

TIAGO SANTANA ROSA

**VARIAÇÕES MORFOANATÔMICAS E FISIOLÓGICAS DE DUAS
ESPÉCIES HIPERACUMULADORAS DE ALUMÍNIO EM DIFERENTES
FITOFISIONOMIAS DO CERRADO**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Botânica, para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL
2018

FICHA CATALOGRÁFICA

Ficha catalográfica preparada pela Biblioteca Central da Universidade Federal de Viçosa - Câmpus Viçosa

T

R788v
2018
Rosa, Tiago Santana, 1983-
Variações morfoanatômicas e fisiológicas de duas espécies hiperacumuladoras de alumínio em diferentes fitofisionomias do Cerrado / Tiago Santana Rosa. – Viçosa, MG, 2018.
xiii, 90 f. : il. (algumas color.) ; 29 cm.

Orientador: Aristéa Alves Azevedo.
Tese (doutorado) - Universidade Federal de Viçosa.
Inclui bibliografia.

1. Plantas - Efeito do alumínio. 2. *Qualea grandiflora*. 3. *Rudgea viburnoides*. 4. Solos. 5. Cerrados. I. Universidade Federal de Viçosa. Departamento de Biologia Vegetal. Programa de Pós-Graduação em Botânica. II. Título.

CDD 22 ed. 580

TIAGO SANTANA ROSA

**VARIAÇÕES MORFOANATÔMICAS E FISIOLÓGICAS DE DUAS
ESPÉCIES HIPERACUMULADORAS DE ALUMÍNIO EM DIFERENTES
FITOFISIONOMIAS DO CERRADO**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Botânica, para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

APROVADA: 16 de março de 2018

Luzimar Campos da Silva

Larisse de Freitas Silva

Kacilda Naomi Kuki

Evaristo Mauro de Castro

Aristéa Alves Azevedo
(Orientadora)

DEDICO

À minha família: Minha querida mãe Ivone, por todo apoio, mesmo nos momentos mais atribulados da minha vida e por sempre acreditar nos meus sonhos. Minha irmã Tatiana pela ajuda e força dada ao longo de todos esses anos. Minhas sobrinhas Lavínia e Annelyse, por suportarem a distância e a saudade do tio. Meus avós Daniel (*in memorian*) e Ana, Raymundo e Raimunda (*in memorian*) pelo apoio, amor incondicional e incentivo. Muito obrigado por tudo!

“Depois de acender uma lâmpada, a pessoa a coloca não num lugar oculto nem debaixo de um cesto, mas em cima de um suporte, para que os que entram possam ver a luz. A lâmpada do seu corpo é o olho. Quando o seu olho é focado, todo o seu corpo também será luminoso...”

Lucas 11:33,34.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Jeová Deus, por me ajudar das formas mais inesperadas e por me manter forte ao longo dessa caminhada e nunca ter desistido de mim, sendo que “para todas as coisas tenho força graças àquele que me dá poder” (**Filipenses 4:13**). Agradeço também à Jesus Cristo, pela maior demonstração de amor para com a humanidade e morrer por nós, se tornando mediador entre Deus e os homens (**1 Timóteo 2:5**).

À Universidade Federal de Viçosa por ter me concedido a oportunidade de realização do doutorado em Botânica. Em especial, ao Laboratório de Anatomia Vegetal e Morfogênese por todo suporte.

Ao CNPq e à CAPES, pelo financiamento da pesquisa, e à FAPEMIG pela concessão da bolsa.

Ao Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBio) e à Floresta Nacional de Paraopeba (FLONA) e seus funcionários pelo apoio e concessão das permissões para coletas em campo, principalmente ao diretor da unidade, o Sr. Renato Diniz Dumont.

À minha orientadora, Dr^a. Aristéa Alves Azevedo. Agradeço de todo meu coração, pelo aprendizado, pela paciência em me auxiliar na resolução de vários problemas nesse árduo caminho, pela ajuda em muitos momentos de dificuldades emocionais. Sua paixão pela pesquisa é inspiradora e espero que por ter observado e convivido com essa pessoa maravilhosa, eu possa ser conduzido pelo mesmo caminho. Aqui fica meu muitíssimo obrigado. Pela primeira vez em vários anos pude ter uma formação plena como pesquisador.

Aos meus coorientadores, professores Dr. Adriano Nunes Nesi (DBV/UFV), Dr. Carlos Ernesto Gonçalves Reynaud Schaefer (DPS/UFV) e Dr. Pedro Antônio Oliveira Mangabeira (DCB/UDESC), que puderam enriquecer esse trabalho acadêmico com suas sugestões, críticas e comentários.

Aos professores, Dr^a. Renata Maria Strozi Alves Meira, Dr^a. Luzimar Campos da Silva, Dr^a. Andreza Viana Neri, Dr^a. Marília Contin Ventrella, Dr. João Augusto Meira Neto e Dr. Carlos Schaefer, pela formação acadêmica durante a jornada na UFV. Agradeço a todos por serem essas pessoas com a disposição de ajudar. A vocês, sou muito grato.

Aos professores, Dr. Fábio Murilo DaMatta, Dr. Wagner Otoni, Dr. Júlio Cesar Neves, por gentilmente cederem alguns equipamentos essenciais à pesquisa.

À Dra. Kacilda Kuki, que pelo seu grande domínio em ecofisiologia possibilitou maravilhosas discussões sobre a temática da tese.

Ao meu grande amigo Janerson Aguiar e sua família (Sergio, Norma, Enmily e Pedro), que ajudaram a manter minha sanidade durante os dias mais sombrios em Viçosa e também por me acolherem como um irmão e membro da sua família.

Aos parceiros de laboratório Ivanilson, Daniel Rodrigues, Luana, Katiúscia, Ivan, Ana Paula, Brenda, Samara, Henrique, Ana Carla, Larisse e Talita, por todo apoio e auxílio nas práticas laboratoriais.

Às colegas Brenda e Prímula, pelo auxílio com as análises estatísticas e por explicarem tão pacientemente os meus vários por quês.

A Ivanilson, Brenda, Samara, Henrique, Ana Paula e Ivan, pelos auxílios nas coletas em Paraopeba.

Aos bolsistas de Iniciação Científica, Dani e Henrique, pela ajuda com o processamento das coletas. Aos bolsistas de Iniciação Científica Júnior, Alexander e Lavínia. Sem eles eu não teria conseguido cortar e montar cerca de 900 lâminas para análises de morfoanatomia. Um agradecimento especial ao Henrique e ao Alexander pela assessoria nos *softwares* de edição de imagem.

Aos companheiros de disciplinas Carlos, Lucas, Evandro Machado, Evandro, Nayara, Prímula, Alex, Alexander, Alice, Aloirta, Cristiele, Eliza, Fernando Fernandez, Fernando Lacerda, Gustavo, Júnia, Pedro Villa, Rinamara e Sérgio.

Ao Sérgio, Elyabe e Evandro, pelo suporte no Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais (LCT/UFV).

Aos colegas da Unidade de Crescimento de Plantas (UCP/UFV), Carla, Franciele, Willian, Acácio e Wellington e ao técnico Gabriel.

Às técnicas do Laboratório de Anatomia Vegetal e Morfogênese (LAV/UFV), Aurora, Patrícia e Rosana. Obrigado por toda ajuda.

Aos funcionários do Núcleo de Microscopia e Microanálise (NMM/UFV), Gilmar, Carlota, Rosângela e Cristiane pelos auxílios nas análises em microscopia eletrônica.

Ao querido secretário, Ângelo, por ser a pessoa acessível e amável, por todas as ajudas e orientações.

São muitas as diferenças, mas nunca deixaram de me apoiar, sempre deixaram de lado qualquer desavença e me ajudaram como foi possível. Aqui fica meu agradecimento por tudo que fizeram por mim: Ivone (mainha), João (painho), Tatiana (irmã), Márcio (cunhado), Lavínia e Annelise (sobrinhas), meus avós: Daniel (*in memorian*) e Ana, Raymundo e Raimunda (*in memorian*). Minhas tias: Nubia, Sirleide, Nilza, Zenaira, Ariene, Célia, Vilma e Iára. Meus tios: Jairo, Ivanildo e Jovânio. Meus queridos primos: Daniel, Daywson, Laís, Joice, Luciana, Amanda, Renata, Aline e Andressa.

Aos colegas da graduação em Ciências Biológicas da UESC: Lucas, Joaldo, Sheila, Emanuelle, Laís, Dayane, Martha, Cynthia, Rita, Marcella, Sarah, Ana Paula, Alexandra, Dinara, Solange e Vinícius. Estamos longe, mas a amizade continua!

Aos colegas de Mestrado em Botânica na UFPR: Suélen, Lígia, Carla, Angelita, Emanuela, Daniela, João Henrique, Paulo e Frederico.

Aos amigos que a vida me proporcionou: Efon, Maurício, Adilson, Samuel, João Filho, Fabiano, Jefferson, Rafa, Marcos Gouveia, Heloísa, Márcia, Thaísa, Simone e Aline.

Ao ex-prefeito Pedro Jackson Brandão, ao atual prefeito de Itapé, Naéliton Rosa Pinto e à secretária de educação em exercício Luzinete Miranda Pinto e seu esposo José Sebastião Lopes Pinto (diretor).

Aos meus amigos professores e colegas de trabalho com quem pude partilhar de grandes momentos: Graça, Eliana, Maria Raimunda, Andréa, Marilu, Edna, Adriana, Sidele, Sandra, Adriano, Marcio, Nayara, Cristiane, Maria Cardoso, Sandro, Creusa, Ana Marta, Rosilda, Soélia, Sebastião, Gideon, Tilda, Gorete, George, Mara Cristina e Edielda.

A todos que direta ou indiretamente possibilitaram minha chegada até esse momento.

Muito obrigado!

BIOGRAFIA

TIAGO SANTANA ROSA, filho de João Saldanha Rosa e Ivone de Oliveira Santana. Nasceu em Itabuna, Bahia, em 02 de julho de 1983.

Cursou o Ensino Fundamental e Médio no Centro Educacional de Itapé, na cidade de Itapé, Bahia. Concluiu o Ensino Médio em dezembro de 2000.

Graduou-se em Ciências Biológicas – Licenciatura, em 2005, pela Universidade Estadual de Santa Cruz (UESC), Ilhéus, Bahia.

Em 2011, ingressou no Programa de Pós-Graduação em Botânica da Universidade Federal do Paraná (UFPR), junto ao Departamento de Botânica, em nível mestrado, na área de concentração de Anatomia Vegetal.

Iniciou o doutorado pelo Programa de Pós-Graduação em Botânica da Universidade Federal de Viçosa (UFV) em março de 2014, concluindo o trabalho com a defesa da tese intitulada “Variações morfoanatômicas e fisiológicas de duas espécies hiperacumuladoras de alumínio em diferentes fitofisionomias do Cerrado”, em 16 de março de 2018.

SUMÁRIO

RESUMO	x
ABSTRACT	xii
INTRODUÇÃO GERAL.....	1
OBJETIVO GERAL	4
OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	5
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	5
CAPÍTULO I - Respostas morfoanatômicas de espécies acumuladoras de alumínio em diferentes fitofisionomias do Cerrado	10
RESUMO	10
ABSTRACT	13
Introdução	14
Material e Métodos	16
Área de estudo	16
Espécies estudadas, marcação e coleta	18
Análises morfoanatômicas.....	18
Análise em Microscopia Eletrônica de Varredura com Espectroscopia de Energia Dispersiva (MEV/EDS)	20
Análise química do solo e determinação de nutrientes nas plantas	20
Delineamento experimental e análises estatísticas	21
Resultados	22
Análises morfoanatômicas.....	22
Microscopia eletrônica de varredura com EDS.....	24
Análise química do solo e determinação dos elementos nas plantas.....	24
Discussão	40
Agradecimentos	46
Referências bibliográficas	47

CAPÍTULO II - Respostas fisiológicas e metabólicas de duas espécies do Cerrado quando em fitofisionomias com diferentes níveis de irradiância	58
RESUMO	58
ABSTRACT	59
Introdução	60
Material e Métodos	62
Trocas gasosas foliares e fluorescência da clorofila a.....	62
Análises bioquímicas	63
Delineamento experimental e análises estatísticas	64
Resultados	65
Trocas gasosas	65
Fluorescência da Clorofila a	66
Análises Bioquímicas.....	67
Discussão	74
Agradecimentos	80
Referências bibliográficas	80
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	89

RESUMO

SANTANA-ROSA, Tiago, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, março de 2018. **Variações morfoanatômicas e fisiológicas de duas espécies hiperacumuladoras de alumínio em diferentes fitofisionomias do Cerrado.** Orientadora: Aristéa Alves Azevedo. Coorientadores: Adriano Nunes Nesi, Carlos Ernesto Reynald Gonçalves Schaefer e Pedro Antônio Oliveira Mangabeira.

A vegetação do Cerrado apresenta um grande número de adaptações a fatores bióticos e abióticos, sendo a capacidade de excluir ou acumular alumínio (Al) em seus tecidos uma das principais. Sabe-se que diferenças na absorção e translocação de metais podem estar relacionadas a vários fatores entre esses as taxas transpiratórias, que dependem da condutância estomática, que por sua vez é influenciada pela disponibilidade de luz. Recentemente, em área de Cerrado, as plantas acumuladoras foram separadas em dois subgrupos funcionais: tolerantes e não tolerantes ao sombreamento, evidenciando a necessidade de estudos que demonstrem como ocorre a absorção e acúmulo de alumínio nas espécies, quando em fitofisionomias que diferem quanto à intensidade luminosa. As espécies *Rudgea viburnoides* (Rubiaceae) e *Qualea grandiflora* (Vochysiaceae) foram selecionadas por sua ampla ocorrência nas fitofisionomias e solos do Cerrado da Floresta Nacional de Paraopeba, área de realização deste projeto. Este estudo teve como objetivos identificar as estratégias de acúmulo de Al e as respostas morfofisiológicas de duas espécies de Cerrado hiperacumuladoras de Al em fitofisionomias que apresentam variação da intensidade luminosa e teor de Al nos solos. Para alcançar esses objetivos foram analisados: a morfologia foliar (área, massa, área específica, densidade, comprimento e largura da folha) micromorfometria foliar (espessuras da epiderme adaxial, abaxial, parênquimas paliçádico e esponjoso e espessura total), os teores de Al, Ca, Fe, K, Mg, N, P e S no solo e nos órgãos vegetativos; as trocas gasosas (fotossíntese líquida, condutância estomática e transpiração); o teor dos pigmentos fotossintéticos (clorofilas *a*, *b* e carotenoides); o teor de compostos fenólicos, de aminoácidos, de proteínas e de amido; as variações morfoanatômicas promovidas pela luz; e os sítios de acúmulo do Al a nível celular e subcelular, utilizando microscopia de luz e eletrônica de varredura

com espectroscopia de energia dispersiva (MEV/EDS). *R. viburnoides* quanto *Q. grandiflora* apresentaram características morfológicas típicas de indivíduos que ocorrem em ambiente de sol e sombra. No entanto, a micromorfometria mostrou que, enquanto *R. viburnoides* apresentou variações somente na espessura dos tecidos, *Q. grandiflora* apresentou grandes variações estruturais nos diferentes ambientes, indicando maior plasticidade fenotípica desta última espécie. O acúmulo de alumínio em ambas espécies foi maior nos ambientes a pleno sol, estando possivelmente relacionado com a elevada transpiração, uma vez que o alumínio é transportado até a parte aérea via corrente transpiratória. Diferente do encontrado na literatura para espécies de sol e sombra, as duas espécies apresentaram maiores taxas fotossintéticas no ambiente sombreado, possivelmente relacionadas com temperaturas mais amenas do ambiente de sombra e microclima mais adequado. Além disso, os parâmetros de fluorescência da clorofila *a* indicaram que nos indivíduos do ambiente a pleno sol e dos ambientes sombreados não ocorreram prejuízos no processo fotossintético e os dois fotossistemas funcionam adequadamente. Os pigmentos fotossintéticos também contribuem para o ajuste fotossintético nos indivíduos, pois no ambiente de sombra a concentração destes é maior, proporcionando captura mais eficiente da luz aliada à maior área foliar. Os resultados do presente estudo permitem inferir, com base nas análises de trocas gasosas, fluorescência da clorofila *a* e composição bioquímica, que as duas espécies não apresentam sinais de estresse devido a acidez e excesso de alumínio no solo ou em razão da radiação incidente.

ABSTRACT

SANTANA-ROSA, Tiago, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, March, 2018. **Morphoanatomical and physiological variations of two hyperaccumulators of aluminum species in different Cerrado phytophysiognomies.** Adviser: Aristéa Alves Azevedo. Co-Advisers: Adriano Nunes Nesi, Carlos Ernesto Reynald Gonçalves Schaefer and Pedro Antônio Oliveira Mangabeira.

Cerrado vegetation presents a large number of adaptations to biotic and abiotic factors, and the ability to exclude or accumulate aluminum (Al) in its tissues is one of the main ones. It is known that differences in the absorption and translocation of metals may be related to several factors among these transpiration rates, which depend on the stomatal conductance, which in turn is influenced by the availability of light. Recently, in the Cerrado area, the accumulating plants were separated into two functional subgroups: tolerant and non-tolerant to shading, evidencing the need for studies that demonstrate how absorption and accumulation of aluminum occurs in species, when in phytophysiognomies that differ in light intensity. The species *Rudgea viburnoides* (Rubiaceae) and *Qualea grandiflora* (Vochysiaceae) were selected for their wide occurrence in the phytophysiognomies and soils of the Cerrado of the National Forest of Paraopeba, area of realization of this project. The objective of this study was to identify Al accumulation strategies and morphophysiological responses of two species of Al hyperaccumulating Cerrado in phytophysiognomies that present variation of light intensity and Al content in soils. In order to reach these objectives, the leaf morphology (area, mass, specific area, density, length and width of the leaf) were analyzed by foliar micromorphometry (adaxial, abaxial epidermis, palisade and spongy parenchyma and total thickness), Al, Ca, Fe, K, Mg, N, P and S in soil and vegetative organs; gas exchanges (liquid photosynthesis, stomatal conductance and transpiration); the content of photosynthetic pigments (chlorophyll a, b and carotenoids); the content of phenolic compounds, amino acids, proteins and starch; the morpho-anatomical variations promoted by light; and Al accumulation sites at the cellular and subcellular level, using light and scanning electron microscopy with dispersive energy spectroscopy (SEM / EDS). *R. viburnoides* and *Q. grandiflora* presented typical morphological

characteristics of individuals occurring in the sun and shade environment. However, micromorphometry showed that, while *R. viburnoides* presented variations only in tissue thickness, *Q. grandiflora* presented large structural variations in the different environments, indicating greater phenotypic plasticity of the latter species. The accumulation of aluminum in both species was higher in sun environments, being possibly related to the high transpiration, since the aluminum is transported to the aerial part through the transpiratory current. Different from that found in the literature for sun and shade species, the two species showed higher photosynthetic rates in the shaded environment, possibly related to the milder temperatures of the shade environment and the more adequate microclimate. In addition, the chlorophyll a fluorescence parameters indicated that in the individuals of the three environments no losses occur in the photosynthetic process and the two photosystems work properly. The photosynthetic pigments also contribute to the photosynthetic adjustment in the individuals, because in the shade environment the concentration of these is greater, providing more efficient capture of the light allied to the greater leaf area. The results of the present study allow to infer, based on gas exchange analysis, chlorophyll a fluorescence and biochemical composition, that the two species show no signs of stress due to acidity and excess of aluminum in the soil or due to the incident radiation.

INTRODUÇÃO GERAL

O Cerrado é uma formação vegetacional caracterizada por um estrato lenhoso e outro herbáceo, constituído por fitofisionomias mais abertas (campo limpo, campo sujo e campo Cerrado) e fitofisionomias mais fechadas (Cerrado *sensu stricto* e Cerradão) (Coutinho 1978). Tal formação distribui-se de forma contínua em dez estados e no Distrito Federal, abrangendo as regiões Norte, Centro-Oeste, Sudeste e Nordeste do país, e faz divisa com os domínios floresta amazônica, caatinga, mata atlântica e o complexo pantanal (BRASIL-MMA 2014). Em Minas Gerais, o Cerrado ocupa cerca de 50% do estado (Salgado e Oliveira 2012).

O Cerrado é o segundo maior domínio fitogeográfico do Brasil, ocupando aproximadamente 25% do território nacional (Sano et al. 2008), e um dos 34 *hotspots* estabelecidos para conservação da biodiversidade do planeta (Galindo-Leal et al. 2005). Entre as savanas mundiais, o Cerrado apresenta uma rica flora com cerca de 12.000 espécies e elevado endemismo (Mendonça et al. 2008). Porém, o uso extensivo deste domínio para agropecuária, produção de carvão e urbanização, associado à pequena quantidade de unidades de conservação, fazem com que os esforços para a conservação desse domínio sejam insuficientes (BRASIL-MMA, 2014).

A sobrevivência das espécies no Cerrado implica em uma série de adaptações aos diferentes fatores bióticos e abióticos (Walter et al. 2008), dentre os quais destacam-se: o fogo (Simon et al. 2009), as variações da temperatura; a seca sazonal (Walter et al. 2008). Além disso, os solos, em geral são ácidos e distróficos com baixos teores de cálcio, fósforo e micronutrientes, que se encontram adsorvidos aos óxidos de ferro e de alumínio (Neri et al. 2012). Estes íons estão disponíveis em altos teores, e promovem a redução na absorção de ânions potencialmente fitotóxicos (Vitorello et al. 2005).

O alumínio (Al) é o metal mais abundante da crosta terrestre (Kochian 1995) e, geralmente, ocorre em formas não fitotóxicas, tais como aluminossilicatos e óxidos de Al (Kochian 1995; Grevenstuck e Romano 2013). Há cerca de 114 anos foi reconhecido que em solos ácidos, como no Cerrado, o alumínio é solubilizado à forma iônica ($Al(H_2O)_6^{3+}$), mais comumente

conhecido como Al^{3+} (Veitch 1904), tóxico, principalmente para as plantas cultivadas, mesmo quando as concentrações desse íon são baixas (Vitarello et al. 2005).

As espécies que se desenvolvem no Cerrado não apresentam limitações em sua capacidade de absorver os nutrientes essenciais, crescer e se reproduzir em presença do Al (Haridasan 2008). As espécies podem apresentar dois mecanismos de resposta ao Al: exclusão, quando o Al não entra no simplasto; e acúmulo ou tolerância interna, quando o Al é imobilizado e acumulado no simplasto das células de raízes e da parte aérea, porém a predominância de um mecanismo não exclui a ocorrência do outro em menor intensidade (Kochian et al. 2015).

As espécies exclusoras são aquelas que não translocam o Al para a parte aérea por apresentarem mecanismos que impedem a absorção do íon pela raiz ou o seu acesso ao simplasto (Kochian et al. 2015). Estes mecanismos são: a ativação de canais aniônicos da membrana plasmática com eliminação de ácidos orgânicos, elevação do pH da rizosfera e consequente indisponibilização do Al^{3+} (Horst et al. 2010); a inibição de transportadores para o Al (Ryan e Delhaize, 2010); e o grau de metilação das pectinas que determina a ligação e imobilização do Al na parede celular (Tolrà et al. 2011; Gonzalez-Santana et al. 2012).

As espécies acumuladoras absorvem grandes quantidades de Al, podendo direcioná-lo para diferentes compartimentos das células da raiz e translocá-lo até a parte aérea, imobilizando-o nos diferentes tecidos (Jansen et al. 2002). Este íon pode interagir com lipídios e proteínas da membrana plasmática, induzindo alterações nas propriedades estruturais, na fluidez e na permeabilidade, o que resulta no enrijecimento dessa estrutura (Horst et al. 2010). Além disso, a entrada de Al ativa mecanismos celulares de destoxificação, ocorrendo a sua complexação com ligantes no citosol, como compostos fenólicos, ácidos orgânicos, fosfatos, sulfatos e compostos tiolados, formando compostos de baixo peso molecular (Watanabe et al. 2005), que resultam na quelatação e armazenamento nos vacúolos (Kochian et al. 2002; Negishi et al. 2013).

O alumínio é translocado até a parte aérea via xilema, na forma de Al-malato ou Al-citrato, sendo imobilizado em diferentes tecidos e

compartimentos celulares (Kinraide et al. 2005). Nas folhas, a parede celular das células epidérmicas e do mesófilo é um local de acúmulo preferencial do Al, por ser atraído pelas cargas negativas das pectinas da parede celular (Tolrà et al. 2011; Gonzales-Santana et al. 2012; Brunner e Sperisen 2013). Nos vacúolos de alguns idioblastos, ocorre a complexação do alumínio com cristais de oxalato, sendo também uma estratégia que impossibilita que esse elemento promova alterações metabólicas nas células (Jansen et al. 2002; Ma et al. 2007). Cabe ressaltar que a maioria dos dados citados foram obtidos em experimentos com plantas cultivadas, existindo poucas informações sobre plantas nativas.

Estudos têm demonstrado a presença de Al nos cloroplastos de algumas plantas nativas (Andrade et al. 2011; Malta et al. 2016). Sabe-se que o Al reduz o teor dos pigmentos fotossintéticos, as trocas gasosas e a assimilação de CO₂ (Andrade et al. 2011). Entretanto, os efeitos do Al na ultraestrutura e no funcionamento dessa organela não estão elucidados (Malta et al. 2016). O Al também pode aumentar a produção de espécies reativas de oxigênio (EROs) acelerando o processo de morte celular (Li e Xing 2011). Além disso, o Al interfere no funcionamento das proteínas Fe-S, reduzindo o transporte de elétrons, a produção de ATP e a atividade da cadeia transportadora de elétrons (Li e Xing 2011; Ezaki et al. 2013).

Recentemente, no Cerrado da Floresta Nacional (FLONA) de Paraopeba, MG, a distribuição das plantas acumuladoras de Al foi avaliada em função das variáveis ambientais. Esse grupo foi dividido em dois sub-grupos funcionais: tolerantes e não-tolerantes ao sombreamento (Guevara 2015). A luz promove variações na área, massa, espessura e densidade foliar, na densidade e índice estomático e nas proporções de tecidos fotossintetizantes em relação aos não-fotossintetizantes (England e Attiwill 2006). Altas incidências luminosas e altas temperaturas, quando associadas à presença de metais, podem interferir na condutância estomática, tendo como consequência a redução das taxas fotossintéticas, de assimilação de CO₂ e a alteração da corrente transpiratória (Elfadl e Luukkanen 2006).

Vários fatores ambientais, incluindo a presença de metais pesados, promovem alterações na biossíntese de metabólitos primários (glicose, frutose, sacarose, amido, malato, aminoácidos, proteínas e lipídios), em

função de modificações nas rotas de biossíntese destes compostos (Shou et al. 2007). Estudos sobre a influência de fatores ambientais no perfil metabólico de plantas nativas do Cerrado são ainda incipientes. Assim, análises que permitam esclarecer se as condições de luminosidade, temperatura e teor de Al nos solos promovem ajustes metabólicos que modulam as respostas das plantas ao alumínio são essenciais.

Nos ambientes de Cerrado, a luz é um dos principais fatores que limitam o crescimento das espécies (Marques et al. 2000). Nos ambientes como Cerradão há um estrato arbóreo contínuo que intercepta a luz solar incidente, fazendo com que estas espécies estejam expostas a alta irradiação no decorrer do dia, enquanto os indivíduos do sub-bosque estão limitados à luz difusa que chega até eles (Dias et al. 2007). Nos ambientes a pleno sol as plantas estão expostas a radiação o dia inteiro e quando os mecanismos internos não são suficientes, as espécies podem apresentar sintomas de fotoinibição (Dias et al. 2007). No entanto, dados que comprovem esses fatos para espécies de Cerrado são poucos.

Diante do exposto, é imprescindível entender as relações existentes entre as duas espécies nativas de Cerrado e os fatores abióticos (diferenças na luminosidade, temperatura, baixa disponibilidade de nutrientes e alto teor de Al), nas diferentes fitofisionomias desta formação vegetacional. Além disso, faz-se necessário identificar os sítios de acúmulo do Al nas células (Grevenstuk e Romano 2013), bem como os mecanismos internos de tolerância (Kochian et al. 2015) para esclarecer as principais estratégias existentes nessas plantas capazes de sobreviver em solos álicos.

OBJETIVO GERAL

O objetivo deste estudo foi identificar as estratégias e alterações morfológicas, anatômicas e fisiológicas de duas espécies hiperacumuladoras de alumínio quando em ambientes com diferentes condições de luminosidade.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

O estudo foi dividido em dois capítulos cujos objetivos foram:

Capítulo I

Verificar as variações morfoanatômicas de *Qualea grandiflora* e *Rudgea viburnoides* em ambientes com diferentes irradiâncias;

Avaliar o acúmulo e particionamento do Al na parte aérea.

Capítulo II

Verificar se características típicas de espécies de sol e sombra florestais ocorrem nas espécies *Rudgea viburnoides* e *Qualea grandiflora*;

Avaliar as trocas gasosas, a fluorescência da clorofila *a*, os teores de pigmentos fotossintéticos, a concentração de compostos fenólicos, amido, aminoácidos e proteínas em ambientes que diferem quanto a intensidade luminosa recebida.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Andrade, L.R.M.; Barros, L.M.G.; Echevarria, G.F.; Amaral, L.I.V.; Cotta, M.G.; Rossatto, D.R.; Haridasan, M.; Franco A.C. 2011. Al-hyperaccumulator Vochysiaceae from the Brazilian Cerrado store aluminum in their chloroplasts without apparent damage. **Environmental and Experimental Botany** 70: 37-42.

BRASIL, MMA. 2014. Ministério do Meio Ambiente. **Biomás – Cerrado**. Acesso em 30/01/2018. Disponível em: <http://www.mma.gov.br/biomas/Cerrado>.

Brunner, I.; Sperisen, C. 2013. Aluminum exclusion and aluminum tolerance in woody plants. **Frontiers in Plant Science** 4: 1-12.

- Coutinho, L. M. 1978. O conceito de Cerrado. **Revista Brasileira de Botânica** 1:17-23.
- Dias, J.; Pimenta, J.; Medri, M.; Boeger, M. R. 2007. Physiological aspects of sun and shade leaves of *Lithraea molleoides* (Vell.) Engl. (Anacardiaceae). **Brazilian Archives of Biology and Technology** 50: 91-99.
- Elfadl, M.A.; Luukkanen, O. 2006. Field studies on the ecological strategies of *Prosopis juliflora* in a dryland ecosystem. 1. A leaf gas exchange approach. **Journal of Arid Environments** 66: 1-15.
- England, J. R.; Attiwill, P. M. 2006. Changes in leaf morphology and anatomy with tree age and height in the broad leaved evergreen species, *Eucalyptus regnans* F. Muell. **Tress Structure and Function** 20: 79-90.
- Ezaki, B.; Jayaram, K.; Higashi, A.; Takahashi, K. 2013. A combination of five mechanisms confers a high tolerance for aluminum to a wild species of Poaceae, *Andropogon virginicus* L. **Environmental and Experimental Botany** 93: 35-44.
- Galindo-Leal, C.; Jacobsen, T. R.; Langhammer, P. F.; Olivieri, S. 2005. Estado dos Hotspots: A dinâmica da perda de biodiversidade. In: Galindo-Leal, C.; Câmara, I. G. **Mata Atlântica: biodiversidade, ameaças e perspectivas**. São Paulo: Fundação SOS Mata Atlântica – Belo Horizonte: Conservação Internacional, p. 3-26. (*State of the Hotspots*).
- González-Santana, I.H.; Márquez-Guzman, J.; Cram-Heydrich, S.; Cruz-Ortega, R. 2012. *Conostegia xalapensis* (Melastomataceae): an aluminum accumulator plant. **Physiologia Plantarum** 144: 134-145.
- Grevenstuk, T.; Romano, A. 2013. Aluminium speciation and internal detoxification mechanisms in plants: where do we stand? **Metallomics** 5: 1584-1594.
- Guevara, A. M. 2015. **Relação entre leguminosas e espécies acumuladoras de Al no Cerrado da FLONA de Paraopeba, Minas Gerais, Brasil**. 49 f. Dissertação de Mestrado – (Mestrado em Botânica) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG.
- Haridasan, M. 2008. Nutritional adaptations of native plants of the Cerrado biome in acid soils. **Brazilian Journal of Plant Physiology** 20: 183-195.

- Horst, W.J.; Wang, Y.; Eticha, D. 2010. The role of the root apoplast in aluminium-induced inhibition of root elongation and in aluminium resistance of plants: a review. **Annals of Botany** **106**: 185–197.
- Jansen, S.; Broadley, M.R.; Robbrecht, E.; Smets, E. 2002. Aluminum hyperaccumulation in Angiosperms: a review of its phylogenetic significance. **Botanical Review** **68**: 235-269.
- Kinraide, T.; Parker, D.; Zobel, Richard. 2005. Organic acid secretion as a mechanism of aluminium resistance: a model incorporating the root cortex, epidermis, and the external unstirred layer. **Journal of Experimental Botany** **417**: 1853-1865.
- Kochian, L.V. 1995. Cellular mechanisms of aluminum toxicity and resistance in plants. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology** **46**: 237-260.
- Kochian, L. V.; Pence, N. S.; Letham, L. D.; Pineros, M. A.; Magalhães, J. V.; Hoekenga, O. A.; Garvin, D. F. 2002. Mechanisms of metal resistance in plants: aluminum and heavy metals. **Plant Soil** **247**: 109-119.
- Kochian, L.V.; Piñeros, M.; Liu, J.; Magalhães, J. 2015. Plant adaptation to Acid Soils: The Molecular Basis for Crop Aluminum Resistance. **Annual Review of Plant Biology** **66**: 1-21.
- Li, Z.; Xing, D. 2011. Mechanistic study of mitochondria- dependent programmed cell death induced by aluminium phytotoxicity using fluorescence techniques. **Journal of Experimental Botany** **62**: 331–343.
- Ma, B.H.; Wan, J.M.; Shen, Z.G. 2007. H₂O₂ production and antioxidant responses in seeds and early seedling of two different rice varieties exposed to aluminum. **Plant Growth Regulation** **52**: 91–100.
- Malta, P.; Arcanjo-Silva, S.; Ribeiro, C.; Campos, N.; Azevedo, A. 2016. *Rudgea viburnoides* (Rubiaceae) overcomes the low soil fertility of the Brazilian Cerrado and hyperaccumulates aluminum in cell walls and chloroplasts. **Plant Soil** **6**: 1-16.
- Marques, A.; Garcia, Q.; Rezende, J.; Fernandes, G. Variations in leaf characteristics of two species of *Miconia* in the Brazilian Cerrado under different light intensities. **Tropical Ecology** **41**: 47-56
- Mendonça, R.C.; Felfili, J.M.; Walter, B.M.T.; Silva Júnior, M.C.; Rezende, A.V.; Filgueiras, T.S., Nogueira, P.E.; Fagg, C.W. 2008. Flora vascular do

- bioma Cerrado: checklist com 12.356 espécies. In: Sano, S.M., Almeida, S.P. & Ribeiro, J.F. **Cerrado: ecologia e flora**. Brasília: Embrapa Cerrados/ Embrapa Informação Tecnológica. 406 p.
- Negishi T, Oshima K, Hattori M, Yoshida K. 2013. Plasma membrane-localized Al-transporter from blue hydrangea sepals is a member of the anion permease family. **Genes Cells** **18**: 341–52.
- Neri, A.V.; Schaefer, C.E.G.R.; Silva, A.F.; Souza, A.L.; Ferreira- Junior, W.G.; Meira-Neto, J.A.A. 2012. The influence of soils on the floristic composition and community structure of an area of Brazilian Cerrado vegetation. **Edinburgh Journal of Botany** **69**: 1–27.
- Rodrigues Marques, A.; Souza Garcia, Q.; Passos Rezende, J.L.; Fernandes, G.W.; Marques, A.R. 2000. Variations in leaf characteristics of two species of *Miconia* in the Brazilian Cerrado under different light intensities. **Tropical Ecology** **41**: 47–60.
- Ryan, P. R.; Delhaize, E. 2010. The convergent evolution of aluminium resistance in plants exploits a convenient currency. **Functional Plant Biology** **37**: 275 – 284.
- Salgado, A. A.; Oliveira, C. V. 2012. **Grandes domínios morfobioclimáticos de Minas Gerais**. p. 11 – 29. In.: Instituto estadual de florestas. Plano estadual de proteção a biodiversidade: Panorama da biodiversidade em Minas Gerais. 1 ed. 101 p.
- Sano, E. E.; Rosa, R.; Brito, J. L. S.; Ferreira, L. G. 2008. Mapeamento semidetalhado do uso da terra do Bioma Cerrado. **Pesquisa Agropecuária Brasileira** **43**: 153-156.
- Shou, S.; Lu, G.; Huang, X. 2007. Seasonal variations in nutritional components of green asparagus using the mother fern cultivation. **Scientia Horticulturae** **112**: 251-257.
- Simon, M.; Grether, R.; Queiroz, L.; Skema, C.; Pennington, R.T.; Hughes, C.E. 2009. Recent assembly of the Cerrado, a Neotropical plant diversity hotspot, by in situ evolution of adaptations to fire. **Proceedings of the National Academy of Science USA** **106**: 20359-20364.
- Tolrà, R.; Vogel-Mikus, K.; Hajiboland, R.; Kump, P.; Pongrac, P.; Kaulich, B.; Gianoncelli, A.; Babin, V.; Barceló, J.; Regvar, M.; Poschenrieder, C. 2011. Localization of aluminium in tea (*Camellia sinensis*) leaves using low

- energy X-ray fluorescence spectro-microscopy. **Journal of Plant Research** **124**: 165-172.
- Veitch, F.P. 1904. Comparison of methods for the estimation of soil acidity. **Journal of the American Chemical Society** **24**: 633–662.
- Vitorello, V.A.; Capaldi, F.R.; Stefanuto, V.A. 2005. Recent advances in aluminum toxicity and resistance in higher plants. **Brazilian Journal of Plant Physiology** **17**: 129-143.
- Walter, B.M.T.; Carvalho, A.M.; Ribeiro, J.F. 2008. **O conceito de Savana e de seu componente Cerrado**. In.: Sano, S. M.; Almeida, S. P.; Ribeiro, J. F. Cerrado: ecologia e flora. Planaltina: EMBRAPA-CPAC. p.19-45.
- Watanabe, T.; Jansen, S.; Osaki, T. 2005. Blackwell Publishing, Ltd. The beneficial effect of aluminium and the role of citrate in Al accumulation in *Melastoma malabathricum*. **New Phytologist** **165**: 773-780.

CAPÍTULO I - Respostas morfoanatômicas de espécies acumuladoras de alumínio em diferentes fitofisionomias do Cerrado

RESUMO

No Cerrado, devido a ocorrência de formações florestais, savânicas e campestres, estudos morfoanatômicos foliares podem ser promissores no âmbito ecológico. Porém, poucos estudos em campo são realizados. O objetivo deste estudo foi verificar se as variações na intensidade luminosa nos ambientes de Cerrado influenciam a morfoanatomia e o acúmulo de alumínio na parte aérea das espécies hiperacumuladoras de alumínio *Rudgea viburnoides* e *Qualea grandiflora*. As áreas de estudo foram estabelecidas no Cerrado da FLONA de Paraopeba, MG. Amostras foram prensadas e secas para mensuração da área foliar, massa seca, área foliar específica, comprimento e largura foliar. A outra parte foi fixada para análises em microscopia de luz e varredura com EDS e mensuração dos tecidos internos. A partir dos dados de área foliar, massa seca e espessura foi obtida a densidade foliar. A comparação dos dados evidenciou diferenças significativas entre os indivíduos do ambiente sombreado e sob intensa luminosidade e a PCA separou-os em dois grupos. Os indivíduos de sombra apresentaram maior área foliar e área foliar específica, que otimizam a captação da luz, já os indivíduos de sol apresentam folhas com maior massa seca e densidade relacionados a aumentos na espessura da epiderme adaxial e parênquima paliçádico. O acúmulo de alumínio na parte aérea das duas espécies ocorre em função da elevada irradiância, uma vez que os indivíduos a pleno sol apresentam maiores teores desse metal. Assim, as espécies arbóreas de Cerrado apresentam a capacidade de aclimação às diferentes condições de luminosidade. *Q. grandiflora* apresentou alterações significativas nas proporções da epiderme adaxial e parênquimas paliçádico e esponjoso, nos diferentes ambientes, já em *R. viburnoides*, o parâmetro mais variável foi a espessura da folha, sem alterações na proporção dos tecidos. Além disso, o desenvolvimento das espécies parece não ser afetado pelo pH do solo, baixo teor de nutrientes e alto teor de Al do solo.

Palavras-chave: *Rudgea viburnoides*, *Qualea grandiflora*, irradiância, hiperacumuladoras de alumínio

CHAPTER I: Morphoanatomical responses of aluminum accumulating species in different Cerrado phytophysiognomies

ABSTRACT

In the Cerrado, due to the occurrence of woodlands, savanna and grassland formations, foliar morphoanatomic studies can be promising in the ecological scope. However, few field studies are performed. The objective of this study was to verify if the variations in the light intensity in the environments of Cerrado influence the morphoanatomy and the accumulation of aluminum in the aerial part of the hyperaccumulating aluminum species *Rudgea viburnoides* and *Qualea grandiflora*. The study areas were established in the Cerrado of the FLONA of Paraopeba, MG. Samples were pressed and dried to measure leaf area, dry mass, specific leaf area, leaf length and width. The other part was fixed for analysis under light microscopy and scanning with EDS and measurement of internal tissues. From the data of leaf area, dry mass and thickness was obtained the foliar density. The comparison of the data showed significant differences between the subjects in the shaded environment and under intense light and the PCA separated them into two groups. The individuals with shade presented a greater leaf area and specific leaf area, which optimize the capture of the light, whereas the individuals of sun present leaves with greater dry mass and density related to increases in the thickness of the adaxial epidermis and palisade parenchyma. The accumulation of aluminum in the aerial part of both species occurs due to the high irradiance, since the individuals in full sun present higher levels of this metal. Thus, the tree species of Cerrado present the capacity of acclimatization to the different conditions of luminosity. *Q. grandiflora* presented significant changes in the proportions of adaxial epidermis and palisade and spongy parenchyma, in *R. viburnoides*, the most variable parameter was leaf thickness, with no alterations in the proportion of tissues. In addition, the development of the species does not seem to be affected by soil pH, low nutrient content and high soil Al content.

Key Words: *Rudgea viburnoides*, *Qualea grandiflora*, irradiance, aluminum hyperaccumulators

Introdução

A distribuição da flora do Cerrado é influenciada pela precipitação sazonal, drenagem, fertilidade do solo e regimes de fogo (Oliveira-Filho e Ratter 2002). Este domínio é caracterizado por uma estação seca bem definida, durante o inverno no hemisfério sul e uma estação chuvosa durante o verão (Amorim e Batalha 2006). Os solos são em sua maioria profundos e bem drenados, com as camadas superficiais completamente secas durante a estação seca (Haridasan 2008). Além disso, os solos são distróficos com deficiência generalizada de nutrientes e ácidos com elevados teores de Fe, Mn e Al (Haridasan 2008).

Outro fator que pode influenciar a ocorrência das espécies de Cerrado são os diferentes níveis de sombreamento (Franco 2002). Existem espécies tolerantes à sombra que ocorrem em formações florestais, como o Cerradão, e as espécies não tolerantes, que apresentam mecanismos de resistência aos excessos de incidência luminosa (Franco 2002). Porém, existe um outro grupo de plantas, similar às espécies com folhas de sol e sombra florestais, que possuem diferentes estratégias para sobreviver tanto nas fitofisionomias sombreadas quanto nas ensolaradas do Cerrado (Ronquim et al. 2003). Nestas espécies, a alta irradiação ou sombreamento produz diferentes respostas na ontogenia foliar, modificando a morfologia e a anatomia e promovendo o uso mais eficiente da energia luminosa disponível no ambiente (Kim et al. 2005).

Nas áreas em que a luz não é um fator limitante, as espécies produzem maior massa foliar seca, densidade foliar, folhas com maior espessura, devido a um maior espessamento da epiderme adaxial e, ou, aumento das células e camadas de parênquima paliçádico, maior índice estomático e menor área foliar e área foliar específica (Valladares et al. 2007). As plantas em ambientes sombreados podem capturar a luz mais eficientemente pelo aumento da área foliar, possibilitando a manutenção de uma assimilação carbônica adequada (Valladares et al. 2007). Entretanto, esse aumento na área é acompanhado pela redução da espessura da folha, devido a redução da epiderme adaxial e da espessura do parênquima paliçádico (James e Bell 2001), reduzindo também a massa seca e a densidade (Vieira et al. 2014).

Além da luz, as espécies de Cerrado apresentam diversas estratégias que permitem a sobrevivência em solos distróficos, ácidos e com elevado teores de alumínio (Haridasan 2008). Nestes solos, 90% deste metal está na forma de octaedro hexahidratado ($\text{Al}(\text{H}_2\text{O})_6^{3+}$), porém, por convenção, ele é apresentado como Al^{3+} (Wright 1989). Com o aumento do pH, a forma trivalente $\text{Al}(\text{H}_2\text{O})_6^{3+}$ sofre sucessivas hidrólises, formando novos complexos ($\text{Al}(\text{OH})^{2+}$, $\text{Al}(\text{OH})_2^+$, $\text{Al}(\text{OH})_3$, $\text{Al}(\text{OH})_4^-$ e AlSO_4^+), normalmente insolúveis e que não são absorvidos pelas plantas (Kisnieriene e Lapeikaite 2015). A toxidez do alumínio na planta decresce na seguinte ordem: $\text{Al}(\text{H}_2\text{O})_6^{3+} > \text{Al}(\text{OH})^{2+} > \text{Al}(\text{OH})_2^+ > \text{Al}(\text{OH})_4^- > \text{Al}(\text{OH})_3 > \text{AlSO}_4^+$ (Kisnieriene e Lapeikaite 2015; Bojórquez-Quintal et al. 2017).

Por ser trivalente, o Al^{3+} é atraído mais fortemente às partículas com cargas negativas que o sódio (Na^+), potássio (K^+), cálcio (Ca^{2+}) e magnésio (Mg^{2+}) (Harter 2012). Assim, enquanto os outros cátions são lixiviados, fazendo com que os solos ácidos tenham baixos teores de Ca^{2+} , Mg^{2+} , Na^+ e K^+ , o Al^{3+} permanece no solo em altas concentrações (Harter 2012). Essas concentrações são fitotóxicas para a maioria das espécies vegetais por inibirem o crescimento e o desenvolvimento das raízes e reduzirem a absorção de água e nutrientes (Kopittke et al. 2015). Além disso, interferem na divisão celular, na replicação do DNA e nas atividades enzimáticas (Ma et al. 2001), aumentam a rigidez da parede celular (Kopittke et al. 2015) e alteram as proteínas de transporte e a permeabilidade da membrana (Ma et al. 2001). Contudo, mais recentemente foram sugeridos alguns efeitos benéficos do alumínio (Bojórquez-Quintal et al. 2017).

Quando em baixas concentrações, o Al^{3+} pode estimular o crescimento das raízes e da parte aérea (Rehmus et al. 2014), conforme relatado em espécies lenhosas adaptadas a solos ácidos (Poschenrieder et al. 2015), e também observado em espécies cultivadas (Wang et al. 2015; Moreno-Alvarado et al. 2017). Alguns autores destacam que o Al^{3+} pode influenciar positivamente a absorção de P (Zhou et al. 2016), Ca (Schmitt et al. 2016), K (Bojórquez-Quintal et al. 2014) e Mg (Bose et al. 2013). Além disso, o Al pode aumentar a tolerância das espécies ao estresse abiótico (efeitos tóxicos de íons e deficiência de nutrientes) (Kaur et al. 2016), e reduzir os efeitos tóxicos

do H⁺ (Bojórquez-Quintal et al. 2017), Fe (Hajiboland et al. 2013) e Mn (Wang et al. 2015).

Sugere-se também que o Al seja translocado até a parte aérea das acumuladoras de Al, estando relacionados ao metabolismo diferencial de aminoácidos, açúcares e ácido chiquímico (Xu et al. 2016), à elevação das taxas fotossintéticas, à ativação das defesas antioxidantes (Hajiboland et al. 2013) e à alteração da síntese e do transporte dos reguladores de crescimento (Moriyama et al. 2016).

Estudos em espécies cultivadas demonstraram que a translocação do Al até a parte aérea está relacionada com a transpiração e que elevadas taxas transpiratórias promovem aumento na quantidade de Al na parte aérea (Zeng et al. 2011). Entretanto, são desconhecidos dados que demonstram como a intensidade luminosa e a quantidade de Al nos solos influenciam na absorção, translocação e compartimentalização desse metal em espécies nativas de Cerrado.

Este estudo testou a hipótese de que as espécies nativas de Cerrado têm acúmulo diferencial de Al quando em ambientes que diferem quanto a intensidade luminosa. Assim, foram analisadas duas espécies hiperacumuladoras de alumínio de Cerrado, *Rudgea viburnoides* e *Qualea grandiflora*. Objetivou-se verificar as variações morfoanatômicas nas duas espécies quando em fitofisionomias que apresentavam diferenças na intensidade luminosa e se o acúmulo de alumínio está relacionado com a luz e, ou atributos químicos do solo. Com esse intuito, foram avaliados a morfoanatomia das duas espécies, as estratégias de sobrevivência em diferentes fitofisionomias, o acúmulo de Al³⁺ na parte aérea, a concentração relativa e o particionamento de Al e de outros nutrientes nos diferentes tecidos e órgãos.

Material e Métodos

Área de estudo

Localiza-se na Floresta Nacional (FLONA) de Paraopeba (19°16'19"S, 44°24'06"W), a cerca de 90 km de distância de Belo Horizonte, Minas Gerais. A FLONA apresenta uma área total de 200 ha, tendo uma altitude que varia

entre 740 a 760 m. De acordo com a classificação de Köppen, o clima da FLONA de Paraopeba é do tipo Aw, com verões bastante chuvosos e invernos secos. Os períodos de precipitação se concentram entre os meses de novembro a março, com média anual de 1327 mm e temperatura média anual de 20,9°C (Ribeiro e Walter 2008). A área apresenta Cerrado *sensu stricto* sobre latossolo vermelho-amarelo, latossolo amarelo e cambissolo e Cerradão sobre latossolo vermelho, sendo este classificado em Cerradão distrófico e Cerradão mesotrófico pelas diferenças na composição química do solo e na composição florística (Neri et al. 2013) (Figura 1).

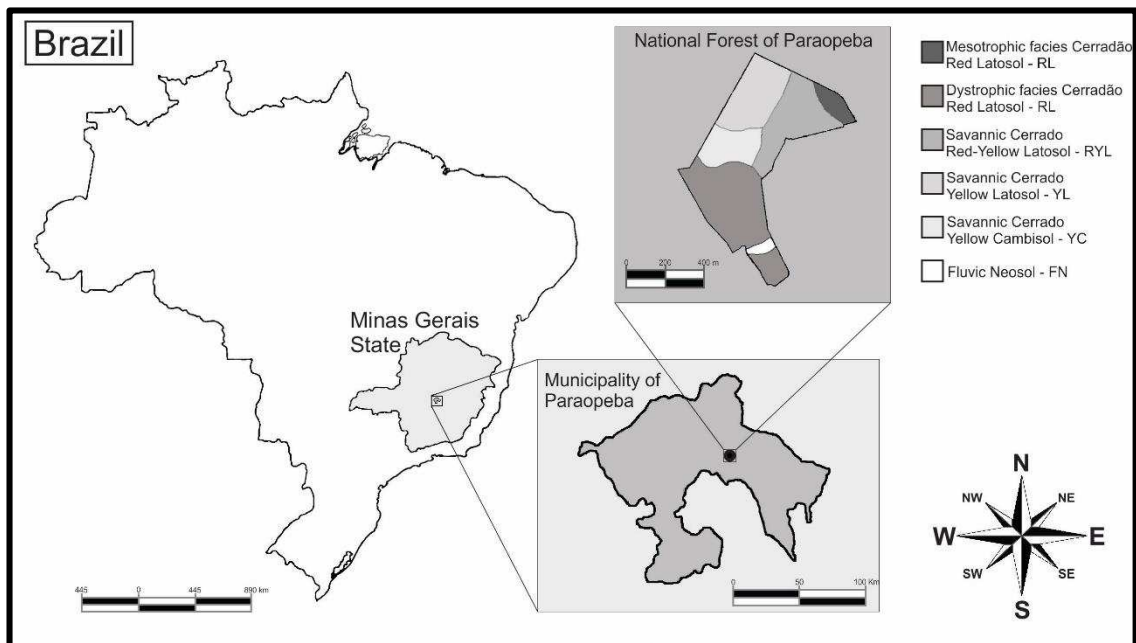


Figura 1. Localização da cidade de Paraopeba, Minas Gerais, e da Área de Proteção Ambiental do Cerrado – Floresta Nacional (FLONA) de Paraopeba, com suas distintas fitofisionomias ocorrentes em diferentes classes de solos (Modificado de Neri et al. 2013).

O Cerradão distrófico sobre latossolo vermelho (CDLV), Cerrado *sensu stricto* sobre latossolo amarelo (CsslA) e Cerrado *sensu stricto* sobre cambissolo (CsslCxb) foram escolhidos por serem ambientes que variam quanto a intensidade luminosa recebida, sendo o CDLV o ambiente sombreado e o CsslA e CsslCxb os ambientes a pleno sol.

A radiação fotossinteticamente ativa (PAR), para os três ambientes foi diferente, sendo em média maior no cambissolo ($\bar{X} = 1406.29 \mu\text{mol f\u00f3tons m}^2 \text{s}^{-1}$), onde a densidade de indiv\u00edduos \u00e9 menor e a copa das esp\u00e9cies encontram-se mais espa\u00e7adas e menor no Cerrad\u00e3o distr\u00f3fico ($\bar{X} = 146.45 \mu\text{mol f\u00f3tons m}^2 \text{s}^{-1}$), que apresenta maior densidade de indiv\u00edduos e copas

mais fechadas. Já o latossolo amarelo apresentou PAR intermediário ($\bar{X} = 767,57 \mu\text{mol f\u00f3tons m}^2 \text{ s}^{-1}$), com uma densidade de esp\u00e9cies e distribui\u00e7\u00e3o da copa similares ao cambissolo.

Esp\u00e9cies estudadas, marca\u00e7\u00e3o e coleta

Foram selecionadas *Rudgea viburnoides* (Cham.) Benth. (Rubiaceae) e *Qualea grandiflora* Mart. (Vochysiaceae) por serem hiperacumuladoras de alum\u00ednio (Haridasan 1982; Andrade et al. 2011; Malta et al. 2016) e por terem ampla ocorr\u00eancia em todas as fitofisionomias de Cerrado (Neri et al. 2013). Estas esp\u00e9cies apresentam h\u00e1bitos distintos, sendo *R. viburnoides* arbustiva com folhas perenes (Batista et al. 2013) e *Q. grandiflora* arb\u00f3rea com folhas dec\u00edduas (Dousseau et al. 2013).

Em cada um dos tr\u00eas ambientes, cinco indiv\u00edduos de cada esp\u00e9cie foram georreferenciados e marcados com lacres de polipropileno enumerados. Foram selecionados indiv\u00edduos de *R. viburnoides* com di\u00e2metro \u00e0 altura do solo (DAS) acima de 10cm e indiv\u00edduos de *Q. grandiflora* com di\u00e2metro \u00e0 altura do peito (DAP) acima de 10cm, tendo alturas entre 2 e 2,5m. Foram realizadas tr\u00eas coletas em campo durante a esta\u00e7\u00e3o seca (entre os dias 04 e 06 de agosto de 2015, 25 e 27 de abril de 2016 e 27 e 30 de abril de 2017) para an\u00e1lises de morfologia, micromorfometria, determina\u00e7\u00e3o da composi\u00e7\u00e3o qu\u00edmica e espectroscopia de energia dispersiva acoplada ao microsc\u00f3pio eletr\u00f4nico de varredura (MEV/EDS).

An\u00e1lises morfoanat\u00f4micas

Para as an\u00e1lises morfol\u00f3gicas foram coletadas 06 folhas do 3\u00b0 n\u00f3 de cada indiv\u00edduo em cada um dos tr\u00eas ambientes (02 esp\u00e9cies, 03 ambientes, 05 indiv\u00edduos por ambiente e 06 folhas por indiv\u00edduos, totalizando 180 folhas/coleta). Para padroniza\u00e7\u00e3o, todas as folhas coletadas estavam voltadas para o leste. Ap\u00f3s coleta, as folhas foram prensadas e secas em estufa de ventila\u00e7\u00e3o for\u00e7ada a 75\u00b0C at\u00e9 massa constante.

Foram mensuradas e calculadas a \u00e1rea foliar - AF (cm²) obtida a partir da imagem digitalizada em scanner de mesa, utilizando o programa de processamento de imagens de c\u00f3digo aberto, projetado para imagens cient\u00edficas *ImageJ* (Wayne Rasbant 1.51). A massa seca foliar - MSF (g) foi

obtida pela pesagem das folhas previamente secas, em balança de alta precisão (*Ohaus Corporation* - Modelo 3130). Foi calculada a área foliar específica - AFE ($\text{cm}^2 \text{g}^{-1}$), utilizando a fórmula $\text{AFE} = \text{AF}/\text{MSF}$ e a densidade foliar/DF (g cm^{-3}) à partir da fórmula $\text{DF} = \text{MSF}/(\text{AF} \cdot \text{ETL})$, em que ETL representa a espessura total da lâmina foliar (em cortes transversais) convertida para centímetros (Witkowski e Lamont 1991). Foram obtidos também o comprimento da lâmina foliar - CLF (cm) e a largura da lâmina foliar - LLF (cm) usando régua milimetrada.

Para os estudos de micromorfometria foram coletadas 03 folhas completamente expandidas do 3º nó de cada um dos cinco indivíduos de *R. viburnoides* e *Q. grandiflora* nas diferentes áreas de estudos (02 espécies, 03 ambientes, 05 indivíduos e 03 folhas, totalizando 90 folhas/coleta e 270 folhas no total). O material vegetal foi fixado em FAA₅₀ por 48 horas e conservado em etanol 70%. Posteriormente, foi desidratado em série etanólica, incluído em metacrilato (*Histo-resin Leica*) e seccionado em micrótomo rotativo de avanço automático (RM2155, *Leica Microsystems Inc., Deerfield, USA*). As secções de 5 μm foram coradas com azul de toluidina e montadas em Permount (*Fisher Scientific Permount Mounting Medium*). Foram mensuradas a espessura total da lâmina foliar - ETL, espessura da epiderme na face adaxial - EEPAD, espessura da epiderme na face abaxial - EEPAB, espessura do parênquima paliçádico - EPP e a espessura do parênquima esponjoso - EPL, utilizando o *software* livre ANATI QUANTI 2.0 (Aguiar et al. 2007).

A presença de reentrâncias e, ou, tricomas na face abaxial da folha das duas espécies impossibilitou a obtenção de boas imagens estomáticas, em vista frontal mesmo usando diferentes técnicas, como impressão epidérmica, cortes paradérmicos, dissociação de epidermes, diafanização e microscopia eletrônica de varredura (MEV). Desta forma, para contornar esta limitação, foi estabelecido um protocolo para o cálculo do índice estomático em secções transversais. O número de células ordinárias da epiderme e o número de células estomáticas foram computados na epiderme abaxial em três regiões de cada corte, com extensão de 500 μm cada (1500 μm lineares/corte). Foram analisadas três folhas por indivíduo e confeccionadas três lâminas por folha com 12 cortes cada com 5 μm de espessura (02 espécies, 03 ambientes, 05 indivíduos e 03 folhas, 90 folhas/coleta,

totalizando 1080 cortes). Considerando que o tamanho máximo registrado para os estômatos foi de 15 µm, a cada quatro cortes, apenas um era analisado para não considerar o mesmo estômato duas vezes. O IE foi calculado a partir da fórmula: $I = S/(E + S) \times 100$, sendo S o número de estômatos e E o número de células ordinárias da epiderme (Salisbury 1927);

O material foi documentado em fotomicroscópio (modelo Olympus AX70TRF, Olympus Optical, Tóquio, Japão) com câmera fotográfica digital (modelo Zeiss AxioCam, Carl Zeiss, Jena, Alemanha) acoplada, do Laboratório de Anatomia Vegetal e Morfogênese da UFV.

Análise em Microscopia Eletrônica de Varredura com Espectroscopia de Energia Dispersiva (MEV/EDS)

Para as análises em EDS, o material botânico foi fixado em Karnovsky (Karnovsky, 1965) por, no mínimo, 72 horas. No Núcleo de Microscopia e Microanálise da UFV(NMM/UFV) o material foi desidratado em etanol e seco em ponto crítico (Critical Point Dryer - Bal-tec, CPD 030), montado em *stubs*, de modo que o material fosse visto em posição transversal e vaporizado com carbono (Evaporador de carbono Quorum Q150 T). As leituras foram realizadas utilizando uma sonda de raios-X (IXRF systems X-EDS, 15715, Brookford Drive, Houston, TX, 77059), acoplada ao microscópio eletrônico de varredura (MEV - 1430 VP, LEO, Cambridge, Inglaterra). Foi gerado um *spectrum* para identificar os principais elementos presentes na amostra e a partir deste, foram selecionados os elementos mais representativos, sendo determinadas a distribuição e abundância relativa (%) de Al, Ca, Si, K, Mg, P, Fe, S, Mn e Na, nas duas espécies estudadas.

Análise química do solo e determinação de nutrientes nas plantas

Amostras de solo foram coletadas à 20 cm de profundidade, próximo aos indivíduos estudados. Foram determinados nos solos o N, Al, Ca, K, Mg, P, Fe e S seguindo o protocolo de Branquinho *et al.* (2007). O caule e as folhas foram secas em estufa de ventilação forçada (75°C) até massa constante. O material vegetal foi triturado em moinho de bolas (TE048, Tecnal Marconi, Piracicaba, São Paulo) e após digestão ácida de (Tedesco *et al.* 2005) foi

realizada a determinação da composição química dos mesmos elementos. A determinação do N seguiu o protocolo de Malavolta et al. (1997).

Foi utilizado espectrômetro de emissão atômica com plasma indutivamente acoplado (ICP-OES, Optima 7300 DV PerkinElmer, Inc. Shelton, CT, USA), do Laboratório de Elementos Traço no Departamento de Ciência dos Solo da UFV (LET/UFV).

Delineamento experimental e análises estatísticas

Utilizou-se o delineamento experimental inteiramente casualizado (DIC), duas espécies (*Rudgea viburnoides* e *Qualea grandiflora*) e três ambientes com diferentes luminosidades: CDLV, CsslA e CsslCxb, com cinco réplicas em cada ambiente, mantendo uma distância mínima entre os indivíduos de pelo menos, 100 m.

Como os dados geraram muitas variáveis utilizou-se a análise dos componentes principais (PCA) que reduz a massa de dados com a menor perda de informação possível, sendo esta técnica utilizada para observar agrupamentos de indivíduos. Foram calculadas as relações entre as espécies entre a variável dependente luz nos três ambientes, com as variáveis independentes, os dados morfoanatômicos. Uma matriz das variáveis supracitadas foi gerada e os dados mais relevantes foram indicados pela análise de componentes principais no PC-ORD, sendo utilizado o teste de permutação de Monte Carlo com 999 randomizações (McCune e Mefford 2016). Foram verificados os autovalores gerados entre as relações espécie-luz (ter Braak e Prentice 1988) e os gráficos foram obtidos utilizando o *software* livre R x 64 3.4.3 (R Core Team 2016).

As análises estatísticas foram realizadas no *software* livre R x 64 3.4.1 (R Core Team 2016). A normalidade da distribuição dos dados foi validada pelo teste de Shapiro-Wilk. Parte dos dados não foram normais e, ou homogêneos, assim as análises de variância (ANOVA) foram realizadas pelo GLM (*generalized linear model*). Como os dados são de variáveis contínuas, utilizou-se *family Gaussian*, variando-se o *link* em *identity*, *log* e *inverse*, o *link identity* foi o que melhor se ajustou aos modelos, sendo portanto selecionado.

Resultados

Análises morfoanatômicas

Os percentuais abaixo foram calculados com base nos dados do Cerradão distrófico sobre latossolo vermelho (CDLV), ambiente sombreado, e Cerrado *sensu stricto* sobre cambissolo (CssCxb), ambiente a pleno sol. Os dados do Cerrado *sensu stricto* sobre latossolo amarelo (CssCxb) apresentaram valores intermediários entre os dois ambientes. Todas as variáveis morfoanatômicas mostraram diferenças significativas entre os ambientes.

Considerando os indivíduos do ambiente sombreado em relação ao ambiente a pleno sol, verificou-se o aumento na área foliar de 19,86% em *R. viburnoides* (Figura 1 - A) e 32,22% em *Q. grandiflora* (Figura 2 - A). A massa seca foliar foi menor no CDLV, sendo essa redução de 27,35% em *R. viburnoides* (Figura 1 - B) e 31,42% em *Q. grandiflora* (Figura 2 - B). Os valores calculados para área foliar específica foram maiores no ambiente sombreado para as duas espécies. Esse valor foi de 41,12% e 55,49% em *R. viburnoides* (Figura 1 - C) e em *Q. grandiflora* (Figura 2 - C), respectivamente. A densidade foliar foi maior nos ambientes a pleno sol, sendo 23,07% maior em *R. viburnoides* (Figura 1 - D) e 38,38% em *Q. grandiflora* (Figura 2 - D). O comprimento da lâmina foliar foi 9,98% maior no ambiente sombreado em *R. viburnoides* (Figura 1 - E) e 21,51% em *Q. grandiflora* (Figura 2 - E). A largura da lâmina foliar foi 12,19% (Figura 1 - F) e 16,21% (Figura 2 - F) maiores no ambiente sombreado em *R. viburnoides* e *Q. grandiflora*, respectivamente.

R. viburnoides apresenta epiderme adaxial unisseriada a bisseriada com variação na altura das células, porém essa variação de tamanho não é percebida na epiderme abaxial. A folha é hipoestomática. O mesófilo é dorsiventral, com predominância de uma camada de parênquima paliçádico no ambiente sombreado, havendo variações nos estratos em ambientes a pleno sol, com uma a duas camadas (Figura 3 - A - C). O parênquima esponjoso aparentemente não se apresentou compactado quando comparados os ambientes de sombra e sol (Figura 3 - A, B, C).

Q. grandiflora apresenta epiderme unisseriada a bisseriada tanto no ambiente sombreado como nos ambientes a pleno sol, sendo as células mais

volumosas no ambiente a pleno sol. A epiderme abaxial é levemente ondulada em ambiente sombreado (Figura 3 - D). A folha é hipoestomática, sendo a presença de estômatos em reentrâncias ou criptas com numerosos tricomas (Figura 3 - F) uma característica marcante a pleno sol. O mesofilo é dorsiventral com uma camada de parênquima paliçádico e parênquima esponjoso não compactado no ambiente sombreado. Já nos indivíduos que ocorrem a pleno sol, o mesofilo é constituído quase integralmente por parênquima paliçádico, apresentando três a quatro camadas com grande compactação e uma camada de parênquima esponjoso em algumas regiões (Figura 3 - E, F). Nos indivíduos a pleno sol, as células parenquimáticas ao redor dos feixes vasculares formam extensões de bainha em direção a epiderme, cujas células contém compostos fenólicos (Figura 3 - E, F).

As variáveis micromorfométricas também apresentaram diferenças significativas entre o ambiente sombreado e os ambientes a pleno sol. A espessura total da lâmina foliar foi 29,68% (Figura 1 - G) e 29,93% (Figura 2 - G) maior no ambiente a pleno sol, em *R. viburnoides* e *Q. grandiflora*, respectivamente. Assim como a espessura total, a espessura da epiderme adaxial nas duas espécies foi maior nos ambientes a pleno sol, sendo esse aumento de 41,36% em *R. viburnoides* (Figura 1 - H) e 30,05% em *Q. grandiflora* (Figura 2 - H). Entretanto, a espessura da epiderme abaxial não apresentou diferenças significativas em nenhuma das espécies (Figura 1 - I; 2 - I).

A espessura do parênquima paliçádico foi maior no ambiente a pleno sol para as duas espécies. Esse aumento foi de 47,96% em *R. viburnoides* (Figura 1 - J) e 142,62% em *Q. grandiflora* (Figura 2 - J). Quanto a espessura do parênquima esponjoso, houve diferenças entre as espécies. Em *R. viburnoides* a espessura do parênquima esponjoso foi 20,67% maior no ambiente a pleno sol (Figura 1 - K). Já em *Q. grandiflora*, a espessura do parênquima esponjoso foi 63,98% maior no ambiente sombreado (Figura 2 - K).

O índice estomático foi maior nos ambientes a pleno sol, sendo esse aumento de 41,64% em *R. viburnoides* (Figura 1 - L) e 68,91% em *Q. grandiflora* (Figura 2 - L).

Microscopia eletrônica de varredura com EDS

Nas duas espécies estudadas, os elementos mais representativos dentre os 10 analisados, em ordem decrescente de concentração relativa foram: Na > Al > Ca > Si (Figuras 4, 5). O silício e o alumínio encontram-se sobrepostos principalmente nos indivíduos a pleno sol. Essa sobreposição é notada principalmente nas células ordinárias da epiderme, principalmente na parede celular (Figuras 4 e 5 - G, H, K, L), tricomas (Figura 6 - E, F, M, N, O) e estômatos (Figura 6 - H, I, Q, R), sendo esses os principais sítios de deposição.

As duas espécies apresentam idioblastos contendo cristais, em *R. viburnoides* na forma de ráfides (Figura 6 - A, B) e *Q. grandiflora* na forma de drusas (Figura 6 - K, L). A análise em EDS detectou o cálcio como principal constituinte desses cristais (Figura 6 - B, C, K, L). Outros elementos foram encontrados em menor concentração relativa, sendo em ordem decrescente de proporção: P > S > Mg > K > Fe > Mn (Tabela 01).

Análise química do solo e determinação dos elementos nas plantas

Os solos dos três ambientes apresentam um pH baixo, sendo aproximadamente 4,50 no ambiente sombreado e 5,15 nos ambientes a pleno sol. Por ser um solo mais ácido, o CDLV, ambiente sombreado, apresenta maior teor de Al³⁺ solubilizado, em média 2,63 cmol_c/dm³. Nos ambientes a pleno sol, os teores de Al foram de 2,20 cmol_c/dm³ no C_{ss}C_{xb} e 1,70 cmol_c/dm³ no C_{ss}LA. Apesar de todos os solos serem distróficos, o CDLV apresenta os menores teores de K, Ca²⁺ e Mg²⁺ comparado aos outros ambientes. A concentração de N nos três ambientes não apresenta diferenças significativas (Tabela 02).

O teor de Al nas folhas de *R. viburnoides* foi maior nos ambientes a pleno sol, este aumento foi de 76,54%. Em *Q. grandiflora* a concentração de Al³⁺ não apresentou diferenças significativas, onde independentemente da classe de solo, a concentração de Al³⁺ não variou. O Ca²⁺ apresentou maior teor no C_{ss}LA. Os indivíduos no ambiente sombreado apresentaram maior teor de N (Tabela 03).

A análise dos componentes principais (PCA) em *R. viburnoides* mostrou que os componentes 1 (CP1) e 2 (CP2) explicam 76,9% da variância

acumulada para os dados de morfologia (Figura 7 - A) e 83,6% para os dados de micromorfometria (Figura 7 - B). A PCA em *Q. grandiflora* mostrou que os CP1 e CP2 explicam 88,2% da variância para os dados morfológicos (Figura 7 - C) e 87,1% da variância para os dados de micromorfometria (Figura 7 - D). Essas mesmas variáveis evidenciaram a separação de dois grupos, os indivíduos encontrados no CDLV, ambiente sombreado e com maior concentração de Al, e os indivíduos do C_{ss}LA e C_{ss}C_{xb}, que formaram um agrupamento, ambientes a pleno sol. Para os dados morfológicos, em relação ao CP1, as variáveis com maior autovalor e que mais contribuíram para a separação dos dois grupos foram: AF, AFE e CLF diretamente relacionadas com o ambiente sombreado e DF inversamente relacionada ao ambiente sombreado. Já as variáveis de micromorfometria que mais contribuíram foram ETL, EPP, EEPAD e IE, todas diretamente relacionadas aos ambientes a pleno sol (Figura 7).

A PCA para os dados de composição química do solo mostrou que os CP1 e CP2 explicam 74,3% da variância para *R. viburnoides* (Figura 8 - A) e 74,6% para *Q. grandiflora* (Figura 8 - D). Para as variáveis de solo em relação ao CP1, Al³⁺ e P são os elementos que estão diretamente relacionados ao CDLV para as duas espécies e o N para *Q. grandiflora*, sendo o pH mais baixo nesse ambiente (Figura 8 - A, D). O Ca²⁺, Mg²⁺ e K⁺ estão diretamente relacionados ao C_{ss}LA e C_{ss}C_{xb} (Figura 8 - A, D).

Na análise de composição química do caule os CP1 e CP2 explicam 62,3% da variância para *R. viburnoides* (Figura 8 - B) e 62,7% para *Q. grandiflora* (Figura 8 - E). A composição química da folha é explicada pelos CP1 e CP2 em 63% para *R. viburnoides* (Figura 8 - C) e 60,6% para *Q. grandiflora* (Figura 8 - F). Similar aos dados de micromorfometria, os dados de composição química separaram os ambientes em dois grupos, o CDLV, ambiente sombreado, dos C_{ss}LA e C_{ss}C_{xb}, ambientes a pleno sol. No caule das duas espécies, o Al³⁺ e o Ca²⁺ estão diretamente relacionados aos ambientes a pleno sol e N, P, K⁺ diretamente relacionados ao ambiente sombreado (Figura 8 - B, E).

Nas folhas, somente o N e o P estão relacionados ao ambiente sombreado para as duas espécies e em *Q. grandiflora*, além do N e P, o Fe e o K⁺ também aparecem associados ao ambiente sombreado. Para *R.*

viburnoides, o Ca^{2+} e o K^+ estão relacionados com ambientes a pleno sol e em *Q. grandiflora*, somente o Ca^{2+} (Figura 8 - C, F).

O Al^{3+} apresentou maior concentração nos solos do ambiente sombreado (Figura 9 - A, D). Porém, no caule a concentração de Al^{3+} seguiu o mesmo padrão para as duas espécies, tendo maiores acúmulos nos ambientes a pleno sol (Figura 9 - B, E). Este mesmo padrão foi observado nas folhas de *R. viburnoides* (Figura 9 - C). Entretanto, nas folhas de *Q. grandiflora* não houve diferenças significativas no acúmulo deste elemento nos diferentes ambientes (Figura 9 - F).

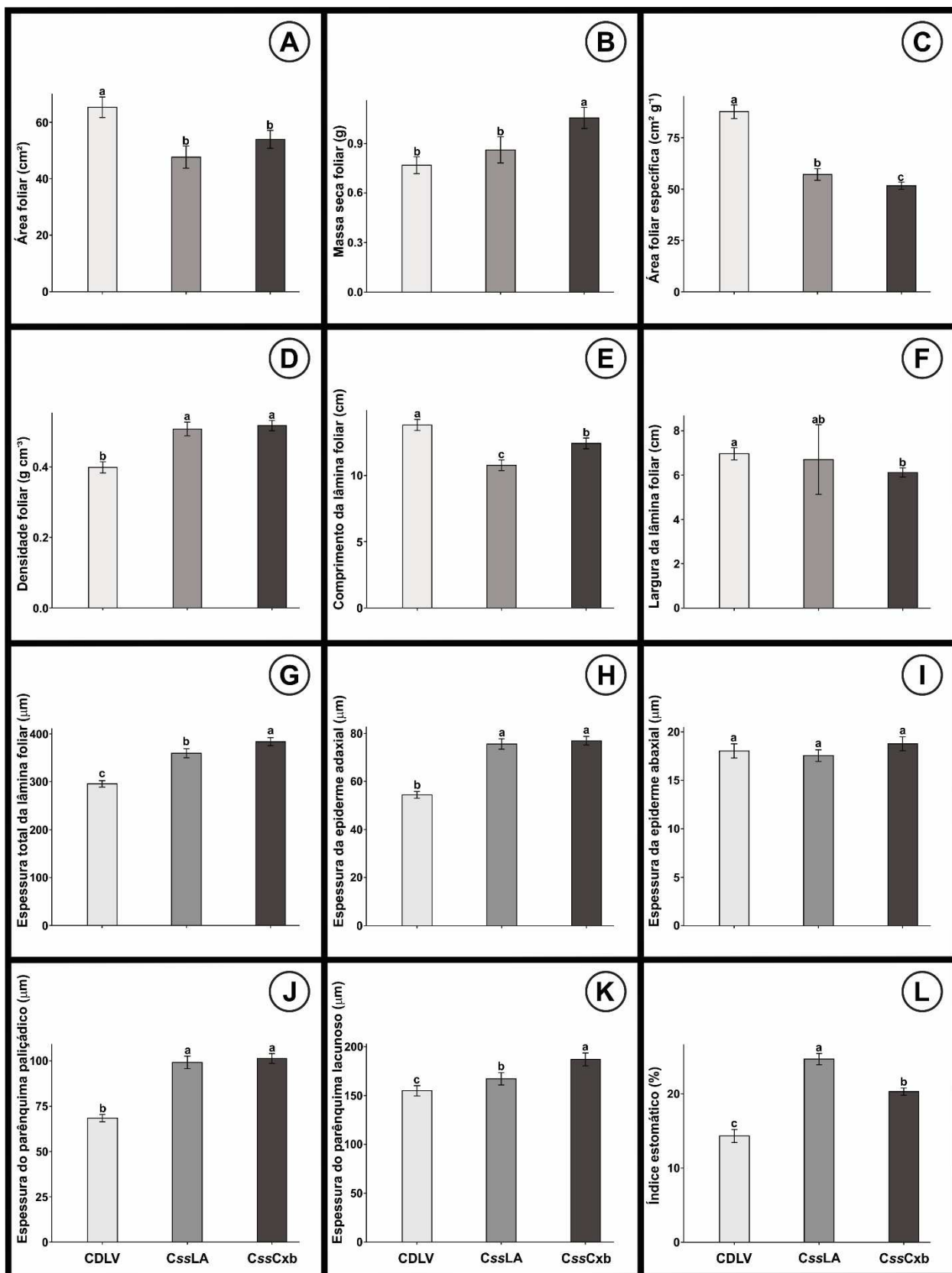


Figura 2. Micromorfometria foliar em *Rudgea viburnoides* nos três ambientes de coleta. CDLV – Cerradão distrófico sobre latossolo vermelho; CsslA – Cerrado *sensu stricto* sobre latossolo amarelo; CsslCxb – Cerrado *sensu stricto* sobre cambissolo. Resultados expressos por média e desvio padrão. Letras diferentes representam diferenças significativas pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

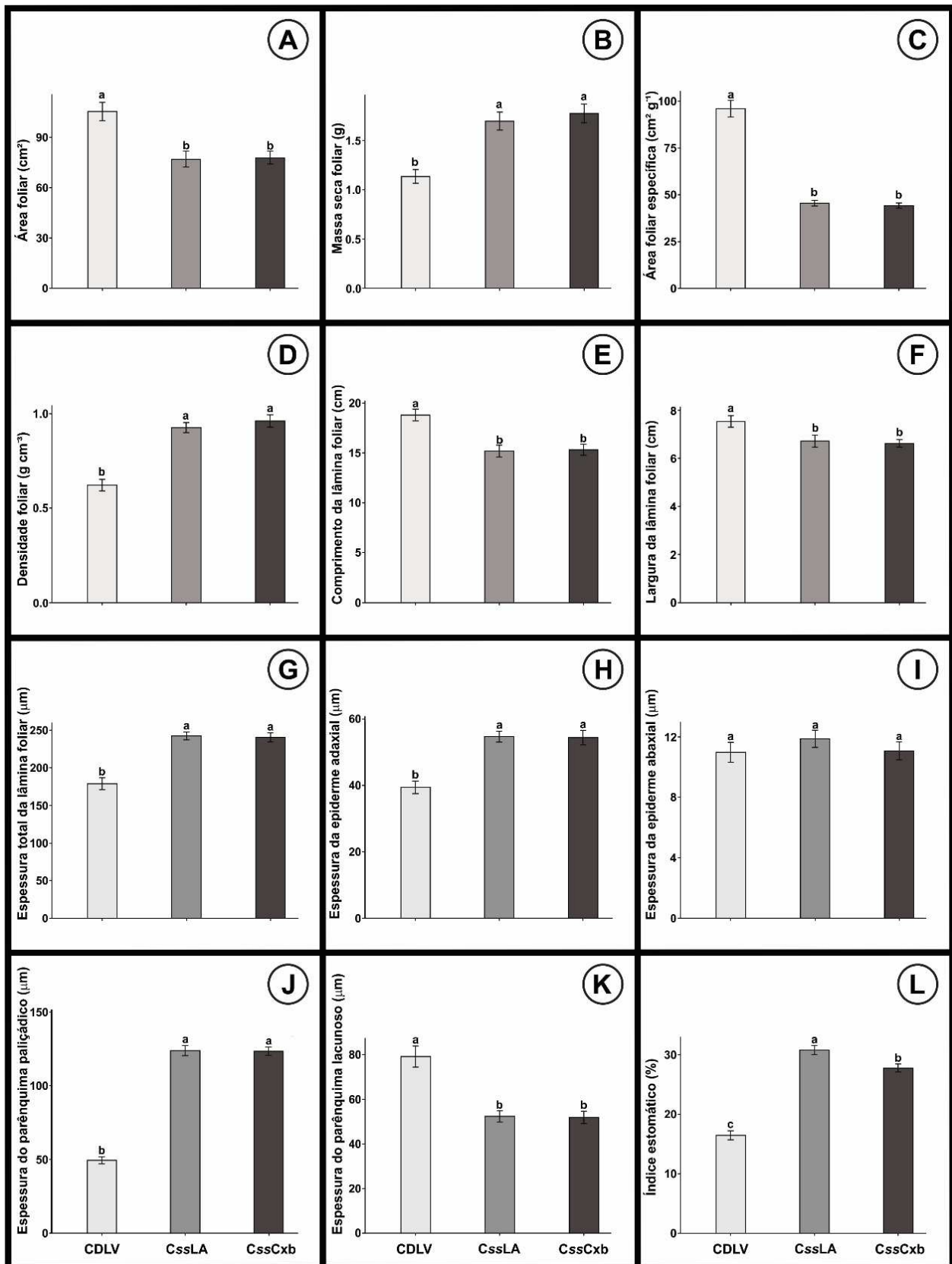


Figura 3. Micromorfometria foliar em *Qualea grandiflora* nos três ambientes de coleta. CDLV – Cerradão Distrófico sobre latossolo vermelho; CcssLA – Cerrado *sensu stricto* sobre latossolo amarelo; CcssCxb – Cerrado *sensu stricto* sobre cambissolo. Resultados expressos por média e desvio padrão. Letras diferentes representam diferenças significativas pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

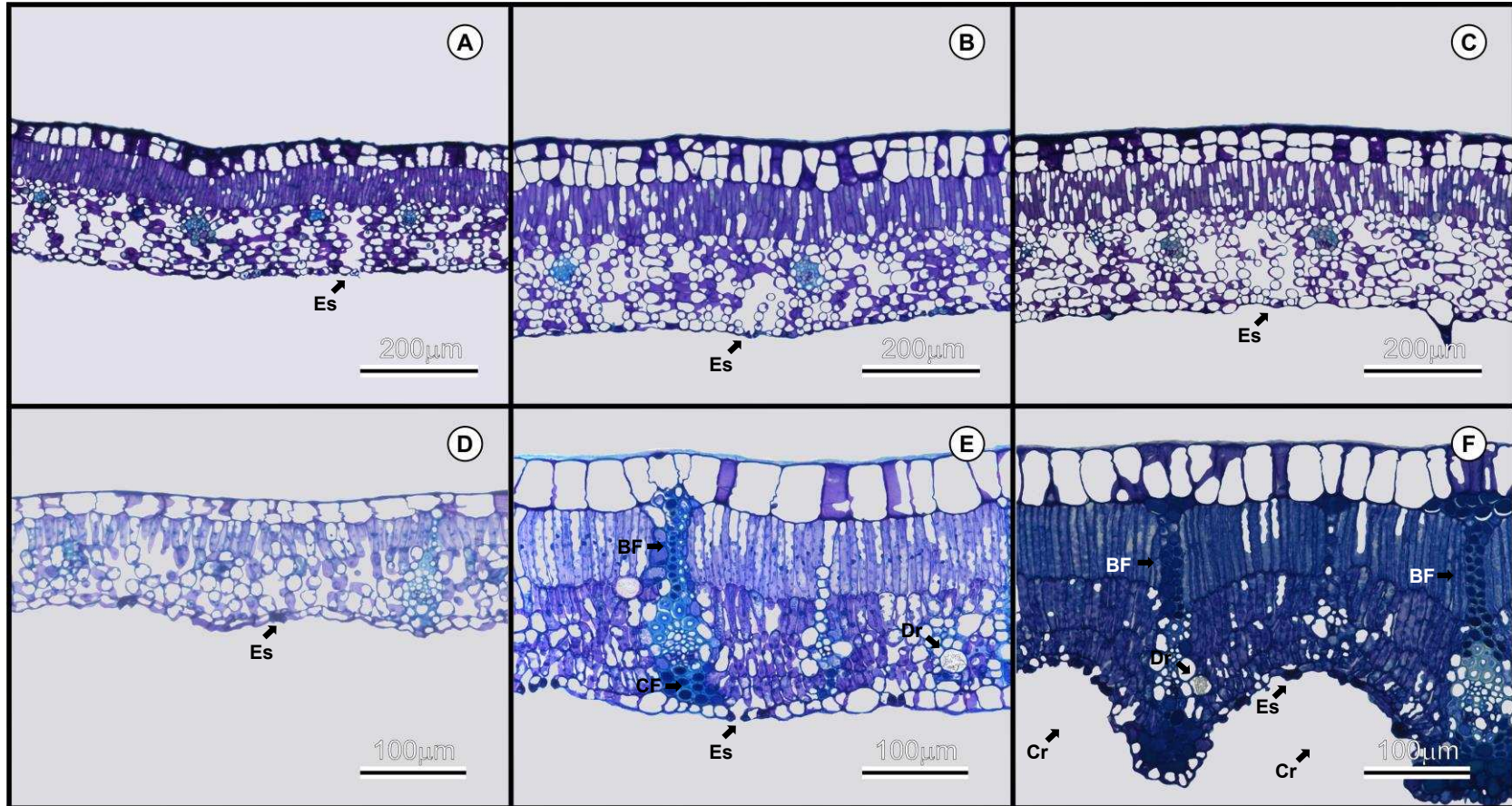


Figura 4. Variações na anatomia foliar de *Rudgea viburnoides* (A - C) e de *Qualea grandiflora* em ambiente sombreado, CDLV (A e D) e ambientes a pleno sol (B, C, E e F) C_{ss}LA (B e E) e C_{ss}Cxb (C e F). Evidenciando as diferenças entre o desenvolvimento dos tecidos nos diferentes ambientes. **Dr** - Drusas; **BF** - Bainha do feixe vascular; **Cr** - Cripta; **Es** - Estômatos; e **CF** - Compostos fenólicos.

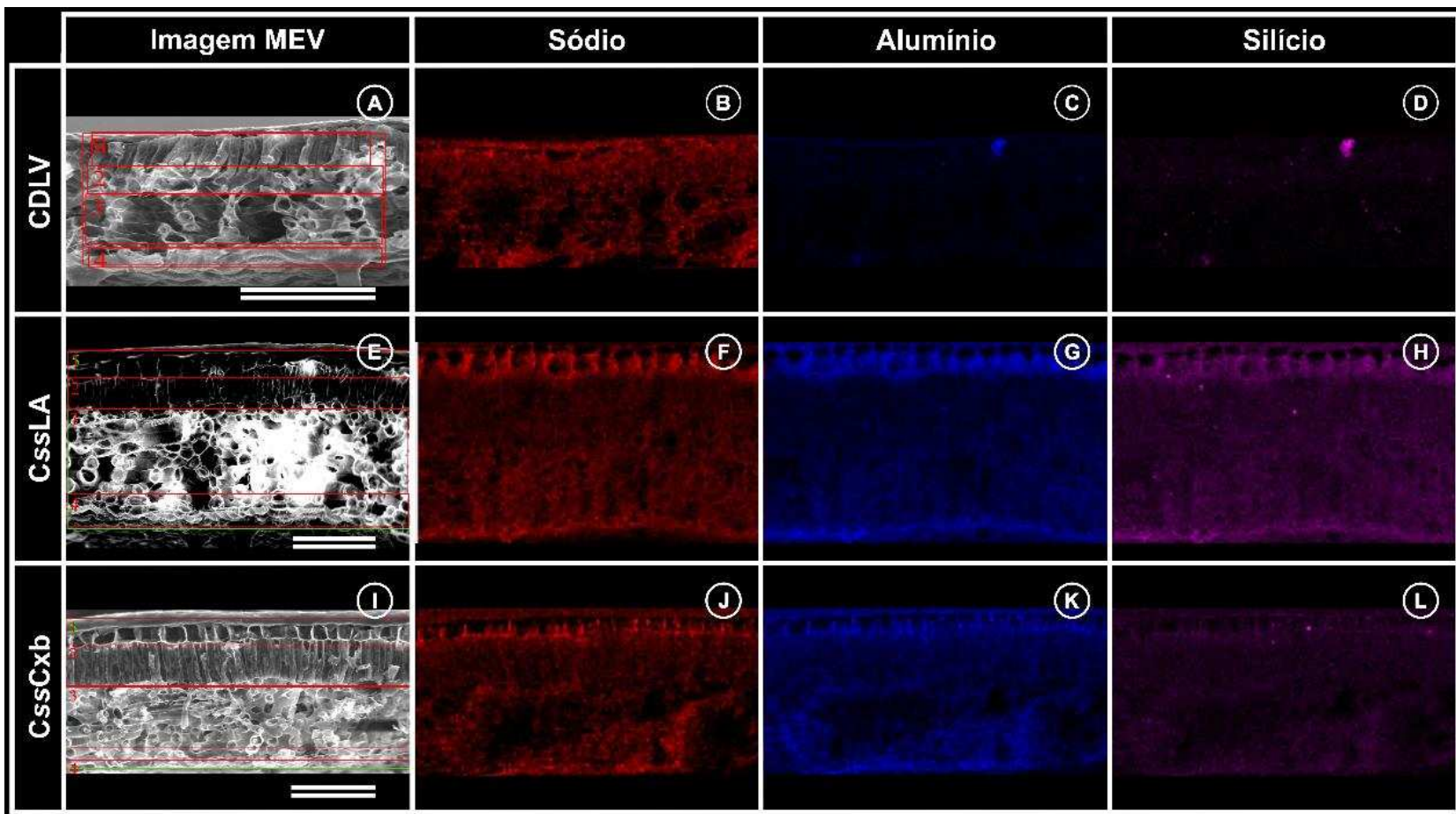


Figura 5. Distribuição dos elementos conforme análise no MEV/EDS em folhas de *Rudgea viburnoides* no ambiente sombreado/CDLV: (A) - Imagem MEV, B - Na, C - Al, e D - Si; e nos ambientes a pleno sol, (CssLA) - E - Imagem MEV, F - Na, G - Al, e H - Si; e (CssCxb) I - Imagem MEV, J - Na, K - Al, e L - Si. Barra - 100 μ m.

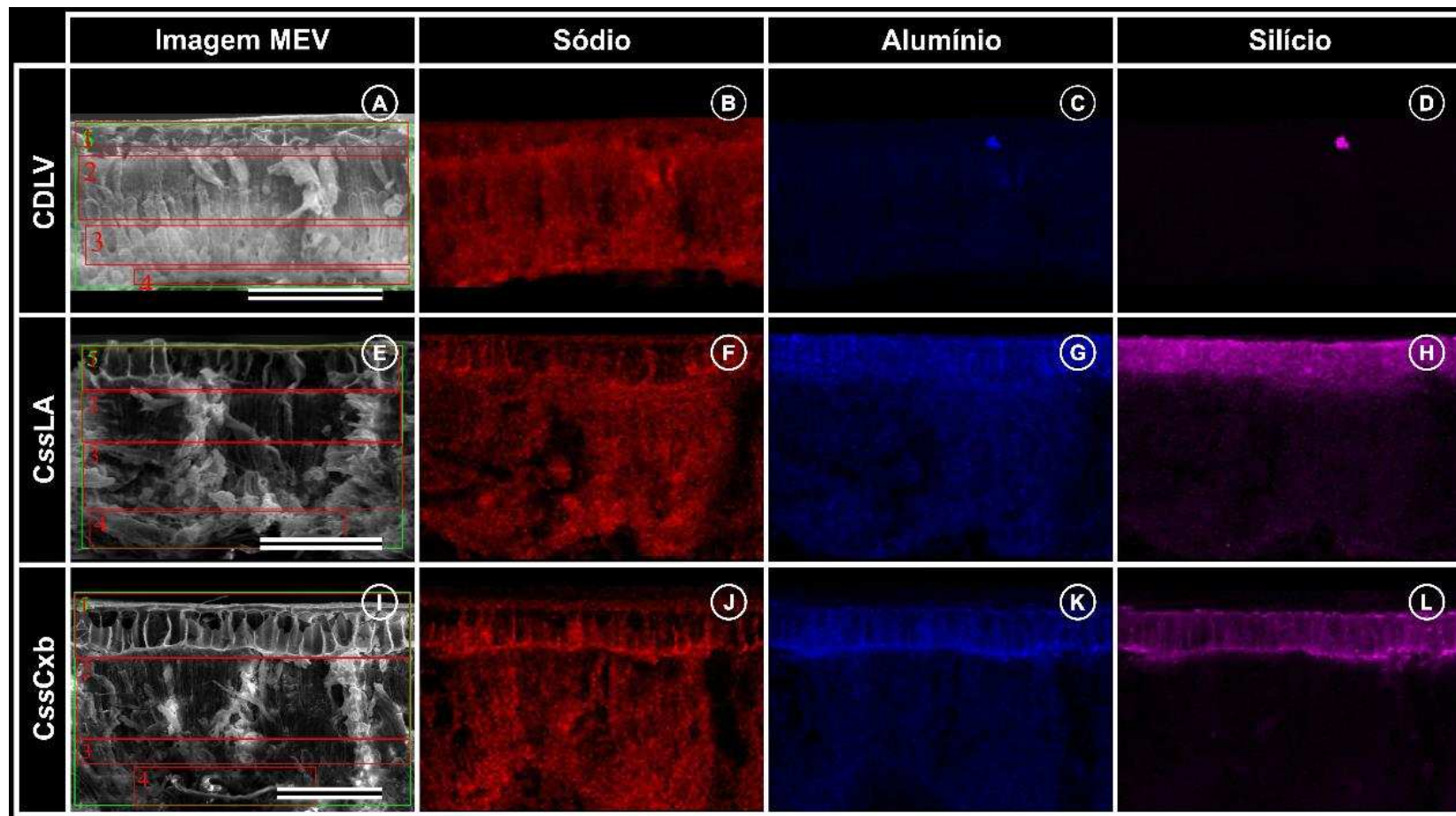


Figura 6. Distribuição dos elementos conforme análise no MEV/EDS em folhas *Qualea grandiflora* no ambiente sombreado/CDLV: (A) - Imagem MEV, B - Na, C - Al, e D - Si; e nos ambientes a pleno sol, (CssLA) - E - Imagem MEV, F - Na, G - Al, e H - Si; e (CssCxb) I - Imagem MEV, J - Na, K - Al, e L - Si. Barra - 100 μ m.

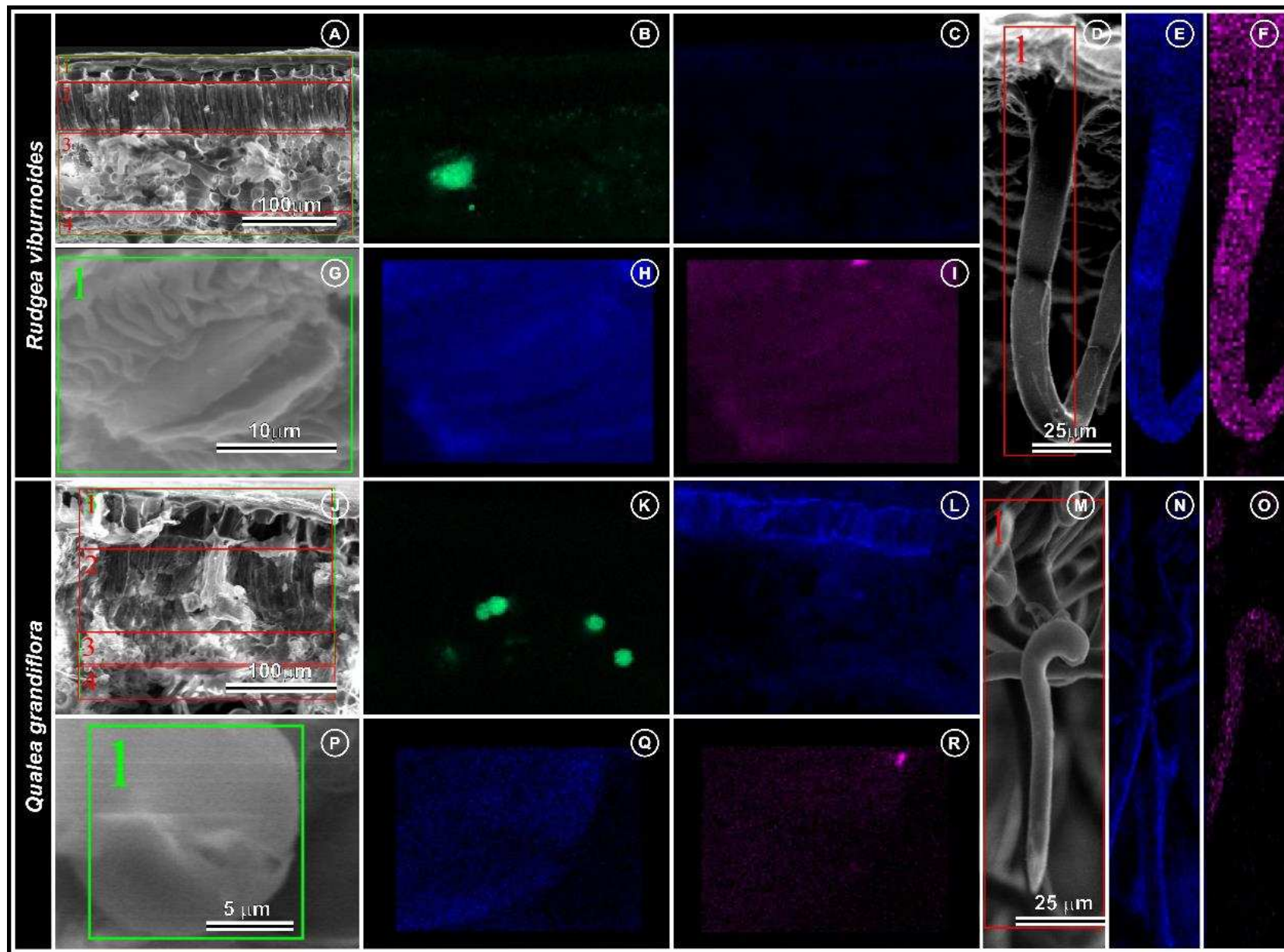


Figura 7. Identificação de cristais de oxalato de cálcio na forma de ráfides em *Rudgea viburnoides* (A, B) e localização do alumínio em tricomas (D, E, F) e estômatos (G, H, I); e cristais de oxalato de cálcio na forma de drusa em *Qualea grandiflora* (J, K). Localização do alumínio em tricomas (M, N, O) e estômatos (P, Q, R).

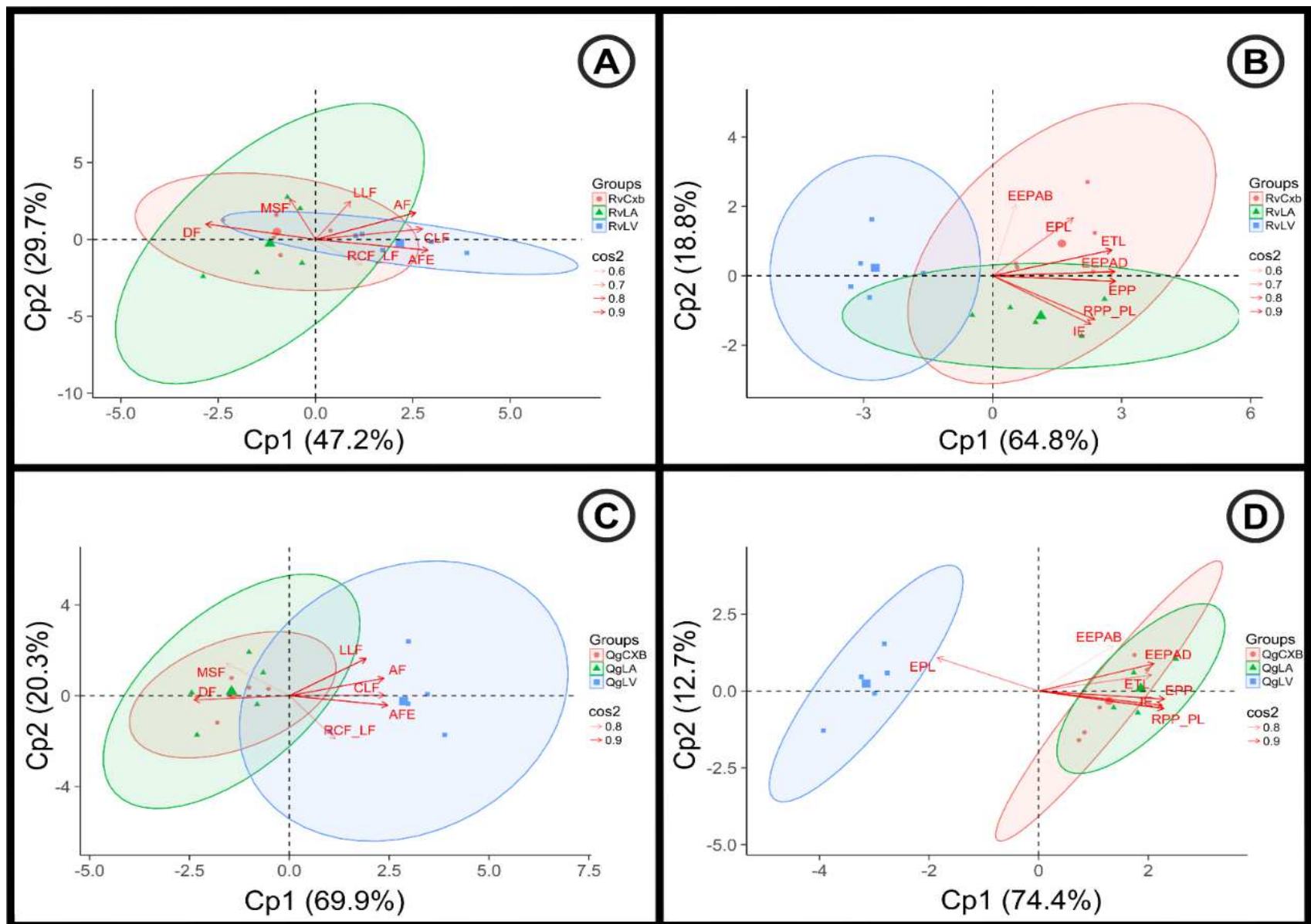


Figura 8. Análise dos componentes principais (PCA) dos dados micromorfológicos nas espécies *Rudgea viburnoides* (A, B) e *Qualea grandiflora* (C, D), demonstrando os valores percentuais dos componentes 1 (Cp1) e 2 (Cp2) que explicam mais de 70% da variância para os parâmetros analisados. AF - Área Foliar; MSF - Massa seca foliar; AFE - Área foliar específica; DF - Densidade foliar; CLF - Comprimento da lâmina foliar; LLF - Largura da lâmina foliar; ETL - Espessura total da lâmina foliar; EEPAD - Espessura da epiderme adaxial; EEPAB - Espessura da epiderme abaxial; EPP - Espessura do parênquima paliádico; EPL - Espessura do parênquima esponjoso; IE - Índice estomático.

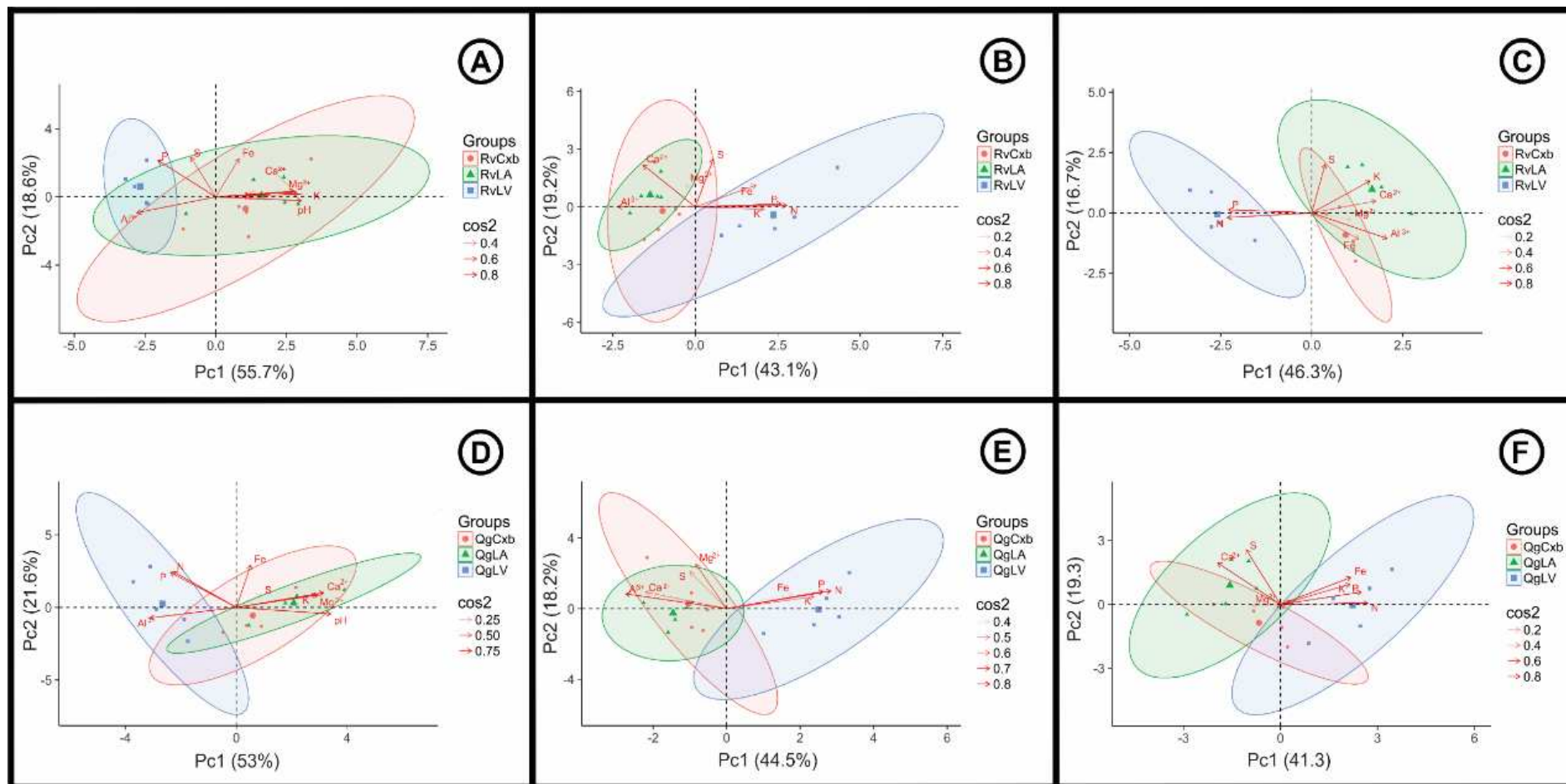


Figura 9. Análise dos componentes principais (PCA), na espécie da composição química dos solos, do caule e das folhas de *Rudgea viburnoides* (A, B, C) e *Qualea grandiflora* (D, E, F), demonstrando os valores percentuais componentes 1 (Cp1) e 2 (Cp2) que explicam 70% da variância para as variáveis analisadas.

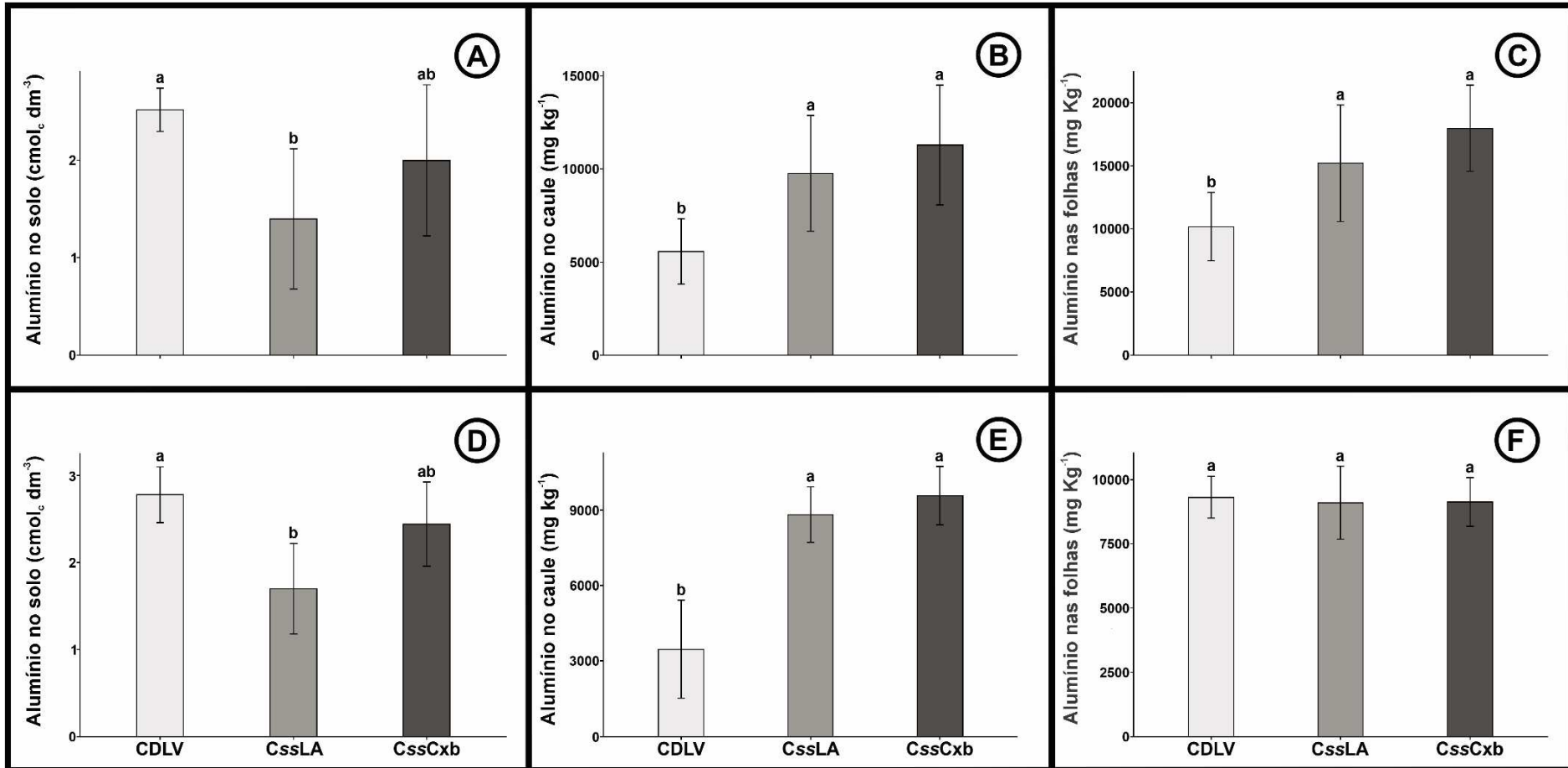


Figura 10. Alumínio nos solos, caule e folhas de *Rudgea viburnoides* (A, B, C) e *Qualea grandiflora* (D, E, F), em ambientes com diferenças na irradiância. Letras diferentes representam diferenças significativas pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Tabela 01 - Valores médios e desvios-padrão dos teores relativos (%) dos principais elementos detectados no microscópio eletrônico de varredura com espectroscopia de energia dispersiva (MEV/EDS) em *Rudgea viburnoides* e *Qualea grandiflora* nos três ambientes distintos de Cerrado: Cerradão distrófico sobre latossolo vermelho (CDLV), Cerrado *sensu stricto* sobre latossolo amarelo (CssLA) e Cerrado *sensu stricto* sobre Cambissolo (CssCxb).

		Teor relativo em espectroscopia de energia dispersiva (%)									
ESPÉCIES	AMBIENTE	Na	Al	Ca	Si	P	S	Mg	K	Fe	Mn
<i>Rudgea viburnoides</i>	CDLV	24.59 ± 2.45	19.32 ± 2.49	22.58 ± 6.42	6.82 ± 2.03	11.07 ± 1.80	6.86 ± 2.96	5.18 ± 2.20	0.60 ± 0.53	0.99 ± 0.35	0.66 ± 0.14
	CssLA	19.85 ± 4.53	23.98 ± 2.14	27.65 ± 7.79	6.98 ± 3.59	12.84 ± 4.09	5.92 ± 1.14	5.23 ± 1.81	0.68 ± 0.25	0.68 ± 0.37	0.34 ± 0.13
	CssCXB	16.85 ± 4.00	30.40 ± 2.93	22.54 ± 4.68	13.13 ± 2.38	8.67 ± 0.60	6.35 ± 0.74	5.13 ± 0.48	0.77 ± 0.28	0.80 ± 0.25	0.38 ± 0.17
<i>Qualea grandiflora</i>	CDLV	20.86 ± 4.54	26.68 ± 5.28	11.81 ± 3.22	11.50 ± 1.03	10.17 ± 1.98	7.00 ± 3.29	5.28 ± 0.52	1.10 ± 0.32	1.02 ± 0.40	0.64 ± 0.32
	CssLA	18.26 ± 3.98	21.21 ± 2.64	8.80 ± 4.95	15.89 ± 2.47	9.16 ± 2.46	8.72 ± 2.88	4.18 ± 1.13	0.99 ± 0.59	0.90 ± 0.35	0.68 ± 0.26
	CssCXB	17.76 ± 3.86	23.16 ± 2.44	5.93 ± 1.64	16.50 ± 2.61	8.67 ± 2.17	9.15 ± 2.91	4.54 ± 1.40	0.85 ± 0.41	0.94 ± 0.49	0.56 ± 0.17

Letras diferentes em uma mesma espécie representam diferenças significativas pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Tabela 02 - Análise química do solo próximo a indivíduos de *Rudgea viburnoides* e *Qualea grandiflora* nos três ambientes distintos de Cerrado: Cerradão distrófico sobre latossolo vermelho (CDLV), Cerrado *sensu stricto* sobre latossolo amarelo (CssLA) e Cerrado *sensu stricto* sobre Cambissolo (CssCxb).

		Análise química do solo								
ESPÉCIES	AMBIENTE	pH	P	K ⁺	Ca ²⁺	S	Fe	N	Mg ²⁺	Al ³⁺
		H ₂ O	mg dm ⁻³				dag kg ⁻¹	cmol _c dm ⁻³		
<i>R. viburnoides</i>	CDLV	4.48 ± 0.16 ^b	2.73 ± 0.88 ^a	60.50 ± 18.48 ^b	0.19 ± 0.09 ^c	1.00 ± 0.20 ^a	80.85 ± 26.36 ^a	0.30 ± 0.12 ^a	0.13 ± 0.03 ^b	2.48 ± 0.17 ^a
	CssLA	5.15 ± 0.56 ^a	1.66 ± 1.05 ^b	119.00 ± 55.10 ^a	1.88 ± 1.30 ^a	0.92 ± 0.32 ^a	74.78 ± 10.36 ^a	0.32 ± 0.04 ^a	0.43 ± 0.23 ^a	1.70 ± 0.80 ^b
	CssCxb	5.16 ± 0.20 ^a	1.20 ± 0.42 ^b	157.80 ± 69.84 ^a	0.90 ± 0.48 ^b	0.64 ± 0.34 ^a	82.64 ± 39.05 ^a	0.39 ± 0.04 ^a	0.71 ± 0.46 ^a	2.00 ± 0.62 ^{ab}
<i>Q. grandiflora</i>	CDLV	4.52 ± 0.18 ^b	2.50 ± 1.32 ^a	43.00 ± 12.42 ^b	0.22 ± 0.10 ^c	0.70 ± 0.01 ^b	58.56 ± 24.51 ^a	0.45 ± 0.12 ^a	0.12 ± 0.04 ^b	2.78 ± 0.26 ^a
	CssLA	5.20 ± 0.23 ^a	1.14 ± 0.17 ^b	123.60 ± 38.02 ^a	1.73 ± 0.69 ^a	1.12 ± 0.44 ^a	58.18 ± 13.48 ^a	0.32 ± 0.03 ^b	0.42 ± 0.16 ^a	1.70 ± 0.42 ^b
	CssCxb	5.11 ± 0.17 ^a	0.88 ± 0.19 ^a	121.20 ± 35.67 ^a	0.55 ± 0.22 ^b	0.44 ± 0.05 ^c	57.56 ± 17.23 ^a	0.35 ± 0.04 ^b	0.47 ± 0.26 ^a	2.44 ± 0.39 ^{ab}

Letras diferentes em uma mesma espécie representam diferenças significativas pelo teste de Tukey (p<0,05). Valores médios ± desvio padrão.

Tabela 03 - Análise química nas folhas de *Rudgea viburnoides* e *Qualea grandiflora* nos três ambientes distintos de Cerrado: Cerradão distrófico sobre latossolo vermelho (CDLV), Cerrado *sensu stricto* sobre latossolo amarelo (CssLA) e Cerrado *sensu stricto* sobre Cambissolo (CssCxb).

		Análise química das folhas							
ESPÉCIES	AMBIENTE	N	P	K	Ca ²⁺	Mg ⁺²	S	Fe	Al ³⁺
		dag kg ⁻¹					mg kg ⁻¹		
<i>R. viburnoides</i>	CDLV	1.87 ± 0.10 ^a	0.07 ± 0.01 ^a	0.97 ± 0.33 ^a	1.61 ± 0.46 ^b	0.33 ± 0.07 ^a	0.08 ± 0.01 ^a	177.18 ± 34.02 ^a	10191.45 ± 2184.58 ^b
	CssLA	1.17 ± 0.10 ^b	0.05 ± 0.01 ^b	1.25 ± 0.42 ^a	2.53 ± 0.64 ^a	0.34 ± 0.11 ^a	0.09 ± 0.01 ^a	167.27 ± 10.50 ^a	15220.20 ± 3715.81 ^a
	CssCxb	1.28 ± 0.17 ^b	0.05 ± 0.01 ^b	1.11 ± 0.23 ^a	1.42 ± 0.43 ^b	0.45 ± 0.12 ^a	0.08 ± 0.01 ^a	185.39 ± 22.34 ^a	17992.60 ± 2763.50 ^a
<i>Q. grandiflora</i>	CDLV	1.18 ± 0.11 ^a	0.04 ± 0.01 ^a	0.37 ± 0.05 ^a	0.65 ± 0.20 ^b	0.14 ± 0.01 ^a	0.06 ± 0.01 ^a	167.31 ± 34.02 ^a	9322.10 ± 659.10 ^a
	CssLA	0.76 ± 0.04 ^b	0.03 ± 0.01 ^a	0.31 ± 0.04 ^a	1.19 ± 0.57 ^a	0.13 ± 0.04 ^a	0.07 ± 0.01 ^a	118.79 ± 10.50 ^a	9104.83 ± 1145.24 ^a
	CssCxb	0.86 ± 0.76 ^b	0.04 ± 0.01 ^a	0.27 ± 0.05 ^a	0.68 ± 0.25 ^b	0.18 ± 0.09 ^a	0.06 ± 0.01 ^a	121.38 ± 16.33 ^a	9137.28 ± 764.71 ^a

Letras diferentes em uma mesma espécie representam diferenças significativas pelo teste de Tukey (p<0,05). Valores médios ± desvio padrão.

Tabela 04 - Análise química do caule para *Rudgea viburnoides* e *Qualea grandiflora* nos três ambientes distintos de Cerrado: Cerradão distrófico sobre latossolo vermelho (CDLV), Cerrado *sensu stricto* sobre latossolo amarelo (CssLA) e Cerrado *sensu stricto* sobre Cambissolo (CssCxb).

		Análise química do caule							
ESPÉCIES	AMBIENTE	N	P	K	Ca ²⁺	Mg ²⁺	S	Fe	Al ³⁺
		dag kg ⁻¹					mg kg ⁻¹		
<i>R. viburnoides</i>	CDLV	0.97 ± 0.11 ^a	0.05 ± 0.01 ^a	0.77 ± 0.33 ^a	1.41 ± 0.63 ^c	0.22 ± 0.13 ^a	0.05 ± 0.01 ^a	167.94 ± 70.36 ^b	5565.02 ± 1414.15 ^b
	CssLA	0.54 ± 0.08 ^b	0.03 ± 0.01 ^a	1.12 ± 0.43 ^a	3.35 ± 0.20 ^a	0.37 ± 0.18 ^a	0.06 ± 0.01 ^a	306.13 ± 229.15 ^a	9770.69 ± 2516.24 ^a
	CssCxb	0.59 ± 0.14 ^b	0.03 ± 0.01 ^a	0.81 ± 0.24 ^a	2.02 ± 0.45 ^b	0.43 ± 0.14 ^a	0.05 ± 0.01 ^a	311.19 ± 115.95 ^a	11297.72 ± 2598.28 ^a
<i>Q. grandiflora</i>	CDLV	0.78 ± 0.20 ^a	0.04 ± 0.01 ^a	0.36 ± 0.07 ^a	1.33 ± 0.27 ^c	0.18 ± 0.05 ^a	0.05 ± 0.01 ^a	131.12 ± 34.02 ^a	1901.83 ± 402.55 ^b
	CssLA	0.43 ± 0.04 ^b	0.02 ± 0.01 ^a	0.22 ± 0.07 ^a	3.48 ± 0.47 ^a	0.19 ± 0.05 ^a	0.05 ± 0.01 ^a	115.54 ± 10.50 ^{ab}	2867.28 ± 746.18 ^a
	CssCxb	0.51 ± 0.04 ^b	0.02 ± 0.01 ^a	0.25 ± 0.06 ^a	2.00 ± 0.97 ^b	0.22 ± 0.05 ^a	0.05 ± 0.01 ^a	103.14 ± 6.36 ^b	3472.67 ± 1574.30 ^a

Letras diferentes em uma mesma espécie representam diferenças significativas pelo teste de Tukey (p<0,05). Valores médios ± desvio padrão.

Discussão

Os resultados obtidos para as duas espécies de Cerrado estudadas, *Rudgea viburnoides* e *Qualea grandiflora*, suportam as premissas estabelecidas para espécies de sol e sombra em ambientes florestais, com respeito às variações morfoanatômicas (Vieira et al. 2014). A análise dos componentes principais (PCA) deste estudo indicam a separação das duas espécies estudadas em indivíduos que ocorrem em ambiente sombreado e a pleno sol. A PCA separou as variáveis com contribuições positivas mais significativas. Os indivíduos de sombra tiveram maiores autovalores nas variáveis área foliar, área específica foliar, comprimento e largura da lâmina foliar e menores autovalores na espessura total da lâmina foliar, da epiderme adaxial e do parênquima paliçádico na sombra, assim como relatado em ambientes florestais (Vieira et al. 2014). Também nos indivíduos de sombra, a massa seca foliar e densidade foliar tiveram contribuição negativa, sendo essas variáveis as que tiveram um aumento nos indivíduos a pleno sol. Diante do apresentado, percebe-se que, assim como em florestas, as espécies de Cerrado apresentam várias estratégias morfoanatômicas que possibilitam sua sobrevivência das plantas nesse ambiente com alta luminosidade e temperatura (James e Bell 2001) e com solos distróficos e álicos (Amorim e Batalha 2007).

Uma menor área foliar observada nos indivíduos estudados é uma das adaptações das plantas a ambientes com alta luminosidade, uma vez que menor área diminui a resistência da camada limítrofe e aumenta a transferência de calor entre folha e atmosfera (England e Attiwill 2006). Tal característica também auxilia a reduzir perda de água por evapotranspiração, devido a um controle mais eficiente da temperatura interna da folha (England e Attiwill 2006). Já a maior área foliar nos ambientes sombreados é uma característica que proporciona a captura da luz difusa mais eficiente (Valladares e Niinemets 2001).

Os indivíduos a pleno sol apresentaram maior massa seca foliar nas duas espécies. Resultados similares foram encontrados em estudos com diferentes espécies, *Bombacopsis glabra* (Malvaceae) (Scalon et al. 2003), *Hymenea courbaril* (Fabaceae) e *Enterobiium contortisiquum* (Fabaceae)

(Lima et al. 2010), e em *Miconia sellowiana* (Melastomataceae) em diferentes fitofisionomias (Boeger et al. 2008). Estudos também demonstraram que algumas espécies que toleram sombreamento podem ter maior produção de massa quando crescem a pleno sol (Felfili et al. 1999).

A área foliar específica (AFE), geralmente, é diretamente proporcional a área foliar e inversamente proporcional à massa seca foliar (Scalon et al. 2003). Os valores obtidos para a AFE indicam maior ganho de carbono por unidade de área e que houve grande investimento em área nestes indivíduos, visando uma captura mais eficiente da luz. Resultados similares foram encontrados na literatura (Evans e Poorter 2001; England e Attiwill 2006; Vieira et al. 2014). Em contrapartida, os maiores valores de densidade foliar para os indivíduos a pleno sol podem estar relacionados a um investimento em tecidos mecânicos e, ou compactação dos tecidos fotossintetizantes (Niinemets 2001). Os maiores valores de densidade foliar nos indivíduos a pleno sol podem estar relacionados a menores proporções de espaços intercelulares e maior proporção de material denso, tecidos esclerenquimáticos e tecidos fotossintetizantes e maior teor de lignina (van Arendonk e Poorter 1994), principalmente em *Q. grandiflora*, conforme observado nas análises anatômicas.

A espessura está diretamente relacionada com a área e a densidade foliar, uma vez que, folhas mais espessas apresentam menor área, maior compactação e, conseqüentemente, maior densidade (Boeger et al. 2008). Nas folhas dos indivíduos de ambientes a pleno sol do Cerrado *sensu stricto*, foi observada uma menor superfície e maior espessura foliar nas duas espécies, características que minimizam a influência do excesso de luminosidade e temperatura sobre as plantas. Esta maior espessura está relacionada ao aumento da epiderme adaxial, pois o tamanho ou a forma das células epidérmicas da face adaxial pode influenciar na reflexão, filtração e redistribuição da luz no mesofilo (Boeger et al. 2008). Pode também estar relacionado com aumento das camadas do parênquima paliádico, como observado principalmente em *Q. grandiflora*, proporcionando alta eficiência na captura de luz, como relatado por vários autores (Sanchez et al. 2010; Fernandes et al. 2014), pois facilita a canalização da luz incidente ao mesmo tempo em que mitiga o seu excesso (Fernandes et al. 2014). Entretanto, o

aumento da espessura não modificou a proporção dos tecidos internos em *R. viburnoides*. Contudo, em *Q. grandiflora*, além do aumento da espessura, os tecidos internos apresentaram grandes variações nas proporções quando em diferentes luminosidades, indicando uma maior plasticidade nesta espécie.

A proporção de parênquima esponjoso geralmente é maior em ambientes sombreados, como foi observado em *Q. grandiflora*, já em *R. viburnoides* a proporção deste tecido apresentou alterações. O parênquima esponjoso pode ser mais eficiente na distribuição da luz difusa no mesófilo, pois o arranjo irregular das células neste tecido e a maior proporção de espaços intercelulares melhoram a interceptação da luz difusa, implicando no maior volume deste tecido em ambientes de baixa disponibilidade de luz (Yano e Terashima 2001).

A epiderme da face abaxial não apresentou alteração na espessura entre os ambientes estudados para as duas espécies com estômatos localizados na face abaxial da folha. No entanto, *Q. grandiflora* apresentou os estômatos protegidos em criptas ou invaginações e com numerosos tricomas nos indivíduos do Cerrado *sensu stricto* sobre cambissolo, ambiente com maior radiação fotossinteticamente ativa. Resultados similares foram observados em *Miconia ibaguensis* e *M. stenostachya* (Melastomataceae), característica essa que está relacionada a redução da perda de água nesses ambientes (Marques et al. 2000).

Vários estudos têm demonstrado que o índice estomático não é fixo (Zhao et al. 2006; Pompelli et al. 2010), contrariando a ideia de que o índice estomático seja intrínseco a cada espécie (Salisbury 1927). Nos ambientes a pleno sol, o índice estomático chega a ser 10% maior em *R. viburnoides* e 14% maior em *Q. grandiflora*, em comparação com os indivíduos do ambiente sombreado. Os dados sugerem que o número de estômatos seja maior em resposta ao aumento de luminosidade, o que justificaria os altos valores de índice estomático dos indivíduos a pleno sol.

Caracteres escleromórficos, encontrados nas duas espécies como, o aumento na espessura dos tecidos, maior número de estômatos e presença de estômatos em criptas, podem também estar relacionados ao oligotrofismo ou oligotrofismo aluminotóxico (Arens 1958), uma vez que as concentrações de alguns elementos na parte aérea variam em ambientes de sol e sombra.

As concentrações de macronutrientes N, K⁺, Ca²⁺, Mg²⁺, P e S, encontram-se na faixa relatada para ambientes de Cerrado (Haridasan 2008; Neri et al. 2013). As concentrações desses elementos na parte aérea da planta não diferem entre os ambientes de sol e sombra, a exceção de Ca²⁺ e N, que apresentam diferenças entre os ambientes. Os indivíduos que estão no CsslA apresentaram as maiores concentrações de Ca²⁺ na parte aérea, isso parece refletir a maior concentração desse elemento no solo desse ambiente, que é maior quando comparado ao CDLV e CsslCxb. Já a concentração de N no caule e nas folhas das plantas foi maior no ambiente sombreado. Estudos indicam que espécies menos expostas a radiação solar apresentam maiores teores de N na parte aérea (Evans e Poorter 2001; Valladares e Niinemets 2008). É sugerido que essa maior concentração de N nas folhas de sombra seja uma forma de investimento na produção de mais moléculas de clorofilas e proteínas que possibilitarão o aumento da captura da luz (Poorter et al. 2000).

Este estudo também demonstra que embora os três ambientes de coleta apresentem alta concentração de Al no solo, as concentrações de Al no caule e folhas de *R. viburnoides* e no caule *Q. grandiflora* de no ambiente sombreado são menores que nos dois ambientes a pleno sol. Os dados coletados nesse estudo confirmam a hipótese de que em indivíduos mais expostos a luminosidade apresentam maior concentração de Al³⁺ na parte aérea também é maior (Shen e Ma 2001; Zeng et al. 2011). Esses dados corroboram estudos realizados em espécies cultivadas que demonstram a influência da luz e da temperatura sobre a transpiração, que por sua vez, influencia nas taxas de translocação do alumínio até a parte aérea (Shen et al. 2006; Zeng et al. 2011). Em suma, quanto maior a intensidade luminosa e temperatura da folha, maior a quantidade de Al³⁺ que chega até a parte aérea (Shen et al. 2006; Zeng et al. 2011).

Os sítios de acúmulo de Al em diferentes tecidos, tanto em *Q. grandiflora* quanto em *R. viburnoides*, utilizando diversas técnicas de localização já foram identificados por diversos autores (Andrade et al. 2011; Bressan et al. 2016; Malta et al. 2016). Este trabalho confirma os sítios de acúmulo preferenciais, utilizando EDS, tais como as paredes celulares da epiderme, parênquima paliçádico e esponjoso, tricomas e estômatos das

folhas. Porém, a concentração relativa de Al varia com os tecidos, sendo esta maior nas células da epiderme adaxial e abaxial em *R. viburnoides* e maior na epiderme adaxial em *Q. grandiflora*. Estes dados são similares aos encontrados em *Fagopyrum esculentum* (Polygonaceae) (Shen e Ma 2001) e *Camellia sinensis* (Theaceae) (Tolrà et al. 2011; Hajiboland e Poschenrieder 2015) que demonstraram que a epiderme acumula mais alumínio comparado aos outros tecidos (Tolrà et al. 2011; Maejima et al. 2014; Hajiboland e Poschenrieder 2015). Estudos em *C. sinensis*, utilizando microscopia confocal, também mostraram o acúmulo de alumínio nos estômatos e tricomas da epiderme da face abaxial da folha (Hajiboland e Poschenrieder 2015). Utilizando o EDS, o presente estudo também detectou elevada concentração relativa de Al tanto nos estômatos, quanto nos tricomas. A detecção de Al nos tricomas também foi relatada para outras espécies como em *Andropogon virginicus* (Poaceae) (Ezaki et al. 2013) e *Tibouchina urvilleana* (Melastomataceae) (Maejima et al. 2014).

Em nível celular, a parede celular dos diferentes tecidos parece ser o sítio preferencial de acúmulo de alumínio, conforme observado em *R. viburnoides* e *Q. grandiflora*. Acredita-se ao chegar à parte aérea via xilema, o Al seja translocado até os diferentes tecidos, reagindo com as pectinas da parede celular e ficando acumulado nesse compartimento (Chang et al. 1999). Uma vez que o Al não é móvel, este forma um complexo estável com as pectinas (Al-pectinas), permanecendo na parede celular até a senescência foliar (Hajiboland e Poschenrieder 2015). Esse sequestro do Al pelas paredes celulares é uma estratégia que impede que o metal esteja diretamente em contato com estruturas metabolicamente ativas e também com processos bioquímicos vitais (Grevenstuk e Romano 2013). Entretanto, Al também foi localizado nos cloroplastos das duas espécies conforme relatados para *Q. grandiflora* (Andrade et al. 2011) e *R. viburnoides* (Malta et al. 2016), sendo necessários mais detalhados para entender o papel do Al no metabolismo dessas espécies hiperacumuladoras.

Os resultados do presente estudo sugerem que além do Al estar complexado às pectinas da parede celular, aumentando a rigidez das folhas (Wehr et al. 2010), este elemento pode também estar ligado ao silício, formando precipitados na forma de óxidos ou hidróxidos de Al que podem ser

menos tóxicos às plantas, principalmente aluminossilicatos (Currie e Perry 2007). Os resultados também demonstraram aumento da concentração relativa de Al e Si, principalmente na epiderme dos indivíduos encontrados nos ambientes a pleno sol. O ácido monossilícico (H_4SiO_4) é translocado até a parte aérea, onde começa a se polimerizar e torna-se imóvel na planta. Por se concentrar na epiderme ele pode contribuir para a redução da transpiração e refletir o excesso de radiação (Currie e Perry 2007). Além disso, o Si pode estimular a produção de fenóis, que podem também complexar com o Al ou alterar a forma química do Al^{3+} para formas biologicamente inativas (Pontigo et al. 2017). Os estudos de Freitas et al. (2012) em cultivares de arroz indicaram que o Al^{3+} não é encontrado nas plantas quando o silício é absorvido na forma de H_4SiO_4 . Porém, estudos mais detalhados sobre o processo de destoxificação do Al^{3+} pelo silício em espécies nativas de Cerrado são necessários.

Outra característica observada para as duas espécies em EDS foi a alta concentração relativa de sódio nas folhas. Embora o papel do Na como elemento essencial ainda não tenha sido determinado, a literatura indica que este elemento pode desempenhar um papel na osmorregulação e balanceamento de cargas em substituição ao potássio em ambientes com suprimentos deficientes de K e em suas funções biofísicas (Subbarao et al. 2003; Wakeel et al. 2011), como no Cerrado. A semelhança iônica possibilita a substituição do K pelo Na em funções metabólicas que não são específicas em algumas espécies de plantas (Wakeel et al. 2011). É indicado na literatura que 10% do K absorvido esteja relacionado a funções citoplasmáticas específicas e que 90% estaria localizado no vacúolo das plantas para ajustamento osmótico e manutenção do gradiente transmembrana (Subbarao et al. 2003). No entanto, a manutenção do ajuste osmótico entre vacúolo e citoplasma é considerada uma função inespecífica, em que o K^+ seria substituído por outros cátions, como o Na^+ (Subbarao et al. 2003), em alguns casos, como nas espécies halófitas, o Na pode fazer melhor regulação osmótica do que o K (Wakeel et al. 2011). Esses efeitos do Na foram observados na literatura quando em ambientes com suprimento limitado de K.

Sendo assim, os resultados deste estudo indicam que:

- As duas espécies apresentam características típicas de indivíduos que ocorrem em ambientes sombreados e a pleno sol, assim como as espécies florestais, como maior área foliar e área foliar específica em ambientes sombreados e maior massa seca e densidade foliar e maiores espessuras total, da epiderme adaxial e do parênquima paliádico nos ambientes a pleno sol;

- Embora *R. viburnoides* apresente diferenças entre os ambientes relacionadas a irradiância, a proporção dos tecidos não é alterada entre os ambientes. Já em *Q. grandiflora* a proporção dos tecidos apresenta alterações substanciais na anatomia, indicando alta plasticidade dessa espécie;

- As duas espécies hiperacumuladoras de alumínio acumulam este elemento diferencialmente, ocorrendo maiores taxas de acúmulo nos ambientes a pleno sol. Embora os fatores edáficos influenciem a concentração de Al nos diferentes órgãos e tecidos das plantas, maiores concentrações de Al ocorrem na parte aérea de espécies expostas a elevada irradiância e temperatura;

- O silício parece se ligar ao alumínio, provavelmente, formando complexos que podem reduzir a toxicidade do al e também refletir o excesso de irradiação por se concentrar na epiderme;

- Devido ao baixo teor de K nos solos, as duas espécies parecem utilizar o Na em substituição ao K em processos celulares inespecíficos.

Agradecimentos

Os autores agradecem ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo financiamento do projeto (457474/2014-9) e concessão da Bolsa de Produtividade de Pesquisa concedida a orientadora Professora Doutora Aristéa Alves Azevedo (312190/2013-1). Ao suporte financeiro da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoa de Nível Superior (CAPES). À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais pela Bolsa de Doutorado do estudante Tiago Santana Rosa. E a Floresta Nacional de Paraopeba (FLONA), ICM-Bio-MMA/Ministério do Meio Ambiente pelas autorizações de coleta e apoio logístico.

Referências bibliográficas

- Aguiar, T. V., Santos, B.S., Azevedo, A.A., and Ferreira, R.S. 2007. ANATI QUANTI: Quantitative analysis software for plant anatomy studies. *Planta Daninha* **4**: 649–659.
- Amorim, P.K., and Batalha, M.A. 2007. Soil-vegetation relationships in hyperseasonal Cerrado, seasonal Cerrado, and wet grassland in Emas National Park (central Brazil). *Acta Oecologica* **32**: 319–327.
- Andrade, L.R.M., Barros, L.M.G., Echevarria, G.F., Haridasan, M., and Franco, A.C. 2011. Al-hyperaccumulator Vochysiaceae from the Brazilian Cerrado store aluminum in their chloroplasts without apparent damage. *Environ. Exp. Bot.* **70**: 37–42.
- van Arendonk, J., and Poorter, H. 1994. The chemical composition and anatomical structure of leaves of grass species differing in relative growth rate. *Plant, Cell Environ.* **17**: 963–970.
- Arens, K. 1958. O Cerrado como Vegetação Oligotrófica. *Bol. da Fac. Filos. Ciências e Let.* **15**: 57–77.
- Ashton, P.M.S., and Berlyn, G.P. 1992. Leaf adaptations of some *Shorea* species to sun and shade. *New Phytol.* **121**: 587–596.
- Batista, M. V, Lopes, A., Carvalho, F., Silva, L., Galves, N., Pedro, N., and Stranghetti, V. 2013. Indicação de essências regionais do noroeste paulista para enriquecimento da arborização de ruas, praças e avenidas. *Rev. da Soc. Bras. Arborização Urbana* **1**: 75–88.
- Boeger, Ma.R.T., Gluzezak, R.M., Pil, M.W., Goldenberg, R., and Medri, M. 2008. Leaf morphology variation of *Miconia sellowiana* (DC.) Naudin (Melastomataceae) in distinct vegetation types at the state of Paraná. *Rev. Bras. Botânica* **3**: 443–452.
- Bojórquez-Quintal, E., Escalante-Magaña, C., Echevarría-Machado, I., Martínez-Estévez, M., Gómez-Merino, F.C., and Martínez-Estévez, M. 2017. Aluminum, a friend or foe of higher plants in acid soils. *Front. Plant Sci.* **1767**: 1–18.
- Bose, J., Babourina, O., Shabala, S., and Rengel, Z. 2013. Low-pH and aluminum resistance in *Arabidopsis* correlates with high cytosolic magnesium content and increased magnesium uptake by plant roots. *Plant Cell Physiol.* **54**: 1093–1104.

- ter Braak, F. and Prentice, C.. 1988. A theory of gradient analysis. *Adv. Ecol. Res.* **18**: 272–313.
- Bressan, A.C.G., Coan, A.I., and Habermann, G. 2016. X-ray spectra in SEM and staining with chrome azurol's show Al deposits in leaf tissues of Al-accumulating and non-accumulating plants from the Cerrado. *Plant Soil* **404**: 293–306.
- Currie, H.A., and Perry, C.C. 2007. Silica in plants: Biological, biochemical and chemical studies. *Ann. Bot.* **100**: 1383–1389.
- England, J.R., and Attiwill, P.M. 2006. Changes in leaf morphology and anatomy with tree age and height in the broadleaved evergreen species, *Eucalyptus regnans* F . Muell. *Trees* **20**: 79–90.
- Evans, J.R., and Poorter, H. 2001. Photosynthetic acclimation of plants to growth irradiance: The relative importance of specific leaf area and nitrogen partitioning in maximizing carbon gain. *Plant, Cell Environ.* **24**: 755–767.
- Ezaki, B., Jayaram, K., Higashi, A., and Takahashi, K. 2013. A combination of five mechanisms confers a high tolerance for aluminum to a wild species of Poaceae, *Andropogon virginicus* L. *Environ. Exp. Bot.* **93**: 35–44. Elsevier B.V.
- Fernandes, V., Bezerra, L., Mielke, M., Silva, D., and Costa, L. 2014. Leaf anatomy and ultrastructure of *Ocimum gratissimum* under different light radiation levels. *Ciência Rural* **44**: 1037–1042.
- Franco, A.C. 2002. Ecophysiology of Woody Plants. *In* The Cerrados of Brazil: Ecology and Natural History of a Neotropical Savanna. *Edited by* P. Oliveira and R. Marquis. Columbia University Press. pp. 173–197.
- Freitas, L.B. De, Fernandes, D.M., and Maia, S.C. 2012. Silicon - aluminum interaction in rice cultivars in aluminous soil. *Rev. Bras. Cienc. do Solo* **36**: 507–515.
- Gregoriou, K., Pontikis, K., and Vemmos, S. 2007. Effects of reduced irradiance on leaf morphology, photosynthetic capacity, and fruit yield in olive (*Olea europaea* L.). *Photosynthetica* **45**: 172–181.
- Grevenstuk, T., and Romano, A. 2013. Aluminium speciation and internal detoxification mechanisms in plants: where do we stand? *Metallomics* **5**: 1584–1594.

- Hajiboland, R., Bahrami Rad, S., Barceló, J., and Poschenrieder, C. 2013. Mechanisms of aluminum-induced growth stimulation in tea (*Camellia sinensis*). *J. Plant Nutr. Soil Sci.* **176**: 616–625.
- Hajiboland, R., and Poschenrieder, C. 2015. Localization and compartmentation of Al in the leaves and roots of tea plants. *Int. J. Exp. Bot.* **84**: 86–100.
- Hanba, Y.T., Kogami, H., and Terashima, I. 2002. The effect of growth irradiance on leaf anatomy and photosynthesis in *Acer* species differing in light demand. *Plant, Cell Environ.* **25**: 1021–1030.
- Haridasan, M. 2008. Nutritional adaptations of native plants of the Cerrado biome in acid soils. *Braz. J. Plant Physiol.* **20**:183-195.
- Harter, R. 2012. Acid Soils of the Tropics. *Echo Tech. Note* **239**: 1–11.
- James, S., and Bell, D. 2001. Leaf morphological and anatomical characteristics of heteroblastic *Eucalyptus globulus* ssp. *globulus* (Myrtaceae). *Aust. J. Bot.* **49**: 259–269.
- Katherine, M.A., and L. Kirkman. 2005. Growth and photosynthetic responses of the federally endangered shrub, *Lindera melissifolia* (Lauraceae), to varied light environments. *Am. J. Bot.* **92**: 682–689.
- Kaur, S., Kaur, N., Siddique, K.H.M., and Nayyar, H. 2016. Beneficial elements for agricultural crops and their functional relevance in defence against stresses. *Arch. Agron. Soil Sci.* **7**: 1–16.
- Kim, G.-T., Yano, S., Kozuka, T., and Tsukaya, H. 2005. Photomorphogenesis of leaves: shade-avoidance and differentiation of sun and shade leaves. *Photochem. Photobiol. Sci.* **4**: 770–774.
- Kisnieriene, V., and Lapeikaite, I. 2015. When chemistry meets biology: The case of aluminium - A review. *Chemija* **26**: 148–158.
- Kopittke, P.M., Moore, K.L., Lombi, E., Gianoncelli, A., Ferguson, B.J., Blamey, F.P.C., Menzies, N.W., Nicholson, T.M. and Tollenaere, A. 2015. Identification of the primary lesion of toxic aluminum in plant roots. *Plant Physiol.* **167**: 1402–1411.
- Lee, D.W., Oberbauer, S.F., Johnson, P., Krishnapilay, B., Mansor, M., Mohamad, H., Yap, S.K., Asha, S. and Bakar, A. 2000. Effects of irradiance and spectral quality on leaf structure and function in seedlings of two southeast asian *Hopea* (Dipterocarpaceae) species. *Am. J. Bot.* **87**:

447–455.

- Lemos-Filho, J.P. De. 2000. Photoinhibition in three “Cerrado” species (*Annona crassifolia*, *Eugenia dysenterica* and *Campomanesia adamantium*), in the dry and rainy seasons. *Rev. Bras. Botânica* **23**: 45–50.
- Lima, A.L. da S., Zanella, F., and Castro, L.D.M. de. 2010. Growth of *Hymenaea courbaril* L. var. *stilbocarpa* (Hayne) Lee et Lang. e *Enterolobium contortisiliquum* (Vell.) Morong (Leguminosae) under different shading levels. *Acta Amaz.* **40**: 43–48.
- Ma, J.F., Ryan, P.R., and Delhaize, E. 2001. Aluminium tolerance in plants and the complexing role of organic acids. *Trends Plant Sci.* **6**: 273–278.
- Maejima, E., Hiradate, S., Jansen, S., Osaki, M., and Watanabe, T. 2014. Comparative analysis of aluminum accumulation in leaves of three angiosperm species. *Botany* **92**: 327–331.
- Malta, P.G., Arcanjo-Silva, S., Ribeiro, C., Campos, N.V., and Azevedo, A.A. 2016. *Rudgea viburnoides* (Rubiaceae) overcomes the low soil fertility of the Brazilian Cerrado and hyperaccumulates aluminum in cell walls and chloroplasts. *Plant Soil* **408**: 364–384.
- Marques, A.R., Garcia, Q.S., Rezende, J.L.P., and Fernandes, G.W. 2000. Variations in leaf characteristics of two species of *Miconia* in the Brazilian Cerrado under different light intensities. *Trop. Ecol.* **41**: 47–56.
- McCune, B., and Mefford, M.J. 2016. Multivariate Analysis of Ecological Data. In 7th edition. Edited by B. McCune and M.J. Mefford. MjM Software Design.
- Moreno-Alvarado, M., García-Morales, S., and Trejo-Téllez, L.I. 2017. Aluminum enhances growth and sugar concentration, alters macronutrient status and regulates the expression of NAC transcription factors in rice. *Front. Plant Sci.* **73**: 1–16.
- Navas, M.L., and Garnier, E. 2002. Plasticity of whole plant and leaf traits in *Rubia peregrina* in response to light, nutrient and water availability. *Acta Oecologica* **23**: 375–383.
- Neri, A. V., Schaefer, C.E.G.R., Silva, A.F., Souza, A.L., Ferreira-Junior, W.G., and Meira-Neto, J.A.A. 2012. The influence of soils on the floristic composition and community structure of an area of Brazilian Cerrado

- vegetation. *Edinburgh J. Bot.* **69**: 1–27.
- Neri, A. V., Schaefer, C.E.G.R., Souza, A.L., Ferreira-Junior, W.G., and Meira-Neto, J.A.A. 2013. Pedology and plant physiognomies in the Cerrado, Brazil. *An. Acad. Bras. Cienc.* **85**: 87–102.
- Niinemets, Ü. 2001. Global-scale climatic controls of leaf dry mass per area, density, and thickness in trees and shrubs. *Ecology* **82**: 453–469.
- Niinemets, Ü., and Kull, O. 2001. Sensitivity of photosynthetic electron transport to photoinhibition in a temperate deciduous forest canopy: Photosystem II center openness, non-radiative energy dissipation and excess irradiance under field conditions. *Tree Physiol.* **21**: 899–914.
- Oliveira-Filho, A.; Ratter, J. 2002. Vegetation Physiognomies and Woody Flora of the Cerrado Biome. *In* *The Cerrados of Brazil*. Columbia University Press. pp. 91–120.
- Paiva, É.A., Isaias, R.M., Vale, F.H., and Queiroz, C.G. 2003. The influence of light intensity on anatomical structure and pigment contents of *Tradescantia pallida* (Rose) Hunt. cv. *purpurea* boom (Commelinaceae) leaves. *Brazilian Arch. Biol. Technol.* **46**: 617–624.
- Palhares, D., Franco, A.C., and Zaidan, L.B.P. 2010. Photosynthetic responses of Cerrado plants during the rainy and dry seasons. *Brazilian J. Biosci.* **8**: 213–220.
- Paula, S.M., Naves, E.R., Franco, I.M., Padua, K.J.M., Silva, K.R., Fernandes, W.P., Oliveira, D.C., Lemos-Filho, J.P., and Moreira, A.S.F.P. 2015. Photosynthetic performance of young and mature leaves of *Vochysia cinnamomea* (Vochysiaceae) at intact and after fire areas of Cerrado. *Biosci. J.* **31**: 591–600.
- Pilon-Smits, E.A., Quinn, C.F., Tapken, W., Malagoli, M., and Schiavon, M. 2009. Physiological functions of beneficial elements. *Curr. Opin. Plant Biol.* **12**: 267–274.
- Pompelli, M., Martins, S., Celin, E., Ventrella, M., and Damatta, F. 2010. What is the influence of ordinary epidermal cells and stomata on the leaf plasticity of coffee plants grown under full-sun and shady conditions? *Brazilian J. Plant Physiol.* **4**: 1083–1088.
- Pontigo, S., Godoy, K., Jiménez, H., Gutiérrez-Moraga, A., Mora, M. de la L., and Cartes, P. 2017. Silicon-Mediated Alleviation of Aluminum Toxicity by

- Modulation of Al/Si Uptake and Antioxidant Performance in Ryegrass Plants. *Front. Plant Sci.* **8**(April): 1–15.
- Poole, I., Weyers, J.D.B., Lawson, T., and Raven, J.A. 1996. Variations in stomatal density and index: Implications for palaeoclimatic reconstructions. *Plant, Cell Environ.* **19**: 705–712.
- Poorter, H., and Evans, J.R. 1998. Photosynthetic nitrogen-use efficiency of species that differ inherently in specific leaf area. *Oecologia* **116**: 26–37.
- Poorter, L., Kwant, R., Hernández, R., and Medina, E. 2000. Leaf optical properties in Venezuelan cloud forest trees. *Tree Physiol.* **20**: 519–526.
- Poschenrieder, C.; Tolrà, R.; Hajiboland, R.; Arroyave, C.; Barceló, J. 2015. “Mechanisms of hyper-resistance and hyper-tolerance to aluminum in plants. *In* Aluminum Stress Adaptation in Plants. *Edited by* S.K. Panda and F. Baluska. pp. 81–98.
- Powles, S.B. 1984. Photoinhibition of Photosynthesis Induced by Visible Light. *Annu. Rev. Plant Physiol.* **35**: 15–44.
- Prado, C.H.B., Wenhui, Z., Rojas, M.H.C., and Souza, G.M. 2004. Seasonal leaf gas exchange and water potential in a woody Cerrado species community. *Brazilian J. Plant Physiol.* **16**: 7–16.
- Rabelo, G.R., Vitória, Â.P., da Silva, M.V.A., Cruz, R.A., Pinho, E.I.B., Ribeiro, D.R., Freitas, A. V., and Da Cunha, M. 2013. Structural and ecophysiological adaptations to forest gaps. *Trees - Struct. Funct.* **27**: 259–272.
- R Core Team. 2016. R: A Language and Environment for Statistical Computing. *In* R Foundation for Statistical Computing. *Edited by* J. Bryan, D. Cook, J. Josse, T. Kalibera, and B. Narasimhan.
- Rehmus, A., Bigalke, M., Valarezo, C., Castillo, J.M., and Wilcke, W. 2014. Aluminum toxicity to tropical montane forest tree seedlings in southern Ecuador: Response of biomass and plant morphology to elevated Al concentrations. *Plant Soil* **382**: 301–315.
- Ribeiro, J.F., and Walter, B.M.T. 2008. As principais fitofisionomias do bioma Cerrado. *In* Cerrado: Ecologia e flora, 1st edition. *Edited by* S.M. Sano, S.P. de Almeida, and J.F. Ribeiro. pp. 152–212.
- Salisbury, E. 1927. On the causes and ecological significance of stomatal frequency, with special reference to the woodland flora. *Philosophical*

Trans. **2**: 1–65.

- Sanches, M.C., Ribeiro, S.P., Dalvi, V.C., da Silva Junior, M.B., de Sousa, H.C., and de Lemos-Filho, J.P. 2010. Differential leaf traits of a neotropical tree *Cariniana legalis* (Mart.) Kuntze (Lecythidaceae): Comparing saplings and emergent trees. *Trees* **24**: 79–88.
- Scalon, S., Mussury, R., Rigoni, M., and Scalon-Filho, H. 2003. Initial growth of *Bombacopsis glabra* (Pasq.) a. robyns seedlings under shading conditions. *Rev. Árvore* **6**: 753–758.
- Schmitt, M., Boras, S., Tjoa, A., Watanabe, T., and Jansen, S. 2016. Aluminium accumulation and intra-tree distribution patterns in three arbor aluminosa (*Symplocos*) species from Central Sulawesi. *PLoS One* **2**: 1–18.
- Shen, R., and Ma, J. 2001. Distribution and mobility of aluminium in an Al-accumulating plant, *Fagopyrum esculentum* Moench. *J. Exp. Bot.* **361**: 1683–1687.
- Shen, R.F., Chen, R.F., and Ma, J.F. 2006. Buckwheat accumulates aluminum in leaves but not in seeds. *Plant Soil* **284**: 265–271.
- Shinozaki, K., and Yamaguchi-Shinozaki, K. 2007. Gene networks involved in drought stress response and tolerance. *J. Exp. Bot.* **58**: 221–227.
- Silva, A.S., Oliveira, J.G., da Cunha, M., and 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 J. Plant Physiol.* **22**: 245–254.
- Subbarao, G. V., Ito, O., Berry, W.L., and Wheeler, R.M. 2003. Sodium - A functional plant nutrient. *CRC. Crit. Rev. Plant Sci.* **22**: 391–416.
- Sun, T., Xu, Z., Wu, C.T., Janes, M., Prinyawiwatkul, W., and No, H.K. 2007. Antioxidant activities of different colored sweet bell peppers (*Capsicum annuum* L.). *J. Food Sci.* **72**: 98–102.
- Tolrà, R., Vogel-Mikuš, K., Hajiboland, R., Kump, P., Pongrac, P., and Poschenrieder, C. 2011. Localization of aluminium in tea (*Camellia sinensis*) leaves using low energy X-ray fluorescence spectro-microscopy. *J. Plant Res.* **124**: 165–172.
- Valladares, F., Gianoli, E., and Gómez, J.M. 2007. Ecological limits to plant phenotypic plasticity. *New Phytol.* **176**: 749–763.

- Valladares, F., and Niinemets, Ü. 2008. Shade tolerance, a key plant feature of complex nature and consequences. *Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.* **39**: 237–257.
- Vieira, W.D.L., Regina, M., Boeger, T., Cosmo, N.L., and Coan, A.I. 2014. Leaf morphological plasticity of tree species from two developmental stages in araucaria forest. *Brazilian Arch. Biol. Technol.* **57**: 476–485.
- Wakeel, A., Farooq, M., Qadir, M., and Schubert, S. 2011. Potassium substitution by sodium in plants. *CRC. Crit. Rev. Plant Sci.* **30**: 401–413.
- Walters, M.B., Kruger, E.L., and Reich, P.B. 1993. Growth, biomass distribution and CO₂ exchange of northern hardwood seedlings in high and low light: relationships with successional status and shade tolerance. *Oecologia* **94**: 7–16.
- Wang, W., Zhao, X.Q., Hu, Z.M., Shao, J.F., Che, J., and Chen, R.F. 2015. Aluminium alleviates manganese toxicity to rice by decreasing root symplastic Mn uptake and reducing availability to shoots of Mn stored in roots. *Ann. Bot.* **116**: 237–246.
- Warren, C.R. 2008. Does growth temperature affect the temperature responses of photosynthesis and internal conductance to CO₂? A test with *Eucalyptus regnans*. *Tree Physiol.* **28**: 11–19.
- Wehr, J.B., Blamey, F.P.C., Hanna, J. V., Kopittke, P.M., Kerven, G.L., and Menzies, N.W. 2010. Hydrolysis and speciation of Al bound to pectin and plant cell wall material and its reaction with the dye chrome azurol's. *J. Agric. Food Chem.* **58**: 5553–5560.
- Witkowski, E.T.F., and Lamont, B.B. 1991. Leaf specific mass confounds leaf density and thickness. *Oecologia* **88**: 486–493.
- Wright, R.J. 1989. Soil aluminum toxicity and plant growth. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* **20**: 1479–1497.
- Xu, Q., Wang, Y., Ding, Z., Song, L., Li, Y., Ma, D., Wang, Y., Shen, J., Jia, S., Sun, H., and Zhang, H. 2016. Aluminum induced metabolic responses in two tea cultivars. *Plant Physiol. Biochem.* **101**: 162–172.
- Yano, S., and Terashima, I. 2001. Separate localization of light signal perception for sun or shade type chloroplast and palisade tissue differentiation in *Chenopodium album*. *Plant Cell Physiol.* **42**: 1303–1310.
- Yu, G., Wang, Q., and Zhuang, J. 2004. Modeling the water use efficiency of

- soybean and maize plants under environmental stresses : application of a synthetic model of photosynthesis-transpiration based on stomatal behavior. *J. Plant Physiol.* **161**: 303–318.
- Zeng, Q.L., Chen, R.F., Zhao, X.Q., Wang, H.Y., and Shen, R.F. 2011. Aluminium uptake and accumulation in the hyperaccumulator *Camellia oleifera* Abel. *Pedosphere* **21**: 358–364.
- Zhang, H., Zhong, H., Wang, Ji., Sui, X., and Xu, N. 2016. Adaptive changes in chlorophyll content and photosynthetic features to low light in *Physocarpus amurensis* Maxim and *Physocarpus opulifolius* “Diabolo.” *PeerJ* **4**: 1–23.
- Zhao, X., Yang, Y., Shen, Z., Zhang, H., Wang, G., and Gan, Y. 2006. Stomatal clustering in *Cinnamomum camphora*. *South African J. Bot.* **72**: 565–569.
- Zhou, L., Tan, Y., Huang, L., and Wang, W.X. 2016. Enhanced utilization of organic phosphorus in a marine diatom *Thalassiosira weissflogii*: A possible mechanism for aluminum effect under P limitation. *J. Exp. Mar. Bio. Ecol.* **478**: 77–85.

MATERIAL SUPLEMENTAR

Tabela - Valores médios e desvios-padrão das características morfológicas foliares de *Rudgea viburnoides* e *Qualea grandiflora* em três ambientes distintos de Cerrado: Cerradão distrófico sobre latossolo vermelho (CDLV), Cerrado *sensu stricto* sobre latossolo amarelo (CssLA) e Cerrado *sensu stricto* sobre cambissolo (CssCxb). Área foliar (AF); Massa seca foliar (MSF); Área foliar específica (AFE); Densidade foliar (DF); Comprimento da lâmina foliar (CLF); Largura da lâmina foliar (LLF).

		CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS					
ESPÉCIES	AMBIENTE	AF (cm ²)	MSF (g)	AFE (cm ² g ⁻¹)	DF (g cm ⁻³)	CLF (cm)	LLF (cm)
<i>Rudgea viburnoides</i>	CDLV	65,27 ± 4,10 ^a	0,77 ± 0,04 ^b	87,79 ± 9,70 ^a	0,40 ± 0,03 ^b	13,82 ± 1,40 ^a	6,97 ± 0,37 ^a
	CssLA	47,70 ± 14,10 ^b	0,82 ± 0,24 ^b	59,79 ± 2,64 ^b	0,50 ± 0,02 ^a	11,04 ± 1,73 ^c	6,63 ± 2,42 ^{ab}
	CssCxb	53,91 ± 6,16 ^b	1,06 ± 0,16 ^a	51,69 ± 5,76 ^b	0,52 ± 0,04 ^a	12,44 ± 1,22 ^b	6,12 ± 0,44 ^b
<i>Qualea grandiflora</i>	CDLV	109,54 ± 16,24 ^a	1,20 ± 0,18 ^b	95,04 ± 14,61 ^a	0,61 ± 0,10 ^b	19,38 ± 1,81 ^a	7,71 ± 0,98 ^a
	CssLA	72,14 ± 15,02 ^b	1,68 ± 0,22 ^a	43,04 ± 4,08 ^b	0,95 ± 0,07 ^a	14,69 ± 1,82 ^b	6,53 ± 0,90 ^b
	CssCxb	74,24 ± 12,67 ^b	1,75 ± 0,24 ^a	42,37 ± 3,71 ^b	0,99 ± 0,09 ^a	15,21 ± 1,70 ^b	6,46 ± 0,51 ^b

Letras diferentes para mesma variável (mesma coluna), em uma mesma espécie, significam que os valores são estatisticamente diferentes pelo teste de Tukey.

Tabela - Valores médios e desvios-padrão das micromorfométricas foliares de *Rudgea viburnoides* e *Qualea grandiflora* em três ambientes distintos de Cerrado: Cerradão distrófico sobre latossolo vermelho (CDLV), Cerrado *sensu stricto* sobre latossolo amarelo (CssLA) e Cerrado *sensu stricto* sobre cambissolo (CssCxb). Espessura total da lâmina foliar (ETL); Espessura da epiderme adaxial (EEPAD); Espessura da epiderme abaxial (EEPAB); Espessura do parênquima paliçádico (EPP); Espessura do parênquima esponjoso (EPL); Índice estomático (IE).

CARACTERÍSTICAS ANATÔMICAS							
ESPÉCIES	AMBIENTE	ETL (µm)	EEPAD (µm)	EEPAB (µm)	EPP (µm)	EPL (µm)	IE (%)
<i>Rudgea viburnoides</i>	CDLV	295,87 ± 11,50 ^b	54,46 ± 3,45 ^b	18,06 ± 1,88 ^a	68,47 ± 6,94 ^b	154,88 ± 4,24 ^c	14,36 ± 1,31 ^c
	CssLA	350,30 ± 23,88 ^a	74,32 ± 6,54 ^a	17,74 ± 0,47 ^a	96,98 ± 12,88 ^a	161,26 ± 6,98 ^b	24,73 ± 1,28 ^a
	CssCxb	383,69 ± 27,24 ^a	76,99 ± 4,56 ^a	18,79 ± 1,26 ^a	101,31 ± 10,07 ^a	186,90 ± 18,81 ^a	20,34 ± 1,00 ^b
<i>Qualea grandiflora</i>	CDLV	187,17 ± 28,98 ^b	39,90 ± 6,36 ^b	11,04 ± 0,69 ^a	51,75 ± 9,75 ^b	84,05 ± 14,30 ^a	16,47 ± 1,42 ^c
	CssLA	248,24 ± 15,16 ^a	55,01 ± 3,81 ^a	12,55 ± 1,27 ^a	127,26 ± 11,47 ^a	53,41 ± 7,15 ^b	30,81 ± 1,64 ^a
	CssCxb	243,19 ± 21,69 ^a	51,89 ± 6,23 ^a	11,97 ± 1,19 ^a	125,56 ± 9,60 ^a	53,78 ± 7,32 ^b	27,82 ± 1,61 ^b

Letras diferentes para mesma variável (mesma coluna), em uma mesma espécie, significam que os valores são estatisticamente diferentes (p < 0,05 teste de Tukey).

CAPÍTULO II - Respostas fisiológicas e metabólicas de duas espécies do Cerrado quando em fitofisionomias com diferentes níveis de irradiância

RESUMO

O domínio Cerrado apresenta vegetação com grande diversidade, com formações savânicas e florestais que diferem principalmente na quantidade e qualidade da luz recebida, sendo o grau de plasticidade das espécies determinante para sua distribuição e ocorrência nas diferentes fitofisionomias. O objetivo deste estudo foi avaliar as respostas fisiológicas e metabólicas em *Rudgea viburnoides* e *Qualea grandiflora* sob diferentes níveis de irradiância. Estas espécies foram selecionadas por sua ocorrência em fitofisionomias de sombra e sol do Cerrado. Foram avaliadas as trocas gasosas, fluorescência da clorofila *a* e os teores de pigmentos, compostos fenólicos, amido, aminoácidos e proteínas. Os resultados demonstraram maiores taxas de assimilação de carbono (*A*) no ambiente sombreado para as duas espécies, possivelmente relacionadas a temperatura mais amena enquanto os indivíduos a pleno sol restringem as trocas gasosas em função do fechamento estomático. Os indivíduos do ambiente sombreado apresentaram menor valor de concentração interna de carbono (*C_i*) pelo uso eficiente do carbono. A razão *C_i/C_a* manteve-se dentro do esperado para espécies com boas taxas de assimilação de carbono independente do ambiente. Os parâmetros da fluorescência da clorofila *a* também indicam bom funcionamento do fotossistema II com estratégias eficientes de dissipação do excesso de energia luminosa nas duas espécies. Os pigmentos fotossintéticos apresentaram maiores teores na sombra, possivelmente em função da elevada taxa de foto-oxidação da clorofila em ambientes com alta incidência luminosa. Independentemente das condições de luminosidade, as duas espécies mantiveram o bom funcionamento do aparato fotossintético e estão ajustadas às diferentes condições ambientais no Cerrado, indicando maior plasticidade fisiológica.

Palavras-chave: Trocas gasosas, fluorescência da clorofila, irradiância, *Rudgea viburnoides*, *Qualea grandiflora*.

Capítulo II: Physiological and biochemical responses of two Cerrado species when in phytophysiognomies with different levels of irradiance

ABSTRACT

The Cerrado domain presents vegetation with great diversity, with savanna and forest formations that differ mainly in the quantity and quality of the light received, being the degree of plasticity of the species determinant for its distribution and occurrence in the different phytophysiognomies. The objective of this study was the physiological and biochemical responses in *Rudgea viburnoides* and *Qualea grandiflora* under different levels of irradiance. These species were selected for their occurrence in shade and sun phytophysiognomies of the Cerrado. Gas exchanges, fluorescence chlorophyll *a* and pigment contents, phenolic compounds, starch, amino acids and proteins were evaluated. The results show higher rates of carbon assimilation (*A*) in the shaded environment for both species, possibly related to the milder temperature while individuals in full sunlight restrict gas exchange due to stomatal closure. The individuals in the shaded environment presented lower values of internal carbon concentration (*C_i*) for the efficient use of carbon. The *C_i/C_a* ratio remained within that expected for species with good rates of carbon assimilation independent of the environment. The fluorescence of chlorophyll *a* also indicates good functioning of photosystem II with efficient strategies of dissipation of excess light energy in both species. The photosynthetic pigments presented higher levels of shade, possibly due to the high photo-oxidation rate of chlorophyll in environments with high light intensity. Irrespective of the light conditions, the two species maintained the photosynthetic apparatus well and are adjusted to the different environmental conditions in the Cerrado, indicating high physiological plasticity.

Key Words: Gas exchanges, chlorophyll fluorescence, irradiance, *Rudgea viburnoides*, *Qualea grandiflora*.

Introdução

O domínio Cerrado apresenta grande diversidade florística, sendo a ocorrência das espécies determinada por fatores edáficos, irradiância, variação pluviométrica, profundidade e drenagem do solo e fogo sazonal (Ribeiro e Walter 2008). O Cerrado apresenta fitofisionomias campestres, savânicas e florestais (Ribeiro e Walter 2008). Nas formações savânicas predomina o estrato herbáceo-arbustivo e um estrato arbóreo esparso, já as formações florestais apresentam estrato arbóreo dominante e bem desenvolvido (Ribeiro e Walter 2008).

As formações savânicas e florestais diferem em relação a quantidade e qualidade da luz recebida, sendo necessárias estratégias de aclimação e, ou adaptação para o estabelecimento nesses ambientes (Goulart et al. 2011). O grau de plasticidade das espécies em utilizar os recursos disponíveis é determinante para sua distribuição e ocorrência nas diferentes fitofisionomias do Cerrado (Goulart et al. 2011). A aclimação das espécies à alta ou à baixa irradiância envolve alterações morfofisiológicas que permitem capturar mais eficientemente a luz restrita no ambiente sombreado ou dissipar o excesso de luz a pleno sol (Rabelo et al. 2013). Os principais ajustes são as modificações em órgãos, tecidos e organelas, como mudanças na espessura da lâmina foliar, alterações nas proporções dos parênquimas clorofilianos, com consequente efeito sobre as trocas gasosas e eficiência do fotossistema II (Rabelo et al. 2013).

Em ambientes com alta irradiância, o centro de reação do fotossistema II é o primeiro a ser afetado, pois os danos podem ser maiores que as taxas de reparação (Murata et al. 2007). Os indivíduos em ambientes a pleno sol podem apresentar mecanismos que dissipam a energia de forma a minimizar o dano fotooxidativo (Muller et al. 2001) e a degradação dos pigmentos fotossintéticos que são altamente reativos em elevada irradiância, se tornando agentes geradores de estresse oxidativo (Baker 2008). Como a clorofila não pára de absorver luz, toda a absorção de luz em excesso deve ser dissipada (Baker 2008). Essa dissipação pode ser direcionada para a formação de poder redutor e de ATP para uso na fase bioquímica da fotossíntese (Baker 2008) ou ocorrer na forma de calor regulada, aumentando a produção de carotenoides pela ciclagem das xantofilas que preservarão a integridade do

aparelho fotossintético (Muller et al. 2001; Takahashi e Badger 2011; Paula et al. 2015). A energia também pode ser dissipada na forma de calor não regulada (Baker 2008). Assim, a mensuração da fluorescência da clorofila *a* e das trocas gasosas podem fornecer importantes informações sobre o estado da fotossíntese em plantas sob alta irradiância (Gonçalves e Santos-Junior 2005) e as estratégias que otimizam a captura da luz e maior ganho de carbono em indivíduos em ambiente sombreado (Valladares et al. 2003).

Embora existam muitas informações sobre a ecofisiologia de espécies nativas de outros domínios fitogeográficos, estudos em espécies nativas do Cerrado ainda são insuficientes quando se trata das trocas gasosas e fluorescência da clorofila *a* (Lemos-Filho 2000) e composição bioquímica. Assim, são necessárias a associação de diferentes técnicas para avaliar o efeito da intensidade luminosa em espécies acumuladoras de alumínio que ocorrem diferentes fitofisionomias do Cerrado.

As condições de elevada irradiância podem resultar em fotoinibição dinâmica ou crônica (Powles 1984). Durante a fotoinibição dinâmica, a eficiência fotoquímica decresce devido ao desvio da energia luminosa para as vias de dissipação de calor (Powles 1984; Takahashi e Badger 2011). A fotoinibição crônica resulta em uma série de eventos que podem diminuir a eficiência quântica e danificar o aparato fotossintético (Powles 1984). Apesar de existirem estudos ecofisiológicos em plantas de Cerrado (Lemos-Filho 2000; Prado et al. 2004; Silva et al. 2010; Paula et al. 2015), o número de espécies pesquisadas é muito pequeno. Avaliações dos parâmetros relacionados à fotossíntese são essenciais para entender o comportamento fisiológico de espécies que ocorrem em fitofisionomias savânicas (pleno sol) e florestais (ambiente sombreado).

A hipótese deste estudo é a de que os indivíduos expostos ao sol apresentem maiores taxas de assimilação de carbono, maiores taxas de transporte de elétrons, fotoinibição dinâmica, maiores teores de clorofila *a*, menores teores de clorofila *b* e maiores teores de carotenoides para dissipar eficientemente a luz pelo ciclo das xantofilas (Klughammer e Schreiber 2008).

Este estudo teve como objetivo verificar se essas características típicas de espécies de sol e sombra florestais ocorrem nas espécies de Cerrado *Rudgea viburnoides* e *Qualea grandiflora* foram avaliadas as trocas gasosas,

fluorescência da clorofila *a*, os teores de pigmentos fotossintéticos, compostos fenólicos, amido, aminoácidos e proteínas em ambientes que diferem quanto a intensidade luminosa recebida.

Material e Métodos

A área de trabalho, geolocalização e espécies foram as mesmas utilizadas no capítulo I

Trocas gasosas foliares e fluorescência da clorofila a

As trocas gasosas foliares foram realizadas em folhas completamente expandida do 3º nó, contada a partir do ápice e direcionada para o leste (para fins de padronização). Após a estabilização do aparelho foram avaliadas: as taxas de assimilação líquida do carbono (*A*), concentração de CO₂ nos espaços intercelulares (*C_i*), transpiração (*E*) e condutância estomática por unidade de área foliar (*g_s*) com um analisador de gases a infravermelho portátil IRGA (Modelo LI 6400 Li-Cor Inc., Lincoln, Nebraska, USA). As mensurações foram realizadas entre 8:00 e 12:00, sob fluxo correspondente a 1.000 μmol fótons m⁻² s⁻¹, temperatura 25 °C e concentração externa de CO₂ controlada em 400 μmol mol⁻¹ e sob fluxo de luz azul, possibilitando a abertura estomática.

Os dados de concentração de CO₂ nos espaços intercelulares (*C_i*) e a concentração externa de CO₂ (*C_a*) foram utilizados para calcular a razão *C_i/C_a*. Foram calculadas as eficiências instantâneas da carboxilação (*A/C_i*), e do uso da água (*A/E*) e a eficiência intrínseca do uso de água (*A/g_s*) (Scholes e Horton, 1993).

Nas mesmas folhas utilizadas para as análises de trocas gasosas foram efetuadas as medições das variáveis da fluorescência da clorofila *a* com um fluorômetro de pulso modulado Mini-PAM (Heinz Walz, Effeltrich, Germany). Após aclimatação por 30 minutos no escuro, foram mensuradas a fluorescência mínima (*F₀*) e fluorescência máxima (*F_m*), usando a luz de excitação da área amostrada em vermelho-distante (0,03 μmol m⁻² s⁻¹) e pulso de luz actínica saturante (6000 μmol m⁻² s⁻¹). A fluorescência variável (*F_v*) foi calculada usando a fórmula (*F_v = (F_m - F₀)*). Com estes valores foi possível

determinar o rendimento quântico potencial ($F_v/F_m = (F_m - F_0)/F_m$) e a eficiência fotoquímica do fotossistema II ($F_v/F_0 = (F_m - F_0)/F_0$) (van Kooten e Snel 1990).

Em seguida, nestas mesmas folhas, após período de adaptação à luz foi determinada a fluorescência da amostra adaptada a luz antes do pulso de saturação (F_t), e por fim, aplicou-se um pulso de luz actínica saturante ($6000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) de 0.8s, para determinar a fluorescência máxima da folha quando adaptada à luz ($F_{m'}$). Com os dados obtidos na fase lenta de indução da clorofila, pôde-se determinar o rendimento das três vias concorrentes de desexcitação de clorofilas no fotossistema II (PSII), o rendimento quântico efetivo do fluxo linear de elétrons ($\phi_{\text{PSII}} = \Delta F/F_{m'} = (F_{m'} - F_t)/F_{m'}$), o rendimento quântico de dissipação regulada de energia não fotoquímica no PSII ($\phi_{\text{NPQ}} = (F_t / F_{m'}) - (F_t / F_m)$) e o rendimento quântico de dissipação não-regulada de energia não fotoquímica do PSII ($\phi_{\text{NO}} = F_t / F_{m'}$) (Genty et al. 1989).

A taxa de transporte de elétrons foi calculada utilizando a equação $\text{ETR} = \phi_{\text{PSII}} \times \text{PAR} \times \alpha \times \beta$, onde as constantes representam as proporções: α de radiação incidente que é absorvida pela folha (0.84) e β de fótons absorvidos que são utilizados pelos centros de reação do PSII (0.5). Foi também calculada a razão de decréscimo da fluorescência ($R_{\text{Fd}} = (F_m - F_s) / F_s$) (Genty et al. 1989).

Análises bioquímicas

Amostras de três folhas do 3º nó de cada um dos cinco indivíduos de cada espécie nos três diferentes ambientes foram coletadas em campo, entre 12:00 p.m. e 13:00 p.m, e imediatamente colocadas em nitrogênio líquido e armazenadas em *ultrafreezer*. Posteriormente, as mesmas foram maceradas em nitrogênio líquido e moídas em moinho de bolas (Retesh MM400) e novamente armazenadas em *ultrafreezer* para a realização das análises a seguir.

Extração e determinação de clorofilas e carotenoides, aminoácidos totais, amido, proteínas e fenóis solúveis totais

Utilizou-se o leitor de placa de Elisa (Asys-UVM 340, Eugendorf, Áustria) para todas as análises descritas abaixo. Antes de cada procedimento foi realizada a leitura da μ -placa vazia (branco), para que a absorbância da placa vazia fosse subtraída na leitura da μ -placa com as amostras (em duplicata).

Em ambiente escuro, 0,04 g de matéria fresca foram ressuspensas em acetona 80% e CaCO_3 (usado para inativar a ação da clorofilase) segundo o protocolo modificado de Lichtenthaler (1987), para quantificar as clorofilas totais, clorofila *a* e *b* e carotenoides. As leituras das absorbâncias foram realizadas em 663, 646 e 470 nm.

Amostras de 0,05 g foram submetidas à extração etanólica, à quente, sendo determinados, na fração solúvel em etanol, os teores de aminoácidos totais (Sienkiewicz-Porzucek et al. 2008); e na fração insolúvel, os teores de amido (Fernie et al. 2001) e o conteúdo de proteínas totais (Bradford 1976).

A extração de fenóis totais seguiu o protocolo de Sun et al. (2007). A curva padrão de ácido tânico (AT) foi preparada e o resultado expresso em mg de AT por Kg de massa fresca. Para a extração de fenóis totais foram adicionados em μ -placa: extrato da amostra, água Milli-Q (H_2O_d), reagente de Folin-Ciocalteu e Na_2CO_3 (20%). Após agitação por 40 minutos a leitura da absorbância foi realizada em 725 nm. O teor de fenóis totais pode ser calculado, utilizando a curva de calibração por equivalência de AT e expresso em matéria fresca.

Delineamento experimental e análises estatísticas

As análises foram feitas em três ambientes de Cerrado, sendo o delineamento inteiramente casualizado (DIC), em esquema fatorial duplo 2 x 3, duas espécies (*R. viburnoides* e *Q. grandiflora*) e três ambientes com diferentes luminosidades (Cerradão distrófico sobre latossolo vermelho - CDLV, Cerrado *sensu stricto* sobre latossolo amarelo - CsslA e cambissolo - CsslCxb), com cinco réplicas em cada ambiente, mantendo uma distância mínima entre os indivíduos de pelo menos 100 m.

As análises estatísticas foram realizadas, usando o *software* livre R x 64 3.4.1 (R Core Team, 2016). A normalidade da distribuição dos dados foi validada pelo teste de Shapiro-Wilk. Uma vez que os dados não estavam

dentro da normalidade e, ou homogêneos, assim as análises de variância (ANOVA) foram realizadas pelo GLM (*generalized linear model*). Como os dados são de variáveis contínuas, utilizou-se *family Gaussian*, variando-se o *link* em *identity*, *log* e *inverse*, o *link identity* foi o que melhor se ajustou aos modelos, sendo portanto selecionado.

Resultados

Trocas gasosas

Os indivíduos localizados no Cerradão distrófico sobre latossolo vermelho (CDLV), ambiente sombreado, apresentaram diferenças significativas para as variáveis: assimilação líquida do carbono (A), concentração de CO_2 nos espaços intercelulares (C_i) e transpiração (E), quando comparados aos indivíduos localizados nos Cerrados *sensu stricto* sob latossolo amarelo (C_{ssLA}) e cambissolo (C_{ssCxb}), ambientes a pleno sol. Já a condutância estomática por unidade de área foliar (g_s) não apresentou diferença estatística significativa entre os ambientes. Os valores percentuais abaixo foram obtidos a partir da comparação entre os dois ambientes extremos, Cerradão distrófico e Cerrado *sensu stricto* sobre cambissolo.

A assimilação líquida de carbono (A) foi maior no ambiente sombreado para as duas espécies, esse aumento foi de 16.93% em *R. viburnoides* (Figura 3 - A) e 40.82% em *Q. grandiflora* (Figura 4 - A). A concentração subestomática de CO_2 (C_i) apresentou valores inversos às taxas de assimilação de carbono, sendo maior nos ambientes a pleno sol, 15,91% em *R. viburnoides* (Figura 3 - B) e 2.13% em *Q. grandiflora* (Figura 4 - B). As taxas de transpiração (E) no ambiente sombreado foram maiores 9.18% em *R. viburnoides* (Figura 3 - C) e 11.68% em *Q. grandiflora* (Figura 4 - C). A condutância estomática (g_s) (Figura 3 e 4 - D) não apresentou diferenças estatísticas entre os ambientes.

A razão (C_i/C_a) se manteve próxima de 0.7, sendo menor para os indivíduos do ambiente sombreado. Em *R. viburnoides* essa redução foi de 15.38% (Figura 3 - E) e em *Q. grandiflora* de 2.74% (Figura 4 - E). A eficiência instantânea da carboxilação (A/C_i) nas duas espécies, foi maior no ambiente sombreado, sendo 33.33% em *R. viburnoides* (Figura 3 - F) e 40% em *Q.*

grandiflora (Figura 4 - F). A eficiência instantânea (A/E) e intrínseca (A/g_s) do uso de água não mostrou diferença significativa em *R. viburnoides* (Figura 3 - G, H). Em *Q. grandiflora* as duas variáveis foram maiores no ambiente sombreado, sendo A/E 8.13% (Figura 4 - G) e A/g_s 44.66% (Figura 4 - H).

Fluorescência da Clorofila a

As análises de fluorescência da clorofila *a* indicam que não houve diferenças significativas para os parâmetros fornecidos pelo fluorômetro (F_0 , F_m , F_t , F_m') para nenhuma das duas espécies (Figura 5 e 6 - A, B, C, D), somente F_v apresentou diferenças entre o CDLV e C_{ss}CXB (Figura 5 e 6 - E).

Os valores calculados para o rendimento máximo do PSII, também conhecido como máxima eficiência quântica do PSII - F_v/F_m , tanto para *R. viburnoides* (Figura 5 - F), quanto para *Q. grandiflora* (Figura 6 - F), apresentaram diferenças significativas entre os ambientes com maiores valores no ambiente sombreado, sendo esse aumento de 15.21% e 1.20%, respectivamente. A eficiência máxima do processo fotoquímico do PSII (F_v/F_0) também foi maior no ambiente sombreado, sendo esse aumento de 20.69% e 10.46% em *R. viburnoides* (Figura 5 - G) e *Q. grandiflora* (Figura 6 - G), respectivamente.

A taxa de transporte de elétrons (ETR) não apresentou diferença estatística entre os ambientes (Figura 5 e 6 - H). A razão de decréscimo da fluorescência (R_{Fd}) usada para avaliar fixação de carbono, foi maior no ambiente sombreado para as duas espécies, sendo 44.66% em *R. viburnoides* (Figura 5 - I) e 20.40% em *Q. grandiflora* (Figura 6 - I).

Nas medições realizadas sob pulsos de luz saturante, o rendimento das três vias concorrentes de desexcitação de clorofilas no fotossistema II (PSII) não apresentaram diferenças entre os ambientes para nenhuma das espécies. Os menores valores foram da dissipação fotoquímica (ϕ_{PSII}) (Figura 5 e 6 - J). O rendimento quântico de dissipação regulada de energia não fotoquímica no PSII (ϕ_{NPQ}) apresentou os maiores valores (Figura 5 e 6 - K), seguido do rendimento quântico de dissipação não-regulada de energia não fotoquímica do PSII (ϕ_{NO}) (Figura 5 e 6 - L). Em todos os ambientes, a maior proporção de energia absorvida foi dissipada na forma de calor de forma regulada, seguida da dissipação não regulada, e por fim, pela dissipação

fotoquímica, sendo os valores decrescentes de dissipação de energia (ϕ_{NPQ}) $> (\phi_{NO}) > (\phi_{PSII})$.

Análises Bioquímicas

Nos indivíduos de ambiente sombreado de ambas espécies, os teores de clorofila totais (Figura 7 e 8 - A), clorofila *a* (Figura 7 e 8 - B), clorofila *b* (Figura 7 e 8 - C) e carotenoides (Figura 7 e 8 - E) por unidade de massa fresca foram, em geral, mais que o dobro daqueles encontrados nos indivíduos a pleno sol. A razão clorofila *a/b* foi maior para os indivíduos a pleno sol em *R. viburnoides* (Figura 7 - D) e *Q. grandiflora* (Figura 8 - D), respectivamente. Assim como as clorofilas, o teor de carotenoides foi maior nos indivíduos do ambiente sombreado para as duas espécies (Figuras 7 e 8 - E).

Os teores de compostos fenólicos apresentaram diferenças significativas entre os ambientes em *R. viburnoides*, sendo maiores nos indivíduos de sol (Figura 7 e 8 - F). Em *Q. grandiflora* não apresentou diferenças significativas entre os ambientes, no entanto *Q. grandiflora* apresenta concentração elevada compostos fenólicos em seus tecidos.

Já as concentrações de amido, aminoácidos e proteínas nas duas espécies apresentaram diferenças significativas entre os ambientes a pleno sol e de sombra. Os indivíduos a pleno sol apresentam uma maior concentração de amido, sendo esse aumento de 40.11% em *R. viburnoides* (Figura 7 - G) e 27.42% em *Q. grandiflora* (Figura 8 - G). O teor de aminoácidos foi 43.77% maior nos ambientes a pleno sol em *R. viburnoides* (Figura 7 - H), enquanto em *Q. grandiflora* (Figura 8 - H) foi 45.00% maior no ambiente sombreado. Em *R. viburnoides* (Figura 7 - I), a concentração de proteínas foi 44.05% maior no ambiente sombreado. Já em *Q. grandiflora* (Figura 8 - I) o teor de proteínas foi 97.74% maior nos ambientes a pleno sol.

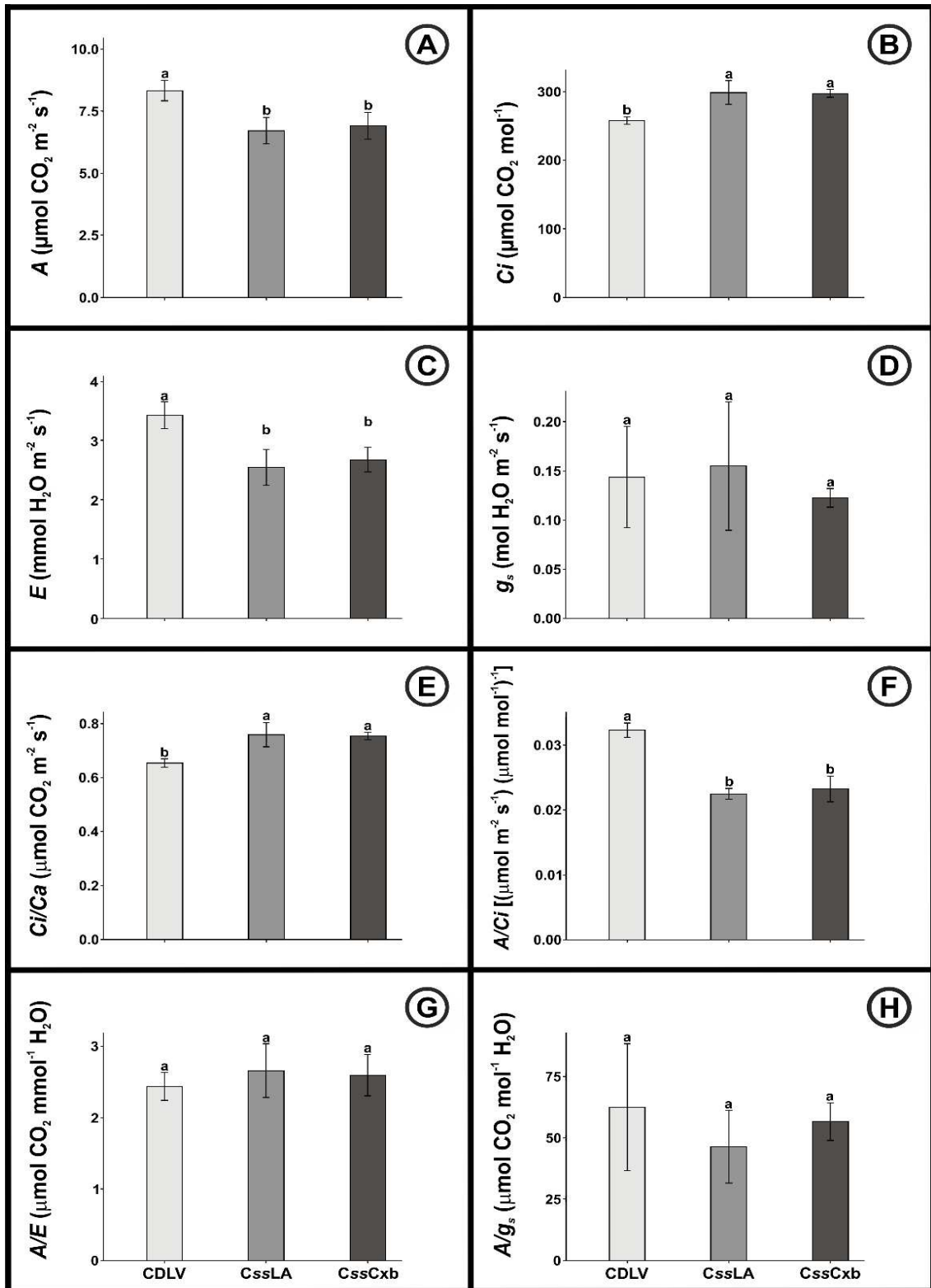


Figura 3. Trocas gasosas em *Rudgea viburnoides* no Cerradão distrófico sobre latossolo vermelho (CDLV), Cerrado *sensu stricto* sobre latossolo amarelo (CsslA) e Cerrado *sensu stricto* sobre Cambissolo (CsslCxb). As variáveis são: (A) A - Assimilação líquida de carbono; (B) C_i - Concentração interna de CO_2 ; (C) E - Transpiração; (D) g_s - Condutância estomática; (E) C_i/C_a - Razão concentração interna e externa de carbono; (F) A/C_i - Eficiência instantânea da carboxilação; (G) A/E - Eficiência instantânea de uso da água; (H) A/g_s - Eficiência intrínseca de uso da água. Letras diferentes para mesma variável significam que os valores são estatisticamente diferentes pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

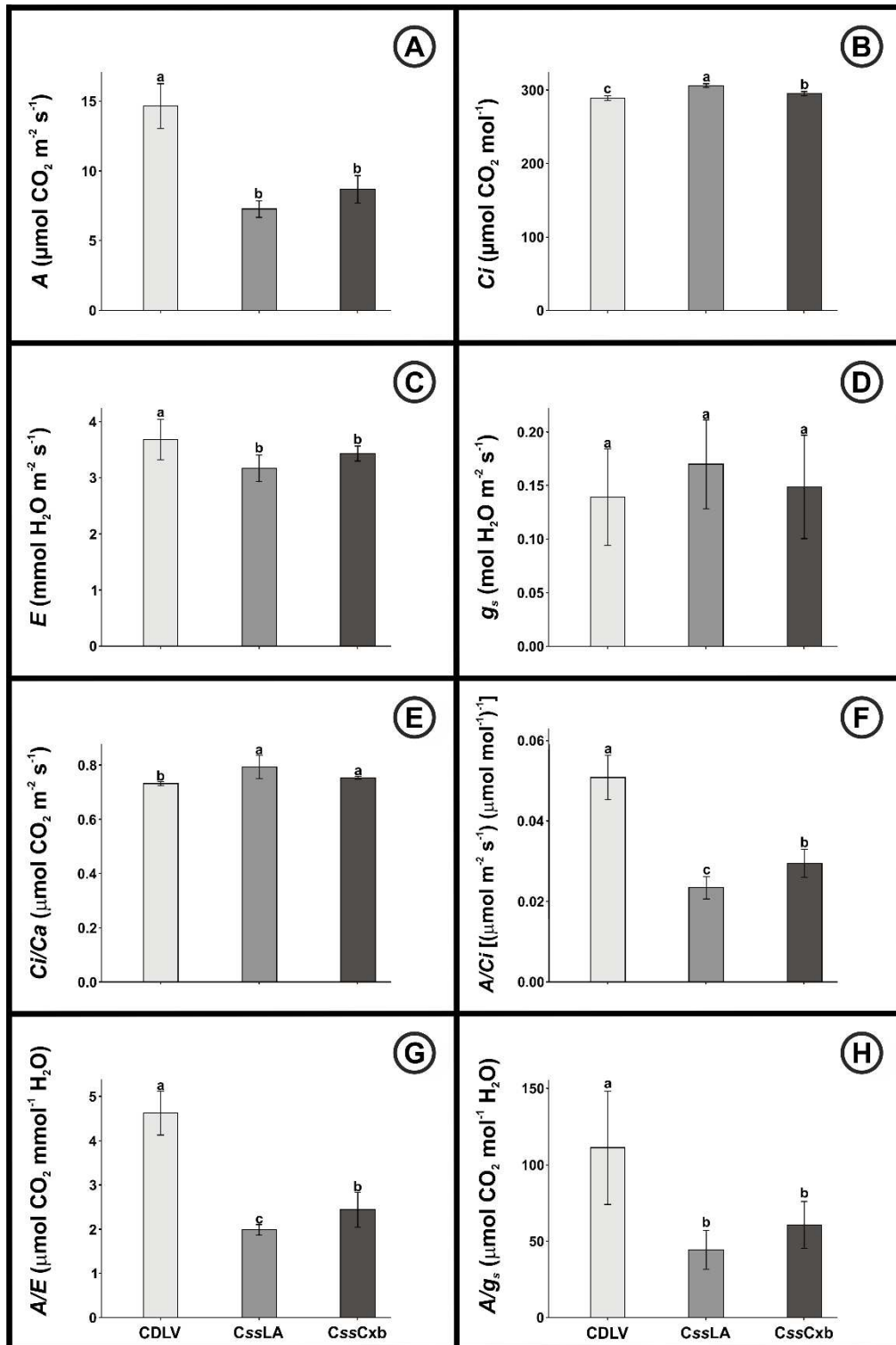


Figura 4. Trocas gasosas em *Qualea grandiflora* no Cerradão distrófico sobre latossolo vermelho (CDLV), Cerrado *sensu stricto* sobre latossolo amarelo (CsslA) e Cerrado *sensu stricto* sobre Cambissolo (CsslCxb). As variáveis são: (A) A - Assimilação líquida de carbono; (B) C_i - Concentração interna de CO_2 ; (C) E - Transpiração; (D) g_s - Condutância estomática; (E) C_i/C_a - Razão concentração interna e externa de carbono; (F) A/C_i - Eficiência instantânea da carboxilação; (G) A/E - Eficiência instantânea de uso da água; (H) A/g_s - Eficiência intrínseca de uso da água. Letras diferentes para mesma variável significam que os valores são estatisticamente diferentes pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

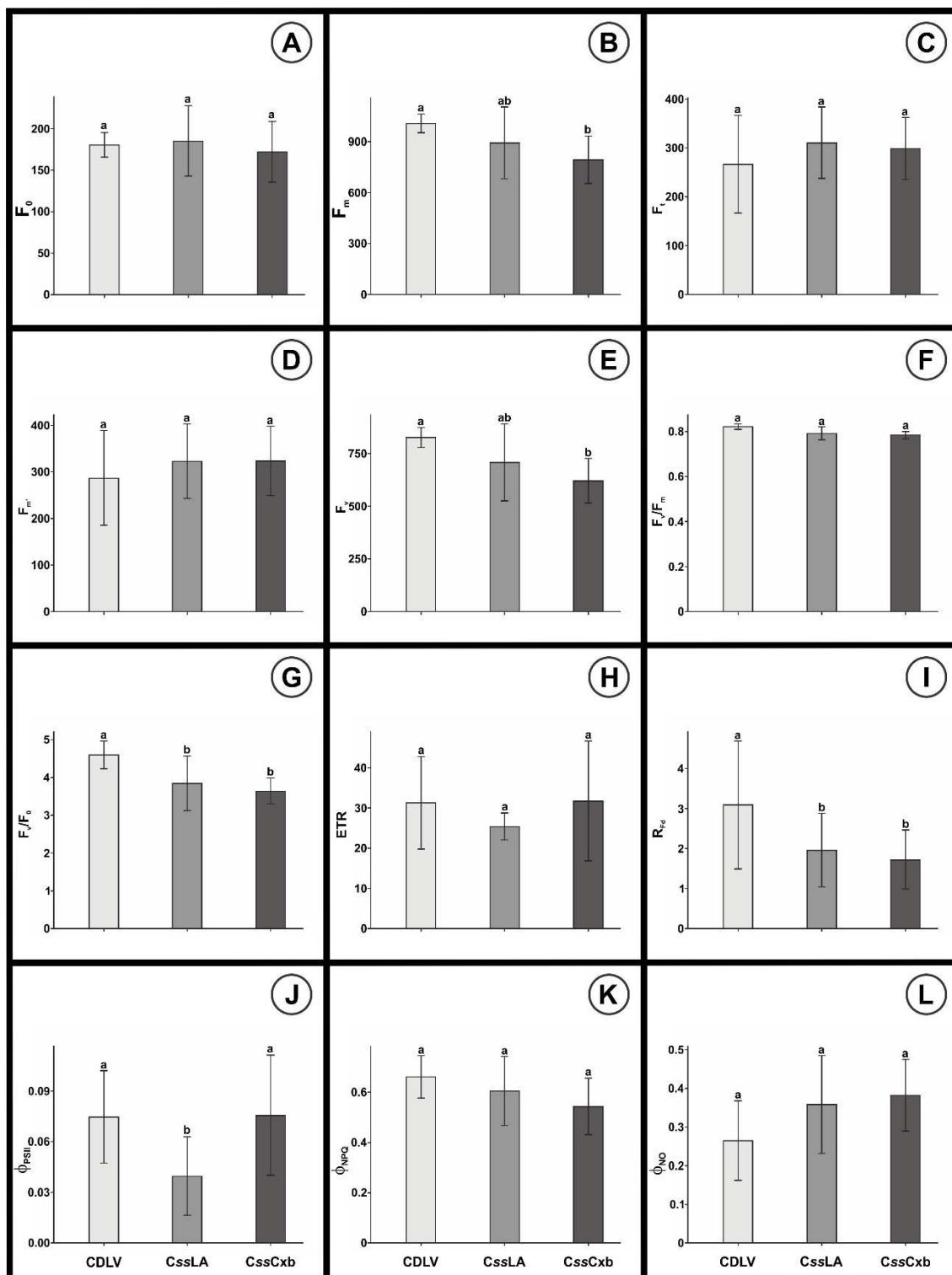


Figura 5. Fluorescência da clorofila *a* em *Rudgea viburnoides* no Cerradão distrófico sobre latossolo vermelho (CDLV), Cerrado *sensu stricto* sobre latossolo amarelo (CssLA) e Cerrado *sensu stricto* sobre Cambissolo (CssCxb). Dados fornecidos: (A) F_0 - Fluorescência mínima; (B) F_m - Fluorescência máxima; (C) F_t - Fluorescência adaptada à luz antes do pulso de saturação; (D) F_m' - Fluorescência máxima da folha quando adaptada à luz; (E) F_v - Fluorescência variável; (F) F_v/F_m - O rendimento quântico potencial; (G) F_v/F_0 - Eficiência fotoquímica do fotossistema II; (H) ETR - Taxa de transporte de elétrons; (I) R_{Fd} - Razão de decréscimo da fluorescência; (J) ϕ_{PSII} - o rendimento quântico efetivo do fluxo linear de elétrons; (K) ϕ_{NPQ} - O rendimento quântico de dissipação regulada de energia não fotoquímica no PSII; (L) ϕ_{NO} - O rendimento quântico de dissipação não-regulada de energia não fotoquímica do PSII. Letras diferentes para mesma variável significam que os valores são estatisticamente diferentes pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

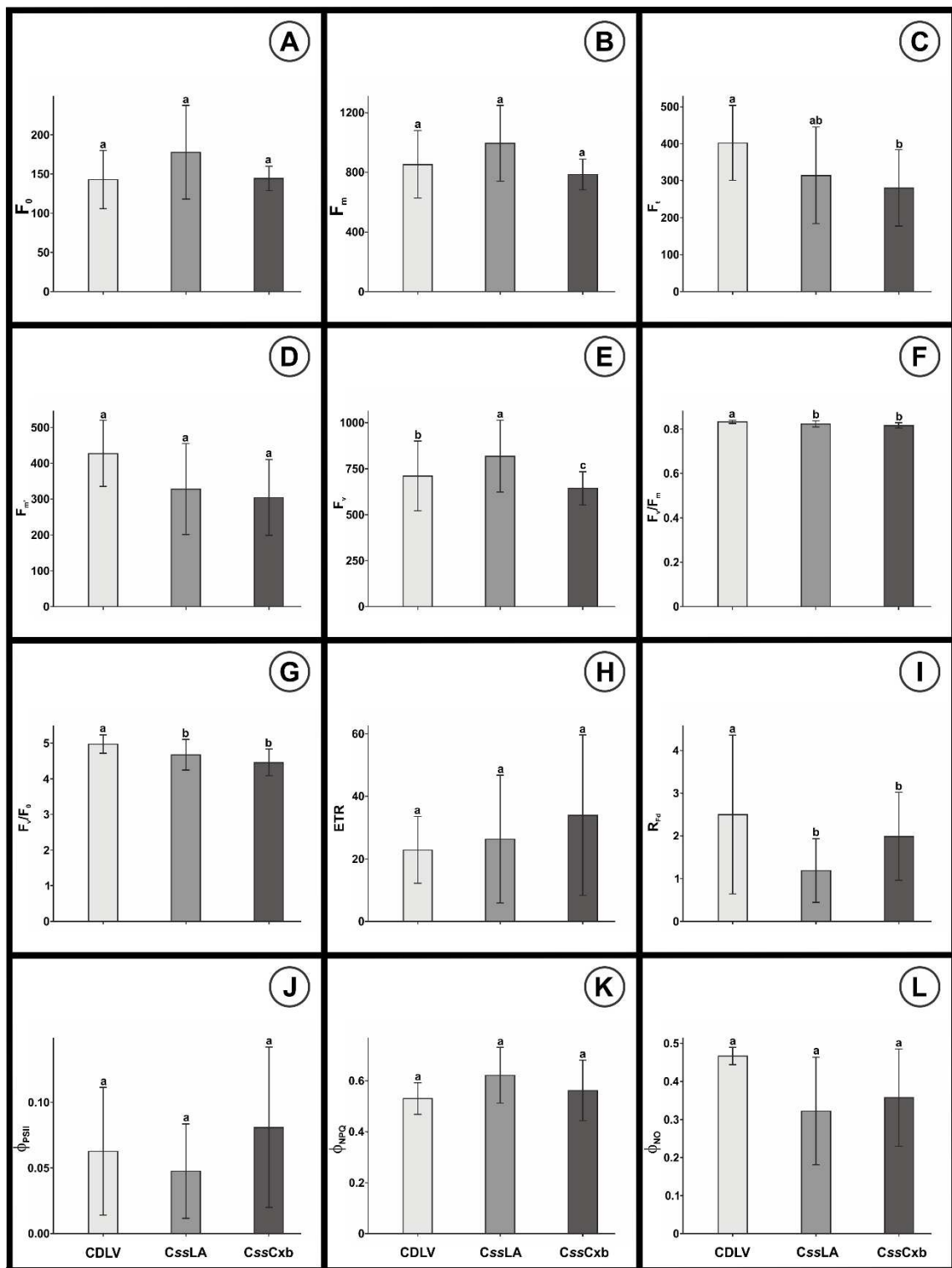


Figura 6. Fluorescência da clorofila *a* em *Qualea grandiflora* no Cerradão distrófico sobre latossolo vermelho (CDLV), Cerrado *sensu stricto* sobre latossolo amarelo (CsslA) e Cerrado *sensu stricto* sobre Cambissolo (CsslCxb). Dados fornecidos: (A) F_0 - Fluorescência mínima; (B) F_m - Fluorescência máxima; (C) F_t - Fluorescência adaptada à luz antes do pulso de saturação; (D) $F_{m'}$ - Fluorescência máxima da folha quando adaptada à luz; (E) F_v - Fluorescência variável; (F) F_v/F_m - O rendimento quântico potencial; (G) F_v/F_0 - Eficiência fotoquímica do fotossistema II; (H) ETR - Taxa de transporte de elétrons; (I) R_{Fd} - Razão de decréscimo da fluorescência; (J) ϕ_{PSII} - o rendimento quântico efetivo do fluxo linear de elétrons; (K) ϕ_{NPQ} - O rendimento quântico de dissipação regulada de energia não fotoquímica no PSII; (L) ϕ_{NO} - O rendimento quântico de dissipação não-regulada de energia não fotoquímica do PSII. Letras diferentes para mesma variável significam que os valores são estatisticamente diferentes pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

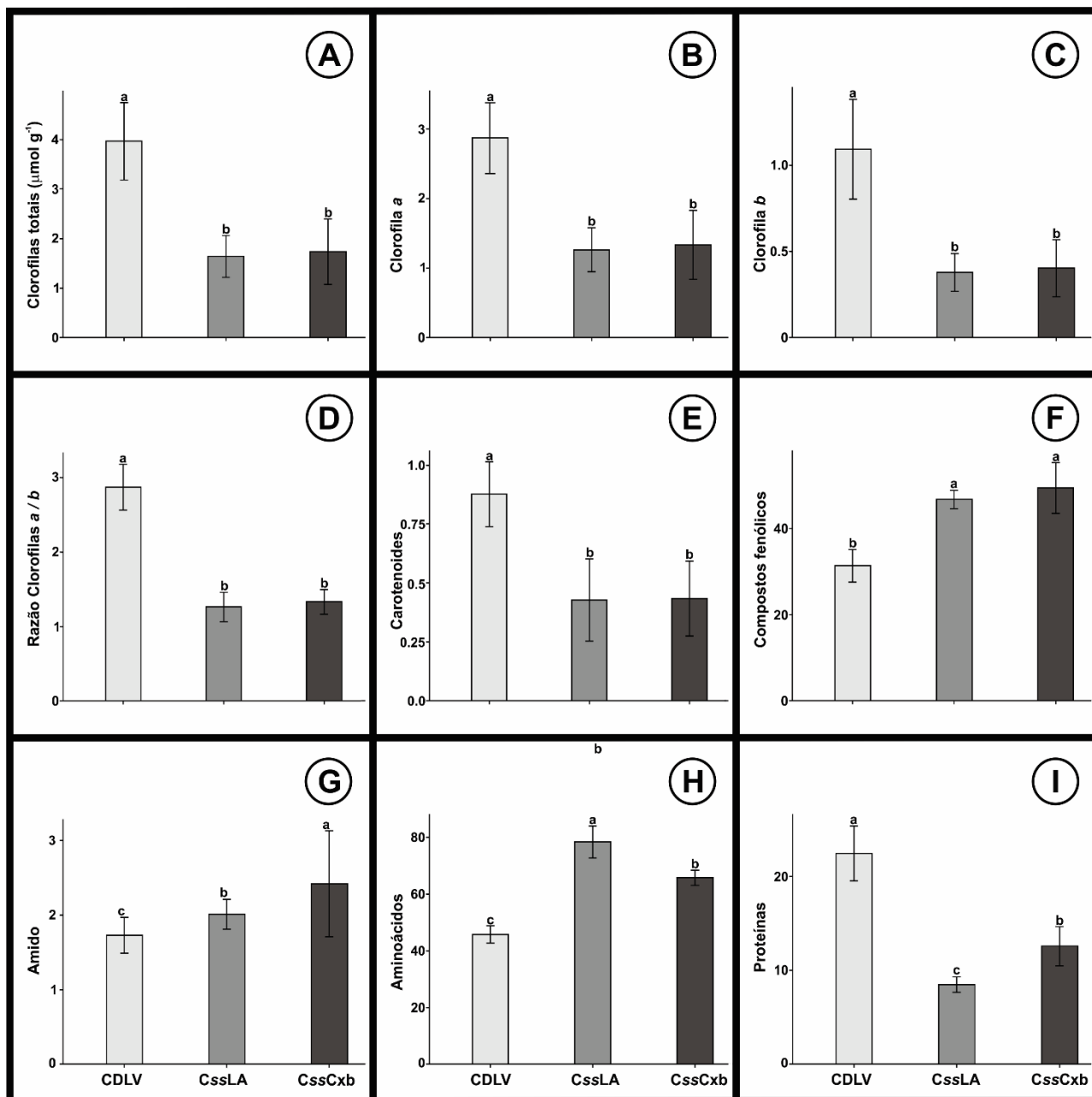


Figura 7. Análises bioquímicas em *Rudgea viburnoides* no Cerradão distrófico sobre latossolo vermelho (CDLV), Cerrado *sensu stricto* sobre latossolo amarelo (CcssLA) e Cerrado *sensu stricto* sobre Cambissolo (CcssCxb). Dados em $\mu\text{mol g}^{-1}$: (A) Clorofilas totais; (B) Clorofila a; (C) Clorofila b; (D) Razão clorofilas a/b; (E) Carotenoides; (F) Compostos fenólicos; (G) Amido; (H) Aminoácidos; (I) Proteínas. Letras diferentes para mesma variável significam que os valores são estatisticamente diferentes pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

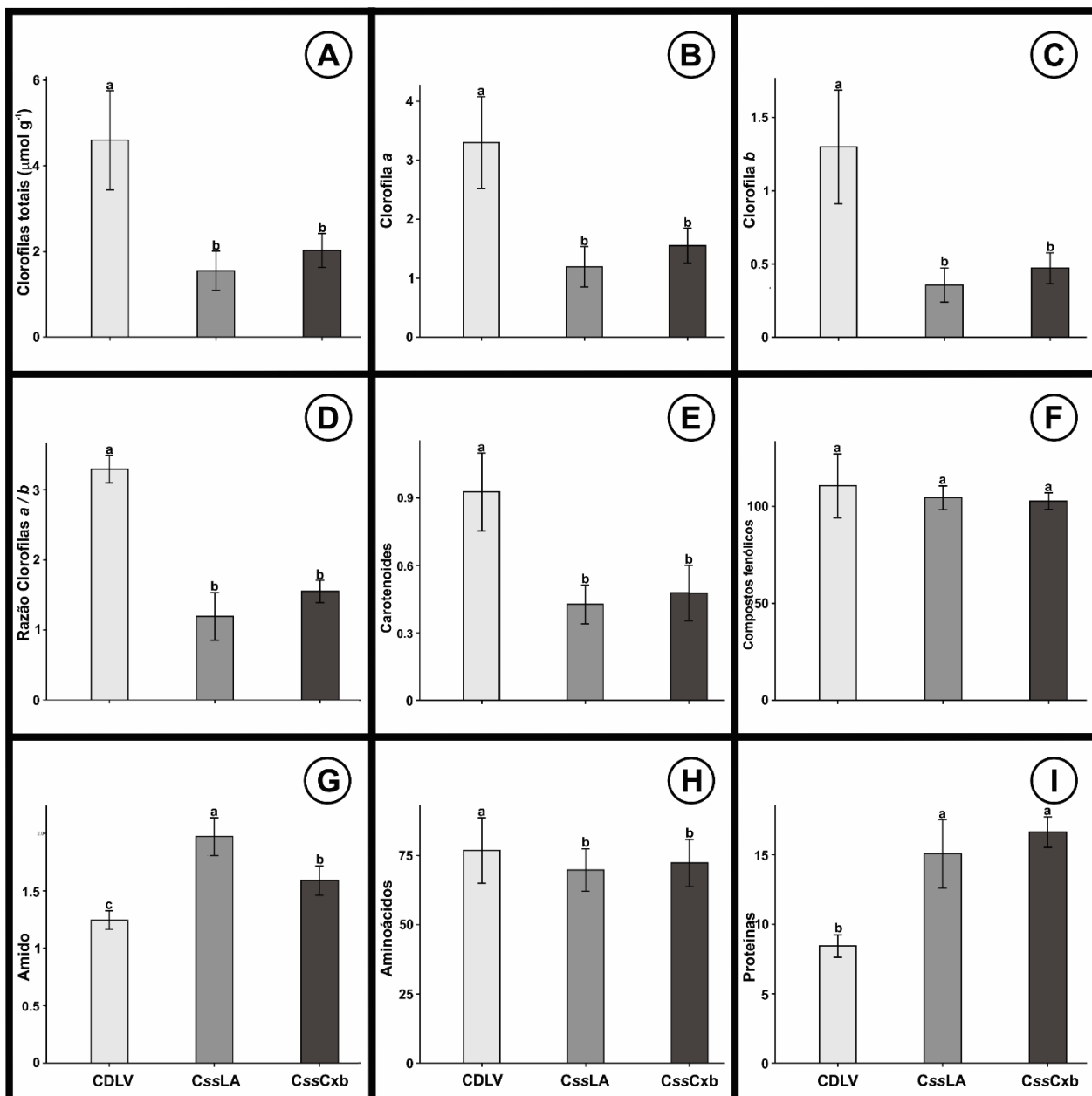


Figura 8. Análises bioquímicas em *Qualea grandiflora* no Cerradão distrófico sobre latossolo vermelho (CDLV), Cerrado *sensu stricto* sobre latossolo amarelo (CcssLA) e Cerrado *sensu stricto* sobre Cambissolo (CcssCxb). Dados em $\mu\text{mol g}^{-1}$: (A) Clorofilas totais; (B) Clorofila a; (C) Clorofila b; (D) Razão clorofilas a/b; (E) Carotenoides; (F) Compostos fenólicos; (G) Amido; (H) Aminoácidos; (I) Proteínas. Letras diferentes para mesma variável significam que os valores são estatisticamente diferentes pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Discussão

Os resultados do presente estudo indicam que a presença de Al^{3+} no solo não influenciou negativamente as taxas fotossintéticas em *Rudgea viburnoides* e *Qualea grandiflora*, uma vez que, os solos do ambiente sombreado apresentam os maiores teores de Al. No entanto, a concentração de Al na parte aérea foi maior nos indivíduos encontrados nos ambientes a pleno sol para as duas espécies (Capítulo I). Alguns autores demonstraram a presença de Al nos cloroplastos das duas espécies estudadas, conforme relatado por Malta et al. (2016) em *R. viburnoides* e por Andrade et al. (2011) em *Q. grandiflora*, sem provocar danos aparentes na morfofisiologia.

As taxas fotossintéticas de *Q. grandiflora* e *R. viburnoides* foram maiores nos indivíduos do ambiente sombreado. Entretanto, esses resultados são contraditórios em relação à literatura que relata maiores taxas de assimilação de carbono em folhas de sol (Givnish 1988; Gregoriou et al. 2007). Uma possível explicação para essas maiores taxas fotossintéticas é que no ambiente sombreado a temperatura é mais amena, o que possibilita a redução da temperatura foliar e a manutenção do status hídrico da planta, otimizando a fixação de carbono, a atividade fotossintética e a turgescência foliar (Walters et al. 1993). De maneira similar, estudo analisando o comportamento fotossintético de *Lindera melissifolia* (Lauraceae) em sol e sombra num ambiente florestal mostrou que indivíduos em ambientes sombreados apresentaram maiores taxas fotossintéticas (Aleric e Kirkman 2005). A relação A/C_i foi maior nas duas espécies no ambiente sombreado, indicando que essa eficiência da carboxilação ou atividade da rubisco é ótima. Nas plantas a pleno sol a concentração de amido foliar é maior, o que pode causar uma retroinibição da fotossíntese, causando a retenção dos grupos fosfatos e comprimindo os cloroplastos (Warren, 2008).

As plantas a pleno sol, por outro lado, devido a elevada irradiância, temperatura e demanda evaporativa podem reduzir as taxas de fotossíntese, tanto em função do fechamento estomático, pela restrição das trocas gasosas, diminuindo a assimilação de CO_2 e, conseqüentemente, o processo fotossintético, quanto em função da inibição de processos fotossintéticos nos cloroplastos (Shinozaki e Yamaguchi-Shinozaki 2007). Estudos também

demonstraram que em ambientes a pleno sol e sombreado as espécies *Shorea worthingtonii* (Dipterocarpaceae) (Ashton e Berlyn 1992), *Cytisus scorparius* (Fabaceae) e *Ulex europaeus* (Fabaceae) apresentaram maiores taxas de assimilação de carbono em ambiente sombreado, pois condições de elevada irradiância associadas a altas temperaturas podem danificar o aparato fotossintético, levando a fotoinibição, limitando assim a assimilação de carbono (Valladares et al. 2003).

Os indivíduos dos ambientes a pleno sol apresentaram menores taxas de transpiração. Uma possível explicação é que a transpiração pode diminuir por não ter tanta água no solo em contato com as raízes e, ou, em função das interações entre fatores ambientais, como baixa umidade do ar, alta temperatura e intensidade luminosa, que promovem o fechamento estomático e diminuem a transpiração possibilitando uma menor perda excessiva de água (Prado et al. 2004). Estudos relataram que em espécies de Cerrado durante estação seca há uma redução na condutância estomática (g_s), uma vez que, a demanda evaporativa da atmosfera está consideravelmente alta, a qual leva a um rígido controle estomático, reduzindo as taxas transpiratórias (Meinzer et al. 1999).

Nas plantas de sombra, uma maior difusão de CO_2 para o mesófilo potencializa a perda de água por μmol de CO_2 assimilado, tendo como consequência as maiores taxas fotossintéticas e maior eficiência instantânea da carboxilação (A/C_i) (Warren 2008), como as observadas nos indivíduos do ambiente sombreado. Como a concentração de CO_2 externo foi mantida constante, as variações observadas na razão C_i/C_a estão relacionadas somente com a concentração interna de CO_2 (Igamberdiev et al. 2004). O aumento de C_i indica que o CO_2 que chega às células do mesófilo não está sendo fixado durante a fase carboxilativa da fotossíntese, sendo também uma possível explicação para menor taxa fotossintética nos indivíduos a pleno sol (Igamberdiev et al. 2004). Esse aumento da relação C_i/C_a e redução das taxas fotossintéticas pode estar relacionado a inibição da atividade carboxilase e aumento na atividade oxigenase da Rubisco, levando à fotorrespiração (Igamberdiev et al. 2004). Quanto mais próxima de 1 for a razão C_i/C_a menos eficientes são os processos de fixação de carbono pela planta (Brodrigg 1996). Assim, a redução da razão C_i/C_a observada nos indivíduos do

ambiente sombreado respondem menos ao excesso de radiação, e apresentam um processo mais eficiente de fixação de carbono resulta em uma maior taxa fotossintética nesses indivíduos (Igamberdiev et al. 2004).

Em ambientes onde há baixa disponibilidade de água, como nos ambientes de Cerrado, no início da estação seca, a condutância estomática é menor e uma das consequências é a redução nas taxas transpiratórias (Yu et al. 2004). A espécie *R. viburnoides* não apresentou diferenças na eficiência instantânea do uso de água ($EUA = A/E$), já em *Q. grandiflora* a EUA foi menor nos ambientes a pleno sol, esta EUA retrata a quantidade de CO_2 absorvida por molécula de H_2O transpirada, estando relacionada com a efetividade de uma espécie em fixar carbono enquanto transpira (Howell 2001), sendo menos efetiva nesta última espécie. A eficiência intrínseca do uso de água ($EiUA = A/g_s$) apresentou menores valores nos indivíduos a pleno sol de *Q. grandiflora*, também não apresentando diferenças significativas em *R. viburnoides*. A literatura sugere que em ambientes com elevada irradiância associada à baixa disponibilidade de água nos solos ocorra o fechamento dos estômatos e, conseqüentemente, a redução na eficiência intrínseca no uso de água nos indivíduos a pleno sol (Yu et al. 2004).

Os valores de eficiência quântica potencial do fotossistema II (F_v/F_m) encontrados para *R. viburnoides* e *Q. grandiflora* estão proporcionais ao estabelecido pela literatura para indivíduos de sol e de sombra, sugerindo que as espécies não apresentam danos fotoinibitórios. Os valores de F_v/F_m para as duas espécies a pleno sol, estão por volta de 0.80 elétrons $quantum^{-1}$. Já em ambiente de sombra, os valores são um pouco mais elevados na faixa de 0.83 elétrons $quantum^{-1}$ (Silva et al. 2010). É sugerido que o valor ótimo de F_v/F_m em plantas que não estão em condições de estresse esteja por volta de 0.8332 ± 0.004 elétrons $quantum^{-1}$ (Björkman e Demmig 1987), indicando que não existem danos fotoinibitórios nas espécies estudadas.

Os resultados desse estudo apontam que a razão F_v/F_0 é maior no ambiente sombreado e semelhante ao encontrado na razão F_v/F_m , os valores são condizentes com o esperado na literatura em indivíduos a pleno sol e na sombra (Silva et al. 2010). A razão F_v/F_0 também pode ser um indicador de estresse, sendo sugerido que essa variável é mais sensível que a razão F_v/F_m (Pereira et al. 2000; Paiva et al. 2003). Em plantas saudáveis, esses valores

podem variar entre 3 e 6 elétrons quantum⁻¹ (Roháček 2002), sendo que os valores exibidos pelos indivíduos das duas espécies nos três ambientes encontram-se nesse intervalo.

Quando a energia luminosa é capturada pelos complexos antena do fotossistema II (FSII) a energia pode ser utilizada na etapa fotoquímica pelo FSII (ϕ_{PSII}) ou pode ser dissipada na forma de calor (ϕ_{NPQ}) e de forma não regulada (ϕ_{NO}) (Klughammer e Schreiber 2008). Embora diferenças significativas não tenham sido encontradas entre as taxas de dissipação de energia entre os ambientes a pleno sol e sombreado, a soma dos coeficientes de dissipação de energia é igual a 1, sendo assim, os altos valores de ϕ_{NPQ} em relação ϕ_{PSII} e ϕ_{NO} , como os encontrados neste estudo para as duas espécies, indicam elevada capacidade de fotoproteção (Klughammer e Schreiber 2008). Os maiores valores de ϕ_{NPQ} indicam que o excesso de energia está sendo dissipado de forma controlada via ciclo das xantofilas, que desempenha um importante papel na proteção do aparato fotossintético contra a superexcitação e danos nos centros de reação PSII (Klughammer e Schreiber 2008). Esse aumento relativo no ϕ_{NPQ} significa que há um baixo aproveitamento da energia luminosa na fotossíntese, indicados pelos baixos valores de ϕ_{PSII} . No entanto, essas espécies de Cerrado apresentam uma alta capacidade de combater a fotoinibição, que é uma vantagem adaptativa nesse ambiente (Guidi e Innocenti 2011). Valores de ϕ_{NPQ} maiores que ϕ_{NO} refletem que a capacidade de fotoproteção está dentro do ideal (Klughammer e Schreiber 2008) e seria uma forma de manter o funcionamento do PSII sem causar danos nos ambientes a pleno sol (Niinemets e Kull 2001).

O aumento no ϕ_{NPQ} e ϕ_{NO} resulta em menores valores de rendimento quântico (ϕ_{PSII}), ocasionando menores taxas de transporte de elétrons (ETR). Esses resultados também são similares ao encontrado na literatura (Havaux e Niyogi 1999). Assim como o ϕ_{PSII} , a ETR não apresentou diferenças significativas entre os ambientes. A literatura também indica que entre os distintos ambientes, na ausência de diferenças estatísticas, o funcionamento dos fotossistemas é similar (Genty et al. 1989).

A razão do decréscimo da fluorescência (R_{Fd}) avalia a atividade do Ciclo de Calvin (Lichtenthaler et al. 1986). A R_{Fd} estabelecida como ótima na

literatura em indivíduos com boa atividade fotossintética apresenta valores maiores que 2.5 (Rinderle e Lichtenthaler 1988), como obtidos nas duas espécies no ambiente de sombra, porém nos indivíduos a pleno sol não foram observados valores inferiores a 1.0, que indicaria comprometimento da assimilação de carbono em concordância com os resultados de A/C_i (Haitz e Lichtenthaler 1988). Lichtenthaler et al. (2007) sugeriram que espécies de sol apresentam maiores valores de R_{Fd} que espécies de sombra e estes valores estão correlacionados positivamente com as taxas fotossintéticas. Contrário à literatura, neste trabalho, os indivíduos do ambiente sombreado apresentaram maiores valores de R_{Fd} comparado aos indivíduos a pleno sol. Esses valores podem estar associados a maiores taxas fotossintéticas dos indivíduos do ambiente sombreado (Lichtenthaler et al. 2007).

Os maiores teores de clorofilas totais, *a* e *b* foram observados no ambiente sombreado, como relatado por diversos autores (Zhang et al. 2016; Guidi et al. 2017)). Esse acúmulo de clorofilas em ambientes sombreados está relacionado a menor incidência luminosa, pois a absorção eficiente da luz depende dessa molécula (Zhang et al. 2016). Na presença de luz, a molécula de clorofila é constantemente foto-oxidada, por isso, em ambiente com maior intensidade luminosa há elevadas taxa de degradação desse pigmento, fazendo com que folhas de sombra apresentem maior concentração de clorofila que as folhas de sol (Guidi et al. 2017). Além disso, maior acúmulo de clorofila no ambiente sombreado pode estar relacionado a um efeito compensatório das espécies à baixa quantidade de energia luminosa disponível (Zhang et al. 2016).

O aumento na proporção de clorofila *b* nas plantas do ambiente sombreado é refletido na maior razão clorofilas *a/b* dos ambientes a pleno sol (Lee et al. 2000; Maina e Wang 2015). O maior teor de clorofila *b* no ambiente sombreado é uma estratégia adaptativa de extrema importância, pois elevados teores de clorofilas aumentam a absorção da luz nos diferentes comprimentos de ondas, até na faixa do verde, que está presente em grandes proporções no interior de ambientes sombreados (Guidi et al. 2017). Assim a clorofila *b* captura a luz difusa em outros comprimentos de onda e transfere para a clorofila *a* que atuará efetivamente nas reações fotoquímicas (Guidi et al. 2017). A literatura explica que o aumento da clorofila *b* em ambientes

sombreados também pode ser em resultado da menor taxa de degradação em relação à clorofila *a* (Shimoda et al. 2012).

Os indivíduos de sombra apresentaram os maiores teores de carotenoides. Alguns estudos também demonstraram que os teores de carotenoides aumentam com a redução da luz no ambiente (Scalon et al. 2003; Lima et al. 2010). Esse pigmento acessório pode auxiliar na absorção da luz, atuando como fotorreceptor do aparato fotoquímico (Guidi et al. 2017). Em ambientes sombreados a maior transmitância de luz está entre 400 e 500 nm (faixa do azul), o que favorece a absorção de energia pelos carotenoides. Assim, uma vez associados às clorofilas no complexo antena e aos centros de reação, eles auxiliam o processo fotossintético por transferir a energia absorvida para as clorofilas (Guidi et al. 2017).

A alta concentração de compostos fenólicos na espécie arbórea *Q. grandiflora* e dos indivíduos nos ambientes a pleno sol de *R. viburnoides* parece indicar uma atividade de fotoproteção. A literatura sugere que concentração de compostos fenólicos é maior nos indivíduos sob maior irradiância como uma estratégia de proteção contra os radicais livres gerados pelo excesso de energia. Assim, a planta produz esses compostos antioxidantes (Heck et al. 2008).

O teor de proteínas nas folhas de *Q. grandiflora* está de acordo com o relatado na literatura de que folhas de sol apresentam maior teor do que folhas de sombra (Givnish 1988). Entretanto, em *R. viburnoides* as folhas de sombra apresentam maior teor proteico. Nos indivíduos onde a quantidade de aminoácidos foi maior, a quantidade de proteínas quantificada por unidade de massa fresca foi menor nas duas espécies. Isso acontece porque a degradação de proteínas possibilita a reciclagem dos aminoácidos totais e, conseqüentemente, a elevação dos seus níveis com redução dos níveis de proteína (Vierstra 1996).

O acúmulo de amido foi maior tanto em *Q. grandiflora* quanto em *R. viburnoides* nos ambientes a pleno sol. Sob elevadas temperaturas e irradiância os níveis foliares de amido são mais elevados e essa alta concentração de amido pode acarretar na redução nas taxas fotossintéticas (Goldschmidt e Huber 1992). Esse amido acumulado nos indivíduos encontrados nos ambientes a pleno sol pode comprimir os cloroplastos,

aprisionar o carbonos necessários a fotossíntese, promovendo a retroinibição da fotossíntese, como observados no presente estudo.

Os resultados desse estudo diferem do esperado, de acordo com a literatura, pois demonstram que as duas espécies apresentam as maiores taxas fotossintéticas no ambiente sombreado, possivelmente pelas temperaturas amenas do ambiente de sombra favorecer um melhor microclima nas folhas. Além disso, os parâmetros calculados na fluorescência da clorofila *a* indicam que os indivíduos nos três ambientes não estão passando por danos no processo fotossintético e aparentemente ajustados às diferentes condições ambientais, apresentando também um bom funcionamento dos dois fotossistemas. Os pigmentos fotossintéticos também contribuem para esse ajuste fotossintético nos indivíduos, pois no ambiente de sombra a concentração destes é maior, proporcionando captura mais eficiente da luz. Os resultados do presente estudo permitem inferir com base nas análises de trocas gasosas, fluorescência da clorofila *a* e composição bioquímica que as duas espécies não apresentam sinais de estresse nas fitofisionomias amostradas em razão de diferenças na irradiância.

Agradecimentos

Os autores agradecem ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo financiamento do projeto (457474/2014-9) e concessão da Bolsa de Produtividade de Pesquisa a orientadora Professora Doutora Aristéa Alves Azevedo (312190/2013-1). Ao suporte financeiro da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoa de Nível Superior (CAPES). À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais pela Bolsa de Doutorado do estudante Tiago Santana Rosa. A Floresta Nacional de Paraopeba (FLONA), ICM-Bio-MMA/Ministério do Meio Ambiente pelas autorizações de coleta e apoio logístico. E aos professores Dr. Fábio Murilo Damatta e Julio César Neves por gentilmente cederem os equipamentos MINIPAN e IRGA.

Referências bibliográficas

Andrade, L.R.M., Barros, L.M.G., Echevarria, G.F., Amaral, L.I., Cotta, M.G.,

- Rossatto, D.R., Haridasan, M., and Franco, A.C. 2011. Al-hyperaccumulator Vochysiaceae from the Brazilian Cerrado store aluminum in their chloroplasts without apparent damage. *Environ. Exp. Bot.* **70**: 37–42. doi:10.1016/j.envexpbot.2010.05.013.
- Ashton, P.M.S., and Berlyn, G.P. 1992. Leaf adaptations of some *Shorea* species to sun and shade. *New Phytol.* **121**: 587–596. doi:10.1111/j.1469-8137.1992.tb01130.x.
- Baker, N.R. 2008. Chlorophyll fluorescence: A probe of photosynthesis in vivo. *Annu. Rev. Plant Biol.* **59**: 89–113. doi:10.1146/annurev.arplant.59.032607.092759.
- Björkman, O., and Demmig, B. 1987. Photon yield of O₂ evolution and chlorophyll fluorescence characteristics at 77K among vascular plants of diverse origins. *Planta* **170**: 489–504. doi:10.1007/BF00402983.
- Bradford, M.M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.* **72**: 248–254. doi:10.1016/0003-2697(76)90527-3.
- Brodribb, T. 1996. Dynamics of changing intercellular CO₂ concentration (*C_i*) during drought and determination of minimum functional *C_i*. *Plant Physiol.* **111**: 179–185. doi:10.1104/pp.111.1.179.
- Fernie, A.R., Roscher, A., Ratcliffe, R.G., and Kruger, N.J. 2001. Fructose 2,6-bisphosphate activates pyrophosphate: Fructose-6-phosphate 1-phosphotransferase and increases triose phosphate to hexose phosphate cycling heterotrophic cells. *Planta* **212**: 250–263. doi:10.1007/s004250000386.
- Genty, B., Briantais, J.M., and Baker, N.R. 1989. The relationship between the quantum yield of photosynthetic electron transport and quenching of chlorophyll fluorescence. *Biochim. Biophys. Acta* **990**: 87–92. doi:10.1016/S0304-4165(89)80016-9.
- Givnish, T.J. 1988. Adaptation to sun and shade : a whole-plant perspective. *Aust. J. Plant Physiol.* **15**: 63–92. doi:10.1071/PP98003.
- Goldschmidt, E.E., and Huber, S.C. 1992. Regulation of photosynthesis by end-product accumulation in leaves of plants storing starch, sucrose, and hexose sugars. *Plant Physiol.* **99**: 1443–1448. doi:10.1104/pp.99.4.1443.

- Gonçalves, J.F., and Santos-Junior, U.M. 2005. Utilization of the chlorophyll a fluorescence technique as a tool for selecting tolerant species to environments of high irradiance. *Brazilian J. Plant Physiol.* **17**: 307–313. doi:10.1590/S1677-04202005000300005.
- Goulart, M.F., Lovato, M.B., Barros, F. de V., Valladares, F., and Lemos-Filho, J.P. 2011. Which extent is plasticity to light involved in the ecotypic differentiation of a tree species from savanna and forest? *Biotropica* **43**: 695–703. doi:10.1111/j.1744-7429.2011.00760.x.
- Gregoriou, K., Pontikis, K., and Vemmos, S. 2007. Effects of reduced irradiance on leaf morphology, photosynthetic capacity, and fruit yield in olive (*Olea europaea* L.). *Photosynthetica* **45**: 172–181. doi:10.1007/s11099-007-0029-x.
- Guidi, L., and Innocenti, E.D. 2011. Imaging of chlorophyll a fluorescence : A tool to study abiotic stress in plants. *In Abiotic Stress in Plants - Mechanisms and Adaptations. Edited by A. Shanker and B. Venkateswarlu.* Intech. pp. 3–20. doi:10.5772/22281.
- Guidi, L., Tattini, M., and Landi, M. 2017. How does chloroplast protect chlorophyll against excessive light? *In Chlorophyll. Edited by E. Jacob-Lopes, L.Q. Zepka, and M.I. Queiroz.* pp. 21–36. doi:10.5772/50570.
- Haitz, M., and Lichtenthaler, H. 1988. The measurement of Rfd-values as plant vitality indices with the portable field fluorometer and the PAM-fluorometer. *In Applications of Chlorophyll Fluorescence in Photosynthesis Research, Stress Physiology, Hydrobiology and Remote Sensing. Edited by L. H.K. Springer.* pp. 249–254. doi:10.1007/978-94-009-2823-7_31.
- Hanba, Y.T., Kogami, H., and Terashima, I. 2002. The effect of growth irradiance on leaf anatomy and photosynthesis in *Acer* species differing in light demand. *Plant, Cell Environ.* **25**: 1021–1030. doi:10.1046/j.1365-3040.2002.00881.x.
- Havaux, M., and Niyogi, K.K. 1999. The violaxanthin cycle protects plants from photooxidative damage by more than one mechanism. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **96**: 8762–8767. doi:10.1073/pnas.96.15.8762.
- Heck, C.I., Schmalko, M., and De Mejia, E.G. 2008. Effect of growing and drying conditions on the phenolic composition of mate teas (*Ilex*

- paraguariensis*). J. Agric. Food Chem. **56**: 8394–8403. doi:10.1021/jf801748s10.1021/jf801748s.
- Howell, T.A. 2001. Enhancing water use efficiency in irrigated agriculture. *Agronomy* **93**: 281–289. doi:doi:10.2134/agronj2001.932281x.
- Igamberdiev, A.U., Mikkelsen, T.N., Ambus, P., Bauwe, H., Lea, P.J., and Gardeström, P. 2004. Photorespiration contributes to stomatal regulation and carbon isotope fractionation: A study with barley, potato and Arabidopsis plants deficient in glycine decarboxylase. *Photosynth. Res.* **81**: 139–152. doi:10.1023/B:PRES.0000035026.05237.ec.
- Katherine, M.A., and L. Kirkman. 2005. Growth and photosynthetic responses of the federally endangered shrub, *Lindera melissifolia* (Lauraceae), to varied light environments. *Am. J. Bot.* **92**: 682–689. doi:10.3732/ajb.92.4.682.
- Klughammer, C., and Schreiber, U. 2008. Complementary PS II quantum yields calculated from simple fluorescence parameters measured by PAM fluorometry and the Saturation Pulse method. *PAM Appl. Notes* **1**: 11–14. doi: PAN078007.
- van Kooten, O., and Snel, J.F.H. 1990. The use of chlorophyll fluorescence nomenclature in plant stress physiology. *Photosynth. Res.* **25**: 147–150. doi:10.1007/BF00033156.
- Lee, D.W., Oberbauer, S.F., Johnson, P., Krishnapilay, B., Mansor, M., Mohamad, H., Yap, S.K., Asha, S., Bakar, A., Salleh, Z., Ang, K.C., Bahari, Z., Idaris, N., Hashim, H., So, J., Alias, R., Jin, A., Phillips, B., Pop, E., Mahr, F., Morera, M., Trexler, J., and Turner, T. 2000. Effects of irradiance and spectral quality on leaf structure and function in seedlings of two southeast asian *Hopea* (Dipterocarpaceae) species. *Am. J. Bot.* **87**: 447–455. doi:10.2307/2656588.
- Lemos-Filho, J.P. De. 2000. (Photoinhibition in three “cerrado” species (*Annona crassifolia*, *Eugenia dysenterica* and *Campomanesia adamantium*), in the dry and rainy seasons. *Rev. Bras. Botânica* **23**: 45–50. doi:10.1590/S0100-84042000000100005.
- Lichtenthaler, H.K. 1987. Chlorophylls and Carotenoids: Pigments of photosynthetic biomembranes. *Methods Enzymol.* **148**: 350–382. doi:10.1016/0076-6879(87)48036-1.

- Lichtenthaler, H.K., Babani, F., and Langsdorf, G. 2007. Chlorophyll fluorescence imaging of photosynthetic activity in sun and shade leaves of trees. *Photosynth. Res.* **93**: 235–244. doi:10.1007/s11120-007-9174-0.
- Lichtenthaler, H.K., Buschmann, C., Rinderle, U., and Schmuck, G. 1986. Application of chlorophyll fluorescence in ecophysiology. *Radiat. Environ. Biophys.* **25**: 297–308. doi:10.1007%2FBF01214643.
- Lima, A.L. da S., Zanella, F., and Castro, L.D.M. de. 2010. Growth of *Hymenaea courbaril* L. var. *stilbocarpa* (Hayne) Lee et Lang. e *Enterolobium contortisiliquum* (Vell.) Morong (Leguminosae) under different shading levels. *Acta Amaz.* **40**: 43–48. doi:10.1590/S0044-59672010000100006.
- Maina, J.N., and Wang, Q. 2015. Seasonal response of chlorophyll a/b ratio to stress in a typical desert species: *Haloxylon ammodendron*. *Arid L. Res. Manag.* **29**: 321–334. doi:10.1080/15324982.2014.980588.
- Malta, P.G., Arcanjo-Silva, S., Ribeiro, C., Campos, N.V., and Azevedo, A.A. 2016. *Rudgea viburnoides* (Rubiaceae) overcomes the low soil fertility of the Brazilian Cerrado and hyperaccumulates aluminum in cell walls and chloroplasts. *Plant Soil* **408**: 364–384. doi:10.1007/s11104-016-2926-x.
- Meinzer, F.C., Goldstein, G., Franco, A.C., Bustamante, M., Iglar, E., Jackson, P., Caldas, L., and Rundel, P.W. 1999. Atmospheric and hydraulic limitations on transpiration in Brazilian Cerrado woody species. *Funct. Ecol.* **13**: 273–282. doi:10.1046/j.1365-2435.1999.00313.x.
- Muller, P., Li, X.-P., and Niyogi, K.K. 2001. Non-Photochemical Quenching. A Response to Excess Light Energy. *Plant Physiol.* **125**: 1558–1566. doi:10.1104/pp.125.4.1558.
- Murata, N., Takahashi, S., Nishiyama, Y., and Allakhverdiev, S.I. 2007. Photoinhibition of photosystem II under environmental stress. *Biochim. Biophys. Acta - Bioenerg.* **1767**: 414–421. doi:10.1016/j.bbabi.2006.11.019.
- Neri, A. V., Schaefer, C.E.G.R., Silva, A.F., Souza, A.L., Ferreira-Junior, W.G., and Meira-Neto, J.A.A. 2012. The influence of soils on the floristic composition and community structure of an area of Brazilian Cerrado vegetation. *Edinburgh J. Bot.* **69**: 1–27. doi:10.1017/S0960428611000382.

- Neri, A. V., Schaefer, C.E.G.R., Souza, A.L., Ferreira-Junior, W.G., and Meira-Neto, J.A.A. 2013. Pedology and plant physiognomies in the cerrado, Brazil. *An. Acad. Bras. Cienc.* **85**: 87–102. doi:10.1590/S0001-37652013000100007.
- Niinemets, Ü., and Kull, O. 2001. Sensitivity of photosynthetic electron transport to photoinhibition in a temperate deciduous forest canopy: Photosystem II center openness, non-radiative energy dissipation and excess irradiance under field conditions. *Tree Physiol.* **21**: 899–914. doi:10.1093/treephys/21.12-13.899.
- Paiva, É.A., Isaias, R.M., Vale, F.H., and Queiroz, C.G. 2003. The influence of light intensity on anatomical structure and pigment contents of *Tradescantia pallida* (Rose) Hunt. cv. *purpurea* boom (Commelinaceae) leaves. *Brazilian Arch. Biol. Technol.* **46**: 617–624. doi:10.1590/S1516-89132003000400017.
- Palhares, D., Franco, A.C., and Zaidan, L.B.P. 2010. Photosynthetic responses of Cerrado plants during the rainy and dry seasons. *Brazilian J. Biosci.* **8**: 213–220. doi:1399-8154-1.
- Paula, S.M., Naves, E.R., Franco, I.M., Padua, K.J.M., Silva, K.R., Fernandes, W.P., Oliveira, D.C., Lemos-Filho, J.P., and Moreira, A.S.F.P. 2015. Photosynthetic performance of young and mature leaves of *Vochysia cinnamomea* (Vochysiaceae) at intact and after fire areas of Cerrado. *Biosci. J.* **31**: 591–600. doi:10.14393/BJ-v31n2a2015-23474.
- Pereira, W.E., De Siqueira, D.L., Martínez, C.A., and Puiatti, M. 2000. Gas exchange and chlorophyll fluorescence in four *Citrus* rootstocks under aluminium stress. *J. Plant Physiol.* **157**: 513–520. doi:10.1016/S0176-1617(00)80106-6.
- Powles, S.B. 1984. Photoinhibition of Photosynthesis Induced by Visible Light. *Annu. Rev. Plant Physiol.* **35**: 15–44. doi:10.1146/annurev.pp.35.060184.000311.
- Prado, C.H.B., Wenhui, Z., Rojas, M.H.C., and Souza, G.M. 2004. Seasonal leaf gas exchange and water potential in a woody cerrado species community. *Brazilian J. Plant Physiol.* **16**: 7–16. doi:10.1590/S1677-04202004000100002.
- Rabelo, G.R., Vitória, Â.P., da Silva, M.V.A., Cruz, R.A., Pinho, E.I.B., Ribeiro,

- D.R., Freitas, A. V., and Da Cunha, M. 2013. Structural and ecophysiological adaptations to forest gaps. *Trees - Struct. Funct.* **27**: 259–272. doi:10.1007/s00468-012-0796-2.
- Ribeiro, J.F., and Walter, B.M.T. 2008. As principais fitofisionomias do bioma Cerrado. *In* Cerrado: Ecologia e flora, 1st edition. *Edited by* S.M. Sano, S.P. de Almeida, and J.F. Ribeiro. pp. 152–212. doi:S0104-7760201300020000500041.
- Rinderle, U., and Lichtenthaler, H.K. 1988. The chlorophyll fluorescence ratio f_{690}/f_{735} as a possible stress indicator. *In* Applications of Chlorophyll Fluorescence. pp. 189–196. doi:10.1007/978-94-009-2823-7_23.
- Roháček, K. 2002. Chlorophyll fluorescence parameters: The definitions, photosynthetic meaning, and mutual relationships. *Photosynthetica* **40**: 13–29. doi:10.1023/A:1020125719386.
- Scalon, S., Mussury, R., Rigoni, M., and Scalon-Filho, H. 2003. Initial growth of *Bombacopsis glabra* (Pasq.) a. robyns seedlings under shading conditions. *Rev. Árvore* **6**: 753–758. doi:10.1590/S0100-67622003000600001.
- Shimoda, Y., Ito, H., and Tanaka, A. 2012. Conversion of chlorophyll b to chlorophyll a precedes magnesium dechelation for protection against necrosis in *Arabidopsis*. *Plant J.* **72**: 501–511. doi:10.1111/j.1365-313X.2012.05095.x.
- Shinozaki, K., and Yamaguchi-Shinozaki, K. 2007. Gene networks involved in drought stress response and tolerance. *J. Exp. Bot.* **58**: 221–227. doi:10.1093/jxb/erl164.
- Sienkiewicz-Porzucek, A., Nunes-Nesi, A., Sulpice, R., Lisec, J., Centeno, D.C., Carillo, P., Leisse, A., Urbanczyk-Wochniak, E., and Fernie, A.R. 2008. Mild reductions in mitochondrial citrate synthase activity result in a compromised nitrate assimilation and reduced leaf pigmentation but have no effect on photosynthetic performance or growth. *Plant Physiol.* **147**: 115–27. doi:10.1104/pp.108.117978.
- Silva, A.S., Oliveira, J.G., da Cunha, M., and 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 J. Plant Physiol.* **22**: 245–254. doi:00.0000/S00000-000-0000-0.

- Sun, T., Xu, Z., Wu, C.T., Janes, M., Prinyawiwatkul, W., and No, H.K. 2007. Antioxidant activities of different colored sweet bell peppers (*Capsicum annuum* L.). *J. Food Sci.* **72**: 98–102. doi:10.1111/j.1750-3841.2006.00245.x.
- Takahashi, S., and Badger, M.R. 2011. Photoprotection in plants: A new light on photosystem II damage. *Trends Plant Sci.* **16**: 53–60. Elsevier Ltd. doi:10.1016/j.tplants.2010.10.001.
- Valladares, F., Hernández, L.G., Dobarro, I., García-Pérez, C., Sanz, R., and Pugnaire, F.I. 2003. The ratio of leaf to total photosynthetic area influences shade survival and plastic response to light of green-stemmed leguminous shrub seedlings. *Ann. Bot.* **91**: 577–584. doi:10.1093/aob/mcg059.
- Vierstra, R.D. 1996. Proteolysis in plants: mechanisms and functions. *Plant Mol. Biol.* **32**: 275–302. doi:10.1007/BF00039386.
- Walters, M.B., Kruger, E.L., and Reich, P.B. 1993. Growth, biomass distribution and CO₂ exchange of northern hardwood seedlings in high and low light: relationships with successional status and shade tolerance. *Oecologia* **94**: 7–16. doi:10.1007/BF00317294.
- Warren, C.R. 2008. Does growth temperature affect the temperature responses of photosynthesis and internal conductance to CO₂? A test with *Eucalyptus regnans*. *Tree Physiol.* **28**: 11–19. doi:10.1093/treephys/28.1.11.
- Yu, G., Wang, Q., and Zhuang, J. 2004. Modeling the water use efficiency of soybean and maize plants under environmental stresses : application of a synthetic model of photosynthesis-transpiration based on stomatal behavior. *J. Plant Physiol.* **161**: 303–318. doi:10.1016/j.jplp.2004.03.003.
- Zhang, H., Zhong, H., Wang, Ji., Sui, X., and Xu, N. 2016. Adaptive changes in chlorophyll content and photosynthetic features to low light in *Physocarpus amurensis* Maxim and *Physocarpus opulifolius* “Diabolo.” *PeerJ* **4**: 1–23. doi:10.7717/peerj.2125.
- Zhang, S., Li, Q., Ma, K., and Chen, L. 2001. Temperature-dependent gas exchange and stomatal/non-stomatal limitation to CO₂ assimilation of *Quercus liaotungensis* under midday high irradiance. *Photosynthetica* **39**: 383–388. doi:10.1023/A:1015130326683.

MATERIAL SUPLEMENTAR

Tabela 1 - Valores médios e desvios-padrão das variáveis fisiológicas em *Rudgea viburnoides* e *Qualea grandiflora* em três ambientes de Cerrado: Cerradão distrófico sobre latossolo vermelho (CDLV), Cerrado *sensu stricto* sobre latossolo amarelo (CsslA) e Cerrado *sensu stricto* sobre Cambissolo (CsslCXB). As letras correspondem a: A - Assimilação líquida de carbono ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$); E - Transpiração ($\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$); g_s - Condutância estomática ($\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$); Ci - Concentração interna de CO_2 ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ mol}^{-1}$); Ci/Ca - Razão concentração interna e externa de carbono ($\mu\text{mol CO}_2$); A/Ci - Eficiência instantânea da carboxilação [$(\mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}) (\mu\text{mol mol}^{-1})^{-1}$]; A/E - Eficiência instantânea de uso da água ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ mmol}^{-1} \text{ H}_2\text{O}$); A/ g_s - Eficiência intrínseca de uso da água ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ mol}^{-1} \text{ H}_2\text{O}$).

		CARACTERÍSTICAS FISIOLÓGICAS							
ESPÉCIES	AMBIENTE	A	E	g_s	Ci	Ci/Ca	A/Ci	A/E	A/ g_s
<i>Rudgea viburnoides</i>	CDLV	8.33 ± 0.32 ^a	3.34 ± 0.18 ^a	0.14 ± 0.04 ^a	257.67 ± 4,46 ^b	0.65 ± 0.01 ^b	0.03 ± 0.001 ^a	2.43 ± 0.15 ^a	62.48 ± 20.02 ^a
	CsslA	6.72 ± 0.43 ^b	2.54 ± 0.24 ^b	0.15 ± 0.05 ^a	298.68 ± 13.97 ^a	0.76 ± 0.04 ^a	0.02 ± 0.001 ^b	2.66 ± 0.30 ^a	46.39 ± 10.33 ^a
	CsslCXB	6.92 ± 0.43 ^b	2.67 ± 0.17 ^b	0.12 ± 0.01 ^a	297.52 ± 4.58 ^a	0.75 ± 0.01 ^a	0.02 ± 0.002 ^b	2.60 ± 0,23 ^a	56.62 ± 6.21 ^a
<i>Qualea grandiflora</i>	CDLV	14.65 ± 1.28 ^a	3.68 ± 0.29 ^a	0.14 ± 0.04 ^a	288.55 ± 2.17 ^c	0.73 ± 0.01 ^b	0.05 ± 0.004 ^a	3.97 ± 0.55 ^a	104.61 ± 30.74 ^a
	CsslA	7.27 ± 0.47 ^c	3.17 ± 0.19 ^b	0.17 ± 0.03 ^a	305.63 ± 2.01 ^a	0.79 ± 0.03 ^a	0.02 ± 0.003 ^c	2.29 ± 0.11 ^c	42.76 ± 19.64 ^b
	CsslCXB	8.67 ± 0.79 ^b	3.43 ± 0.11 ^b	0.15 ± 0.04 ^a	294.71 ± 2.22 ^b	0.75 ± 0.01 ^a	0.03 ± 0.003 ^b	2.66 ± 0.32 ^b	57.89 ± 15.25 ^b

Letras diferentes para mesma variável (mesma coluna) na mesma espécie, significam que os valores são estatisticamente diferentes ($p < 0,05$ teste de Tukey) ($n = 10$).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados morfoanatômicos demonstraram que as duas espécies apresentam características típicas de indivíduos de sol e sombra, assim como as espécies florestais, como maior área foliar e área foliar específica em ambientes sombreados e maior massa seca e densidade foliar e maiores espessuras total, da epiderme adaxial e do parênquima paliçádico nos ambientes a pleno sol. *R. viburnoides* apresenta diferenças na espessura dos tecidos entre os ambientes relacionadas com a irradiância, porém, a proporção dos tecidos não é alterada entre os ambientes. Já em *Q. grandiflora* a proporção dos tecidos apresenta alterações substanciais nas estruturas anatômicas entre os ambientes, indicando maior plasticidade desta espécie.

As duas espécies hiperacumuladoras de alumínio acumulam este elemento diferencialmente, ocorrendo maiores taxas de acúmulo nos ambientes a pleno sol, uma vez que o alumínio é transportado até a parte aérea via corrente transpiratória.

Uma observação interessante foi a ocorrência do silício nos mesmos sítios que o alumínio, principalmente nos ambientes a pleno sol, formando complexos que podem reduzir a toxicidade do Al e também refletir o excesso de irradiação por se concentrar na epiderme. Além disso, devido a pobreza dos solos, essas duas espécies parecem utilizar o Na para auxiliar no processo de osmorregulação devido ao baixo teor de K nos solos.

Foi observado também que as duas espécies apresentam as maiores taxas fotossintéticas no ambiente sombreado, possivelmente pelas temperaturas amenas do ambiente de sombra favorecer um melhor microclima nas folhas e a atividade carboxilase da Rubisco. Além disso, os parâmetros calculados na fluorescência da clorofila *a* indicam que os indivíduos nos três ambientes não estão passando por danos no processo fotossintético e aparentemente ajustados as diferentes condições ambientais, apresentando também um bom funcionamento dos dois fotossistemas. Os pigmentos fotossintéticos também contribuem para esse ajuste fotossintético nos indivíduos, pois nos ambientes de sombra a concentração destes é maior, proporcionando captura mais eficiente da luz. Os resultados do presente estudo permitem inferir com base nas análises de trocas gasosas,

fluorescência da clorofila *a* e composição bioquímica que as duas espécies não apresentam sinais de estresse nas fitofisionomias amostradas em razão de diferenças na irradiância.