

CAROLINA SOUZA DE CASTRO

**CARACTERÍSTICAS HIDRÁULICAS E FOTOSSINTÉTICAS EM ESPÉCIES C3 E
C4 PROXIMAMENTE RELACIONADAS**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

Orientador: Samuel Cordeiro Vitor Martins

Coorientadores: Adriano Nunes Nesi
Fábio Murilo DaMatta

**VIÇOSA - MINAS GERAIS
2023**

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central da Universidade Federal de Viçosa - Campus Viçosa

T

C355c
2023
Castro, Carolina Souza de, 1997-
Características hidráulicas e fotossintéticas em espécies C3 e C4 aproximadamente relacionadas / Carolina Souza de Castro. – Viçosa, MG, 2023.

1 dissertação eletrônica (35 f.): il. (algumas color.).

Orientador: Samuel Cordeiro Vitor Martins.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa, Departamento de Biologia Vegetal, 2023.

Referências bibliográficas: f. 26-31.

DOI: <https://doi.org/10.47328/ufvbbt.2023.591>

Modo de acesso: World Wide Web.

1. Fotossíntese. 2. Plantas - Efeito da umidade.
3. Isoenzimas vegetais. I. Martins, Samuel Cordeiro Vitor, 1986-. II. Universidade Federal de Viçosa. Departamento de Biologia Vegetal. Programa de Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal. III. Título.

CDD 22. ed. 572.46

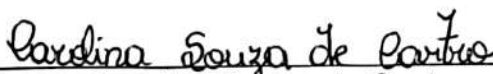
CAROLINA SOUZA DE CASTRO

**CARACTERÍSTICAS HIDRÁULICAS E FOTOSSINTÉTICAS EM ESPÉCIES C3 E
C4 PROXIMAMENTE RELACIONADAS**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

APROVADA: 01 de agosto de 2023

Assentimento:



Carolina Souza de Castro
Autora



Samuel Cordeiro Vitor Martins
Orientador

*Aos meus pais, irmãs e amigos.
A minha cachorra Luna (em memória).*

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer a Deus, pela força nos momentos difíceis longe de casa. E, como devota, não poderia deixar de agradecer a minha segunda Mãe, Nossa Senhora, que sempre está presente na minha vida.

A minha família, meus pais Cida e Camilo por todo apoio e incentivo durante essa trajetória, e as minhas irmãs Camila e Gabriela por cuidarem da minha mãe enquanto eu estou longe.

Gostaria de agradecer aos meus amigos que, mesmo distantes, continuaram presentes na minha vida.

Aos novos amigos que a cidade de Viçosa me deu.

Ao Laboratório de Hidráulica de plantas (LHP) por todo conhecimento que adquiri durante esses anos, em especial ao colega Eduardo, pela enorme paciência ao me ensinar, Leonardo, Talitha e Mayra e aos demais membros do laboratório.

Também ao Laboratório de Nutrição e Metabolismo de Plantas (LNMP) por compartilharem o mesmo ambiente de trabalho e pela ajuda nos experimentos. Em especial aos membros Pablo, Antonio e Jailson.

Ao Técnico Guilherme pelo socorro quando os equipamentos não colaboravam e à Técnica Aurora, da anatomia, pela ajuda e sensibilidade no período final do meu trabalho.

Ao meu orientador Samuel C.V. Martins por ter aceitado me orientar.

Aos demais colegas e amigos que participaram direta ou indiretamente durante a condução dos experimentos.

Agradeço em especial aos meus amigos Jéssica, Ana Luiza e Marcos pelo suporte durante o processo, mas, principalmente, pelo suporte emocional durante a conclusão do trabalho.

Ao meu professor da Graduação, Patrik Pastori, que foi quem me incentivou a fazer parte do programa de Fisiologia Vegetal.

Ao Programa de Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal pela infraestrutura e suporte.

À Universidade Federal de Viçosa, pela oportunidade de realizar a pós-graduação.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG), pela concessão da bolsa de estudos.

“Assim como o céu, eu não sou, eu estou acontecendo”.
(Pedro Salomão)

RESUMO

CASTRO, Carolina Souza de, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, agosto de 2023. **Características hidráulicas e fotossintéticas em espécies C3 e C4 proximamente relacionadas**. Orientador: Samuel Cordeiro Vitor Martins. Coorientadores: Adriano Nunes Nesi e Fábio Murilo DaMatta.

As plantas C4 são conhecidas por manter uma alta eficiência fotossintética e maior eficiência do uso da água em relação às espécies C3. No entanto, pouco se sabe sobre as diferenças nas relações hídricas entre os tipos fotossintéticos, principalmente em espécies pertencentes a grupos de transição entre os tipos C3 e C4. Este trabalho teve como objetivo explorar as características hidráulicas, anatômicas e fotossintéticas em espécies C3 (*Tarenaya hassleriana* (Th) e *T. longicarpa* (Tl)) e C4 (*Gynandropsis gynandra* (Gg)) relacionadas da família Cleomaceae. Nos parâmetros de relações hídricas, o teor relativo de água no ponto de perda de turgescência foi similar nas três espécies (0,89). As espécies Th e Gg apresentaram valores similares para o potencial osmótico em turgescência plena (-0,80 MPa), potencial hídrico no ponto de perda de turgor (-0,84 MPa) e na capacitância pré-perda de turgor (C_{PT} , 1,30 mol m⁻² MPa⁻¹); no entanto, a C4 apresentou uma alta C_{PPT} (6,28 mol m⁻² MPa⁻¹). As espécies Tl e Gg apresentaram taxas fotossintéticas semelhantes (22,35 μmol CO₂ m⁻² s⁻¹), porém a espécie C4 apresentou a menor razão entre a taxa de transporte de elétrons pela taxa fotossintética (5,95). Em relação à condutância hidráulica foliar, as três espécies obtiveram valores semelhantes. Por outro lado, as espécies C3 foram mais vulneráveis à cavitação do que a espécie C4, sendo que esta última apresentou a maior margem de segurança hidráulica. Com isso, a espécie C4 pode ser considerada como uma planta eficiente e segura do ponto de vista hidráulico, sugerindo que tal vantagem pode ter sido chave para a evolução em ambientes áridos.

Palavras-chave: Eficiência hidráulica. Vulnerabilidade hidráulica. Eficiência do uso da água. Cleomaceae.

ABSTRACT

CASTRO, Carolina Souza de, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, August 2023. **Hydraulic and photosynthetic traits in closely related C3 and C4 species.** Adviser: Samuel Cordeiro Vitor Martins. Co-advisers: Adriano Nunes Nesi and Fábio Murilo DaMatta.

C4 plants are known for maintaining high photosynthetic efficiency and greater water use efficiency than C3 species. However, little is known about differences in water relations between photosynthetic types, especially in species belonging to transitional groups between types C3 and C4. This work aimed to explore the hydraulic, anatomical, and photosynthetic characteristics in related C3 (*Tarenaya hassleriana* (Th) and *T. longicarpa* (Tl)) and C4 (*Gynandropsis gynandra* (Gg)) species of the Cleomaceae family. In the parameters of water relations, the relative water content at the point of loss of turgor was (TLP) similar in the three species (0.89). Th and Gg species showed similar values for osmotic potential at full turgor (-0.80 MPa), water potential at the turgor loss point (-0.84 MPa), and capacitance at full turgor and turgor loss point (C_{FT} , $1.30 \text{ mol m}^{-2} \text{ MPa}^{-1}$); however, C4 showed a high C_{TLP} ($6.28 \text{ mol m}^{-2} \text{ MPa}^{-1}$). The Tl and Gg species showed similar photosynthetic rates ($22.35 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), but the C4 species had the lowest ratio between the electron transport rate and the photosynthetic rate (5.95). Regarding leaf hydraulic conductance, the three species obtained similar values. On the other hand, the C3 species were more vulnerable to cavitation than the C4 species, the latter having the highest hydraulic safety margin. As a result, the C4 species can be considered an efficient and safe plant from the hydraulic point of view, suggesting that this advantage may have been key to the evolution in arid environments.

Keywords: Hydraulic efficiency. Hydraulic vulnerability. Water use efficiency. Cleomaceae.

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

A_n = taxa fotossintética líquida

C_i = concentração interna foliar de CO_2

C_{PP} = capacitância foliar pré-perda de turgor

C_{PPT} = capacitância foliar pós-perda de turgor

CSA = conteúdo saturado de água

EUA_i = Eficiência do uso da água intrínseca

ε = módulo de elasticidade

E = transpiração foliar

ETR/A_n = razão ETR/A_n

g_{min} = condutância foliar mínima

g_s = condutância estomática

K_{folha} = condutância hidráulica foliar

MFA = massa foliar por área

MSH = margem de segurança hidráulica

P_{12} , P_{50} e P_{88} = potencial hídrico responsável por 12, 50 e 88 % da área cumulativa de embolismo, respectivamente

$PPCR_{12}$ e $PPCR_{50}$ = 12 e 50 % da perda percentual da capacidade de reidratação, respectivamente

TRA_{PPT} = teor relativo de água no ponto de perda de turgor

Ψ_{PPT} = potencial hídrico no ponto de perda de turgor foliar

Ψ_{s100} = potencial osmótico em turgescência plena

Ψ_w = potencial hídrico

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	11
2. MATERIAL E MÉTODOS	15
2.1 Material vegetal e condução do experimento	15
2.2 Curva de pressão-volume	15
2.3 Trocas gasosas	16
2.4 Condutividade hidráulica e anatomia foliar	16
2.5 Condutância mínima	17
2.6 Perda percentual da capacidade de reidratação	17
2.7 Curva de vulnerabilidade e margem de segurança hidráulica	18
2.8 Análises estatísticas	19
3. RESULTADOS	19
4. DISCUSSÃO	20
5. CONCLUSÕES	25
6. REFERÊNCIAS	26
7. TABELAS E FIGURAS	32

1. INTRODUÇÃO

A maioria das plantas conhecidas são classificadas como C3 devido ao seu ciclo bioquímico de fixação de carbono. Esse ciclo inicia com a enzima Rubisco fixando o CO₂ atmosférico e gerando um ácido orgânico de três carbonos denominado 3-fosfoglicerato (3PG) (Osborne & Sack, 2012). No entanto, a enzima Rubisco possui dupla afinidade, sendo capaz de fixar tanto o CO₂ (carboxilação), quanto o O₂ (oxigenação) (Bauwe, 2011; Osborne & Sack, 2012).

Ao fixar o O₂, além de produzir o 3PG, ela também produz o composto 2-fosfoglicolato (2PG). Este composto, diferente do 3PG, não está apto para seguir diretamente para o ciclo de Calvin-Benson, dessa forma, ele deverá passar por uma série de reações para ser metabolizado em 3PG, liberando CO₂. Este processo é denominado de fotorrespiração (Bauwe, 2011).

No entanto, o ciclo C3 não é o único presente nas plantas superiores, o tipo C4 também se encontra presente de forma significativa, sendo este desenvolvido a partir do C3 após anos de adaptações (Sage, 2004, 2021). O mecanismo C4 envolve modificações anatômicas e bioquímicas que possibilitam o acúmulo de CO₂ próximo à enzima Rubisco (Sage, 2004; Osborne & Sack, 2012).

No mecanismo C4 ocorre a fixação inicial de bicarbonato (HCO₃) por uma enzima não oxigenásica citosólica chamada fosfoenolpiruvato (PEP) carboxilase (PEPCase), nas células do mesófilo. É formado um ácido orgânico de quatro carbonos que é difundido para as células da bainha do feixe vascular, onde será descarboxilado para que a Rubisco possa atuar e promover a fixação do CO₂ (Marshall et al., 2007; Pearcy & Ehleringer, 1984). Um componente de destaque neste mecanismo é a alocação da enzima Rubisco que se encontra presente exclusivamente nas células da bainha do feixe (Gowik & Westhoff, 2011). Esse acúmulo de CO₂ próximo a enzima Rubisco possibilitou a redução da atividade oxigenase, tornando a fotossíntese de plantas C4 insensível a mudanças na concentração de O₂ (Pearcy & Ehleringer, 1984). Do ponto de vista evolutivo, a fotossíntese C4 evoluiu independentemente mais de 60 vezes, sendo considerada uma das evoluções mais complexas e convergentes (Sage et al., 2011).

O mecanismo C4 foi o principal meio das plantas terrestres de compensarem a fotorrespiração em ambientes críticos, particularmente aqueles altamente áridos

(Sage, 2004; Sage et al., 2011). Ou seja, em ambientes que promoveriam o aumento da fotorrespiração em plantas C3 (menor concentração de CO₂, alta luminosidade, alta temperatura e elevado déficit de pressão de vapor (DPV), as plantas C4 são capazes de manter alta taxa fotossintética através do aumento na eficiência do uso de recursos (Vogan & Sage, 2011). A seleção desse mecanismo nesses ambientes críticos pode ter sido também para compensar a tensão do sistema hidráulico da planta, devido à alta demanda evaporativa da atmosfera. A capacidade de manter uma baixa condutância estomática, aliada à alta fotossíntese, seria um meio valioso de conservar a água (Osborne & Sack, 2012). Portanto, as relações hídricas parecem ter um papel muito importante na evolução do mecanismo C4.

É bem estabelecido que as plantas C4 apresentam maior eficiência do uso da água (EUA) do que as C3, uma vez que elas utilizam menos água para fixar o CO₂ (Kocacinar, 2015; Kocacinar et al., 2008; Kocacinar & Sage, 2003; Taylor et al., 2018; Vogan & Sage, 2011). A EUA é uma característica muito importante na regulação estomática da folha (Brodribb, 2014). Estudos evolutivos comparando espécies C3, intermediárias C3-C4, semelhantes a C4 e C4 verdadeiras, chegaram à conclusão de que essa característica foi constituída em um estágio posterior na escala evolutiva, após um estabelecimento mais robusto do ciclo C4 (Kocacinar et al., 2008; Vogan & Sage, 2011). De fato, é observado um aumento da ocorrência de eu-dicotiledôneas com metabolismo fotossintético C4 associado a maior aridez (Ehleringer et al., 1997), o que pode indicar uma associação adaptativa de maior segurança hidráulica com o mecanismo fotossintético C4.

O tipo de mecanismo fotossintético altera as relações hidráulicas da planta (Kocacinar, 2015; Kocacinar et al., 2008; Kocacinar & Sage, 2003; Taylor et al., 2018). Como as plantas C4 conseguem manter uma menor condutância estomática para uma mesma taxa fotossintética quando comparadas às plantas C3, isso faz com que elas apresentem um alto potencial fotossintético acoplado a um menor risco de falha hidráulica (Osborne & Sack, 2012). Estudos mostraram que o mecanismo C4 influencia a arquitetura hidráulica da planta através de mudanças no equilíbrio entre a eficiência e segurança do xilema (Kocacinar, 2015; Kocacinar et al., 2008; Kocacinar & Sage, 2003, 2004). Aparentemente, as plantas C4 podem permitir um xilema mais seguro do que as C3 (Kocacinar, 2015; Kocacinar & Sage, 2003).

O sistema de transporte de água das plantas é vulnerável dado que a água geralmente se encontra em um estado “metaestável” em que uma perturbação pode

levar à transição da forma líquida para a gasosa. A cavitação ocorre quando se quebra a continuidade da coluna de água com a entrada de bolhas de ar no xilema devido a uma grande tensão no vaso. Quando este se encontra preenchido por ar, ele estará embolizado e incapacitado de exercer sua função de transporte (Tyree & Sperry, 1989).

Existe uma teoria em que se tem um *trade-off* entre segurança e eficiência do xilema: um xilema mais seguro seria aquele que possui vasos menores e, por consequência, menores condutividades. Por outro lado, um xilema mais eficiente, teria vasos maiores que seriam capazes de conduzir uma maior quantidade de água (Tyree et al., 1994). Uma maior eficiência pode manter uma alta taxa transpiratória e fotossintética para uma dada unidade de área do xilema ou, ainda, manter o suprimento com uma área do xilema menor (Gleason et al., 2016). Já uma maior segurança permitiria que as plantas trabalhassem sob maior tensão (Gleason et al., 2016).

No entanto, estudos recentes têm mostrado que esse *trade-off* parece ser fraco já que existem muitas espécies com baixa eficiência e segurança; além disso, não se tem encontrado espécies que evoluíram com alta eficiência e alta segurança (Gleason et al., 2016; Liu et al., 2021). Esse fraco *trade-off* pode ser explicado devido a resistência à cavitação e a condutividade máxima serem determinadas por várias características xilemáticas (Venturas et al., 2017). Além disso, outras características também podem ser empregadas para realizar a avaliação de segurança e eficiência, dentre elas, a capacitância (que pode ser definida como a capacidade de um tecido de tamponar variações no potencial hídrico) (Sperry et al., 2008).

A hidráulica tem papel fundamental na fotossíntese, uma vez que mudanças dentro e fora do xilema podem alterar a condutância foliar (K_{folha}) e influenciar as taxas fotossintéticas (Brodrigg et al., 2002; Scoffoni et al., 2016). Sabe-se, por exemplo, que o K_{folha} é influenciado por diferenças na densidade de venação (Brodrigg et al., 2007) e tamanho da célula da bainha do feixe (Shatil-Cohen et al., 2011). O K_{folha} representa a eficiência do transporte de água em um sistema, compreendendo desde o movimento da água desde os vasos do xilema até os locais de evaporação (Scoffoni et al., 2016). Medidas de K_{folha} são importantes pois a folha é considerada o “gargalo hidráulico” da planta, representando cerca de até 50% da resistência hidráulica total da planta (Wolfe et al., 2023). Em teoria, a manutenção de uma elevada condutividade

hidráulica, ao permitir maior capacidade de reposição de água, também permitiria um maior ganho de carbono (Brodrribb et al., 2005; Zhou et al., 2020).

No entanto, pouco se sabe sobre relações hídricas ao se comparar espécies C3 e C4 pertencentes a grupos de transição entre estes tipos fotossintéticos. Osborne & Sack (2012) acreditam que a manutenção de uma maior condutividade permitiria que a condutância estomática e a fotossíntese fossem sustentadas durante eventos de seca. Além disso, esses autores também sugerem que as espécies C4 só teriam maior vantagem do que as C3 se mantivessem um K_{planta} semelhante ou maior. Estudos com gramíneas C3 e C4 relacionadas, mostraram que as espécies C3 e C4 mantiveram um K_{folha} semelhante (Taylor et al., 2018); porém, outros estudos mostram que as espécies C3 possuem maior condutividade hidráulica do ramo do que as C4 (Kocacinar, 2015; Kocacinar & Sage, 2003; Sonawane et al., 2021).

As espécies da família Cleomaceae se encaixam perfeitamente como modelo para estudos sobre comparações ecofisiológicas, bem como origem evolutiva e funcionamento do mecanismo C4 (Brown et al., 2005; Marshall et al., 2007; van den Bergh et al., 2014). Além de possuir espécies com diferentes metabolismos fotossintéticos, a família também tem membros em fase de progressão para o desenvolvimento da fotossíntese C4 (Marshall et al., 2007; Parma et al., 2022). Em adição, tais plantas são estreitamente relacionadas com a planta modelo *Arabidopsis* (Brassicaceae) o que facilitaria a transferência de conhecimentos para a espécie modelo. Além disso, a família Cleomaceae possui uma maior diversidade tanto fisiológica, quanto morfológica em relação à Brassicaceae (Bayat et al., 2018).

De acordo com Bayat et al. (2018), características como aumento das células da bainha do feixe, aumento na densidade de venação e menos células mesofílicas entre as nervuras estão presentes no intercâmbio entre C3, C3-C4 intermediária e C4 verdadeira. Parma et al. (2022) encontraram que algumas espécies tipicamente do tipo C3 obtiveram aumento da densidade de venação e do tamanho das células da bainha do feixe, considerando-as linhagens em processo evolutivo à fotossíntese C4. Essas duas modificações podem estar relacionadas com a manutenção da integridade hidráulica da célula em ambientes secos (Sage, 2004; Sage et al., 2011).

As espécies brasileiras avaliadas também apresentaram alta plasticidade intra e interespecífica em sua fenologia, morfologia, genética e fisiologia (Parma et al., 2022). Além disso, esses pesquisadores também avaliaram o tamanho do genoma nuclear das espécies, em que a espécie *Gynandropsis gynandra* (C4) apresentou um

genoma quatro vezes maior que o da *Tarenaya hassleriana* (C3), e a espécie *Tarenaya longicarpa* (C3) manteve um genoma intermediário. Isso sugere que essas espécies podem estar em processo evolutivo, devido a duplicação do genoma ser uma das principais características na evolução C3-C4 (Parma et al., 2022; Sage, 2004).

Uma vez que o mecanismo fotossintético é capaz de alterar as características hidráulicas das plantas (Kocacinar, 2015; Kocacinar et al., 2008; Kocacinar & Sage, 2003, 2004; Taylor et al., 2018), o objetivo desse trabalho foi avaliar as características hidráulicas e fisiológicas das espécies *T. hassleriana* (C3), *T. longicarpa* (C3) e *G. gynandra* (C4). Por fim, também foi avaliado se as espécies C3, consideradas em etapas diferentes do processo evolutivo (Parma et al., 2022), já demonstram modificações pertinentes em suas características hidráulicas.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Material vegetal e condução do experimento

Foram utilizadas três espécies da família Cleomaceae, sendo estas: *T. hassleriana* (Th; C3), *T. longicarpa* (Ti; C3) e *G. gynandra* (Gg; C4). Os acessos utilizados foram: Th (THV), coletado em Viçosa-MG, no bioma de Floresta Atlântica; Ti (TIB), coletado em Ibmirim-PE, no bioma classificado como Caatinga-Savana; e a Gg, coletada em Mossoró-RN, no bioma classificado como Cerrado-Savana (Parma et al., 2022). Sementes de cada espécie foram cultivadas em vasos de 5 litros contendo substrato comercial Mec Plant, em casa de vegetação, nas dependências do Departamento de Biologia Vegetal da Universidade Federal de Viçosa. A unidade experimental consistiu em uma planta por vaso e as plantas foram mantidas sob irrigação constante e adubadas de acordo com a necessidade até terem folhas suficiente para a realização das análises, aproximadamente dois meses de cultivo.

2.2 Curva de pressão-volume

Para realização da curva de pressão-volume (PV), folhas completamente expandidas foram coletadas (do terço médio das plantas), escaneadas para obtenção da área foliar, através do programa ImageJ, e colocadas para reidratar ao longo da noite. Para obtenção da curva, as folhas foram perdendo água, de forma gradual, em condição de laboratório, e seu peso foi observado com o auxílio de uma balança de precisão e o Ψ_w mensurado com o auxílio de uma bomba de Scholander (model 1000,

PMS Instruments, Albany, NY, USA). A mensuração do peso e Ψ_w ocorreu até se obter uma relação linear entre o inverso do Ψ_w e o teor relativo de água (TRA). Em seguida, as folhas foram colocadas em estufa a 60°C para obtenção da sua massa seca, que foi utilizada para calcular o TRA e a curva PV foi obtida pela relação de $1/\Psi_w$ com o TRA (Tyree & Hammel, 1972). A partir disso, os seguintes parâmetros foram estimados: conteúdo saturado de água (CSA), potencial osmótico em turgescência plena (Ψ_{s100}), o potencial hídrico no ponto de perda de turgor (Ψ_{PPT}), o teor relativo de água no ponto de perda de turgor (TRA_{PPT}), a capacitância da folha em turgescência plena (C_{PPT}) e depois do ponto de perda de turgor (C_{PPPT}), o módulo de elasticidade (ϵ) e a massa foliar por área (MFA) de acordo com (Bartlett et al., 2012).

2.3 Trocas gasosas

Os parâmetros de trocas gasosas e fluorescência foram avaliados em condição de casa de vegetação utilizando-se o sistema de trocas gasosas equipado com uma câmara integrada de fluorescência (LI-6400XT, LI-COR, Lincoln, USA). Folhas completamente expandidas do terço médio foram utilizadas. A taxa líquida de assimilação de CO₂ (A_n), a condutância estomática (g_s), a transpiração (E), a concentração intercelular de CO₂ (C_i) e a taxa de transporte de elétrons (ETR) foram medidas sob radiação fotossinteticamente ativa (RFA) artificial de 1000 μmol fótons $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$, 400 μmol de CO₂ mol^{-1} de ar, temperatura ambiente e o déficit de pressão de vapor (DPV) foi mantido entre 1 e 1,5 kPa. Foram calculadas a eficiência intrínseca do uso da água (EUA_i - A_n/g_s) e a razão ETR/ A_n .

2.4 Condutividade hidráulica e anatomia foliar

A condutância hidráulica foliar (K_{folha}) foi mensurada de acordo com o método do fluxo evaporativo (Brodribb & Holbrook, 2006; Sack et al., 2002). As folhas completamente expandidas foram cortadas pelo pecíolo embaixo da água e colocadas em uma câmara de coníferas (LI-6400-18 RGB Light Source, LI-COR, Lincoln, USA) conectada a um LI-6400XT (LI-COR, Lincoln, USA). As condições dentro da câmara foram de 1000 μmol fótons $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ de luz fotossinteticamente ativa, 400 μmol de CO₂ mol^{-1} ar e o déficit de pressão de vapor foi mantido entre 1 e 1,5 kPa. A taxa de transpiração (E) foi mensurada após estabilização das folhas. Ao final, as folhas foram

removidas do IRGA e colocadas em saco ziplock com umidade, para atingirem o equilíbrio, por 15 min e seu Ψ_w foi medido na bomba de Scholander. As folhas foram digitalizadas e tiveram sua área foliar medida pelo software ImageJ. Por fim, E foi normalizado pela área foliar e K_{folha} foi calculado como:

$$K_{folha} = \frac{-E}{\Psi_w}$$

As folhas utilizadas para avaliação do K_{folha} foram usadas para avaliar a densidade venação (DV). Amostras foliares da porção mediana de cada folha, evitando a nervura central, foram coletadas e diafanizadas pelo método de Zsögön et al. (2014), sendo colocadas em banho maria a 60°C até apresentarem aspecto translúcido. As fotos foram obtidas o auxílio do Fotomicroscópio Zeiss - Scope A1 com sistema de captura de imagens AxioCam 105 color com a objetiva de 4x e medidas pelo ImageProPlus.

2.5 Condutância mínima

A condutância mínima (g_{min}) foi obtida pelo método MLD (*mass loss of detached leaves*) de acordo com Duursma et al. (2019). Para isso, folhas completamente expandidas foram coletadas e transportadas para o laboratório em saco ziplock, onde tiveram seus pecíolos vedados, para evitar a perda de água nessa região, e foram digitalizadas para obtenção da área foliar inicial. As folhas foram pesadas a cada 15 minutos por 2 horas enquanto a temperatura e a umidade do ar eram monitoradas durante cada pesagem, para posterior cálculo do DPV. Ao final, as folhas foram escaneadas novamente para obtenção da área foliar final. O g_{min} foi obtido de acordo com a relação linear da massa foliar com o tempo e normalizado pelo DPV e área foliar.

2.6 Perda percentual da capacidade de reidratação

Para a determinação da perda percentual da capacidade de reidratação, foi utilizado o método descrito por Trueba et al., (2019) com algumas adaptações. Dez folhas por planta foram coletadas e armazenadas em dessecadores, com seu pecíolo em contato com a água, e deixadas reidratando ao longo da noite. No dia seguinte, elas foram imediatamente pesadas em uma balança de precisão. Em seguida, foram dispostas em bancadas, sob condições de laboratório, e pesadas regularmente até

atingirem a variação previamente determinada, ou seja, a cada 10% de perda de água do seu peso túrgido inicial. O TRA foi estimado de 90 até 10%. Quando as folhas atingiram a porcentagem de perda de água estipulada, foram colocadas para reidratar por, aproximadamente, 12 horas (John et al., 2018) e pesadas após a reidratação. Para obtenção da massa seca, as folhas foram colocadas em estufa a 60°C. O percentual de perda da capacidade de reidratação (PPCR) foi calculado através do conteúdo saturado de água (CSA) das folhas reidratadas e saturadas, de acordo com Trueba et al., (2019). O PPCR₁₂ e PPCR₅₀ foram estimados utilizando o software Rstudio, em que, o modelo que melhor se ajustou aos dados das plantas C3 foi o sigmoidal e o da C4 foi o exponencial.

2.7 Curva de vulnerabilidade e margem de segurança hidráulica

A curva de vulnerabilidade foi feita pelo método óptico descrito por Brodribb et al. (2016) que detecta o embolismo através do princípio básico da diferença da reflectância do ar e da água nas nervuras foliares. Podendo, assim, distinguir os vasos funcionais (preenchidos com água) e os vasos não funcionais (embolizados). Para isto, as plantas tiveram suas raízes lavadas e uma folha totalmente expandida do terço médio da planta foi presa a uma OSOV clamp (OpenSource 3D-printed clamp) (ver <https://www.opensourceov.org/>), com a sua face abaxial para baixo, com o auxílio de uma lâmina de vidro e fitas adesivas transparentes, de modo que a folha não conseguisse sair do local durante o período de secagem.

As folhas foram fotografadas a cada três minutos e uma outra folha foi retirada da planta para medição do seu Ψ_w . As imagens foram obtidas até se notar que o tecido foliar já tinha senescido. Por fim, as imagens foram analisadas e processadas pelo software ImageJ, de acordo com as instruções de <http://www.opensourceov.org>. A área de embolismo foi calculada de acordo com a quantidade de pixels cumulativos e foi expressa em ordem de porcentagem e a curva de vulnerabilidade ótica foi obtida de cada folha ao plotar o Ψ_w e a área cumulativa de embolismo. Onde o Ψ_w foliar a 12, 50 e 88% da área embolizada cumulativa (P_{12} , P_{50} e P_{88}) foram obtidos. As margens de segurança hidráulica (MSH) foram calculadas para cada espécie através da diferença entre $P_{(12, 50 \text{ e } 88)}$ e o Ψ_{PPT} , obtendo assim a MHS_{12} , MSH_{50} e MSH_{88} .

2.8 Análises estatísticas

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, com cinco repetições. As análises estatísticas foram realizadas utilizando o software Sisvar e os gráficos foram elaborados através do programa SigmaPlot (versão 14) e pelo GraphPad Prism 9. Os dados foram submetidos ao teste de normalidade de Shapiro Wilk e a análise de variância, e a comparação de médias foi feita pelo teste de Tukey.

3. RESULTADOS

Dentre os parâmetros obtidos pela curva pressão-volume, somente o TR_{PPT} foi similar entre as três espécies (Tabela 1). Th (C3) e a Gg (C4) apresentaram valores semelhantes em algumas variáveis, como o Ψ_{s100} (-0,80 MPa), o Ψ_{PPT} (-0,84 MPa) e a C_{PP} ($1,3 \text{ mol m}^{-2} \text{ MPa}^{-1}$), sendo maiores do que a TI (C3). Foi possível observar que, quanto menor o Ψ_{s100} , menor o Ψ_{PPT} . Em relação ao ϵ , a TI (C3) e a Gg (C4) obtiveram valores similares, sendo cerca de 40% maior que a Th (C3) (5,9 MPa). Se tratando da C_{PPT} , ambas as espécies C3 obtiveram valores semelhantes ($2,9 \text{ mol m}^{-2} \text{ MPa}^{-1}$) e menores do que a C4 ($6,3 \text{ mol m}^{-2} \text{ MPa}^{-1}$). Já em relação a AFE, as três espécies diferiram entre si, com a TI (C3) tendo uma maior AFE ($44,5 \text{ g cm}^{-2}$), que a Th (C3) ($36,6 \text{ g cm}^{-2}$) e a Gg (C4) ($30,1 \text{ g cm}^{-2}$).

Em relação aos parâmetros de trocas gasosas, a TI (C3) apresentou valores de g_s e E cerca de 55 e 70% maiores do que a Th (C3) e a Gg (C4), respectivamente (Figura 2B, C). Já em relação à A_n , TI (C3) e Gg (C4) não diferiram entre si e apresentaram valor cerca de 23% maior do que a Th (C3) (Figura 2A). Além disso, a espécie C4 foi a que obteve maior eficiência do uso da água (EUA_i), sendo cerca de 44 e 74% maior do que a Th (C3) e a TI (C3), respectivamente (Figura 2D). Quanto ao C_i , as três espécies diferiram entre si (Figura 2E): a TI (C3) obteve a maior concentração e foi cerca de 47% maior do que a Gg (C4) e 18% maior do que a Th (C3). Em relação à razão ETR/A , as três espécies diferiram entre si: a Th (C3) teve a maior razão (9.5), seguida pela TI (C3) (7.5) e Gg (C4) (5.9) com a menor razão (Figura 2F).

Se tratando da condutância hidráulica, as três espécies obtiveram valores médios de K_{folha} semelhantes ($14,4 \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1} \text{ MPa}^{-1}$) (Tabela 2). Já em relação a

DV, além das duas espécies C3 não diferiram entre si (11,0 mm²), elas obtiveram um valor maior do que a C4 (8,3 mm²) (Tabela 2, Figura 2).

Em relação ao g_{\min} , ambas as espécies C3 apresentaram valor semelhante (3,7 mmol H₂O m⁻² s⁻¹), já a espécie C4 obteve um g_{\min} cerca de 41% maior que as espécies C3 (Tabela 2). Já em relação a perda percentual da capacidade de reidratação, ambas as espécies C3 obtiveram valores de PPCR₁₂ semelhantes (59,3) e a C4 mostrou perder 12% da sua capacidade de se reidratar em um TRA menor (47,4) (Tabela 2). Por outro lado, a TI (C3) e a Gg (C4) apresentaram valores semelhantes de PPCR₅₀ (23,7), representando um TRA 33% menor do que o da Th (C3) (35,5) para perder 50% da sua capacidade de reidratar.

A curva de vulnerabilidade mostrou uma grande diferença entre as espécies C3 e a espécie C4 avaliadas (Figura 3). Ambas as espécies C3 não diferiram em relação aos parâmetros estimados da curva, mas foram bem contrastantes em relação à C4 (Tabela 3, Figura 3). O início do embolismo nas espécies C3 (P₁₂) até o embolismo completo (P₈₈) ocorreu num intervalo de menos de 0,6 MPa. E, apesar da C4 começar a embolizar em um potencial cerca de duas vezes menor que os das C3 (P₁₂ = -3,8 MPa), esse intervalo também foi rápido, ocorrendo dentro de 1 MPa. Em relação ao P₅₀, as espécies C3 perderam 50% da condutividade dos seus vasos num potencial de -2,11 MPa, enquanto a C4 alcançou um potencial de -4,27 MPa. Em relação a margem de segurança hidráulica (MSH), a C4 apresentou uma MSH₅₀ 68% maior em relação às espécies C3 (Tabela 3, Figura 3). Quanto ao P₈₈, as espécies C3 chegaram a um potencial de -2,4 MPa, enquanto a C4 alcançou -4,7 MPa, com uma MSH₈₈ 62% maior do que as C3.

4. DISCUSSÃO

Dentre os parâmetros de curva PV, o TRA_{PPT} foi o único que se manteve semelhante nas três espécies, sendo consistente com os achados de (Bartlett et al., (2012), que demonstraram que a maioria das espécies mantêm um alto TRA_{PPT} para evitar danos severos no metabolismo. Todavia, as espécies apresentaram variação no restante dos parâmetros da curva PV. A Th (C3) e a Gg (C4) apresentaram tanto o Ψ_{s100} quanto o Ψ_{PPT} semelhantes e maiores do que a TI (C3). Isso sugere que o Ψ_{PPT} sofre influência do Ψ_{s100} e quanto menor o Ψ_{s100} , menor o Ψ_{PPT} (Tabela 1). Apesar

do ε também influenciar o Ψ_{PPT} , a sensibilidade deste ao ε é pequena (Bartlett et al., 2012).

Desta forma, mesmo que a Th (C3) tenha apresentado paredes celulares mais elásticas, com valor de ε menor que a TI (C3) e a Gg (C4), isso não governou a mudança no Ψ_{PPT} , mas sim a diferença do Ψ_{s100} . No entanto, essa variação no ε deve compensar a variação no Ψ_{s100} (Bartlett et al., 2012), permitindo que as três espécies mantenham um alto TRA_{PPT} . Apresentar um Ψ_{PPT} mais negativo parece ser uma característica capaz de melhorar a resistência à seca (Bartlett et al., 2012); dessa forma, a TI (C3) poderia ter uma maior vantagem nesse sentido. No entanto, precisa-se ter cautela ao se analisar esse parâmetro para descrever maior tolerância a seca (Farrell et al., 2017; Jacob et al., 2022) pois, mesmo com Ψ_{PPT} mais negativo (TI - C3), ambas as espécies C3 foram mais vulneráveis à cavitação do que a espécie C4.

Em estudos com gramíneas, Taylor et al., (2018) encontraram que as espécies C4 possuíam Ψ_{PPT} mais negativo do que as espécies C3, diferente do que encontramos aqui. No entanto, em um trabalho avaliando a diferença entre os tipos fotossintéticos e a filogenia, viu-se que o tipo fotossintético parece influenciar as características fisiológicas (Liu & Osborne, 2015). As espécies C4 com subtipo NAD-ME, apresentaram Ψ_{s100} e Ψ_{PPT} maiores, condizentes com os resultados encontrados nesse trabalho, uma vez que a Gg (C4) também faz parte desse subtipo (Marshall et al., 2007).

Em relação a C_{PP} , a Th (C3) e a Gg (C4) apresentaram valores semelhantes e maiores do que a TI (C3). Apresentar uma maior capacitância torna a folha capaz de tamponar as mudanças no seu potencial hídrico foliar em relação a perda de água (Blackman & Brodribb, 2011; Sack et al., 2003). Uma alta C_{PP} diz respeito a mudanças no potencial hídrico foliar antes do fechamento estomático, ou seja, quando a planta ainda está transpirando (Bartlett et al., 2012). A TI (C3), além de possuir menor C_{PP} , possui um menor CSA, ou seja, como a folha tem pouca água, uma baixa capacitância é mais benéfica para evitar gastos de água. Se tratando da C_{PPT} , esta foi menor e similar, entre as espécies C3 e maior na C4, sendo uma característica importante para a manutenção do potencial hídrico foliar após o fechamento estomático (Bartlett et al., 2012).

Ao se avaliar a AFE, as três espécies diferiram entre si, sendo a TI (C3) com uma maior AFE e a Gg (C4) com uma menor. No entanto, não está claro o efeito do tipo fotossintético na AFE (Da Matta et al., 2001; Taylor et al., 2018). Além disso,

estudos sugerem que espécies intimamente relacionadas não apresentam uma variação muito grande no investimento de matéria seca, tendo um espectro econômico foliar similar entre si (Flores et al., 2014).

Espera-se que a espécie C4 tenha maiores taxas fotossintéticas do que a espécie C3 (Kocacinar, 2015; Kocacinar et al., 2008; Kocacinar & Sage, 2003, 2004; Sonawane et al., 2021; Taylor et al., 2018). No entanto, neste estudo, a espécie C4 teve A_n semelhante à espécie C3 relacionada; porém, essa observação está em consonância com o trabalho de Parma et al., (2022). Ao avaliar trocas gasosas de diferentes espécies C3 da família Cleomaceae e compará-las à C4 *G. gynandra*, verificou-se uma alta diversidade entre as espécies e entre os acessos avaliados, com várias espécies C3 com A_n semelhante a C4.

Outro parâmetro interessante foi em relação à razão ETR/A_n . Esta razão foi indicada para avaliar se as plantas estão sob estresse, bem como para verificar o desempenho e calibração dos aparelhos usados nas medições de trocas gasosas e fluorescência da clorofila (Martins et al., 2013; Perera-Castro & Flexas, 2023). Nesse trabalho, a espécie C4 possuiu uma menor razão ETR/A_n do que as espécies C3. Isso foi compatível com um estudo recente que compilou dados de espécies C3 e C4 de ETR e A_n e observou que as plantas C4 possuem uma ETR/A_n menor do que as plantas C3 (Perera-Castro & Flexas, 2023). Adicionalmente, os autores encontraram uma faixa de 7,5 a 10,5 e 4,7 da razão ETR/A_n para plantas C3 e C4 saudáveis, respectivamente, e fixaram um valor mínimo teórico de ETR/A_n igual a 4, se baseando na estequiometria do processo fotossintético.

Existem várias vias de fluxo de elétrons nas plantas C3, mas as principais são a fotossíntese e a fotorrespiração (Miyake, 2010). A razão ETR/A_n pode aumentar devido a respiração, fotorrespiração nas C3, vias alternativas de fluxo de e^- e condições de estresse (Flexas et al., 2002; Miyake, 2010). Uma vez que nas plantas C4 sua fotorrespiração foi reduzida à níveis indetectáveis (Pearcy & Ehleringer, 1984), a sua razão ETR/A_n foi menor.

De forma similar ao nosso estudo, Taylor et al. (2018) encontrou medidas de K_{folha} semelhantes ao se comparar espécies C3 e C4 relacionadas. Osborne & Sack, (2012) hipotetizaram que, além da melhora fotossintética, uma melhora na relação hídrica foliar das C4 seria um requisito para a evolução ter selecionado esse mecanismo. No mais, devido aos ambientes quentes, abertos e com baixo CO_2 , uma grande condutividade hidráulica em relação à demanda evaporativa, tornaria as

plantas C4 com maior capacidade de manter os estômatos abertos em situações de seca e, além disso, resultaria em estômatos com menor sensibilidade ao DPV e à redução do CO₂. Brodribb & Jordan (2008) encontraram que espécies com maiores g_{max} em relação ao K_{folha} são mais sensíveis a mudanças no DPV.

Além disso, uma maior densidade de venação torna o transporte de água mais eficiente (Brodribb, 2014; Ye et al., 2021), uma vez que distribui a água em locais mais próximos dos locais de evaporação (Brodribb, 2014). No presente trabalho, ambas as espécies C3 apresentaram uma DV semelhante e maior do que a espécie C4 relacionada. Sendo um resultado inesperado, uma vez que se espera que as espécies C4 possuam maior densidade de venação do que as C3 (McKown & Dengler, 2009).

No entanto, as espécies da família Cleomaceae possuem grande variabilidade na morfologia foliar (Marshall et al., 2007; Parma et al., 2022). Em ambos os trabalhos, os autores encontraram espécies C3 com incrementos na densidade de venação na família. Além disso, Parma et al. (2022) também encontraram diferença na densidade de venação entre os diferentes acessos das espécies *T. hassleriana* e *T. longicarpa*.

Para avaliar realmente a diferença da família estudada, Marshall et al., (2007) também avaliaram espécies de Arabidopsis e não encontraram diferença aparente na DV dessas espécies. Dessa forma, os autores chegaram à conclusão de que as espécies da família Cleomaceae parecem se afastar de um estado “normal” de plantas C3. De acordo Bayat et al., (2018), as modificações das folhas C4 parecem ter surgido dessa arquitetura pré-existente nas plantas C3 da família. McKown & Dengler, (2009) acreditam que mudanças na venação precedem as mudanças nas células da bainha do feixe na evolução C4 mostrando que algumas espécies da família Cleomaceae estão em processo evolutivo para a via C4, principalmente as do gênero *Tarenaya* (Parma et al., 2022).

Além disso, alta DV também está relacionada com maiores taxas fotossintéticas (Brodribb et al., 2007; Scoffoni et al., 2016; Ye et al., 2021). Dessa forma, podemos esperar que as espécies C3 consigam manter uma alta fotossíntese devido ao aumento da sua densidade de venação, como encontrado nesse trabalho.

No entanto, como já exposto, outras características extra-xilemáticas também influenciam na condutividade hidráulica (Sack et al., 2013; Scoffoni et al., 2016). Buckley et al. (2015) mostraram que a maior resistência na condutância fora do xilema (K_{ox}) ocorre no mesófilo esponjoso, e as células da bainha do feixe contribuem com pouca resistência. A permeabilidade das células da bainha do feixe parece ter papel

importante no K_{folha} (Shatil-Cohen et al., 2011). Dessa forma, nesse trabalho, apesar da espécie C4 ter mostrado menor DV do que as espécies C3 e apresentar K_{folha} semelhante, maiores células da bainha do feixe (Parma et al., 2022) podem ter um papel compensatório na manutenção do K_{folha} ao apresentar uma menor resistência.

Após o fechamento estomático, as plantas continuam perdendo água através da cutícula ou estômatos que não fecham totalmente, e essa perda de água é conhecida como condutância mínima (Duursma et al., 2019). Em nossos resultados, ambas as espécies C3 apresentaram g_{min} semelhante e menor do que a espécie C4 relacionada. De acordo com Brodribb et al., (2014), este parâmetro pode ser utilizado como uma característica de tolerância a seca. Além disso, o g_{min} parece ter um papel importante no tempo de dessecação das espécies, em que, espécies com menor condutividade mínima, levariam mais tempo para atingirem valores críticos de potenciais hídricos (Blackman et al., 2016; Duursma et al., 2019).

No entanto, devido as próprias condições de evolução da C4 (condições que aumentam a fotorrespiração), se esperaria que esta tivesse um menor g_{min} que as plantas C3, contudo, tal parâmetro não mostrou ter relação com fatores ecológicos (Duursma et al., 2019). Além disso, apesar da Gg (C4) perder mais água com o fechamento estomático, ela também apresentou maior valor de CSA e maior C_{PPT} , ou seja, a espécie possui um maior reservatório de água (maior CSA) e precisa perder mais água para haver variação no seu potencial hídrico foliar (maior C_{PPT}), o que pode compensar esse alto g_{min} em relação às C3.

Adicionalmente, outras características também podem influenciar no tempo de dessecação, como uma maior capacitância e maior vulnerabilidade ao embolismo (Blackman et al., 2016). E, em relação à curva de vulnerabilidade, as espécies C3 não diferiram nos parâmetros avaliados, porém houve uma grande diferença ao se tratar do tipo fotossintético. A espécie C4 se mostrou mais resistente à formação de embolismo do que as espécies C3 avaliadas.

A resistência de uma planta ao embolismo se baseia na relação da tensão suportada pelo xilema quando uma parcela dos vasos condutores se encontra preenchido com ar (embolizados) (Choat et al., 2012). Uma vez que o Ψ_{PPT} pode ser utilizado como ponto de fechamento estomático (ou $\Psi_{fechamento}$) (Martin-StPaul et al., 2017), e o P_{12} é o ponto considerado onde ocorre o início dos eventos de embolismo, as três espécies aqui avaliadas fecham seus estômatos antes dos eventos de

embolismo, sendo um recurso interessante para evitar perdas na condutividade hidráulica (Creek et al., 2020; Jacob et al., 2022; Martin-StPaul et al., 2017).

No entanto, a MSH_{12} da espécie C4 foi muito maior do que a da C3. A margem de segurança hidráulica representa uma estratégia de conservadorismo da planta (Choat et al., 2012). Ter uma menor MSH pode significar que as plantas C3 priorizem o ganho de carbono, no entanto, é uma estratégia arriscada uma vez que, se prolongada, pode levar à morte por falha hidráulica (Choat et al., 2012; McDowell, 2011).

O P_{50} é amplamente utilizado como um índice de resistência ao embolismo (Choat et al., 2012). Em estudos com gramíneas, os autores encontraram alta resistência ao embolismo em plantas herbáceas, com valores de P_{50} variando de -4,4 a -6,1 MPa, no entanto, não houve diferença entre as gramíneas C3 e C4 (Jacob et al., 2022). No entanto, ao comparar diretamente espécies C3 e C4, outros autores encontraram uma maior vulnerabilidade à cavitação nas espécies C3 (Kocacinar & Sage, 2003). Nesse trabalho, as espécies C3 apresentaram maior P_{50} , sendo mais vulneráveis ao embolismo do que a espécie C4.

A espécie C4 mostrou ter uma alta eficiência (representada por um alto K_{folha}) e uma alta resistência ao embolismo (representada pelo menor P_{50}). Tal fato diverge de uma relação de compensação entre segurança e eficiência à qual acredita-se que as espécies são submetidas. A maioria das espécies são caracterizadas como sendo pouco eficientes e pouco seguras, ou sendo eficientes e pouco seguras (e vice-versa) (Gleason et al., 2016; Liu et al., 2021). Por exemplo, as espécies C3 desse estudo poderiam ser classificadas como mais eficientes (alto K_{folha}) e pouco seguras (maior P_{50}) em relação à C4.

No entanto, em um trabalho recente, Yao et al., (2021) encontraram folhas eficientes e seguras em gramíneas. Esses autores sugerem que essa estratégia pode ser utilizada por plantas crescendo em ambientes áridos, uma vez que uma maior eficiência pode ser útil tanto para resistir ao embolismo quando para utilizar recursos hídricos quando disponíveis.

5. CONCLUSÕES

Em conclusão, os resultados obtidos não indicam diferenças marcantes nos parâmetros de relações hídricas e condutividade hidráulica foliar entre os mecanismos

fotossintéticos das espécies estudadas. Porém, houve uma grande diferença entre os mecanismos quanto a EUA e vulnerabilidade à cavitação. Adicionalmente, a espécie C4 pode ser considerada uma planta eficiente e segura do ponto de vista hidráulico, sugerindo que o conhecido *trade off* entre segurança e eficiência pode guardar relação com o tipo fotossintético das plantas.

6. REFERÊNCIAS

- Bartlett, M. K., Scoffoni, C., & Sack, L. (2012). The determinants of leaf turgor loss point and prediction of drought tolerance of species and biomes: A global meta-analysis. *Ecology Letters*, *15*(5), 393–405. <https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2012.01751.x>
- Bauwe, H. Photorespiration: the bridge to C4 photosynthesis. In: C4 Photosynthesis and Related CO2 Concentrating Mechanisms. Raghavendra AS, Sage RF. Springer, 2011. p. 81–108.
- Bayat, S., Schranz, M. E., Roalson, E. H., & Hall, J. C. (2018). Lessons from Cleomaceae, the Sister of Crucifers. In *Trends in Plant Science* (Vol. 23, Issue 9, pp. 808–821). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2018.06.010>
- Blackman, C. J., & Brodribb, T. J. (2011). Two measures of leaf capacitance: Insights into the water transport pathway and hydraulic conductance in leaves. *Functional Plant Biology*, *38*(2), 118–126. <https://doi.org/10.1071/FP10183>
- Blackman, C. J., Pfautsch, S., Choat, B., Delzon, S., Gleason, S. M., & Duursma, R. A. (2016). Toward an index of desiccation time to tree mortality under drought. *Plant Cell and Environment*, *39*(10), 2342–2345. <https://doi.org/10.1111/pce.12758>
- Brodribb, T. J. (2014). Xylem Function and Evolution. In *eLS*. Wiley. <https://doi.org/10.1002/9780470015902.a0025290>
- Brodribb, T. J., Feild, T. S., & Jordan, G. J. (2007). Leaf maximum photosynthetic rate and venation are linked by hydraulics. *Plant Physiology*, *144*(4), 1890–1898. <https://doi.org/10.1104/pp.107.101352>
- Brodribb, T. J., & Holbrook, N. M. (2006). Declining hydraulic efficiency as transpiring leaves desiccate: Two types of response. *Plant, Cell and Environment*, *29*(12), 2205–2215. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.2006.01594.x>
- Brodribb, T. J., Holbrook, N. M., & Gutiérrez, M. V. (2002). Hydraulic and photosynthetic co-ordination in seasonally dry tropical forest trees. *Plant, Cell and Environment*, *25*(11), 1435–1444. <https://doi.org/10.1046/j.1365-3040.2002.00919.x>
- Brodribb, T. J., Holbrook, N. M., Zwieniecki, M. A., & Palma, B. (2005). Leaf hydraulic capacity in ferns, conifers and angiosperms: Impacts on photosynthetic maxima. *New Phytologist*, *165*(3), 839–846. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2004.01259.x>
- Brodribb, T. J., & Jordan, G. J. (2008). Internal coordination between hydraulics and stomatal control in leaves. *Plant, Cell and Environment*, *31*(11), 1557–1564. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.2008.01865.x>

- Brodribb, T. J., McAdam, S. A. M., Jordan, G. J., & Martins, S. C. V. (2014). Conifer species adapt to low-rainfall climates by following one of two divergent pathways. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *111*(40), 14489–14493. <https://doi.org/10.1073/pnas.1407930111>
- Brodribb, T. J., Skelton, R. P., Mcadam, S. A. M., Bienaimé, D., Lucani, C. J., & Marmottant, P. (2016). Visual quantification of embolism reveals leaf vulnerability to hydraulic failure. *New Phytologist*, *209*(4), 1403–1409. <https://doi.org/10.1111/nph.13846>
- Brown, N. J., Parsley, K., & Hibberd, J. M. (2005). The future of C4 research - Maize, Flaveria or Cleome? *Trends in Plant Science*, *10*(5), 215–221. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2005.03.003>
- Buckley, T. N., John, G. P., Scoffoni, C., & Sack, L. (2015). How does leaf anatomy influence water transport outside the xylem? *Plant Physiology*, *168*(4), 1616–1635. <https://doi.org/10.1104/pp.15.00731>
- Choat, B., Jansen, S., Brodribb, T. J., Cochard, H., Delzon, S., Bhaskar, R., Bucci, S. J., Feild, T. S., Gleason, S. M., Hacke, U. G., Jacobsen, A. L., Lens, F., Maherali, H., Martínez-Vilalta, J., Mayr, S., Mencuccini, M., Mitchell, P. J., Nardini, A., Pittermann, J., ... Zanne, A. E. (2012). Global convergence in the vulnerability of forests to drought. *Nature*, *491*(7426), 752–755. <https://doi.org/10.1038/nature11688>
- Creek, D., Lamarque, L. J., Torres-Ruiz, J. M., Parise, C., Burlett, R., Tissue, D. T., & Delzon, S. (2020). Xylem embolism in leaves does not occur with open stomata: Evidence from direct observations using the optical visualization technique. *Journal of Experimental Botany*, *71*(3), 1151–1159. <https://doi.org/10.1093/jxb/erz474>
- Da Matta, F. M., Loos, R. A., Rodrigues, R., & Barros, R. S. (2001). ACTUAL AND POTENTIAL PHOTOSYNTHETIC RATES OF TROPICAL CROP SPECIES. *Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal*, *13*, 24–32. <https://doi.org/https://doi.org/10.1590/S0103-31312001000100003>
- Duursma, R. A., Blackman, C. J., López, R., Martin-StPaul, N. K., Cochard, H., & Medlyn, B. E. (2019). On the minimum leaf conductance: its role in models of plant water use, and ecological and environmental controls. In *New Phytologist* (Vol. 221, Issue 2, pp. 693–705). Blackwell Publishing Ltd. <https://doi.org/10.1111/nph.15395>
- Ehleringer, J. R., Cerling, T. E., & Helliker, B. R. (1997). C 4 photosynthesis, atmospheric CO 2 , and climate. *Oecologia*, *112*(3), 285–299. <https://doi.org/10.1007/s004420050311>
- Farrell, C., Szota, C., & Arndt, S. K. (2017). Does the turgor loss point characterize drought response in dryland plants? *Plant Cell and Environment*, *40*(8), 1500–1511. <https://doi.org/10.1111/pce.12948>
- Flexas, J., Bota, J., Escalona, J. M., Sampol, B., & Medrano, H. (2002). Effects of drought on photosynthesis in grapevines under field conditions: An evaluation of stomatal and mesophyll limitations. *Functional Plant Biology*, *29*(4), 461–471. <https://doi.org/10.1071/PP01119>
- Flores, O., Garnier, E., Wright, I. J., Reich, P. B., Pierce, S., Diaz, S., Pakeman, R. J., Rusch, G. M., Bernard-Verdier, M., Testi, B., Bakker, J. P., Bekker, R. M., Cerabolini, B. E. L., Ceriani, R. M., Cornu, G., Cruz, P., Delcamp, M., Dolezal, J., Eriksson, O., ... Weiher, E. (2014). An evolutionary perspective on leaf economics: Phylogenetics of leaf mass per area in vascular plants.

- Ecology and Evolution*, 4(14), 2799–2811.
<https://doi.org/10.1002/ece3.1087>
- Gleason, S. M., Westoby, M., Jansen, S., Choat, B., Hacke, U. G., Pratt, R. B., Bhaskar, R., Brodribb, T. J., Bucci, S. J., Cao, K. F., Cochard, H., Delzon, S., Domec, J. C., Fan, Z. X., Feild, T. S., Jacobsen, A. L., Johnson, D. M., Lens, F., Maherali, H., ... Zanne, A. E. (2016). Weak tradeoff between xylem safety and xylem-specific hydraulic efficiency across the world's woody plant species. *New Phytologist*, 209(1), 123–136.
<https://doi.org/10.1111/nph.13646>
- Gowik, U., & Westhoff, P. (2011). The Path from C3 to C4 photosynthesis. *Plant Physiology*, 155(1), 56–63. <https://doi.org/10.1104/pp.110.165308>
- Jacob, V., Choat, B., Churchill, A. C., Zhang, H., Barton, C. V. M., Krishnananthaselvan, A., Post, A. K., Power, S. A., Medlyn, B. E., & Tissue, D. T. (2022). High safety margins to drought-induced hydraulic failure found in five pasture grasses. *Plant Cell and Environment*, 45(6), 1631–1646.
<https://doi.org/10.1111/pce.14318>
- John, G. P., Henry, C., & Sack, L. (2018). Leaf rehydration capacity: Associations with other indices of drought tolerance and environment. *Plant Cell and Environment*, 41(11), 2638–2653.
<https://doi.org/10.1111/pce.13390>
- Kocacinar, F. (2015). Photosynthetic, hydraulic and biomass properties in closely related C3 and C4 species. *Physiologia Plantarum*, 153(3), 454–466.
<https://doi.org/10.1111/ppl.12240>
- Kocacinar, F., McKown, A. D., Sage, T. L., & Sage, R. F. (2008). Photosynthetic pathway influences xylem structure and function in Flaveria (Asteraceae). *Plant, Cell and Environment*, 31(10), 1363–1376.
<https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.2008.01847.x>
- Kocacinar, F., & Sage, R. F. (2003). Photosynthetic pathway alters xylem structure and hydraulic function in herbaceous plants. In *Plant, Cell and Environment* (Vol. 26).
- Kocacinar, F., & Sage, R. F. (2004). Photosynthetic pathway alters hydraulic structure and function in woody plants. *Oecologia*, 139(2), 214–223.
<https://doi.org/10.1007/s00442-004-1517-3>
- Liu, H., & Osborne, C. P. (2015). Water relations traits of C4 grasses depend on phylogenetic lineage, photosynthetic pathway, and habitat water availability. *Journal of Experimental Botany*, 66(3), 761–773.
<https://doi.org/10.1093/jxb/eru430>
- Liu, H., Ye, Q., Gleason, S. M., He, P., & Yin, D. (2021). Weak tradeoff between xylem hydraulic efficiency and safety: climatic seasonality matters. *New Phytologist*, 229(3), 1440–1452. <https://doi.org/10.1111/nph.16940>
- Marshall, D. M., Muhaidat, R., Brown, N. J., Liu, Z., Stanley, S., Griffiths, H., Sage, R. F., & Hibberd, J. M. (2007). Cleome, a genus closely related to Arabidopsis, contains species spanning a developmental progression from C3 to C4 photosynthesis. *Plant Journal*, 51(5), 886–896.
<https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2007.03188.x>
- Martins, S. C. V., Galmés, J., Molins, A., & Damatta, F. M. (2013). Improving the estimation of mesophyll conductance to CO2: On the role of electron transport rate correction and respiration. *Journal of Experimental Botany*, 64(11), 3285–3298. <https://doi.org/10.1093/jxb/ert168>

- Martin-StPaul, N., Delzon, S., & Cochard, H. (2017). Plant resistance to drought depends on timely stomatal closure. In *Ecology Letters* (Vol. 20, Issue 11, pp. 1437–1447). Blackwell Publishing Ltd. <https://doi.org/10.1111/ele.12851>
- McDowell, N. G. (2011). Mechanisms linking drought, hydraulics, carbon metabolism, and vegetation mortality. *Plant Physiology*, 155(3), 1051–1059. <https://doi.org/10.1104/pp.110.170704>
- McKown, A. D., & Dengler, N. G. (2009). Shifts in leaf vein density through accelerated vein formation in C 4 Flaveria (Asteraceae). *Annals of Botany*, 104(6), 1085–1098. <https://doi.org/10.1093/aob/mcp210>
- Miyake, C. (2010). Alternative electron flows (water-water cycle and cyclic electron flow around PSI) in photosynthesis: Molecular mechanisms and physiological functions. In *Plant and Cell Physiology* (Vol. 51, Issue 12, pp. 1951–1963). <https://doi.org/10.1093/pcp/pcq173>
- Osborne, C. P., & Sack, L. (2012). Evolution of C4 plants: A new hypothesis for an interaction of CO2 and water relations mediated by plant hydraulics. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 367(1588), 583–600. <https://doi.org/10.1098/rstb.2011.0261>
- Parma, D. F., Vaz, M. G. M. V., Falchetto, P., Silva, J. C., Clarindo, W. R., Westhoff, P., van Velzen, R., Schlüter, U., Araújo, W. L., Schranz, M. E., Weber, A. P. M., & Nunes-Nesi, A. (2022). New Insights Into the Evolution of C4 Photosynthesis Offered by the Tarenaya Cluster of Cleomaceae. *Frontiers in Plant Science*, 12. <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.756505>
- Pearcy, R. W., & Ehleringer, J. (1984). Comparative ecophysiology of C3 and C4 plants. In *Plant, Cell and Environment* (Vol. 7).
- Perera-Castro, A. V., & Flexas, J. (2023). The ratio of electron transport to assimilation (ETR/A N): underutilized but essential for assessing both equipment's proper performance and plant status. In *Planta* (Vol. 257, Issue 2). Springer Science and Business Media Deutschland GmbH. <https://doi.org/10.1007/s00425-022-04063-2>
- Sack, L., Cowan, P. D., Jaikumar, N., & Holbrook, N. M. (2003). The “hydrology” of leaves: Co-ordination of structure and function in temperate woody species. *Plant, Cell and Environment*, 26(8), 1343–1356. <https://doi.org/10.1046/j.0016-8025.2003.01058.x>
- Sack, L., Melcher, P. J., Zwieniecki, M. A., & Holbrook, N. M. (2002). The hydraulic conductance of the angiosperm leaf lamina: A comparison of three measurement methods. *Journal of Experimental Botany*, 53(378), 2177–2184. <https://doi.org/10.1093/jxb/erf069>
- Sack, L., Scoffoni, C., John, G. P., Poorter, H., Mason, C. M., Mendez-Alonzo, R., & Donovan, L. A. (2013). How do leaf veins influence the worldwide leaf economic spectrum? Review and synthesis. In *Journal of Experimental Botany* (Vol. 64, Issue 13, pp. 4053–4080). <https://doi.org/10.1093/jxb/ert316>
- Sage, R. F. (2004). The evolution of C 4 photosynthesis. *New Phytologist*, 161, 341–370. <https://doi.org/10.1046/j.1469-8137.2004.00974.x>
- Sage, R. F. (2021). Russ Monson and the evolution of C4 photosynthesis. In *Oecologia* (Vol. 197, Issue 4, pp. 823–840). Springer Science and Business Media Deutschland GmbH. <https://doi.org/10.1007/s00442-021-04883-1>
- Sage, R. F., Christin, P. A., & Edwards, E. J. (2011). The C 4 plant lineages of planet Earth. In *Journal of Experimental Botany* (Vol. 62, Issue 9, pp. 3155–3169). <https://doi.org/10.1093/jxb/err048>

- Scoffoni, C., Chatelet, D. S., Pasquet-Kok, J., Rawls, M., Donoghue, M. J., Edwards, E. J., & Sack, L. (2016). Hydraulic basis for the evolution of photosynthetic productivity. *Nature Plants*, 2. <https://doi.org/10.1038/nplants.2016.72>
- Shatil-Cohen, A., Attia, Z., & Moshelion, M. (2011). Bundle-sheath cell regulation of xylem-mesophyll water transport via aquaporins under drought stress: A target of xylem-borne ABA? *Plant Journal*, 67(1), 72–80. <https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2011.04576.x>
- Sonawane, B. V., Koteyeva, N. K., Johnson, D. M., & Cousins, A. B. (2021). Differences in leaf anatomy determines temperature response of leaf hydraulic and mesophyll CO₂ conductance in phylogenetically related C₄ and C₃ grass species. *New Phytologist*, 230(5), 1802–1814. <https://doi.org/10.1111/nph.17287>
- Sperry, J. S., Meinzer, F. C., & McCulloh, K. A. (2008). Safety and efficiency conflicts in hydraulic architecture: Scaling from tissues to trees. In *Plant, Cell and Environment* (Vol. 31, Issue 5, pp. 632–645). <https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.2007.01765.x>
- Taylor, S. H., Aspinwall, M. J., Blackman, C. J., Choat, B., Tissue, D. T., & Ghannoum, O. (2018). CO₂ availability influences hydraulic function of C₃ and C₄ grass leaves. *Journal of Experimental Botany*, 69(10), 2731–2741. <https://doi.org/10.1093/jxb/ery095>
- Trueba, S., Pan, R., Scoffoni, C., John, G. P., Davis, S. D., & Sack, L. (2019). Thresholds for leaf damage due to dehydration: declines of hydraulic function, stomatal conductance and cellular integrity precede those for photochemistry. *New Phytologist*, 223(1), 134–149. <https://doi.org/10.1111/nph.15779>
- Tyree, M. T., Davis, S. D., & Cochard, H. (1994). BIOPHYSICAL PERSPECTIVES OF XYLEM EVOLUTION: IS THERE A TRADEOFF OF HYDRAULIC EFFICIENCY FOR VULNERABILITY TO DYSFUNCTION? In *IAWA Journal* (Vol. 15, Issue 4).
- Tyree, M. T., & Hammel, H. T. (1972). The measurement of the turgor pressure and the water relations of plants by the pressure-bomb technique. *Journal of Experimental Botany*, 23(1), 267–282. <https://doi.org/10.1093/jxb/23.1.267>
- Tyree, M. T., & Sperry, J. S. (1989). VULNERABILITY OF XYLEM TO CAVITATION AND EMBOLISM. In *Annu. Rev. Plant Phys. Mol. Bio* (Vol. 40). www.annualreviews.org
- van den Bergh, E., Külahoglu, C., Bräutigam, A., Hibberd, J. M., Weber, A. P. M., Zhu, X. G., & Schranz, M. E. (2014). Gene and genome duplications and the origin of C₄ photosynthesis: Birth of a trait in the Cleomaceae. *Current Plant Biology*, 1, 2–9. <https://doi.org/10.1016/j.cpb.2014.08.001>
- Venturas, M. D., Sperry, J. S., & Hacke, U. G. (2017). Plant xylem hydraulics: What we understand, current research, and future challenges. In *Journal of Integrative Plant Biology* (Vol. 59, Issue 6, pp. 356–389). Blackwell Publishing Ltd. <https://doi.org/10.1111/jipb.12534>
- Vogan, P. J., & Sage, R. F. (2011). Water-use efficiency and nitrogen-use efficiency of C₃-C₄ intermediate species of *Flaveria* Juss. (Asteraceae). *Plant, Cell and Environment*, 34(9), 1415–1430. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.2011.02340.x>
- Wolfe, B. T., Detto, M., Zhang, Y. J., Anderson-Teixeira, K. J., Brodrigg, T., Collins, A. D., Crawford, C., Dickman, L. T., Ely, K. S., Francisco, J., Gurry,

- P. D., Hancock, H., King, C. T., Majekobaje, A. R., Mallett, C. J., McDowell, N. G., Mendheim, Z., Michaletz, S. T., Myers, D. B., ... Wright, S. J. (2023). Leaves as bottlenecks: The contribution of tree leaves to hydraulic resistance within the soil–plant–atmosphere continuum. *Plant Cell and Environment*, 46(3), 736–746. <https://doi.org/10.1111/pce.14524>
- Yao, G. Q., Nie, Z. F., Turner, N. C., Li, F. M., Gao, T. P., Fang, X. W., & Scoffoni, C. (2021). Combined high leaf hydraulic safety and efficiency provides drought tolerance in *Caragana* species adapted to low mean annual precipitation. *New Phytologist*, 229(1), 230–244. <https://doi.org/10.1111/nph.16845>
- Ye, M., Wu, M., Zhang, H., Zhang, Z., & Zhang, Z. (2021). High Leaf Vein Density Promotes Leaf Gas Exchange by Enhancing Leaf Hydraulic Conductance in *Oryza sativa* L. *Plants. Frontiers in Plant Science*, 12. <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.693815>
- Zhou, H., Akçay, E., Edwards, E., & Helliker, B. (n.d.). *The legacy of C4 evolution in the hydraulics of C3 and C4 grasses*. <https://doi.org/10.1101/2020.05.14.097030>
- Zsögön, A., Alves Negrini, A. C., Peres, L. E. P., Nguyen, H. T., & Ball, M. C. (2015). A mutation that eliminates bundle sheath extensions reduces leaf hydraulic conductance, stomatal conductance and assimilation rates in tomato (*Solanum lycopersicum*). *New Phytologist*, 205(2), 618–626. <https://doi.org/10.1111/nph.13084>

7. TABELAS E FIGURAS

Tabela 1. Médias do conteúdo saturado de água (CSA;), potencial osmótico em turgescência plena (Ψ_{s100} ; MPa), potencial hídrico no ponto de perda de turgor (Ψ_{PPT} ; MPa), teor relativo de água no ponto de perda de turgor (TRAPPT; %), módulo de elasticidade (ϵ ; MPa), capacitância pré (C_{PP} ; mol m⁻² MPa⁻¹) e pós perda de turgor (C_{PPT} ; mol m⁻² MPa⁻¹) e área foliar específica (g cm⁻²) de folhas de três espécies de Cleomaceae (*Tarenaya hassleriana* (Th), *T. longicarpa* (TI) e *G. gynandra* (Gg)). Letras diferentes entre as espécies representam diferenças significativas de acordo com o teste de Tukey. n =5 ± EP.

	Th (C3)	TI (C3)	Gg (C4)
CSA g g ⁻¹	4.49 ± 0.10 B	3.60 ± 0.20 C	7.53 ± 0.08 A
Ψ_{s100} (MPa)	-0.78 ± 0.12 A	-1.09 ± 0.11 B	-0.82 ± 0.03 A
Ψ_{PPT} (MPa)	-0.91 ± 0.18 AB	-1.11 ± 0.15 B	-0.84 ± 0.04 A
TRAPPT (%)	0.87 ± 0.04 A	0.88 ± 0.04 A	0.92 ± 0.02 A
ϵ (MPa)	5.87 ± 0.69 B	10.63 ± 0.60 A	9.17 ± 0.64 A
C_{PP} (mol m ⁻² MPa ⁻¹)	1.32 ± 0.27 A	0.80 ± 0.11 B	1.27 ± 0.23 A
C_{PPT} (mol m ⁻² MPa ⁻¹)	2.85 ± 0.33 B	3.05 ± 0.70 B	6.28 ± 0.39 A
AFE (g cm ⁻²)	36.61 ± 0.57 B	44.51 ± 0.74 A	30.06 ± 0.45 C

Tabela 2. Médias de condutância hidráulica foliar (K_{folha} ; mmol m⁻² s⁻¹ MPa⁻¹), da densidade de venação (DV; mm²), da condutância mínima (g_{min} ; mmol H₂O m⁻² s⁻¹) e do teor relativo de água ao qual a folha perde 12 e 50% da capacidade de se reidratar (PPCR₁₂ e PPCR₅₀) de folhas de três espécies de Cleomaceae (*Tarenaya hassleriana* (Th), *T. longicarpa* (TI) e *G. gynandra* (Gg)). Letras diferentes entre as espécies representam diferenças significativas de acordo com o teste de Tukey. n =5 ± EP.

	Th (C3)	TI (C3)	Gg (C4)
K_{folha} (mmol m ⁻² s ⁻¹ MPa ⁻¹)	14.27 ± 0.41 A	14.22 ± 0.36 A	14.74 ± 0.46 A
DV (mm ²)	10.60 ± 0.18 A	11.46 ± 0.45 A	8.26 ± 0.16 B
g_{min} (mmol m ⁻² s ⁻¹)	3,77 ± 0.26 B	3.61 ± 0.57 B	6.29 ± 0.57 A
PPCR ₁₂	58.46 ± 0.65 A	60.23 ± 0.80 A	47.39 ± 0.56 B
PPCR ₅₀	35.49 ± 0.60 A	25.54 ± 1.18 B	21.89 ± 0.33 B

Tabela 3. Potenciais hídricos (Ψ ; MPa) para 12, 50 e 88% de área cumulativa de embolismo e a margem de segurança hidráulica (MSH), calculada como a diferença entre o potencial da área cumulativa de embolismo (12, 50 e 88%) e Ψ_{PPT} de folhas de três espécies de Cleomaceae (*T. hassleriana* (Th), *T. longicarpa* (TI) e *G. gynandra* (Gg)). Letras diferentes entre as espécies representam diferenças significativas de acordo com o teste de Tukey. n =5 ± EP.

	Th (C3)	TI (C3)	Gg (C4)
Ψ_{12}	-2.04 ± 0.09 A	-1.92 ± 0.10 A	-3.80 ± 0.41 B
Ψ_{50}	-2.15 ± 0.11 A	-2.07 ± 0.09 A	-4.27 ± 0.11 B
Ψ_{88}	-2.43 ± 0.25 A	-2.48 ± 0.32 A	-4.67 ± 0.09 B
MSH ₁₂	1.13 ± 0.08 A	0.81 ± 0.30 A	2.99 ± 0.47 B
MSH ₅₀	1.24 ± 0.13 A	0.97 ± 0.23 A	3.45 ± 0.12 B
MSH ₈₈	1.52 ± 0.41 A	1.38 ± 0.43 A	3.85 ± 0.08 B

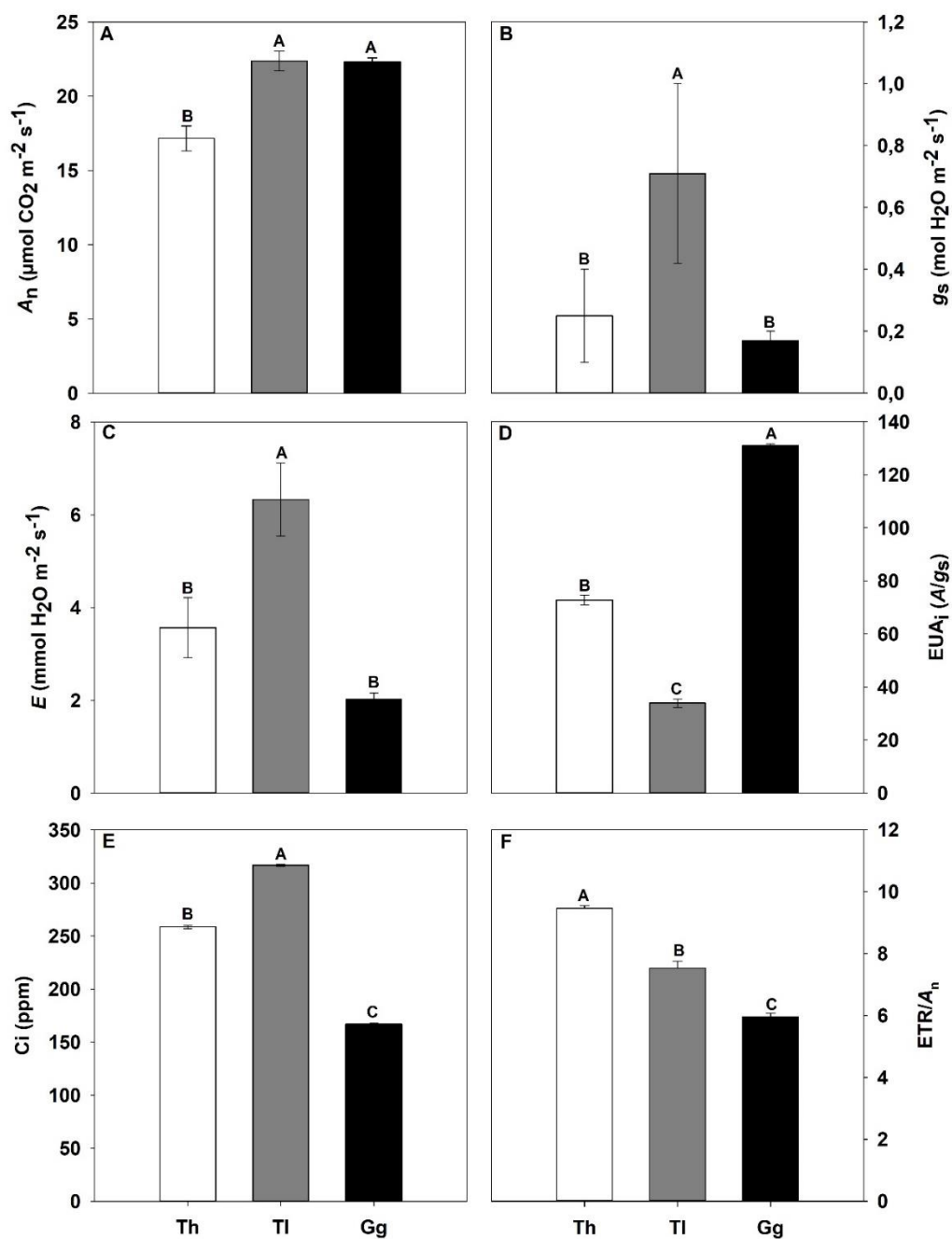


Figura 1. Médias da taxa líquida de assimilação de CO_2 (A_n), condutância estomática (g_s), transpiração (E), eficiência do uso da água (EUA_i), da concentração interna celular de CO_2 (C_i) e da razão entre a taxa de transporte de elétrons e a A_n (ETR/A_n) de folhas de três espécies de Cleomaceae (*T. hassleriana* (Th), *T. longicarpa* (TI) e *G. gynandra* (Gg)). Letras diferentes entre as espécies representam diferenças significativas de acordo com o teste de Tukey.

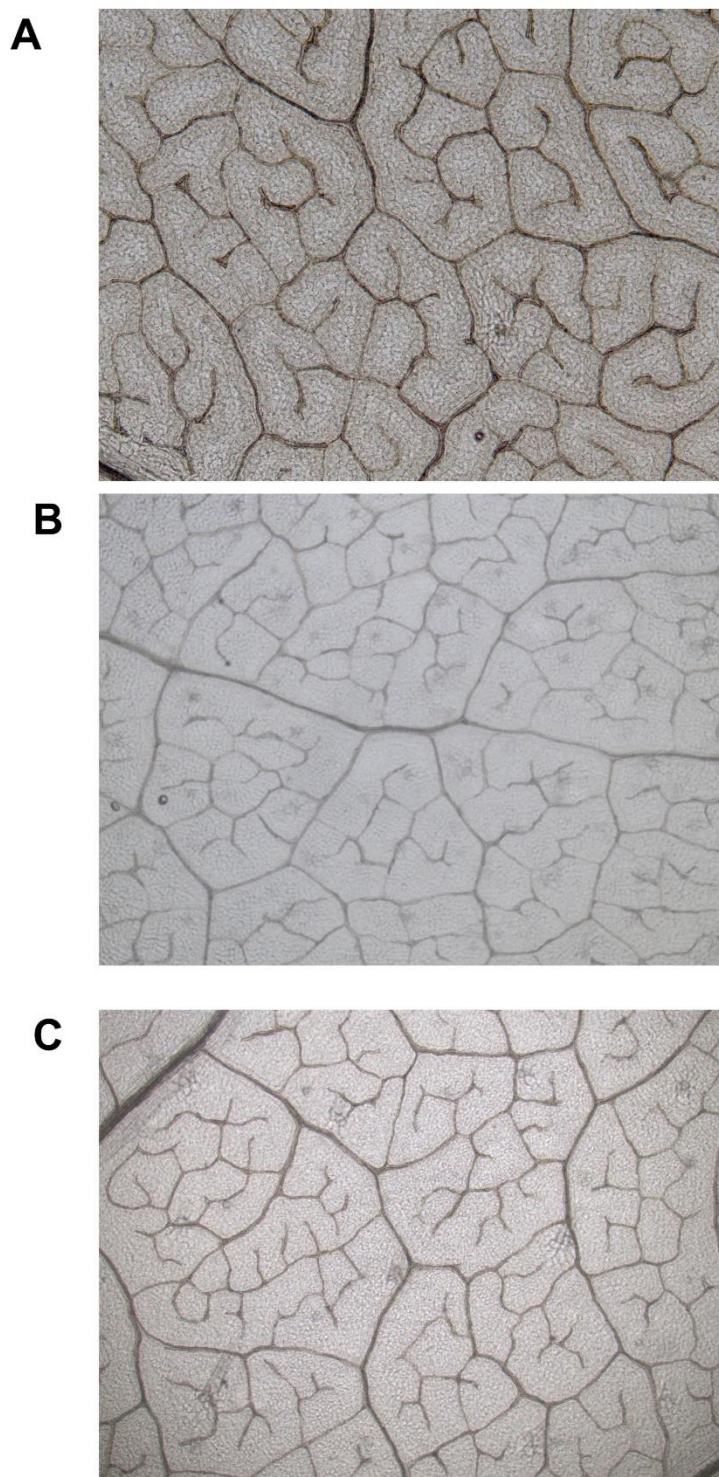


Figura 2. Densidade de venação em folhas completamente expandidas de três espécies da família Cleomaceae. (A) *Gynandropsis gynandra* (C4); (B) *Tarenaya longicarpa* (C3) e (C) *Tarenaya hassleriana* (C3).

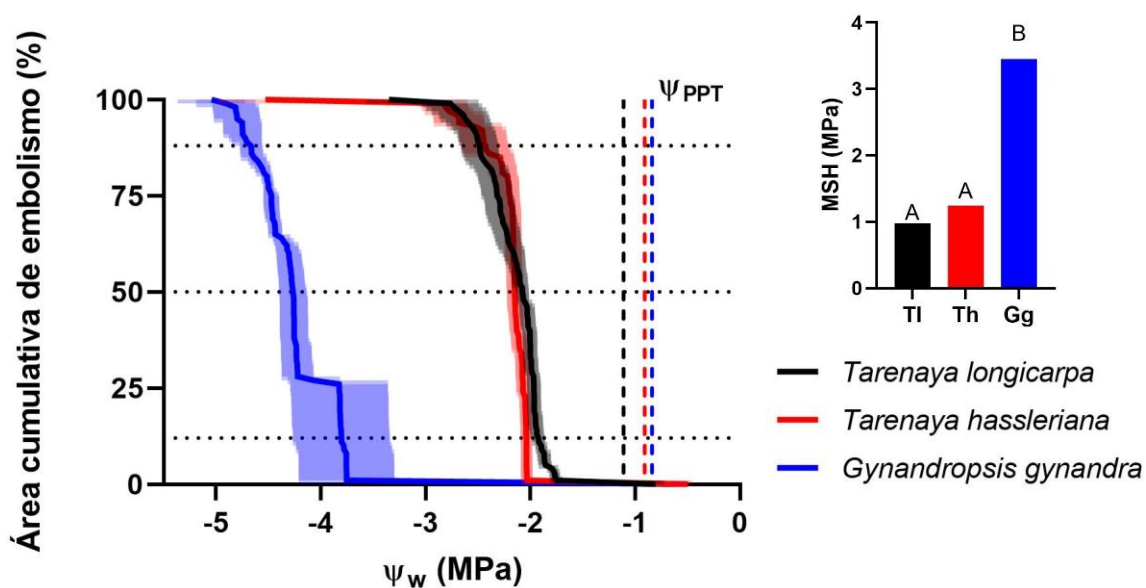


Figura 3. Área cumulativa de embolismo (%) em folhas em processo de desidratação de três espécies da família Cleomaceae. As linhas tracejadas na vertical representam a média do potencial hídrico no ponto de perda de turgor (Ψ_{PPT}) e as linhas tracejadas na horizontal indicam os limites de 12, 50 e 88% da área cumulativa embolizada. As linhas sólidas coloridas dos gráficos são as médias e as sombras são \pm EP. O gráfico de barras mostra a diferença na margem de segurança hidráulica ($MSH = \psi_{50} - \Psi_{PPT}$). Letras diferentes entre as espécies representam diferenças significativas de acordo com o teste de Tukey. $n = 4 \pm$ EP