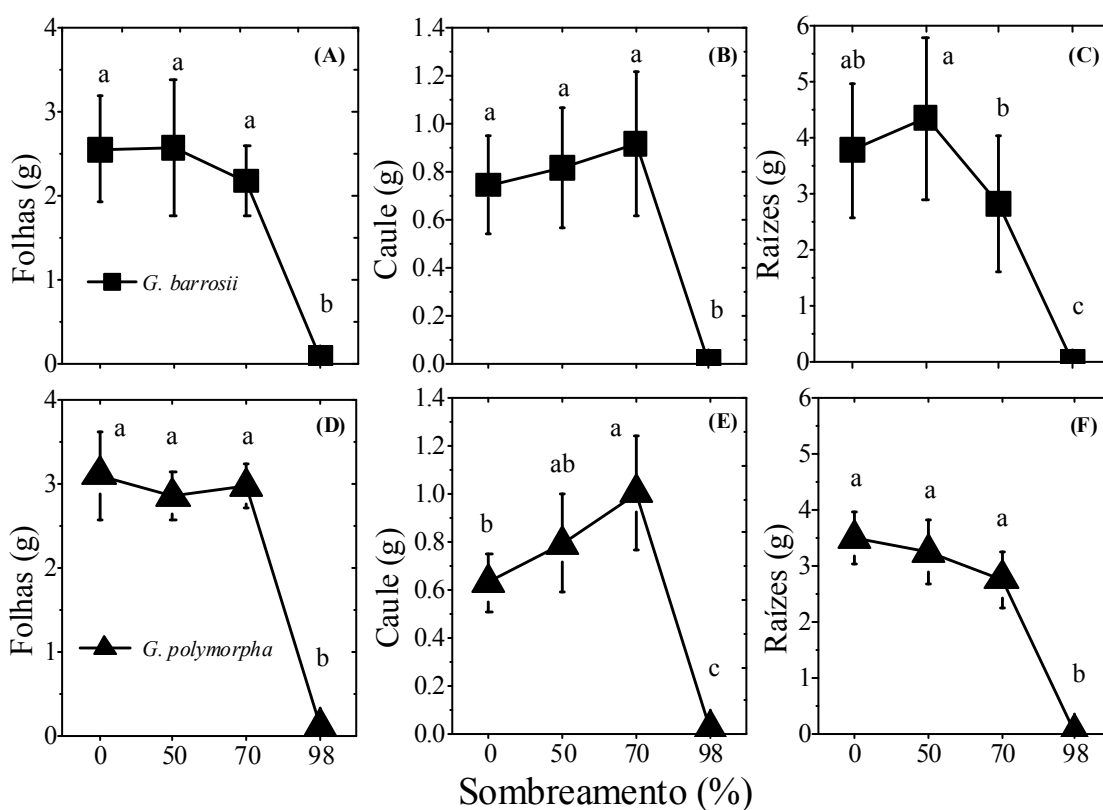


Figura 1. Biomassa seca das folhas (A; D), caule (B; E) e raízes (C; F) em plantas de *Gochnatia barrosii* (■) e *G. polymorpha* (▲) submetidas a diferentes níveis de sombreamento (0, 50, 70 e 98%). Letras diferentes indicam diferença significativa (Tukey $p<0,05$) entre os tratamentos para cada parâmetro e espécie.

Em *G. barrosii* o maior comprimento do caule ocorreu em 50 e 70% de sombreamento ($F=155,8$; $p<0,01$), e o diâmetro do colo entre 0 e 70% ($F=194,1$; $p<0,01$). Em plantas de *G. polymorpha*, a maior média de comprimento do caule ocorreu em 70% de sombreamento ($F=54,1$; $p<0,01$). O diâmetro do colo foi maior entre os tratamentos de 0 a 70% ($F=114,5$; $p<0,01$) (Tabela 1).

Os maiores índices de estiolamento foram registrados no tratamento de 70% de sombreamento em *G. barrosii* ($F=529,7$; $p<0,01$) e em 70 e 98% para *G. polymorpha* ($F=853,3$; $p<0,01$). Quando comparado entre as espécies, os maiores índices foram registrados para *G. barrosii* entre 0 e 70%, e para *G. polymorpha* no tratamento de 98% de sombreamento (Tabela 1).

Tabela 1. Comprimento do caule (cm), diâmetro do colo (mm) e índice de estiolamento ($\text{cm}\cdot\text{mm}^{-1}$) em plantas de *Gochnatia barrosii* e *G. polymorpha* submetidas a diferentes níveis de sombreamento (0, 50, 70 e 98%). Os valores indicam as médias \pm desvio padrão.

	Comprimento do caule	Diâmetro do colo	Índice de estiolamento
<i>G. barrosii</i>			
0%	24,3 \pm 5,2 b	3,87 \pm 0,5 a	6,3 \pm 1,3 b*
50%	25,6 \pm 5,5 ab	3,77 \pm 0,3 a	6,9 \pm 1,3 b*
70%	33,4 \pm 7,1 a	3,50 \pm 0,4 a	9,6 \pm 2,3 a*
98%	3,1 \pm 0,7 c	1,13 \pm 0,1 b	2,7 \pm 0,7 c
<i>G. polymorpha</i>			
0%	19,5 \pm 3,3 b	3,83 \pm 0,5 a	5,2 \pm 0,9 b
50%	23,0 \pm 3,9 b	4,14 \pm 0,5 a	5,6 \pm 0,7 b
70%	30,6 \pm 6,0 a	4,24 \pm 0,3 a	7,2 \pm 1,2 a
98%	7,4 \pm 1,5 c	1,20 \pm 0,2 b	6,3 \pm 1,9 ab*

Letras diferentes indicam diferença significativa (Tukey $p<0,05$) entre os tratamentos (colunas) para cada parâmetro e espécie. O asterisco (*) indica diferença significativa (teste t) para o índice de estiolamento entre as espécies no mesmo nível de sombreamento.

Atributos fisiológicos

Houve efeito significativo dos diferentes níveis de sombreamento sobre os valores de g_s para ambas as espécies, com valores superiores nos tratamentos com maior disponibilidade de luz. Para *G. barrosii* houve diferença significativa apenas entre os níveis de sombreamento de 0 e 98%, sendo os tratamentos intermediários (50 e 70%) similares à 0 e 98% (Figura 2-A). Para *G. polymorpha* a g_s diferiu entre 0% e os demais tratamentos (50, 70 e 98%), os quais foram similares entre si (Figura 2-B). Em relação ao rendimento quântico potencial do PSII (F_v/F_m), não houve diferença estatística entre os diferentes tratamentos para ambas as espécies (Figura 2-C e D).

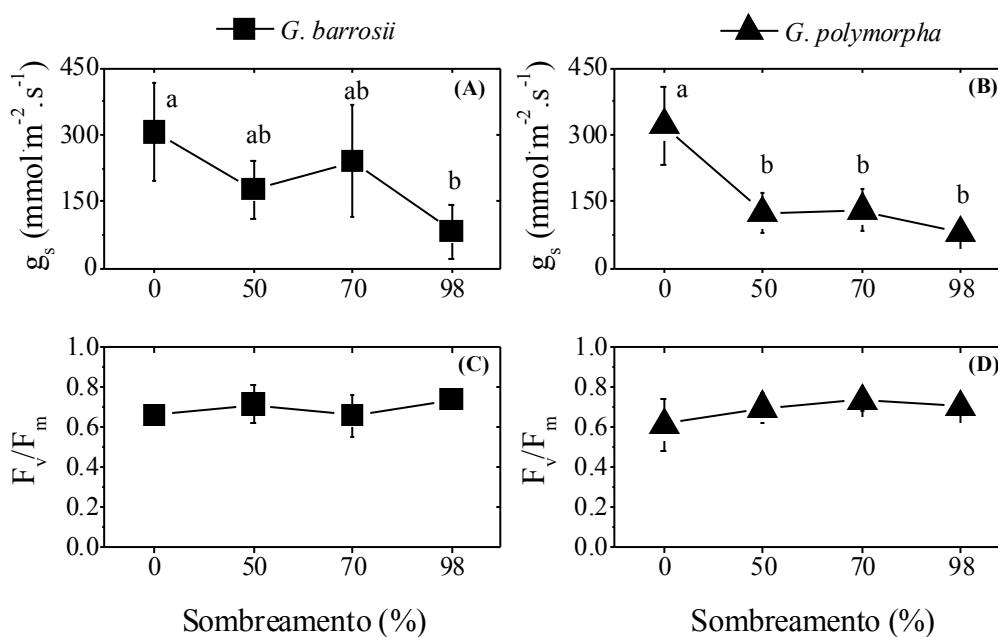


Figura 2. Condutância estomática (g_s) (A; B) e rendimento quântico potencial do PSII (F_v/F_m) (C; D) em folhas de plantas de *Gochnatia barrosii* (■) e *G. polymorpha* (▲) submetidas a diferentes níveis de sombreamento (0, 50, 70 e 98%). Letras diferentes indicam diferença significativa (Tukey $p < 0,05$) entre os tratamentos para cada parâmetro e espécie.

As curvas de saturação de luz revelaram um desempenho fotossintético contrastante entre plantas que cresceram sob diferentes condições de luz (Figura 3), porém, houve um padrão similar de resposta à luz para ambas as espécies. Para *G. barrosii*, os valores da máxima taxa relativa de transporte de elétrons (ETR_{max}) foram de 87,2, 83,4, 56,4 e 37 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$, respectivamente, para os tratamentos de 0, 50, 70 e 98% de sombreamento (Figura 3-A). E, para *G. polymorpha* os valores da ETR_{max} foram de 114,1, 94,7, 86,1 e 43 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$, respectivamente, para os tratamentos de 50, 70, 0 e 98% de sombreamento (Figura 3-B). O excesso de luz (0%) resultou em um elevado NPQ para as duas espécies, ao contrário do tratamento de 98% que apresentou os menores valores (Figura 3-C e D).

Os diferentes níveis de sombreamento influenciaram a concentração de pigmentos fotossintéticos nas duas espécies estudadas (Tabela 2). Em *G. barrosii* houve maior concentração de todos os pigmentos no tratamento de 98% de sombreamento (clorofilas a: $F=15,9$, $p<0,01$; b: $F=13,7$, $p<0,01$; totais: $F=16,3$, $P<0,01$; carotenoides: $F=8,7$, $p<0,01$). Para *G. polymorpha* houve a tendência de aumento progressivo na concentração dos pigmentos conforme se diminuiu a disponibilidade de luz, com maior concentração nos tratamentos de 98 e 70% (clorofilas a: $F=11,3$, $p<0,01$; b: $F=13,7$, $p<0,01$; totais: $F=12,0$, $P<0,01$; carotenoides: $F=8,8$, $p<0,01$).

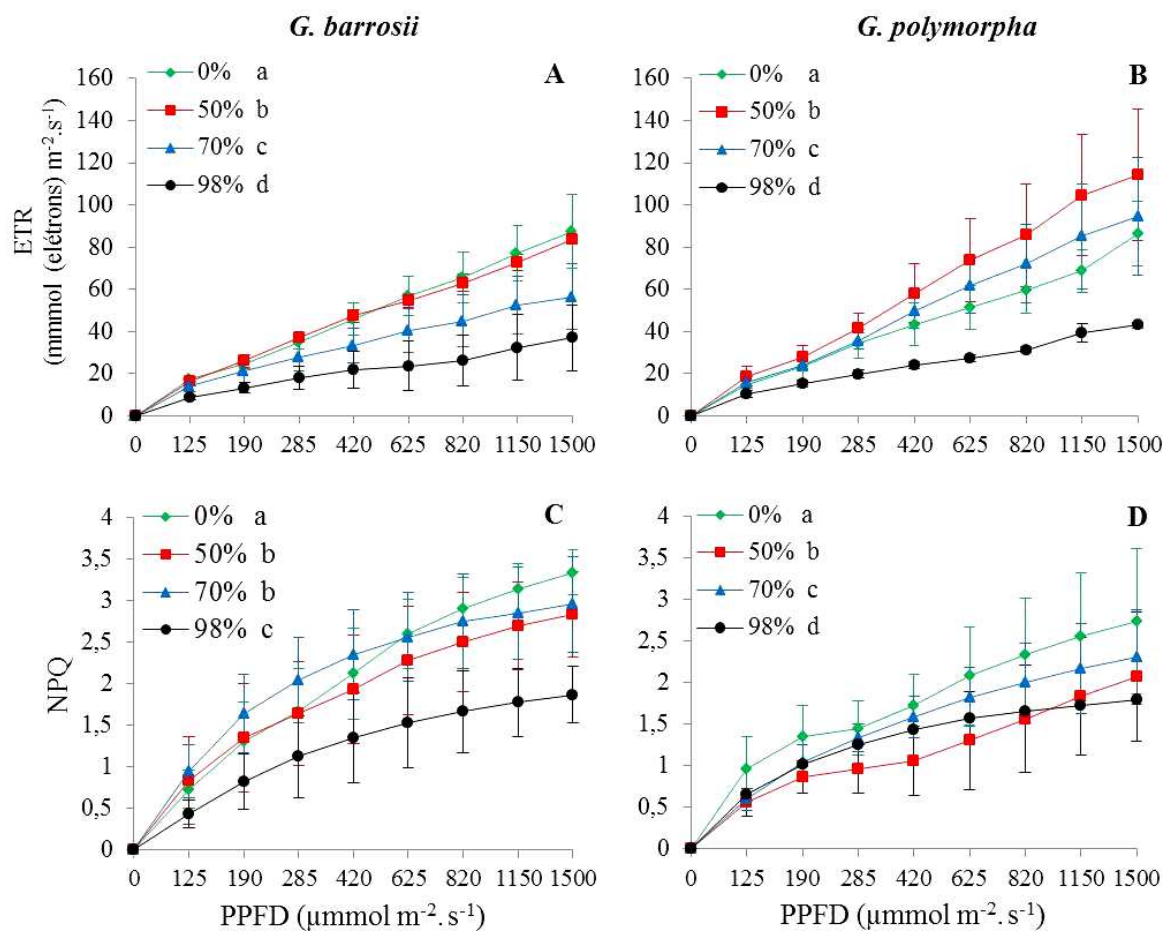


Figura 3. Curvas de saturação de luz em plantas de *Gochnatia barrosii* (A e C) e *G. polymorpha* (B e D) crescidas em diferentes níveis de sombreamento (0, 50, 70 e 98%). Taxa aparente de transporte de elétrons (ETR) (A e B), e quenching não fotoquímico (NPQ) (C e D). Os gráficos representam média \pm desvio padrão. Letras diferentes indicam diferença significativa entre as médias (LSD $p < 0,05$).

Tabela 2. Concentração ($\mu\text{g}\cdot\text{cm}^2$) de pigmentos fotossintéticos em folhas de plantas de *Gochnatia barrosii* e *G. polymorpha* submetidas a diferentes níveis de sombreamento (0, 50, 70 e 98%). Os valores indicam as médias \pm desvio padrão.

	Clorofila a	Clorofila b	Clorofilas totais	Carotenoides
<i>G. barrosii</i>				
0%	8,3 \pm 2,3 b	3,5 \pm 0,9 b	11,8 \pm 3,2 b	3,1 \pm 0,4 b
50%	10,4 \pm 1,5 b	4,9 \pm 1,4 b	15,2 \pm 2,4 b	3,4 \pm 0,7 b
70%	11,1 \pm 1,8 b	4,6 \pm 0,7 b	15,7 \pm 2,5 b	3,6 \pm 0,6 b
98%	19,1 \pm 1,9 a	8,1 \pm 0,9 a	27,2 \pm 2,8 a	5,1 \pm 0,5 a
<i>G. polymorpha</i>				
0%	8,9 \pm 1,7 c	3,5 \pm 0,5 c	11,7 \pm 1,6 c	2,5 \pm 0,2 c
50%	8,9 \pm 1,5 bc	3,9 \pm 0,6 bc	12,8 \pm 2,1 bc	2,9 \pm 0,5 bc
70%	14,1 \pm 2,7 ab	6,0 \pm 0,9 ab	20,2 \pm 3,6 ab	4,1 \pm 0,7 ab
98%	16,8 \pm 3,3 a	7,4 \pm 1,5 a	24,2 \pm 4,8 a	4,8 \pm 1,0 a

Letras diferentes indicam diferença significativa (Tukey $p < 0,05$) entre os tratamentos (colunas) para cada parâmetro e espécie.

Atributos morfo-anatômicos

De maneira geral, houve uma diminuição na espessura dos tecidos e espessura total das folhas conforme se diminuiu a disponibilidade de luz (Figura 4), com exceção da face abaxial da epiderme de *G. polymorpha* e do parênquima lacunoso nas duas espécies (Tabela 3). Não houve formação de parênquima paliçádico em plantas crescidas sob condições de sombreamento intenso (98%) nas duas espécies (Figura 4). Conseqüentemente, a relação entre os parênquimas paliçádico e lacunoso foi menor no tratamento de 98% de sombreamento em relação aos demais tratamentos para ambas as espécies (Tabela 3).

Em relação às características dos estômatos, a espécie *G. barrosii* apresentou resposta apenas na densidade estomática, que foi maior nos tratamentos de 0 a 70% ($F=16,7$, $p < 0,01$). Já em *G. polymorpha* houve diferença significativa para o comprimento dos estômatos entre os tratamentos de 0 e 50% para 98% de sombreamento, sendo os estômatos em 70% similares aos demais tratamentos ($F=4,9$, $p=0,01$). Esta espécie também apresentou redução da largura

dos estômatos no tratamento de 98% de sombreamento ($F=16,0$, $p<0,01$), e redução acentuada na densidade estomática conforme a disponibilidade de luz foi reduzida ($F=16,7$, $p<0,01$) (Tabela 3).

A área foliar específica aumentou conforme se elevou o nível de sombreamento nas duas espécies (*G. barrosii*: $F=110,8$, $p<0,01$; *G. polymorpha*: $F=70,3$, $p<0,01$) (Tabela 3).

Análise de componentes principais e Plasticidade fenotípica

Em relação à análise de componentes principais (PCA), houve evidente separação entre grupos (Figura 5). O primeiro eixo explicou 68,9% da variância total dos dados, enquanto que o segundo eixo explicou 17,7% da variância, totalizando 86,7% da variância. Os parâmetros com maior significância para a separação dos grupos foram: ETR, CLA, CLB, CARO, AFE, PP, ESPESSURA, MCAULE, MRAIZ, MFOLHA e AFOLIAR para o primeiro eixo, enquanto que para o segundo eixo foram as variáveis: NPQ, EPABA e COMPCAULE (Figura 5).

O primeiro eixo mostra que há uma separação entre as plantas de *G. polymorpha* de diferentes níveis de sombreamento, ou seja, esta espécie respondeu de maneira diferente, com seu conjunto de atributos, ao sombreamento. No primeiro eixo não houve separação entre *G. barrosii* e *G. polymorpha*. Entretanto, no eixo 2 há uma clara separação entre *G. barrosii* e *G. polymorpha*, com exceção do tratamento de 98%, onde não houve separação entre as espécies. O segundo eixo não separa as plantas de *G. barrosii* considerando a faixa de sombreamento de 0 a 70% (Figura 5).

Tabela 3. Atributos morfo-anatômicos foliares de plantas de *Gochnatia barrosii* e *G. polymorpha* submetidas a diferentes níveis de sombreamento (0, 50, 70 e 98%). Os valores indicam as médias \pm desvio padrão. Letras diferentes indicam diferença significativa (Tukey $p < 0,05$) entre os tratamentos (linhas) para cada atributo e espécie. (*) Não mensurável. (**) Ausência do tecido.

Atributos	0%	50%	70%	98%
<i>G. barrosii</i>				
Cutícula adaxial (μm)	0,80 \pm 0,1 a	0,71 \pm 0,2 ab	0,57 \pm 0,04 b	(*)
Epiderme adaxial (μm)	15,1 \pm 1,9 a	15,2 \pm 1,2 a	11,0 \pm 1,6 b	9,5 \pm 0,6 b
Parênquima paliçádico (μm)	37,2 \pm 3,1 a	32,9 \pm 2,6 a	26,1 \pm 2,4 b	(**)
Parênquima lacunoso (μm)	41,7 \pm 4,7 ab	43,5 \pm 5,4 a	34,4 \pm 3,8 c	40,4 \pm 4,4 ab
Razão parênquima paliçádico/lacunoso	0,90 \pm 0,1 a	0,77 \pm 0,1 a	0,76 \pm 0,04 a	0 b
Epiderme abaxial (μm)	10,7 \pm 1,2 a	11,3 \pm 1,0 a	8,5 \pm 1,1 b	7,3 \pm 0,2 b
Espessura da folha (μm)	102,1 \pm 8,9 a	98,9 \pm 5,2 a	79,2 \pm 9,7 b	56,7 \pm 4,6 c
Comprimento dos estômatos (μm)	23,2 \pm 0,9 a	21,4 \pm 1,1 a	21,9 \pm 1,3 a	22,9 \pm 0,6 a
Largura dos estômatos (μm)	17,7 \pm 0,8 a	16,9 \pm 0,7 a	16,8 \pm 1,2 a	16,5 \pm 0,1 a
Densidade estomática ($\text{n}^\circ\text{mm}^{-2}$)	255,2 \pm 40,7a	263,3 \pm 53,0 a	204,5 \pm 24,2 a	77,6 \pm 10,6 b
Área foliar específica (cm^2g^{-1})	144,8 \pm 9,4 b	166,0 \pm 7,2 ab	189,3 \pm 10,8 a	379,7 \pm 54,3 a
<i>G. polymorpha</i>				
Cutícula adaxial (μm)	2,7 \pm 0,8 a	2,0 \pm 0,6 ab	1,0 \pm 0,5 b	(*)
Epiderme adaxial (μm)	27,3 \pm 6,2 a	20,3 \pm 4,7 ab	13,5 \pm 1,3 bc	9,53 \pm 0,9 c

Continua

Continuação

Atributos	0%	50%	70%	98%
Parênquima paliçádico (μm)	76,9 \pm 1,4 a	73,0 \pm 10,8 a	53,9 \pm 3,2 b	(**)
Parênquima lacunoso (μm)	76,7 \pm 13,8 a	59,3 \pm 12,2 a	56,6 \pm 7,8 a	56,9 \pm 12,2 a
Razão parênquima paliçádico/lacunoso	1,0 \pm 0,2 a	1,3 \pm 0,2 a	0,96 \pm 0,1 a	0 b
Epiderme abaxial (μm)	7,1 \pm 0,5 a	7,7 \pm 0,8 a	7,7 \pm 1,4 a	7,6 \pm 1,3 a
Espessura da folha (μm)	188,8 \pm 15,9 a	159,4 \pm 24,1 ab	129,9 \pm 13,65 b	70,8 \pm 14,7 c
Comprimento dos estômatos (μm)	26,1 \pm 1,2 a	25,4 \pm 1,7 a	26,5 \pm 0,8 ab	22,6 \pm 2,4 b
Largura dos estômatos (μm)	24,8 \pm 0,6 a	22,8 \pm 1,6 a	22,7 \pm 1,0 a	19,1 \pm 1,2 b
Densidade estomática ($\text{n}^\circ\text{mm}^{-2}$)	408,9 \pm 87,5 a	298,3 \pm 41,5 ab	246,5 \pm 57,3 bc	132,3 \pm 22,6 c
Área foliar específica (cm^2g^{-1})	91,5 \pm 9,9 b	114,6 \pm 15,4 b	120,4 \pm 18,6 b	378,7 \pm 86,6 a

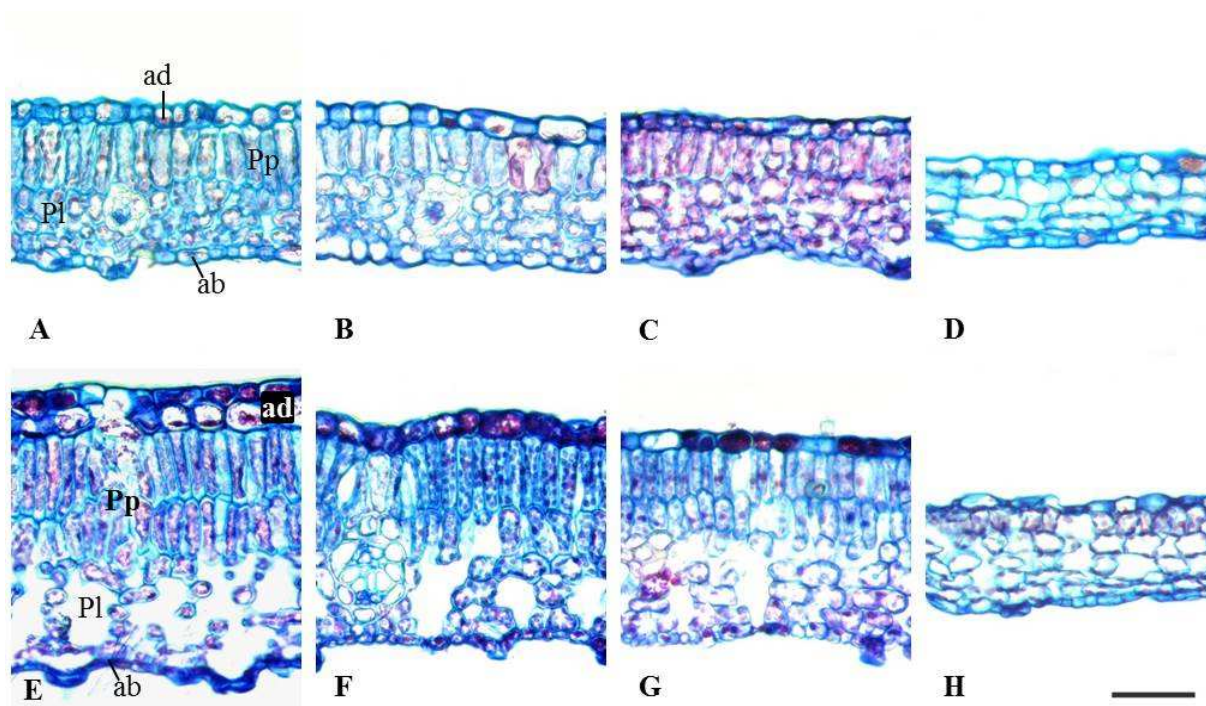


Figura 4. Seções transversais de folha de *Gochnatia barrosii* (A-D) e *G. polymorpha* (E-H), submetidas a diferentes níveis de sombreamento. A e E – 0%, B e F – 50%, C e G – 70%, e D e H – 98% de sombreamento. ad: epiderme da face adaxial; Pp: parênquima paliçádico; Pl: parênquima lacunoso; ab: epiderme da face abaxial. Barra: 50µm.

Dentre os parâmetros analisados para o índice de plasticidade fenotípica (IPF) (Tabela 4), as duas espécies de *Gochnatia* apresentaram plasticidade para a maioria dos atributos. A espécie *G. polymorpha* apresentou maiores valores de IPF em dez variáveis (comprimento da raiz, número de folhas, cutícula, epiderme adaxial, parênquima lacunoso, espessura da folha, comprimento e largura dos estômatos da face abaxial, AFE e carotenoides), enquanto que *G. barrosii* apresentou maiores valores do IPF em cinco variáveis (comprimento do caule, área foliar total, epiderme abaxial, NPQ e clorofila a). Esses dados corroboram o que foi observado na figura 5, onde houve clara separação entre os diferentes tratamentos de sombreamento para *G. polymorpha*, fato não observado para *G. barrosii*.

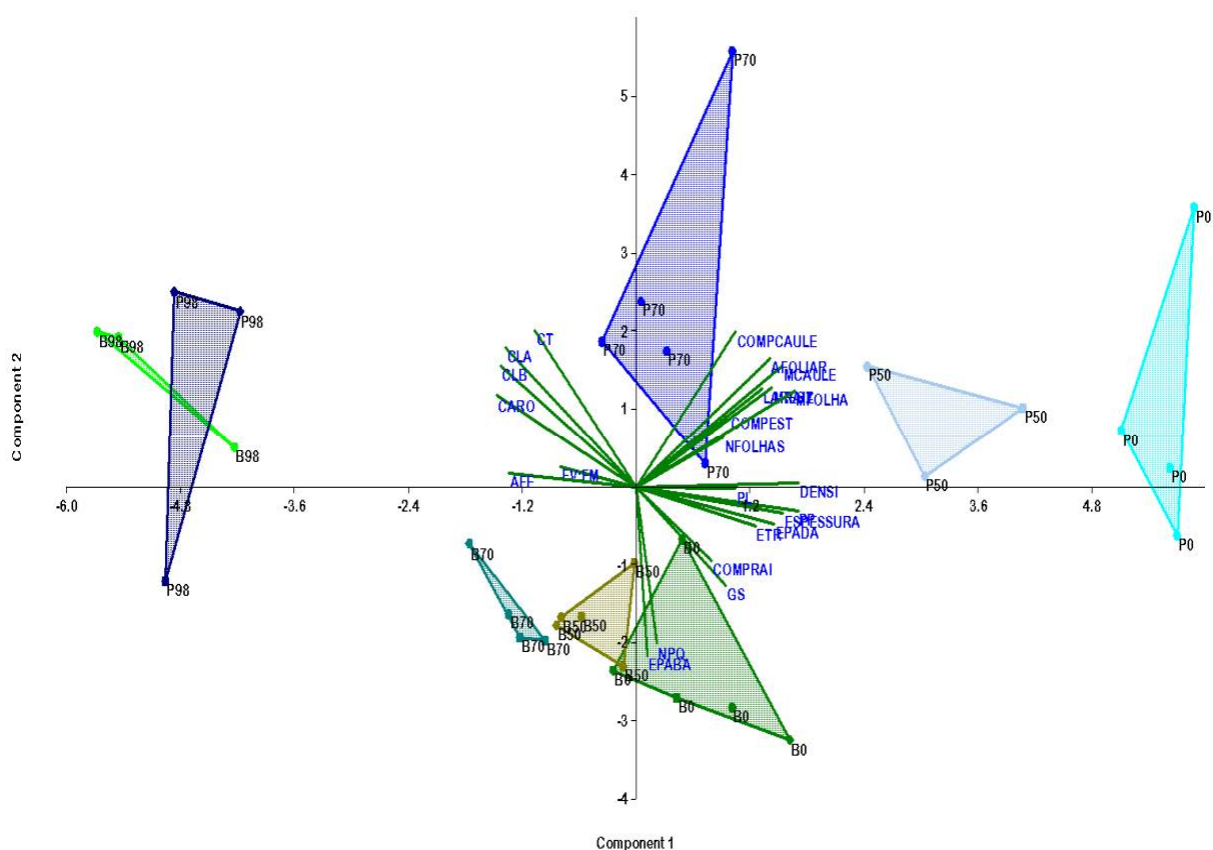


Figura 5. Posição dos indivíduos de *G. barrosii* (B) e *G. polymorpha* (P) submetidos a diferentes níveis de sombreamento (0 - plena luz; 50 - 50% sombreamento; 70 - 70% de sombreamento e 98 - 98% de sombreamento) nos dois primeiros componentes principais para os parâmetros estruturais foliares (AFE – área foliar específica; COMPESTO – comprimento dos estômatos; LARESTO – largura dos estômatos; DENSI – densidade estomática; EPADA – epiderme adaxial; EPABA – epiderme abaxial; PP – parênquima paliçádico; PL – parênquima lacunoso; ESPESSURA – espessura foliar total), fisiológicos (ETR – taxa de transporte de elétrons; NPQ – Quenching não fotoquímico; Fv/Fm – rendimento quântico potencial do PSII; GS – condutância estomática; CLA – clorofila a; CLB – clorofila b; CT – clorofilas totais; CARO – carotenoides) e de crescimento (COMPCAULE – comprimento do caule; COMPRAI – comprimento da raiz; NFOFOLHAS – número de folhas; MCAULE – massa do caule; MRAIZ – massa da raiz; MFOLHA – massa da folha; AFOLIAR – área foliar total).

Tabela 4. Índice de plasticidade fenotípica (IPF) em relação à luz de atributos de crescimento, fisiológicos e morfo-anatômicos para *Gochnatia barrosii* e *G. polymorpha*.

Atributos	<i>G. barrosii</i>	<i>G. polymorpha</i>
<u>Crescimento</u>		
Comprimento do caule	0,91	0,76
Comprimento da raiz	0,26	0,40
Massa do caule	0,99	0,98
Massa da raiz	0,99	0,99
Número de folhas	0,13	0,43
Massa das folhas	0,98	0,96
Área foliar total	0,93	0,84
<u>Fisiológicos</u>		
ETR	0,58	0,62
NPQ	0,44	0,33
Fv/Fm	0,11	0,18
g _s	0,73	0,76
Clorofila a	0,57	0,47
Clorofila b	0,57	0,53
Clorofilas totais	0,57	0,52
Carotenoides	0,39	0,48
<u>Morfo-anatômicos</u>		
Cutícula adaxial	0,29	0,62
Epiderme adaxial	0,40	0,65
Parênquima paliçádico	0,30	0,30
Parênquima lacunoso	0,21	0,26
Epiderme abaxial	0,35	0,08
Espessura da folha	0,45	0,63
Comprimento dos estômatos	0,08	0,15
Largura dos estômatos	0,07	0,23
Densidade estomática	0,71	0,68
Área foliar específica	0,62	0,76

Discussão

O crescimento em altura de espécies tropicais geralmente está positivamente relacionado ao ambiente luminoso (Pooter 2001). Por outro lado, o crescimento está diretamente ligado à produção de biomassa, portanto, condicionado à fotossíntese que apresenta maiores taxas sob condições de maior irradiância (Poorter & Nagel 2000). Para as espécies de *Gochnatia* estudadas, a maior alocação de biomassa ocorreu entre as condições de

pleno sol (0%) e de sombreamento intermediário (50 e 70%), havendo uma drástica redução do crescimento sob sombreamento intenso (98%) (Figura 1 e Tabela 1), demonstrando que o crescimento foi estimulado em resposta a irradiância.

Entretanto, o índice de estiolamento mostrou que houve padrões distintos de investimento proporcional entre altura e diâmetro do colo nas duas espécies (Tabela 1). No tratamento de 98%, *G. polymorpha* apresentou maior investimento em altura quando comparada a *G. barrosii* nesta mesma condição. A elongação do caule é descrita como um mecanismo para evitar o sombreamento, sendo uma importante estratégia para maximizar a captura de luz, podendo conferir dessa forma melhor habilidade na competição por luz em plântulas de *G. polymorpha* quando comparadas a *G. barrosii* (Barros *et al.* 2012; Sánchez-Gómez *et al.* 2006).

A g_s foi maior em ambientes com maior disponibilidade de luz (Figura 2). Estudos prévios também têm relatado maior condutância estomática em ambientes com elevada irradiação solar, e essa característica também têm sido associada às elevadas taxas de assimilação de carbono (Rossatto *et al.* 2010). O valor de F_v/F_m é uma medida da eficiência quântica de todos os centros do PSII quando estão abertos, e reflete a eficiência quântica potencial do PSII, sendo usado como um sensível indicador da performance fotossintética da planta (Araújo & Deminiciis 2009). No presente estudo, os valores de F_v/F_m não diferiram estatisticamente entre os diferentes tratamentos para ambas as espécies (Figura 2), sugerindo que as plantas de *G. barrosii* e *G. polymorpha* que cresceram sob condições de alta luminosidade (0%) aparentemente não sofreram estresse fotoinibitório significativo (Barros *et al.* 2012).

De maneira geral, espécies de estádios iniciais da sucessão exibem uma acentuada redução na capacidade fotossintética quando crescem sob ambientes de baixa disponibilidade de luz, bem como elevadas respostas ao aumento da intensidade luminosa, apresentando

assim alta plasticidade fotossintética (Souza *et al.* 2010). As curvas de resposta à luz indicaram que ambas as espécies de *Gochnatia* estudadas cultivadas sob maiores disponibilidades de luz (0 a 70% de sombreamento) tiveram uma maior ETR_{max} quando comparadas à plantas submetidas a baixa disponibilidade de luz (98% de sombreamento), sugerindo alta capacidade fotoquímica das plantas adaptadas à luz e grande plasticidade fotossintética dessas espécies (Figura 3). Da mesma forma, o NPQ apresentou os maiores valores nos tratamentos de 0% de sombreamento para as duas espécies estudadas, demonstrando que estas espécies também foram capazes de ajustar a capacidade fotoprotetora dos fotossistemas II através da dissipação não fotoquímica da energia (Franco *et al.* 2007).

Em relação à concentração de pigmentos fotossintéticos, houve a tendência de aumento da concentração conforme diminuiu a disponibilidade de luz para ambas as espécies estudadas (Tabela 2). Geralmente, a concentração de clorofilas em folhas de sombra tende a ser maior do que em folhas de sol (Boardman, 1977; Gonçalves *et al.* 2001; Martinazzo *et al.* 2007), e esta característica é relatada como uma estratégia para aumentar a eficiência da captura de luz em condições de sombreamento (Portes *et al.* 2010; Barros *et al.* 2012). Para algumas espécies, os carotenoides desempenham a função de fotoproteção do aparato fotossintético, e nestes casos, geralmente tem sua concentração aumentada em folhas expostas a altos níveis de irradiação (Lichtenthaler *et al.* 2007; Barros *et al.* 2012). Entretanto, outro papel importante destes pigmentos é a maximização da captura de luz em ambientes sombreados (Valladares *et al.* 2003), o que pode explicar a alta concentração de carotenoides sob condições elevadas de sombreamento para as duas espécies de *Gochnatia* estudadas.

Gochnatia barrosii e *G. polymorpha* foram capazes de ajustar suas características anatômicas foliares em resposta às condições de luminosidade, apresentando maior espessura do limbo foliar e densidade estomática em condições de maior luminosidade (0 e 50%) e

menor espessura e densidade estomática em condições mais sombreadas (70 e 98%) (Tabela 3; Figura 4).

Uma maior espessura foliar nestas condições (maior irradiância) tem sido relatada para outras espécies (Lima Jr *et al.* 2006; Sabbi *et al.* 2010; Silva *et al.* 2010) e pode ocorrer principalmente em decorrência do aumento da espessura de tecidos como a epiderme e sua cutícula e parênquima paliçádico. A epiderme mais espessa atua na redução da incidência direta de luz através de processos de refletância (Vogelmann & Martin 1993), enquanto que um parênquima paliçádico bem desenvolvido facilita a penetração de luz direta, pois facilita uma melhor distribuição e arranjo dos cloroplastos nas células, o que leva a maior eficiência na distribuição da luz nos tecidos fotossintetizantes (Vogelmann, 1993).

Vale ressaltar que no caso do parênquima paliçádico houve redução de sua espessura a 70% de sombreamento, com ausência de sua formação nas folhas de plantas submetidas ao tratamento de 98% de sombreamento (Figura 4). O menor investimento em parênquima paliçádico em folhas sob condições de menor luminosidade já foi relatado para *G. polymorpha* (Rossatto & Kolb 2010). Sob condições de sombra há a tendência de menor investimento em parênquima paliçádico em relação ao lacunoso, favorecendo a captação e distribuição da luz difusa (rica em ambientes sombreados) no interior da folha (Boeger *et al.* 2008; Vogelmann *et al.* 1996; Smith *et al.* 1997). A redução na espessura dos tecidos nos tratamentos de maior sombreamento resultou no aumento da área foliar específica. Os maiores valores de área foliar específica sob condições de sombra estão relacionados com o menor investimento na lignificação e espessura de tecidos como epiderme e sua cutícula, por outro lado, o contrario é observado em ambientes com alta exposição à luz, quando o maior investimento na lignificação e espessura desses tecidos é importante para evitar a perda de água e atuar na fotoproteção (Fahn & Cutler 1992; Rossatto *et al.* 2010; Rossatto & Kolb 2010).

A maior densidade estomática sob condições de maior disponibilidade de luz (Tabela 3) pode estar relacionada a um melhor controle da condutância estomática, propiciando melhor capacidade para regular as perdas de água por transpiração (Rossatto & Kolb 2010). Outros estudos também encontraram maiores valores de densidade estomática para ambientes sujeitos à maior irradiância, e, além disso, parece haver correlação positiva entre densidade estomática e assimilação de carbono (Abrams *et al.* 1994; Cao 2000; Justo *et al.* 2005).

Os resultados obtidos indicam que ambas as espécies de *Gochnatia* estudadas apresentaram plasticidade em todos os atributos avaliados (Tabela 4). Considerando-se os valores médios de IPF para cada categoria de atributo analisado, as espécies mostraram IPFs bastante similares com exceção dos atributos morfo-anatômicos, que foram maiores em *G. polymorpha*. Esses resultados estão de acordo com o padrão geral de espécies sujeitas a ambientes heterogêneos, que costumam apresentar alta plasticidade à luz (Lee *et al.* 2000; Valladares *et al.* 2007).

A maior plasticidade à luz para *G. polymorpha* em dez variáveis, bem como a evidente separação dos grupos entre os diferentes níveis de sombreamento na PCA, podem estar relacionados às características de alta heterogeneidade de habitats nos quais a espécie ocorre (Barros *et al.* 2012). Esta elevada capacidade de responder de maneira diferente às condições distintas de luz pode ser um dos fatores que explicam a ocorrência desta espécie em uma grande amplitude de ambientes no Cerrado, desde formações savânicas até o interior de formações florestais.

Os maiores valores de IPF foram registrados para os atributos de crescimento, no entanto, considerando que o IPF expressa a diferença entre os valores máximos e mínimos, estes resultados indicam que as plantas submetidas ao sombreamento de 98% cresceram muito pouco. E por mais que isto mostre que as plantas responderam ao estresse, talvez esta resposta não implique necessariamente que as espécies se estabeleçam nestas condições

(Schlichting 1986). Por outro lado, os resultados indicaram que a espécie *G. polymorpha* apresenta maior crescimento em altura sob sombreamento intenso quando comparada a *G. barrosii*. Como já discutido anteriormente, talvez essa característica confira vantagens no estabelecimento de plantas de *G. polymorpha* em habitats mais sombreados, e, além disso, o hábito arbóreo aliado a alta plasticidade à luz desta espécie, provavelmente potencialize a capacidade de estabelecimento dos indivíduos em formações florestais através da ocupação de clareiras.

Agradecimentos

Os autores agradecem a Danilo Miralha Franco pelo auxílio prestado nas medidas de fluorescência da clorofila e ao Instituto Florestal do Estado de São Paulo por permitir a realização das coletas na EEA. Este estudo foi realizado com apoio financeiro da FAPESP (Proc. nº 2013/03748-6).

Referências

- Abrams M. D., Kubiske M. E. & Mostoller S. A. (1994) Relating wet and dry year ecophysiology to leaf structure in contrasting temperate tree species. *Ecology* **75**: 123–133.
- Araújo S. A. C. & Deminicis B. B. (2009) Fotoinibição da fotossíntese. *Revista Brasileira de Biociências* **7**: 463–472.
- Assis A. C. C., Coelho R. M., Pinheiro E. S. & Durigan G. (2011) Water availability determines physiognomic gradient in an area of low-fertility soils under Cerrado vegetation. *Plant Ecology* **212**: 1135–1147.

- Barros F. D. V., Goulart M. F., Telles S. B. S., Lovato M. B., Valladares F. & Lemos-Filho J. P. (2012) Phenotypic plasticity to light of two congeneric trees from contrasting habitats: Brazilian Atlantic Forest versus cerrado (savanna). *Plant biology* **14**: 208–15.
- Boardman N. K. (1977) Comparative photosynthesis of Sun and shade plants. *Annual Review of Plant Physiology* **28**: 355–377.
- Boeger M. R. T., Gluzejak R. M., Pil M. W., Goldenberg R. & Medri M. (2008) Variabilidade morfológica foliar de *Miconia sellowiana* (DC.) Naudin (Melastomataceae) em diferentes fitofisionomias no Estado do Paraná. *Revista Brasileira de Botânica* **31**: 443–452.
- Bognola I. A., Joaquim A. C., Prado H., Menk J. R. F. & Lepsch, I. F. (1996) Levantamento pedológico semidetalhado da Folha de Assis. Escala 1:100.000. Secretaria da Agricultura, São Paulo.
- Cao, K. F. (2000) Leaf anatomy and chlorophyll content of 12 woody species in contrasting light conditions in a Bornean heath forest. *Canadian Journal of Botany* **78**: 1245–1253.
- Cardoso G. L. & Lomônaco C. (2003) Variações fenotípicas e potencial plástico de *Eugenia calycina* Cambess. (Myrtaceae) em uma área de transição cerrado-vereda. *Revista Brasileira de Botânica* **26**: 131–140.
- Durigan G., Bacic M. C., Franco G. A. D. C. & Siqueira M. F. (1999) Inventário florístico do cerrado na Estação Ecológica de Assis, SP. *Hoehnea* **26**: 149–172.
- Durigan G., Baitello J. B., Franco G. A. D. C. & Siqueira M. F. (2004) Plantas do cerrado paulista: Imagens de uma paisagem ameaçada. São Paulo, Editora Páginas & Letras.
- Fahn A. & Cutler D. F. (1992) Xerophytes. Gebrüder Borntraeger, Berlin.
- Fahn A. (1986) Structural and functional properties of trichomes of xeromorphic leaves. *Annals of Botany* **57**: 631–637.

- Franco A., Matsubara S. & Orthen B. (2007) Photoinhibition, carotenoid composition and the co-regulation of photochemical and non-photochemical quenching in neotropical savanna trees. *Tree physiology* **27**: 717–725.
- Franklin G. L. (1945) Preparation of thin sections of synthetic resins and wood-resin composites, and a new macerating method for wood. *Nature* **155**: 51.
- Genty B., Briantais J. M. & Baker N. R. (1989) The relationship between quantum yield of photosynthetic electron transport and quenching of chlorophyll fluorescence. *Biochimica et Biophysica Acta* **990**: 87–92.
- Gómez-Aparicio L., Valladares F. & Zamora R. (2006) Differential light responses of Mediterranean tree saplings: linking ecophysiology with regeneration niche in four co-occurring species. *Tree Physiology* **26**: 947–958.
- Gonçalves J. F. C., Marengo R. A. & Vieira G. (2001) Concentration of photosynthetic pigments and chlorophyll fluorescence of mahogany and tonka bean under two light environments. *Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal* **13**: 149–157.
- Gotelli N. J. & Ellison A. M. (2004) A primer of ecological statistics. Sanderland (MA), Sinauer Associates.
- Hammer Ø., Harper D. A. T. & Ryan P. D. (2001) PAST: Paleontological statistics software package for education and analysis. *Palaeontologia Electronica* **4**: 9.
- Hoffmann W. A., Orthen B. & Franco A. C. (2004) Constraints to Seedling Success of Savanna and Forest Trees across the Savanna-Forest Boundary. *Oecologia* **140**: 252–260.
- Hoffmann, W.A., da Silva, E.R. Jr, Machado, G.C., Bucci, S.J., Scholz, F.G., Goldstein, G. & Meinzer, F.C. (2005) Seasonal leaf dynamics across a tree density gradient in a Brazilian savanna. *Oecologia* **145**, 307–316.
- Johansen D. A. (1940) Plant microtechnique. New York: McGraw-Hill.

- Justo C. F., Soares Â. M., Gavilanes M. L. & Castro E. M. (2005) Plasticidade anatômica das folhas de *Xylopia brasiliensis* Sprengel (Annonaceae). *Acta botanica brasílica* **19**: 111–123.
- Kissmann C., Tozzi H. H., Martins S. & Habermann G. (2012) Germination performance of congeneric *Styrax* species from the Cerrado *sensu lato* areas and their distribution pattern in different physiognomies. *Flora* **207**: 673–681.
- Lee D. W., Oberbauer S. F., Johnson, P., Khirnapilay B., Mansor M., Mohamad H. & Yap S. K. (2000) Effects of irradiance and spectral quality on leaf structure and function in seedlings of two Southeast Asian *Hopea* (Dipterocarpaceae) species. *American Journal of Botany* **87**: 447–455.
- Lichtenthaler H. K. (1987) Chlorophylls and carotenoides: pigments of photosynthetic biomembranes. *Methods in Enzymology* **148**: 350–382.
- Lichtenthaler H. K., AC A., Marek M. V., Kalina J. & Urban O. (2007) Differences in pigment composition, photosynthetic rates and chlorophyll fluorescence images of sun and shade leaves of four tree species. *Plant physiology and biochemistry* **45**: 577–588.
- Lima Jr E. C., Alvarenga A. A., Castro E. M., Vieira C. V. & Barbosa J. P. R. A. D. (2006) Aspectos fisioanatômicos de plantas jovens de *Cupania vernalis* Camb. Submetidas a diferentes níveis de sombreamento. *Revista Árvore* **30**: 33–41.
- Martinazzo E. G., Anese S., Wandscheer A. C. D. & Pastorini H. (2007) Efeito do sombreamento sobre o crescimento inicial e teor de clorofila foliar de *Eugenia uniflora* Linn (pitanga) – família Myrtaceae. *Revista Brasileira de Biociências* **5**: 162–164.
- Montgomery R. (2006) Relative importance of photosynthetic physiology and biomass allocation for tree seedling growth across a broad light gradient. *Tree Physiology* **24**: 155–167.

- Oliveira-Filho A. T. & Ratter J. A. (2002) Vegetation physiognomies and woody flora of the Cerrado biome. In: Oliveira P. S. & Marquis R. J. (Eds.), *The Cerrados of Brazil: Ecology and Natural History of a Neotropical Savanna*. Columbia University Press, New York, pp. 91–120.
- Pinheiro E. S. & Durigan G. (2009). Dinâmica espaço-temporal (1962-2006) das fitofisionomias em unidade de conservação do Cerrado no sudeste do Brasil. *Revista Brasileira de Botânica* **32**: 441–454.
- Poorter H. & Nagel O. (2000) The role of biomass allocation in the growth response of plants to different levels of light, CO₂, nutrients and water: a quantitative review. *Australian Journal of Plant Physiology* **27**: 595–607.
- Poorter L. (2001) Light-dependent changes in biomass allocation and their importance for growth of rain forest tree species. *Functional Ecology* **15**: 113–123.
- Portes M. T., Damineli D. S. C., Ribeiro R. V., Monteiro J. A. F., & Souza G. M. Evidence of higher photosynthetic plasticity in the early successional *Guazuma ulmifolia* Lam. compared to the late successional *Hymenaea courbaril* L. grown in contrasting light environments. *Brazilian Journal of Biology* **70**: 75–83.
- Ribeiro J. F. & Walter B. M. T. (2008) As principais fitofisionomias do bioma Cerrado. In: Sano S. M., Almeida S. P. & Ribeiro J. F. (Eds.), *Cerrado: Ecologia e Flora*. Embrapa, Brasília, pp. 151-199.
- Ribeiro L. C. & Borghetti F. (2013) Comparative effects of desiccation, heat shock and high temperatures on seed germination of savanna and forest tree species. *Austral Ecology* doi: 10.1111/aec.12076
- Rossato D. R. & Kolb R. M. (2010) *Gochnatia polymorpha* (Less.) Cabrera (Asteraceae) changes in leaf structure due to differences in light and edaphic conditions. *Acta botanica brasiliica* **24**: 605–612.

- Rossatto D. R. & Kolb R. M. (2012) Structural and functional leaf traits of two *Gochnatia* species from distinct growth forms in a sclerophyll forest site in Southeastern Brazil. *Acta Botanica Brasilica* **26**: 849–856.
- Rossatto D. R., Silva L. C. R., Villalobos-Vega R., Stenberg L. S. L. & Franco A. C. (2012) Depth of water uptake in woody plants relates to groundwater level and vegetation structure along a topographic gradient in a Neotropical savanna. *Environmental and Experimental Botany* **77**: 259–266.
- Rossatto D. R., Takahashi F. S. C., Silva L. C. R. & Franco A. C. (2010) Características funcionais de folhas de sol e sombra de espécies arbóreas em uma mata de galeria no Distrito Federal, Brasil. *Acta Botanica Brasilica* **24**: 640 – 647.
- Sabbi L. B. C., Ângelo A. C. & Boeger, M. R. (2010) Influência da luminosidade nos aspectos morfo-anatômicos e fisiológicos de folhas de *Schinus terebinthifolius* Raddi (*Anacardiaceae*) implantadas em duas áreas com diferentes graus de sucessão, nas margens do Reservatório Iraí, Paraná, Brasil. *Iheringia, Série Botânica* **65**: 171–181
- Salazar A., Goldstein G., Franco A. C. & Miralles-Wilhelm F. (2012) Differential seedling establishment of woody plants along a tree density gradient in Neotropical savannas. *Journal of Ecology* **100**: 1411–1421.
- Salazar A., Goldstein G., Franco A. C. & Miralles-Wilhelm F. (2011) Timing of seed dispersal and dormancy, rather than persistent soil seed-banks, control seedling recruitment of woody plants in Neotropical savannas. *Seed Science Research* **21**: 103–116.
- Sánchez-Gómez D., Valladares F. & Zavala M. (2006) Functional traits and plasticity in response to light in seedlings of four Iberian forest tree species. *Tree physiology* **26**: 1425–33.

- Schlichting C. D. (1986) The evolution of phenotypic plasticity in plants. *Annual Review of Ecology and Systematics* **17**: 667–693.
- Secretaria do Meio Ambiente. (1997) Estação Experimental e Ecológica de Assis. São Paulo, Secretaria do Meio Ambiente.
- Segatto F. B., Bisognin D. A., Benedetti M., Costa L. C., Rampelotto M. V. & Nicoloso F. T. (2004) Técnica para o estudo da anatomia da epiderme foliar de batata. *Ciência Rural* **34**: 1597–1601.
- Silva A. S., Oliveira J. G., Cunha M. & Vitória A. P. (2010) Photosynthetic performance and anatomical adaptations in *Byrsonima sericea* DC. under contrasting light conditions in a remnant of the Atlantic Forest. *Brazilian Society of Plant Physiology* **22**: 245–254.
- Smith W. K., Vogelmann T. C., Delucia E. H., Bell D. T. & Shepherd K. A. (1997) Leaf form and photosynthesis: do leaf structure and orientation interact to regulate internal light and carbon dioxide? *Bioscience* **47**: 785–793.
- Souza G. M., Sato A. M., Ribeiro R. V., & Prado C. H. B. A. (2010) Photosynthetic responses of four tropical tree species grown under gap and understorey conditions in a semi-deciduous forest. *Revista Brasileira de Botânica* **33**: 529–538.
- Sultan S. E. (2003) Phenotypic plasticity in plants: a case study in ecological development. *Evolution and Development* **5**: 25–33.
- Valladares F., Gianoli E. & Gómez J. M. (2007) Ecological limits to plant phenotypic plasticity. Tansley review. *New Phytologist* **176**: 749–763.
- Valladares F., Wright S. J., Lasso E., Kitajima K. & Pearcy R. W. (2000) Plastic phenotypic response to light of 16 congeneric shrubs from a panamanian rainforest. *Ecology* **81**: 1925–1936.
- Valladares, F. 2003. Light heterogeneity and plants: from ecophysiology to species coexistence and biodiversity. *Progress in Botany* **64**: 439–471.

Vogelmann T. C. & Martin G. (1993) The functional significance of palisade tissue: penetration of directional versus diffuse light. *Plant Cell & Environment* **16**: 65–72.

Vogelmann T. C. & Martin G. (1993) The functional significance of palisade tissue: penetration of directional versus diffuse light. *Plant, Cell and Environment* **16**: 65–72.

Vogelmann T. C., Nishio J. N. & Smith W. K. (1996) Leaves and light capture: light propagation and gradients of carbon fixation within leaves. *Trends in Plant Science* **1**: 65–70.

White A. J. & Critchley C. (1999) Rapid light curves: a new fluorescence method to assess the state of the photosynthetic apparatus. *Photosynthesis Research* **59**: 63–72.

CONCLUSÕES GERAIS

Os resultados obtidos revelam que os fatores água, luz e temperatura são limitantes para a germinação das cipselas das espécies de *Gochnatia*. Da mesma forma, a disponibilidade de luz foi limitante para o desenvolvimento inicial de ambas as espécies estudadas, sendo provavelmente um importante filtro ambiental para a distribuição espacial destas espécies no Cerrado.

As espécies de *Gochnatia* mostraram respostas similares aos diferentes fatores ambientais durante a fase inicial de desenvolvimento. Porém, a espécie *G. polymorpha* apresentou maior tolerância a diferentes fatores ambientais durante a fase de germinação, e maior plasticidade fenotípica à luz durante o desenvolvimento inicial das plantas quando comparada a espécie *G. barrosii*, possuindo assim maior amplitude de nicho de regeneração, o que pode explicar em parte a ocorrência desta espécie em um maior número de micro-habitats em fitofisionomias do Cerrado. Dessa forma, os dados obtidos sugerem que:

- (i) Com base nos resultados obtidos, não é possível afirmar que estas espécies ocupam nichos de regeneração completamente diferentes, pois as características de desenvolvimento inicial apresentaram-se similares. Entretanto, os dados indicam que a espécie *G. polymorpha* pode ocupar um número maior de nichos em relação a *G. barrosii*, devido a diferenças na tolerância ambiental;
- (ii) O nicho de regeneração pode explicar a distribuição das espécies de *Gochnatia* em diferentes micro-habitats nas fitofisionomias do Cerrado, já que a espécie com maior distribuição (*G. polymorpha*) apresentou uma maior amplitude de nicho, e a espécie de menor distribuição (*G. barrosii*) menor amplitude de nicho;
- (iii) As diferenças no nicho de regeneração provavelmente contribuem para a diferenciação de nicho nos indivíduos adultos, pois a capacidade de estabelecimento em um determinado micro-habitat determina a presença ou ausência do indivíduo adulto.

APÊNDICE

Normas para preparação do manuscrito (Plant Species Biology, online ISSN: 1442-1984).

Preparation of the manuscript

The manuscript must be doubled-spaced, on one side only of A4 paper. The top, bottom and side margins should be 30 mm. All pages should be numbered consecutively in the top right-hand corner, beginning with the title page. Indent new

paragraphs. Turn the hyphenation option off, including only those hyphens that are essential to the meaning.

Covering letter

Papers are accepted for publication in the Journal on the understanding that the content has not been published or submitted for publication elsewhere. This must be stated in the covering letter. Authors should declare any financial support or relationships that may pose conflict of interest.

Style

Style should conform to the Council of Biology Editors Style Manual 5th edn (CBE Publications, 1994). Please follow the format in the current issue of the Journal. The Journal uses US spelling and authors should therefore follow the latest edition of the Merriam-Webster's Collegiate Dictionary.

All measurements must be given in SI units as outlined in the latest edition of Units, Symbols and Abbreviations: A Guide for Medical and Scientific Editors and Authors (Royal Society of Medicine Press, London).

Abbreviations should be used sparingly and only where they ease the reader's task by reducing repetition of long, technical terms. Initially use the word in full, followed by the abbreviation in parentheses. Thereafter use the abbreviation. Upon its first use in the title, abstract and text, the common name of a species should be followed by the scientific name (genus, species and authority) in parentheses. Common names of organisms, if used, must be accompanied by the correct scientific

name on every mention. At the first mention of a chemical substance, give the generic name only. Trade names should not be used.

Parts of the manuscript

Manuscripts should be presented in the following order: (i) title page, (ii) abstract and keywords, (iii) text, (iv) acknowledgments, (v) references, (vi) tables (each table complete with title and footnotes), (vii) figures.

Footnotes to the text are not allowed and any such material should be incorporated into the text as parenthetical matter. Author is required to put a line number in the manuscripts except (vi) tables and (vii) figures in order to Editor and Reviewer find a line for attention.

(i) Title page

The title page should contain (i) the title of the paper, (ii) the full names of all authors and (iii) the addresses of the institutions at which the work was carried out together with (iv) the full postal and email address, plus facsimile and telephone numbers, of the author to whom correspondence about the manuscript, proofs and requests for offprints should be sent. Plus membership number in case that Papers in which The Society for the Study of Species Biology Member is a Corresponding Author.

The title should be short (less than 50 words), informative and contain the major keywords. A short running title (less than 50 characters, including spaces) should also be provided.

(ii) Abstract and keywords

Articles must have a brief but informative abstract, not exceeding 250 words for a full regular article and review article, and less than 150 words for notes and comments. The abstract should state the purpose; basic procedures, main findings and principal conclusions of the study, and it should not contain abbreviations or references. Five key words should be supplied below the abstract for the purposes of indexing.

(iii) Text

Authors should use subheadings to divide the sections of their manuscript for Original Article: Introduction, Materials and methods, Results, Discussion, Acknowledgments, and References.

(iv) Acknowledgments

The source of financial grants and other funding should be acknowledged, including a frank declaration of the authors' industrial links and affiliations. The contribution of colleagues or institutions should also be acknowledged.

(v) References

We recommend the use of a tool such as EndNote or Reference Manager for reference management and formatting. EndNote reference styles can be searched for here: <http://www.endnote.com/support/enstyles.asp>

Reference Manager reference styles can be searched for here: <http://www.refman.com/support/rmstyles.asp>

The Harvard (author, date) system of referencing is used. In the text give the author's name followed by the year in parentheses: Sago (2000). If there are two

authors use 'and': Baskin and Baskin (1998); but if cited within parentheses use '&': (Baskin & Baskin 1998). When reference is made to a work by three or more authors, the first name followed by et al. should be used: Powles et al. (1998).

In the list, references should be listed in alphabetical order. Cite the names of all authors.

Personal communications, unpublished data and publications from informal meetings are not to be listed in the reference list but should be listed in full in the text (e.g. Smith A, 2000, unpublished data).

References should be listed in the following form.

Standard Journals

Boecklen W. J., Mopper S & Price P. C. (1991) Size and shape analysis of mineral resources in arroyo willow and their relation to sawfly densities. *Ecological Research* 6: 317-331.

Standard Journal article using DOI articles published online in advance without volume, issue, or page number (More information about DOIs: <http://www.doi.org/faq.html>)

Beckmann C & Shine R (2009) Impact of Invasive Cane Toads on Australian Birds. *Conserv. Biol.* Published online: 8 June 2009; DOI: 10.1111/j.1523-1739.2009.01261.x

Books

George C. J. & McKinley D. (1974) *Urban Ecology*. McGraw-Hill, New York.

Chapter in a book

Endler J. A. (1991) Interactions between predators and prey. In: Krebs J. R. & Davies N. B. (eds). Behavioural Ecology. Blackwell Scientific Publications, Oxford, pp.169-196.

Electronic material

Goudet J. (2001) FSTAT, A Program to Estimate and Test Gene Diversities and Fixation Indices, Version 2.9.3. [homepage on the Internet]. University of Lausanne, Lausanne. [cited 9 March 2004]. Available from URL: <http://www.unil.ch/lizea/software/fstat.html/>

(vi) Tables

Tables should be self-contained and complement, but not duplicate, information contained in the text. Tables should be numbered consecutively in Arabic numerals. Column headings should be brief, with units of measurement in parentheses; all abbreviations should be defined in footnotes. Footnote symbols: †, ‡, §, ¶, should be used (in that order) and *, **, *** should be reserved for P-values. The table and its legend/footnotes should be understandable without reference to the text.

(vii) Figures

All illustrations (line drawings and photographs) are classified as figures. Figures should be cited in consecutive order in the text. Each figure must be restricted to the minimum needed to clarify the text. Figure legends must be brief,

self-sufficient explanations of the illustrations. The legends should be placed at the end of the manuscript text.

Submit all figures with high resolution (at least 600 d.p.i. for line drawings and 300 d.p.i. for halftone illustrations and photographs). The figures should be sized to match the column (80 mm) or the full text width (171 mm). Figure legends should be included in the size above. The publisher reserves the right to reduce or enlarge illustrations.

Figure legends

Type figure legends on a separate page. Legends should be concise but comprehensive – the figure and its legend must be understandable without reference to the text. Include definitions of any symbols used and define/explain all abbreviations and units of measurement.

Electronic Artwork

Artwork should be supplied in electronic form. Vector graphics (e.g. line artwork) should be saved in Encapsulated Postscript Format (EPS), and bitmap files (e.g. half-tones) in Tagged Image File Format (TIFF). Ideally, vector graphics that have been saved in metafile (.WMF) or pict (.PCT) format should be embedded within the body of the text file.

Color figures

Color illustrations (including color photographs) will be accepted and should be submitted as good quality. In print, however, they will appear in color only if the author agrees to make a contribution (¥64 000 for the first three color figures and ¥32

000 for each extra color figure) to printing costs. Otherwise, the figures will be printed in black and white.

Color on Web Services

In the event that an author is not able to cover the costs of reproducing color figures in color in the printed version of the journal, *Plant Species Biology* offers authors the opportunity to reproduce color figures in color for free in the online version of the article (but they will still appear in black and white in the print version). If an author wishes to take advantage of this free color-on-the-web service, they should liaise with the Publisher to ensure that the appropriate documentation is completed. Please note that, in such cases, it is the authors' responsibility to prepare figures to be illustrated enough to convey the necessary information even after they are converted into black and white.