

UnB

**Instituto de Ciências Biológicas
Departamento de Ecologia
Programa de Pós-Graduação em Ecologia**

Atributos e tipos funcionais de espécies lenhosas no cerrado

Frederico Scherr Caldeira Takahashi

Brasília – DF
2010

Frederico Scherr Caldeira Takahashi

Atributos e tipos funcionais de espécies lenhosas no cerrado

Tese apresentada ao Departamento de Ecologia do Instituto de Ciência Biológicas da Universidade de Brasília como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Ecologia.

Orientador: Dr. Augusto César Franco

Brasília – DF
2010

Frederico Scherr Caldeira Takahashi

Atributos e tipos funcionais de espécies lenhosas no cerrado

Tese apresentada ao Departamento de Ecologia do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade de Brasília como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Ecologia, Brasília, 2010.

Banca examinadora:

Dr. Augusto César Franco

Presidente

Dr. Gustavo Maia Souza

Membro

Dr. Marco Antônio Portugal Luttembarck Batalha

Membro

Dra. Heloísa Sinatora Miranda

Membro

Dra. Gabriela Bielefeld Nardoto

Membro

*You say the hill's too steep to climb, climb it.
You say you'd like to see me try, climbing.
You pick the place and I'll choose the time
And I'll climb the hill in my own way.
Just wait a while for the right day.
And as I rise above the tree lines and the clouds
I look down, hearing the sound of the things you've said today.*

*Fearlessly the idiot faced the crowd, smiling.
Merciless the magistrate turns round, frowning.
And who's the fool who wears the crown?*

*And go down, in your own way
And every day is the right day
And as you rise above the fear-lines in his brow
You look down, hearing the sound of the faces in the crowd.*

Roger Waters e David Gilmour

Agradecimentos:

À CAPES e ao CNPq pela concessão da bolsa de doutorado.

À National Science Foundation pelo suporte financeiro relacionado ao projeto “Evolutionary and ecological feedbacks as determinants of savanna-forest dynamics”.

À Andrew W. Mellon Foundation pelo suporte financeiro relacionado ao projeto “The role of species traits in governing positive feedbacks at savanna-forest boundaries”.

À equipe da Reserva Ecológica do IBGE pelo apoio logístico.

Ao meu orientador, Dr. Augusto Franco, por todo o apoio compreensão ao longo de todo o doutorado.

Ao Dr. William (Bill) Hoffmann por todos os *insights* e pelo apoio como coordenador dos projetos que apoiaram a realização de minha tese.

Ao Dr. Guillermo Goldstein pelo empréstimo de equipamentos essenciais à realização da tese.

Aos colegas de projeto que viveram comigo a rotina de trabalho de campo com todas as dificuldades e alegrias envolvidas: Erika Geiger, José Carlos Souza, Sybil Gotsch, Bruna Diniz e Marina Teatine.

Aos destemidos estagiários que enfrentaram esta empreitada comigo e sem os quais nunca teria feito este trabalho: Alexandre Dídimo Viera, Felipe Stock, Ana Clara Domingues, Pedro Henrique Silveira, Maria Luiza Almeida e Lorena Santana.

Ao Inésio Marinho, técnico do laboratório, por toda a ajuda para (tentar) fazer toda a parafernália eletrônica de um ecofisiologista funcionar.

À equipe técnica da LICOR – USA pela grande ajuda na resolução de problemas técnicos no amado/odiado LI6400.

Ao José do Carmo e ao Mendes, técnicos do departamento de botânica e instituto de biologia, pela inestimável ajuda na identificação das plantas.

Aos meus professores na UnB que de uma forma voluntário ou involuntária influenciaram muito na elaboração da minha tese: Haridasan, Mercedes e Guarino.

Aos amigos “das antigas” no laboratório por todos os momentos de divagações fisiológicas e filosóficas (e também pelas boas gozações que deixaram a vida bem mais leve): Davi “Botânico” Rossatto e Marina Scalon.

À todos os amigos que permitiram a manutenção do nível de sanidade mínima durante o doutorado: turma dos “pintinhos de feira”, colegas do saudoso Café Fisiológico e da Cerveja Estatística.

À minha família por sempre me apoiar, em especial ao meu tio Otacílio pela acolhida em terras brasilienses.

À minha Angelita, por toda a compreensão, apoio e companheirismo.

Sumário

Resumo	vi
Abstract	viii
Lista de tabelas	x
Lista de figuras	xi
Introdução geral	1
Capítulo 1 – Modelagem estatística do padrão fotossintético de espécies típicas de matas de galeria e de cerrado: origens diferentes, respostas similares na savana.....	8
Capítulo 2 – Maior disponibilidade de água no solo e ar úmido evitariam a diminuição da condutância estomática e fotossíntese em plantas do cerrado na estação seca?.....	51
Capítulo 3 – Identificação de tipos funcionais de árvores do cerrado e padrões de atributos relacionados aos diferentes adensamentos da vegetação.....	69
Considerações finais	98
Anexo I – Automatização do Sistema de Análise Fotossíntese – LI6400	100
Anexo II – Linha de comando em R para ajuste de curvas A/C _i	112
Anexo III – Amostragem de muitas parcelas pequenas ou poucas parcelas grandes para associar uma comunidade biológica a variáveis ambientais? Simulações com uma comunidade de árvores do cerrado	114

Resumo

A marcante sazonalidade das chuvas representa um importante filtro ambiental ao estabelecimento e crescimento da vegetação savânica do cerrado. Outra característica importante deste ambiente é a grande heterogeneidade da configuração do dossel arbóreo. Em distâncias da ordem de dezenas de metros, podemos encontrar savanas com graus contrastantes de adensamento de árvores. Desta forma, ao logo da paisagem são encontradas áreas em que a luz pode ser escassa, se tornando um fator limitante ao crescimento arbóreo, enquanto em outras áreas, a presença de luz em intensidades elevadas pode ocasionar danos por excesso de energia absorvida ou alterar o metabolismo fotossintético em função do aumento da temperatura foliar. Apesar da predominância de savanas na região do cerrado, estão presentes áreas com vegetação florestal, com fronteiras bem delimitadas entre estas duas fitofisionomias. As florestas apresentam diferenças marcantes em relação às savanas na disponibilidade de luz e água. Contudo, indivíduos de algumas espécies típicas de floresta conseguem estabelecer-se em áreas savânicas. No primeiro capítulo, elaboramos modelos estatísticos para a descrição de aspectos ecofisiológicos de árvores estabelecidas na savana, investigando a influência da sazonalidade climática e possíveis diferenças entre plantas de espécies típicas da savana e típicas de floresta. Para tanto, selecionamos 12 pares congêneros, compostos de uma espécie típica da savana e uma típica de floresta. Realizamos as medições na estação seca e chuvosa, estimando a taxa fotossintética, condutância estomática, curvas de resposta à luz, CO₂ e temperatura, fluorescência da clorofila *a* (partição de energia no fotossistema II) e potencial hídrico foliar mínimo. Contrariando nossas expectativas, os dois grupos de espécies (savânicas e florestais) não demonstraram diferenças em nenhum dos atributos avaliados. As medições de trocas gasosas e potencial hídrico revelaram mudanças fisiológicas entre estações do ano, porém, ambos os grupos responderam

de maneira similar. Com isto, apesar das plantas típicas de floresta terem evoluído em ambientes marcadamente diferentes das savanas, em termos de luminosidade e disponibilidade hídrica, os indivíduos deste grupo que crescem nas savanas apresentaram características similares às plantas típicas deste ambiente. No segundo capítulo, avaliamos as respostas das trocas gasosas de três espécies arbóreas ao aumento da disponibilidade de água no solo e da umidade do ar (que resulta na diminuição da demanda evaporativa) durante a estação seca. Para isto, realizamos curvas de resposta ao déficit de pressão de vapor folha-atmosfera em indivíduos estabelecidos naturalmente na savana, em áreas irrigadas e não irrigadas. A fotossíntese e condutância estomática foram fortemente reguladas pela disponibilidade de água no solo e pela demanda evaporativa. Deste modo, a restrição da assimilação de carbono imposta pela estação seca só seria evitada em situações que propiciassem a elevação da disponibilidade de água no solo acompanhadas de condições microclimáticas que diminuíssem a demanda evaporativa. No terceiro capítulo, agrupamos as espécies arbóreas mais comuns na região savânica analisada em sete tipos funcionais relacionados a características dos ambientes em que estas ocorrem (abertura do dossel, altura e área basal das árvores, biomassa de gramíneas e de serapilheira) levando em conta o grau de similaridade de atributos das espécies. Analisando os estados dos atributos ao longo da variação do ambiente, constatamos a existência tanto de padrões de convergência de caracteres quanto padrões de divergência de caracteres na comunidade arbórea. Isto evidencia que, mesmo em escalas espaciais finas (compreendendo poucos quilômetros de distância), os filtros ambientais selecionaram espécies com atributos semelhantes, enquanto a competição inter-específica favoreceu a diferenciação dos atributos de espécies que coexistem.

Palavras chave: savana, mata de galeria, fotossíntese, resposta estomática, sazonalidade climática, déficit hídrico, demanda evaporativa, adensamento arbóreo, filtros ambientais.

Abstract

The strong rainfall seasonality represents an important environmental filter on the establishment and growth of the cerrado savanna-like vegetation. Another important feature of this environment is the great heterogeneity of the tree canopy configuration. At distances in the order of tens of meters, we can find savannas with contrasting degrees of tree density. Thus, across the landscape, there are areas where light availability can be scarce, becoming a limiting factor for tree growth, although in other areas, high light intensities can cause damages by excess of absorbed energy or imbalance of the photosynthetic metabolism due to increased leaf temperature. Despite the predominance of savannas in the cerrado, there are areas with forest vegetation, forming well-defined boundaries between these two vegetation types. Forests have significant differences in relation to the savannas concerning light and water availability. However, some typical forest species have established individuals in savannic areas. In the first chapter, we developed statistical models to describe the ecophysiological aspects of established trees growing in the savannas investigating the influence of climatic seasonality and possible differences among plants of species typical of savanna and typical of forest. To this end, we selected 12 congeneric species pairs, consisting each one of a typical savanna species and a typical forest species, for measurements in dry and rainy seasons. We estimated the photosynthetic rate, stomatal conductance, light, CO₂ and temperature response curves, chlorophyll *a* fluorescence (energy partitioning in photosystem II) and minimum leaf water potential. Contrary to our expectations, both groups of species (savanna and forest) showed no differences in any of the studied traits. Measurements of gas exchange and water potential showed physiological changes among the seasons, although both groups responded similarly. Therefore, despite typical forest species have evolved in an environment markedly different from the savanna in terms of light and water availability,

individuals of this group established in the savannas exhibited similar characteristics to typical savanna species. In the second chapter, we evaluated the gas exchange responses of three tree species to increased soil water availability and air humidity (resulting in decreasing evaporative demand) during the dry season. For this, we conducted response curves of leaf-to-air vapor pressure deficit on naturally established individuals in the savanna, in irrigated and non irrigated areas during the dry season. The photosynthesis and stomatal conductance were strongly regulated by soil water availability and evaporative demand. Therefore, the restrictions on carbon assimilation imposed by the dry season would only be avoided in situations that could provide higher availability of soil water accompanied by microclimatic conditions that adversely affect the evaporative demand. In the third chapter, we grouped the most common savanna tree species of the area in seven different functional types related to the environmental conditions which they occur (canopy openness, height and basal area of trees, biomass of grass and litter) taking into account the similarity degree of traits among species. Evaluating the condition of the traits along the environment variation, we note the existence of both trait-convergence and trait-divergence patterns on tree community. Therefore, even in fine spatial scale (including a few kilometers away), the environmental filters selected species with similar traits, while interspecific competition favored the differentiation of the coexistent species traits.

Key words: savanna gallery forest, photosynthesis, stomatal response, climatic seasonality, water deficit, air evaporative demand, tree density, environment filters.

Lista de tabelas

Capítulo 1

Tabela I – Espécies utilizadas no trabalho agrupadas em pares congêneros com a indicação das espécies típicas de savana e típicas de floresta.....	12
Tabela II – Avaliação da influência do grupo funcional nas estimativas de parâmetros ecofisiológicos, indicando a análise estatística empregada.....	23
Tabela III – Parâmetros ecofisiológicos e melhores modelos estatísticos obtidos para descrever influência das demais variáveis.....	24

Capítulo 2

Tabela I – Caracterização das espécies utilizadas e indicação do número de indivíduos medidos.....	54
Tabela II – Coeficientes dos modelos obtidos e resultados dos testes de significância.....	57

Capítulo 3

Tabela I – Atributos de espécies utilizados.....	75
Tabela II – Espécies utilizadas no trabalho (frequência ≥ 5).....	82
Tabela III – Composição de espécies dos tipos funcionais delimitados e sua frequência e abundância.....	82
Tabela IV – Atributos das espécies ou tipos funcionais de maior relevância.....	83
Tabela V – Valores médios dos atributos nos tipos funcionais delimitados.....	83

Anexo I

Tabela AI-I – Resumo do algoritmo dos programas desenvolvidos para automatizar medições do LI6400.....	103
Tabela AI-II – Configuração considerada adequada para curvas de luz e de CO ₂	104

Lista de figuras

Capítulo 1

Fig. 1 – Relação entre fotossíntese líquida no início da manhã com PPFd de 1600 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ (pré-curva) e potencial hídrico (estimado no meio do dia). Letras maiúsculas representam espécies típicas de cerrado e letras minúsculas, espécies típicas de floresta; letras diferentes representam gêneros diferentes (não utilizamos as letras C,L,O devido a similaridade entre caractere maiúsculo e minúsculo). Símbolos em cinza representam leituras na estação seca e símbolos em preto leituras na estação chuvosa. Linhas representam o modelo obtido por meio de LMM (tabela III) combinado com equações obtidas para g_s , assumindo temperatura foliar de 25°C e, sendo linha tracejada referente ao previsto para estação seca e linha contínua, para estação chuvosa.....25

Fig. 2 – Relação entre fotossíntese líquida no início da manhã com PPFd de 1600 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ (pré-curva) e condutância estomática. Letras maiúsculas representam espécies típicas de cerrado e letras minúsculas, espécies típicas de floresta; letras diferentes representam gêneros diferentes (não utilizamos as letras C,L,O devido a similaridade entre caractere maiúsculo e minúsculo). Símbolos em cinza representam leituras na estação seca e símbolos em preto, leituras na estação chuvosa. Linhas representam o modelo obtido por meio de LMM (tabela III) assumindo Ψ_{MD} médio de cada estação, sendo linha tracejada referente ao previsto para estação seca e linha contínua, para estação chuvosa..... 25

Fig. 3 – Relação entre condutância estomática no início da manhã com PPFd de 1600 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ (pré-curva) e potencial hídrico (estimado no meio dia). Letras maiúsculas representam espécies típicas de cerrado e letras minúsculas, espécies típicas de floresta; letras diferentes representam gêneros diferentes (não utilizamos as letras C,L,O devido a similaridade entre caractere maiúsculo e minúsculo). Símbolos em cinza representam leituras na estação seca e símbolos em preto, leituras na estação chuvosa. Linhas representam o modelo obtido por meio de LMM (tabela III) assumindo temperatura foliar de 25°C sendo linha tracejada referente ao previsto para estação seca e linha contínua, para estação chuvosa.....26

Fig. 4 – Eficiência do uso da água observada na estação seca e chuvosa no início da manhã com PPFd de 1600 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ (pré-curva). Círculos representam as médias e barras de erro o desvio padrão. Letras representam as mesmas variáveis, exibindo o valor individual de cada planta. Letras maiúsculas representam espécies típicas de cerrado e letras minúsculas, espécies típicas de floresta; letras diferentes representam gêneros diferentes (não utilizamos as letras C,L,O devido a similaridade entre caractere maiúsculo e minúsculo). Posicionamento horizontal das letras realizado somente para facilitar a visualização..... 26

Fig. 5 – Curvas de resposta a luz realizadas na estação seca e chuvosa. Letras representam as mesmas variáveis, exibindo o valor individual de cada planta. Letras maiúsculas representam espécies típicas de cerrado e letras minúsculas, espécies típicas de floresta; letras diferentes representam gêneros diferentes (não utilizamos as letras C,L,O devido a similaridade entre caractere maiúsculo e minúsculo). Linhas representam ajuste do modelo de hipérbole não retangular utilizando parâmetros estimados pela análise de dois estágios (NLE seguido de LMM)..... 27

Fig. 6 – Relação entre respiração mitocondrial e status hídrico (estimado no meio dia). Letras maiúsculas representam espécies típicas de cerrado e letras minúsculas, espécies típicas de floresta; letras diferentes representam gêneros diferentes (não utilizamos as letras C,L,O devido a similaridade entre caractere maiúsculo e minúsculo). Símbolos em cinza representam leituras na estação seca e símbolos em preto, leituras na estação chuvosa. Linhas representam o modelo obtido por meio de LMM (tabela III) sendo linha tracejada referente ao previsto para estação seca e linha contínua, para estação chuvosa..... 28

Fig. 7 – Rendimento quântico da fotossíntese observada na estação seca e chuvosa. Círculos representam as médias e barras de erro o desvio padrão. Letras representam as mesmas variáveis, exibindo o valor individual de cada planta. Letras maiúsculas representam espécies típicas de cerrado e letras minúsculas, espécies típicas de floresta; letras diferentes representam gêneros diferentes (não utilizamos as letras C,L,O devido a similaridade entre caractere maiúsculo e minúsculo). Posicionamento horizontal das letras realizado somente para facilitar a visualização..... 28

Fig. 8 – Grau de inflexão da curva de resposta à luz observada na estação seca e chuvosa. Círculos representam as médias e barras de erro o desvio padrão. Letras representam as mesmas variáveis, exibindo o valor individual de cada planta. Letras maiúsculas representam espécies típicas de cerrado e letras minúsculas, espécies típicas de floresta; letras diferentes representam gêneros diferentes (não utilizamos as letras C,L,O devido a similaridade entre caractere maiúsculo e minúsculo). Posicionamento horizontal das letras realizado somente para facilitar a visualização..... 29

Fig. 9 – Relação entre fotossíntese líquida estimada para $PPFD=1900 \text{ mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ (considerando NLM obtido para cada indivíduo) e potencial hídrico (estimado no meio dia). Letras maiúsculas representam espécies típicas de cerrado e letras minúsculas, espécies típicas de floresta; letras diferentes representam gêneros diferentes (não utilizamos as letras C,L,O devido a similaridade entre caractere maiúsculo e minúsculo). Símbolos em cinza representam leituras na estação seca e símbolos em preto, leituras na estação chuvosa. Linhas representam o modelo obtido por meio de LMM (tabela III), sendo linha tracejada referente ao previsto para estação seca e linha contínua, para estação chuvosa..... 29

Fig. 10 – Intensidade de luz sub-saturante ($PPFD$ que resulta em taxa fotossintética igual a A_{1900}) observada na estação seca e chuvosa. Círculos representam as médias e barras de erro o desvio padrão. Letras representam as mesmas variáveis, exibindo o valor individual de cada planta. Letras maiúsculas representam espécies típicas de cerrado e letras minúsculas, espécies típicas de floresta; letras diferentes representam gêneros diferentes (não utilizamos as letras C,L,O devido a similaridade entre caractere maiúsculo e minúsculo). Posicionamento horizontal das letras realizado somente para facilitar a visualização..... 30

Fig. 11 – Curvas de resposta a CO_2 . Símbolos em **preto** representam leituras de espécies **sempre-verdes** e símbolos em **cinza** espécies **decíduas** ou **breve-decíduas**. Letras maiúsculas representam espécies típicas de cerrado e letras minúsculas, espécies típicas de floresta; letras diferentes representam gêneros diferentes (não utilizamos as letras C,L,O devido a similaridade entre caractere maiúsculo e minúsculo). Linhas

representam o modelo obtido por meio de NLMM assumindo temperatura foliar de 25 °C, sendo a linha contínua referente a faixa de valores com fotossíntese limitada pela atividade da Rubisco e linha tracejada, limitada por RuBP..... 30

Fig. 12 – Relação entre taxa de carboxilação máxima (V_{cmax}) e potencial hídrico estimado no meio dia (esquerda), taxa máxima de transporte de elétrons (J_{max}) (centro) e respiração mitocondrial (R_d) (direita). Letras em **preto** representam leituras de espécies **sempre-verdes** e em **cinza** espécies **decíduas** ou **breve-decíduas**. Letras maiúsculas representam espécies típicas de cerrado e letras minúsculas, espécies típicas de floresta; letras diferentes representam gêneros diferentes (não utilizamos as letras C,L,O devido a similaridade entre caractere maiúsculo e minúsculo; espécies florestais “j” e “n” não foram utilizadas devido a problemas em seus ajustes de curva). Linhas representam o modelo obtido por meio de LMM (tabela III). Círculos representam as médias e barras de erro o desvio padrão. Posicionamento horizontal das letras nos gráficos de J_{max} e R_d realizado somente para facilitar a visualização.....31

Fig. 13 – Curvas de resposta a temperatura realizadas no meio do dia. Círculos em cinza representam espécies típicas de cerrado e círculos em preto, espécies típicas de floresta. Tamanho do círculo é proporcional a condutância estomática. Linha representa o modelo obtido por meio de LMM assumindo potencial hídrico médio do período..... 31

Fig. 14 – Limitação fotossintética associada a condutância (acima), proporção de centros de reação do fotossistema II abertos ao meio dia com PPFD de $\sim 1700 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ (esquerda) e rendimento quântico potencial do fotossistema II medidos na antemanhã (direita). Círculos representam as médias e barras de erro o desvio padrão. Letras representam os mesmos dados, exibindo o valor individual de cada planta. Letras maiúsculas representam espécies típicas de cerrado e letras minúsculas, espécies típicas de floresta; letras diferentes representam gêneros diferentes (não utilizamos as letras C,L,O devido a similaridade entre caractere maiúsculo e minúsculo). As espécies florestais “j” e “n” não foram utilizadas na análise de limitação fotossintética associada a condutância devido a problemas em seus ajustes de curva. Posicionamento horizontal das letras realizado somente para facilitar a visualização.....32

Fig. 15 – Particionamento de energia no fotossistema II no meio dia com PPFD de $\sim 1700 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$: para processos fotoquímicos (superior a esquerda), dissipada por mecanismos de proteção (superior a direita) e direcionada para outros processos (inferior). Influência do status hídrico no Φ_{NO} demonstrado no gráfico inferior sendo a linha representando o modelo obtido por LMM (tabela II). Círculos representam as médias e barras de erro o desvio padrão. Letras representam os mesmos dados, exibindo o valor individual de cada planta. Letras maiúsculas representam espécies típicas de cerrado e letras minúsculas, espécies típicas de floresta; letras diferentes representam gêneros diferentes (não utilizamos as letras C,L,O devido a similaridade entre caractere maiúsculo e minúsculo). Posicionamento horizontal das letras nos gráficos superiores realizado somente para facilitar a visualização..... 33

Fig. 16 – Potencial hídrico do meio dia na estação seca e chuvosa. Círculos representam as médias e barras de erro o desvio padrão. Letras representam as mesmas variáveis, exibindo o valor individual de cada planta. Letras maiúsculas representam espécies típicas de cerrado e letras minúsculas, espécies típicas de floresta; letras

diferentes representam gêneros diferentes (não utilizamos as letras C,L,O devido a similaridade entre caractere maiúsculo e minúsculo). Posicionamento horizontal das letras realizado somente para facilitar a visualização..... 34

Fig. S1 – Relação entre modificação percentual da fotossíntese e da condutância estomática ao longo das curvas de resposta a temperatura. Símbolos expressam valores obtidos ao final das curvas (temperatura elevada) ajustados como porcentagem dos valores observados no início das curvas (temperatura baixa). Letras maiúsculas representam espécies típicas de cerrado e letras minúsculas, espécies típicas de floresta; letras diferentes representam gêneros diferentes (não utilizamos as letras C,L,O devido a similaridade entre caractere maiúsculo e minúsculo)..... 50

Capítulo 2

Fig. 1 – Influência do deficit de pressão de vapor folha-atmosfera (DPV) na condutância estomática (g_s). Símbolos preenchidos representam plantas situadas em parcelas irrigadas e símbolos vazios, em parcelas controle. Quadrados representam *Roupala montana* (7 indivíduos); círculos *Eriotheca pubescens* (9 indivíduos) e triângulos *Styrax camporum* (6 indivíduos). Linhas representam modelos ajustados (tabela II) para plantas situadas nas parcelas irrigadas (linha contínua) e parcelas controle (linha tracejada)..... 58

Fig. 2 – Influência da condutância estomática (g_s) na fotossíntese líquida (A_L). Símbolos preenchidos representam plantas situadas em parcelas irrigadas e símbolos vazios, em parcelas controle. Quadrados representam *Roupala montana* (7 indivíduos); círculos *Eriotheca pubescens* (9 indivíduos) e triângulos *Styrax camporum* (6 indivíduos). Linhas representam modelos ajustados (tabela II) para plantas situadas nas parcelas irrigadas (linha contínua) e parcelas controle (linha tracejada)..... 58

Fig. S1 – Influência do deficit de pressão de vapor folha-atmosfera (DPV) na condutância estomática (g_s). Símbolos preenchidos representam plantas situadas em parcelas irrigadas e símbolos vazios, em parcelas controle. Quadrados representam *Roupala montana* (7 indivíduos); triângulos *Styrax camporum* (6 indivíduos) e círculos *Eriotheca pubescens* (9 indivíduos). Linhas conectam medições de um mesmo indivíduo em plantas situadas nas parcelas irrigadas (linha contínua) e parcelas controle (linha tracejada)..... 66

Fig. S2 – Influência da condutância estomática (g_s) na fotossíntese líquida (A_L). Símbolos preenchidos representam plantas situadas em parcelas irrigadas e símbolos vazios, em parcelas controle. Quadrados representam *Roupala montana* (7 indivíduos); triângulos *Styrax camporum* (6 indivíduos) e círculos *Eriotheca pubescens* (9 indivíduos). Linhas conectam medições de um mesmo indivíduo em plantas situadas nas parcelas irrigadas (linha contínua) e parcelas controle (linha tracejada)..... 67

Fig. S3 – Influência da condutância estomática (g_s) na eficiência do uso da água instantânea (razão A_L/g_s). Símbolos preenchidos representam plantas situadas em parcelas irrigadas e símbolos vazios, em parcelas controle. Quadrados representam *Roupala montana* (7 indivíduos); triângulos *Styrax camporum* (6 indivíduos) e círculos *Eriotheca pubescens* (9 indivíduos)..... 68

Capítulo 3

Fig. 1 – Imagem de satélite destacando a área de estudo (Reserva Ecológica do IBGE,

Brasília, DF). Polígonos com contorno branco representam áreas com vegetação savânica preservadas (sem sinais de queimadas recentes, invasões biológicas ou impactos antrópico); quadrados pequenos representam a posição das parcelas. Adaptado de imagem disponível no sistema Google Earth..... 73

Fig. 2 – Fluxograma resumindo a análise de dados realizada. Caixas indicam os conjuntos de dados, linhas ligam os conjuntos de dados usados em uma mesma análise e setas indicam a análise realizada (PCC e PDC indicam análise para verificar ocorrência de padrão de convergência de caracteres ou padrão de divergência de caracteres; RDA: análise de redundância; SLA: área foliar específica; A_L : fotossíntese líquida; g_s : condutância estomática; WUEi: eficiência do uso da água intrínseca; Sp1 a Sp 27: espécies utilizadas, em ordem crescente de frequência, TF 1 a TF*n*: tipos funcionais delimitado)..... 77

Fig. 3 – Influência de variáveis ambientais na ocorrência de espécies (a) ou de tipos funcionais (b) analisada por RDA parcial com exclusão do efeito da distribuição espacial das parcelas. TF representa tipos funcionais conforme numeração apresentada na tabela III. Nomes de espécies ou de tipos funcionais indicam “scores das espécies” e setas indicam a direção dos gradientes ambientais e o seu comprimento indica a força desta variável em cada uma das dimensões da ordenação (ponta das setas indicam a correlação entre cada variável ambiental e a combinação linear das variáveis; origem das setas indica a média ponderada da variável ambiental). 85

Fig. S1 – Distribuição espacial das parcelas com a representação de suas variáveis ambientais (valores proporcionais ao tamanho dos círculos)..... 97

Introdução Geral

A vegetação savânica do cerrado é fortemente controlada por diversos aspectos deste ambiente que limitam o estabelecimento, crescimento e sobrevivência das plantas. Acredita-se que a baixa disponibilidade de nutrientes, típica dos latossolos distróficos, é um importante limitante (Haridasan 2000). Uma das evidências do efeito da baixa fertilidade é obtida pela comparação das savanas do cerrado com outros ambientes, sendo que áreas florestais com maior disponibilidade de nutrientes apresentam biomassa superior a do cerrado (Haridasan 2000). A ocorrência de incêndios também é um importante fator que molda a comunidade vegetal no cerrado, causando não só um aumento da taxa de mortalidade geral, mas também mortalidade diferencial entre espécies, em função de seus atributos, e entre indivíduos de tamanhos diferentes (Hoffmann 2000, Medeiros & Miranda 2008).

O estabelecimento das plantas nas savanas do cerrado é bastante dificultado pela marcante sazonalidade das chuvas. A região apresenta pluviosidade média anual de 600 a 2000 mm, distribuídas de forma sazonal, com uma estação seca bem marcada que pode durar de quatro a cinco meses (Assad 1994). Ao germinarem na estação chuvosa, as plântulas devem manter um rápido desenvolvimento inicial para resistir ao extenso período seco subsequente (Franco 2002). Os indivíduos adultos também sofrem limitações de assimilação de CO₂ relacionadas à estação seca, pois o acesso a reservas subterrâneas de água muitas vezes não é suficiente para compensar a elevada demanda evaporativa (Franco 2005).

O grau de adensamento da vegetação arbórea, também pode ser uma importante influência no estabelecimento de novos indivíduos, além de alterar a capacidade de crescimento e sobrevivência dos indivíduos já estabelecidos (Hoffmann 2000). Isto porque o grau de adensamento arbóreo influencia a disponibilidade de luz, podendo reduzir a abundância deste recurso essencial em áreas mais adensadas, limitando assim a assimilação de

carbono das plantas (Kanegae et al. 2000). Já em áreas mais abertas, a alta intensidade luminosa pode resultar na diminuição da capacidade fotossintética devido a processos de fotoinibição (Franco & Lüttge 2002). O adensamento da vegetação também influencia na evapotranspiração da vegetação (Giambelluca et al. 2009).

Os motivos para a variação no adensamento da vegetação, entretanto, não são claros. Apesar de fatores ambientais abióticos, como a profundidade do lençol freático, possivelmente apresentarem papel neste padrão em escala fina (Ferreira et al. 2009), fatores biológicos associados às características dos indivíduos estabelecidos nas diferentes porções deste mosaico de adensamentos podem ter importância fundamental na formação deste padrão. Isto porque, o aumento do adensamento da vegetação apresenta retroalimentação positiva causada pela modificação do ambiente pelas árvores estabelecidas (ex. sombreamento, alteração de propriedades do solo e microclima), favorecendo o estabelecimento de novos indivíduos arbóreos (Wilson & Agnew 1992, Duarte et al. 2007).

É interessante notar que a resposta da vegetação a tais fatores ambientais não é uniforme. Uma das abordagens para estudar esta resposta diferencial é por meio da delimitação de sub-conjuntos de espécies. Estes são denominados tipos funcionais e representam grupos de espécies não relacionadas filogeneticamente, mas com comportamento similar no ecossistema devido a um conjunto de atributos em comum (Gitav & Noble 1997). Tais agrupamentos podem ser estabelecidos em função da resposta das plantas a um determinado fator ambiental (tipos funcionais de resposta), em função do seu efeito no ecossistema (tipos funcionais de efeito) ou mesmo pela combinação de efeito-resposta (Lavorel & Garnier 2002).

A forma de delimitação da composição de tipos funcionais é variada, sendo utilizados diversos tipos de critérios ou premissas (Gitav & Noble 1997, Pillar & Sosinski 2003). Frequentemente esta delimitação é subjetiva, correspondendo as expectativas do pesquisador.

Em outros casos, esta é realizada *a priori* em função de compilações de observações da interação das espécies com o ambiente, porém, sem a utilização de procedimentos especificamente voltados para este objetivo. Por último, esta delimitação pode ser realizada pela análise de padrões de abundância das espécies ao longo de um gradiente ambiental, associada com a avaliação dos atributos funcionalmente relevantes da vegetação.

Mas é importante destacar que é improvável a obtenção uma classificação de tipos funcionais que seja relevante para associar simultaneamente a resposta e/ou efeito a todos os aspectos ambientais. Desta forma, a delimitação de tipos funcionais seria uma ferramenta para facilitar a compreensão de respostas e/ou efeitos contrastantes das espécies a um conjunto pré estabelecido de caracteres ambientais (Pillar 2004). Tal simplificação da comunidade biológica se mostra essencial para estudos empregando modelos de previsão de resposta da vegetação a mudanças climáticas ou de uso da terra (Diaz & Cabido 1997, Pausas 1999, Lavorel et al. 2007), apresentando também a possibilidade de extrapolação das conclusões obtidas para outras regiões com condições ambientais equivalentes, mesmo que estas se encontrem fora da área de distribuição biogeográfica das espécies originalmente estudadas (Pillar 1999, Diaz et al. 2004).

O objetivo central do presente trabalho foi verificar a interação dos atributos de árvores que ocorrem na savana do cerrado com fatores ambientais que limitam a ocorrência e crescimento destes organismos. Focamos neste trabalho, direta ou indiretamente, o efeito da sazonalidade climática, disponibilidade de água e adensamento da vegetação. No primeiro capítulo, descrevemos o funcionamento do aparato fotossintético de espécies típicas de savana e espécies típicas de floresta quando ambas estão estabelecidas em áreas de savana. Deste modo, avaliamos a interação entre as variáveis ecofisiológicas e as condições do ambiente, enfocando um grupo de espécies que evoluiu no ambiente savânico e outro grupo que ocorre apenas secundariamente neste ambiente. Vale notar que esta classificação das espécies como

típicas de savanas ou típicas de floresta corresponde a uma delimitação de tipos funcionais *a priori* relacionada a diferenças nas respostas da vegetação em termo de fatores como tolerância a fogo (Hoffmann & Franco 2003) e tolerância ao sombreamento (Hoffmann et al. 2004). No segundo capítulo, investigamos o efeito da baixa umidade do ar e baixa disponibilidade de água no solo como fatores que limitam a assimilação de carbono durante a estação seca. No terceiro capítulo, verificamos a ocorrência de sub-grupos de espécies na savana que se relacionassem de formas diferentes com os graus de adensamento da vegetação, de modo a subsidiar a delimitação de tipos funcionais na comunidade. Uma vez que cada árvore analisada é afetada pelo adensamento da área (responde) e, ao mesmo tempo, afeta o adensamento da área, nós nos baseamos no conceito de tipos funcionais de efeito-resposta. Testamos também a ocorrência de padrões de convergência ou divergência de caracteres de importância funcional ao longo deste gradiente de adensamento arbóreo.

Referências

- ASSAD, E. D. 1994. Chuva nos cerrados: análise e espacialização. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa), Brasília. 423 pp.
- DIAZ, S. & CABIDO, M. 1997. Plant functional types and ecosystem function in relation to global change. *Journal of Vegetation Science* 8:463-474.
- DIAZ, S., HODGSON, J. G., THOMPSON, K., CABIDO, M., CORNELISSEN, J. H. C., JALILI, A., MONTSERRAT-MARTÍ, G., GRIME, J. P., ZARRINKAMAR, F., ASRI, Y., BAND, S. R., BASCONCELO, S., CASTRO-DÍEZ, P., FUNES, G., HAMZEHEE, B., KHOSHNEVI, M., PÉREZ-HARGUINDEGUY, N., PÉREZ-RONTOMÉ, M. C., SHIRVANY, F. A., VENDRAMINI, F., YAZDANI, S., ABBAS-AZIMI, R.,

- BOGAARD, A., BOUSTANI, S., CHARLES, M., DEGHAN, M., TORRES-ESPUNY, L., FALCZUK, V., GUERRERO-CAMPO, J., HYND, A., JONES, G., KOWSARY, E., KAZEMI-SAEED, F., MAESTRO-MARTÍNEZ, M., ROMO-DÍEZ, A., SHAW, S., SIAVASH, B., VILLAR-SALVADOR, P. & ZAK, M. R. 2004. The plant traits that drive ecosystems: Evidence from three continents. *Journal of Vegetation Science* 15:295-304.
- DUARTE, L. D. S., CARLUCCI, M. B., HARTZ, S. M. & PILLAR, V. D. 2007. Plant dispersal strategies and the colonization of Araucaria forest patches in a grassland-forest mosaic. *Journal of Vegetation Science* 18:847-858.
- FERREIRA, J. N., BUSTAMANTE, M. M. D. C. & DAVIDSON, E. A. 2009. Linking woody species diversity with plant available water at a landscape scale in a Brazilian savanna. *Journal of Vegetation Science* 20:826-835.
- FRANCO, A. C. 2005. Biodiversidade de formas e funções: implicações ecofisiológicas das estratégias de utilização de água e luz em plantas lenhosas do Cerrado. Pp. 179-196 in Scariot, A., Sousa-Silva, J. C. & Felfili, J. M. (orgs.). *Cerrado: Ecologia, biodiversidade e conservação*. Ministério do Meio Ambiente, Brasília.
- FRANCO, A. 2002. Ecophysiology of woody plants. Pp. 178-197 in Oliveira, P. & Marquis, R. (orgs.). *Cerrados of Brazil: ecology and natural history of a neotropical savanna*. Columbia University Press, New York.
- FRANCO, A. & LÜTTGE, U. 2002. Midday depression in savanna trees: coordinated adjustments in photochemical efficiency, photorespiration, CO₂ assimilation and water use efficiency. *Oecologia* 131:356-365.
- GIAMBELLUCA, T. W., SCHOLZ, F. G., BUCCI, S. J., MEINZER, F. C., GOLDSTEIN, G., HOFFMANN, W. A., FRANCO, A. C. & BUCHERT, M. P. 2009. Evapotranspiration and energy balance of Brazilian savannas with contrasting tree density. *Agricultural*

and Forest Meteorology 149:1365-1376.

GITAV, H. & NOBLE, I. R. 1997. What are functional types and how should we seek them?

Plant functional types: their relevance to ecosystem properties and global change:3.

HARIDASAN, M. 2000. Nutrição mineral de plantas nativas do cerrado. *Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal* 12:54-64.

HOFFMANN, W. A. 2000. Post-establishment seedling success in the Brazilian cerrado: a comparison of savanna and forest species. *Biotropica* 32:62–69.

HOFFMANN, W. A. & FRANCO, A. C. 2003. Comparative growth analysis of tropical forest and savanna woody plants using phylogenetically independent contrasts. *Journal of Ecology* 91:475–484.

HOFFMANN, W. A., ORTHEN, B. & FRANCO, A. C. 2004. Constraints to seedling success of savanna and forest trees across the savanna-forest boundary. *Oecologia* 140:252-260.

KANEGAE, M. F., BRAZ, V. S. & FRANCO, A. C. 2000. Effects of seasonal drought and light availability on growth and survival of *Bowdichia virgilioides* in two characteristic savanna physiognomies of Central Brazil. *Revista Brasileira de Botânica* 23:457-466.

LAVOREL, S. & GARNIER, E. 2002. Predicting changes in community composition and ecosystem functioning from plant traits: revisiting the Holy Grail. *Functional Ecology* 16:545-556.

LAVOREL, S., DÍAZ, S., CORNELISSEN, J., GARNIER, E., HARRISON, S., MCINTYRE, S., PAUSAS, J., PÉREZ-HARGUINDEGUY, N., ROUMET, C. & URCELAY, C. 2007. Plant functional types: are we getting any closer to the holy grail? Pp. 149-164 in Canadell, J. G., Pataki, D. E. & Pitelka, L. F. (orgs.). *Terrestrial ecosystems in a changing world*. Springer-Verlag, Berlin.

- MEDEIROS, M. B. & MIRANDA, H. S. 2008. Post-fire resprouting and mortality in cerrado woody plant species over a three-year period. *Edinburgh Journal of Botany* 65:53-68.
- PAUSAS, J. G. 1999. Response of plant functional types to changes in the fire regime in mediterranean ecosystems: a simulation approach. *Journal of Vegetation Science* 10:717-722.
- PILLAR, V. D. 1999. On the identification of optimal plant functional types. *Journal of Vegetation Science* 10:631-640.
- PILLAR, V. 2004. Tipos funcionais e percepção de padrões em comunidades e ecossistemas. Pp. 73-90 in Coelho, A., Loyola, R. & Souza, M. (orgs.). *Ecologia teórica: desafios para o aperfeiçoamento da ecologia no Brasil*. O Lutador, Belo Horizonte.
- PILLAR, V. & SOSINSKI, E. 2003. An improved method for searching plant functional types by numerical analysis. *Journal of Vegetation Science* 14:323-332.
- WILSON, J. B. & AGNEW, A. D. 1992. Positive-feedback switches in plant communities. *Advances in Ecological Research* 23:263-336.

Capítulo 1 – Modelagem estatística do padrão fotossintético de espécies típicas de matas de galeria e de cerrado: origens diferentes, respostas similares na savana

Introdução

O cerrado cobria originalmente cerca de 2 milhões de km², o que corresponde a aproximadamente 22% do território brasileiro (Oliveira-Filho & Ratter 2002). Nesta região, há o predomínio de formações savânicas, sendo as formações florestais frequentemente associadas às bordas de cursos de água (matas de galeria) e manchas de solos mais férteis (Oliveira-Filho & Ratter 2002). As matas de galeria representam somente 10% da área do cerrado, porém se distribuem por toda sua extensão de maneira entremeada na vegetação savânica (Oliveira-Filho & Ratter 2002, Felfili et al. 2005).

O estabelecimento das plantas nas savanas do cerrado é bastante dificultado pela marcante sazonalidade das chuvas na região. Ao germinarem na estação chuvosa, as plântulas devem manter um rápido desenvolvimento inicial para resistir ao período seco subsequente, que pode durar cinco meses (Franco 2002). Os indivíduos adultos também sofrem limitações de assimilação de CO₂ relacionadas à estação seca. Isto ocorre, pois o acesso a reservas subterrâneas de água muitas vezes não é suficiente para compensar a elevada demanda evaporativa (Franco 2005). A comunidade de plantas lenhosas do cerrado potencialmente reduziria sua taxa fotossintética líquida em aproximadamente 35% durante a estação seca (Prado et al. 2004). Foi estimada em *Roupala montana*, uma espécie típica da região, uma redução de 66% na assimilação total de carbono em relação à estação chuvosa causada pela maior limitação estomática da fotossíntese e diminuição da área foliar total das plantas na estação seca (Franco 1998). Nas matas de galeria, a variação sazonal da disponibilidade de

água é dependente das características de cada localidade. A topografia e as propriedades físicas dos solos determinam o grau de retenção de água durante a estação seca e a ocorrência ou não de alagamento na estação chuvosa (Veneklaas et al. 2005). Porém, há uma tendência de disponibilidade de água mais constante nas matas de galeria do que nas áreas de circundantes de savana (Oliveira-Filho & Ratter 2002). Isto é relacionado não só a maior proximidade de fontes de água, mas também à maior quantidade de matéria orgânica nos solos de matas de galeria, o que confere uma estrutura física com maior capacidade de armazenamento de água nas camadas superficiais (Haridasan 1998).

A escassez de dados ecofisiológicos de espécies de mata de galeria na região do cerrado dificulta uma precisa definição dos principais fatores limitantes desta comunidade vegetal. Porém, informações provenientes de outras formações florestais tropicais potencialmente indicam padrões que podem ser extrapolados para as matas de galeria. Em uma formação florestal na área de transição entre o cerrado e amazônia, foi observada uma diminuição da taxa fotossintética máxima na estação seca da ordem de 10 a 39% (Miranda et al. 2005). Entretanto, dados obtidos em florestas da Guiana Francesa com distribuição das chuvas marcadamente sazonal indicam baixa variação de trocas gasosas ao longo do ano em algumas espécies (Bonal et al. 2000). Desta forma percebe-se que o grau de influência da sazonalidade das chuvas nas trocas gasosas é variável dentre as florestas tropicais.

A disponibilidade de luz também influencia marcadamente o estabelecimento e sobrevivência de plantas na savana. Este recurso apresenta distribuição marcadamente heterogênea em função da variação do adensamento arbóreo das diferentes fitofisionomias do cerrado, ou mesmo numa mesma área, devido à configuração irregular do dossel. Apesar da luz ser essencial para a sobrevivência e crescimento vegetal, em situações de alta intensidade luminosa, as plantas estão sujeitas a diminuição da capacidade fotossintética devido a processos de fotoinibição (Franco & Lüttge 2002). Com isto, espera-se que as espécies

savânicas apresentem uma grande plasticidade fenotípica para se aclimatar às diferentes disponibilidades de luz do sítio de estabelecimento (Hoffmann & Franco 2003). Já as plantas de ambientes florestais apresentam estratégias diferentes de utilização de luz. Em florestas densas, é observada uma resposta linear positiva entre a taxa de crescimento em função da disponibilidade de luz em indivíduos no sub-bosque (Montgomery & Chazdon 2002). Neste ambiente, é marcante a capacidade de indivíduos de pequeno porte sobreviverem longos períodos (da ordem de décadas) sob baixa disponibilidade de luz, apresentando taxas de crescimento muito baixas. Áreas com elevada disponibilidade de luz nas florestas, como clareiras (Souza et al. 2008) ou mesmo as camadas superiores do dossel (Rossatto et al. 2010), tipicamente apresentam taxas fotossintéticas mais elevadas do que em locais menos iluminados.

As transições entre floresta e savana não se caracterizam unicamente por uma mudança na densidade de árvores, mas também uma mudança quase integral da composição de espécies (Felfili & Silva Junior 1992). Desta forma, fica evidente que as diferenças dos ambientes de savanas e florestas são maiores do que a capacidade de aclimação da maioria das espécies e da potencial variação genética dentro das populações. Contudo, é notável a presença de várias espécies arbóreas típicas de floresta estabelecidas em áreas savânicas próximas de ambientes florestais. Acredita-se que tal fato possa caracterizar uma fase inicial da expansão da floresta em áreas de savana (Furley 1992) sendo este cenário reforçado pela presença de matéria orgânica do solo a 1 m de profundidade com assinatura isotópica de carbono típica de ambientes savânicos nas bordas de matas de galeria atuais (Silva et al. 2008).

O objetivo deste trabalho foi descrever por meio de modelos estatísticos o funcionamento do aparato fotossintético de espécies típicas de savana e espécies típicas de floresta quando ambas estão estabelecidas em áreas de savana. Levando em conta a grande

diferença dos ambientes de savana e floresta, esperávamos padrões fotossintéticos diferenciados para plantas típicas destes dois ambientes. Com isto, pretendíamos não só modelar o funcionamento fotossintético da comunidade de plantas, mas também testar as seguintes hipóteses: (a) plantas dos grupos funcionais típico de savana e de floresta teriam características fotossintéticas distintas; (b) plantas típicas de floresta seriam mais afetadas pela estação seca (fator limitante para fotossíntese); (c) diferenças do padrão fotossintético dos dois grupos poderiam ser associados a diferenças no status hídrico. Para isto, estudamos caracteres relacionados à tolerância a baixa disponibilidade de água e alta insolação, típicos da estação seca, e caracteres relacionados a otimização da assimilação de carbono durante a estação chuvosa.

Material e Métodos

Área de estudo e material vegetal

Conduzimos o estudo na Reserva Ecológica do IBGE (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística), localizada na região central do Brasil, próxima à cidade de Brasília no Distrito Federal (15° 57' S, 47° 57' W). A vegetação natural da região é denominada Cerrado, sendo composta predominantemente por savanas apresentando faixas de vegetação florestal acompanhado os rios (vegetação denominada mata de galeria). A região apresenta pluviosidade média anual de aproximadamente 1400 mm com pronunciada sazonalidade, sendo 75% da precipitação anual concentrada no período entre novembro a março (dados meteorológicos da área de estudo apresentados por Miranda et al. 1997, Franco 1998, Bucci et al. 2008)..

Utilizamos árvores de 12 pares congênericos (tabela I), cada um destes, composto de uma espécie típica de savana e outra típica de floresta que apresenta indivíduos naturalmente

estabelecidos em áreas de savana sendo cada par congênico pertencente a famílias diferentes. A utilização de pares congênicos garante a independência filogenética nas análises, permitindo assim relacionar os padrões identificados a adaptações das espécies para sobrevivência em cada ambiente (Hoffmann & Franco 2008). Isto ocorre uma vez que a divergência entre espécies de savana e floresta ocorreu independentemente em cada gênero estudado, evitando com isto atribuir valor funcional a características fixadas filogeneticamente. Realizamos medições em um indivíduo por espécie afim de priorizar a coleta de amostras independentes (pares congênicos) e obter o maior poder de detecção de padrões relacionados aos grupos funcionais, dada a disponibilidade de indivíduos com características adequadas para medições na área de estudo e o tempo empregado em cada medição. Todos os indivíduos amostrados estavam presentes em áreas savânicas adjacentes a matas de galeria (córregos do Roncador, Taquara, Pitoco e Monjolo).

Tabela I: Espécies utilizadas no trabalho agrupadas em pares congênicos com a indicação das espécies típicas de savana e típicas de floresta

Família	Espécie típica de savana	Espécie típica de floresta
Malpighiaceae	<i>Byrsonima crassa</i> Nied.	<i>Byrsonima laxiflora</i> Griseb.
Ebenaceae	<i>Diospyros burchellii</i> Hiern	<i>Diospyros hispida</i> DC.
Nyctaginaceae	<i>Guapira noxia</i> (Netto) Lundell	<i>Guapira areolata</i> (Heimerl) Lundell
Fabaceae	<i>Hymenaea stigonocarpa</i> Mart. ex Hayne	<i>Hymenaea martiana</i> Hayne
Melastomataceae	<i>Miconia pohliana</i> Cogn.	<i>Miconia cuspidata</i> Naudin
Myrtaceae	<i>Myrcia tomentosa</i> (Aubl.) DC.	<i>Myrcia rostrata</i> DC.
Myrsinaceae	<i>Myrsine guianensis</i> (Aubl.) Kuntze	<i>Myrsine ferruginea</i> (Ruiz & Pav.) Spreng.
Asteraceae	<i>Piptocarpha rotundifolia</i> Baker	<i>Piptocarpha macropoda</i> (DC.) baker
Araliaceae	<i>Schefflera macrocarpa</i> (Cham. & Schlecht.) Seem.	<i>Schefflera morototoni</i> (Aubl.) Maguire, Steyererm. & Frodin
Styracaceae	<i>Styrax ferrugineus</i> Nees & Mart.	<i>Styrax pohlii</i> A.DC.
Symplocaceae	<i>Symplocos rhaminifolia</i> A.D.C.	<i>Symplocos mosenii</i> A. DC.
Vochysiaceae	<i>Vochysia thyrsoidea</i> Pohl.	<i>Vochysia tucanorum</i> Mart.

Trocas gasosas

Realizamos medições de fotossíntese sob luz saturante, curvas de luz e curvas de temperatura no final da estação seca (agosto e setembro de 2007*) e medições de fotossíntese sob luz saturante, curvas de luz e curvas de CO₂ na estação chuvosa (abril e maio de 2008 e 2009). Utilizamos sistema portátil de análise de fotossíntese (LI-6400, LI-COR, Lincoln, USA) empregando controle automatizado das curvas de luz e CO₂ (descritos no anexo I) e controle manual das curvas de temperatura. Realizamos todas as medições no período entre 8 e 13 horas assegurando que o mesmo tipo de dado fosse coletado no mesmo horário para todos os indivíduos (início da manhã: fotossíntese sob luz saturante, curva de luz; final da manhã: curva de CO₂; meio dia: curvas de temperatura).

Antes do início de cada curva, submetemos as folhas a um período de 10 a 15 minutos de aclimação à câmara (tempo variava em função do grau de estabilidade das medições de fotossíntese líquida). Configuramos o aparelho para densidade de fluxo de fótons fotossinteticamente ativos (PPFD) de 1600 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$, concentração de CO₂ fixada em 380 $\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$ (equivalente à condição ambiente), temperatura foliar de 25°C e umidade relativa do ar em condição ambiente, porém limitado valor máximo em 85% (para evitar condensação na câmara). A intensidade luminosa utilizada, de acordo com testes preliminares, seria suficiente para obtenção de taxas fotossintéticas máximas nas espécies estudadas. Ao final do período de aclimação, registramos as leituras de fotossíntese líquida e condutância estomática ($A_{\text{pré-curva}}$ e $g_{\text{s pré-curva}}$). Com estas medições, calculamos adicionalmente a eficiência instantânea do uso da água (WUE), definida como a razão entre a quantidade de carbono assimilado e a quantidade de água perdida na transpiração.

Realizamos as curvas de luz em 13 níveis de luminosidade de 2000 a 0 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ de PPFD. A duração de cada nível de luminosidade variou de 3 a 6 minutos, dependendo da

* Também realizamos curvas de CO₂ na estação seca, porém dados não se mostraram confiáveis devido à baixa condutância estomática no período.

velocidade de estabilização das leituras. Em seguida, realizamos nova aclimatação da mesma folha a luminosidade de $1600 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ de PPFD e realizamos a curva de resposta ao CO_2 , seguindo as recomendações de Long e Bernacchi (2003). Iniciamos com concentração de CO_2 no ar igual à condição ambiente ($380 \mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$), seguido de sete níveis decrescentes de CO_2 , re-aclimatação ao nível ambiental de CO_2 , e oito níveis crescentes de CO_2 , abrangendo com isto concentrações de CO_2 na faixa de 50 a $1700 \mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$. Cada nível da curva teve duração de 45 segundos a 3 minutos com as leituras sendo registradas assim que ocorreu a estabilização das concentrações de CO_2 na câmara, evitando com isto a aclimatação da folha às concentrações alteradas de CO_2 (Long & Bernacchi 2003). Para minimizar o problema de entrada e saída de CO_2 na câmara devido a falhas na sua vedação, que se torna particularmente sério quando as concentrações de CO_2 da câmara são muito diferentes da concentração ambiental (Flexas et al. 2007), realizamos correção dos dados em função de leituras obtidas com a câmara vazia. Apesar de Flexas et al. (2007) sugerirem que a melhor forma de realizar esta correção de dados seja utilizando leituras com folhas inativadas, este procedimento não se mostrou viável com algumas das espécies estudadas, uma vez que a completa inativação fotossintética era acompanhada por severas mudanças na textura ou morfologia das folhas em todos os métodos testados (água fervente, forno de micro-ondas, congelamento, congelamento acompanhado de iluminação intensa). Por último, realizamos curvas de temperatura (somente estação seca) submetendo as folhas a luz saturante ($1600 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ de PPFD), variando a temperatura foliar em cinco níveis na faixa entre $27,5$ e $37,5^\circ\text{C}$. É importante destacar que não controlamos o déficit de pressão de vapor folha-atmosfera (VPD) neste experimento. Com isto, permitimos que ocorresse o aumento de VPD associado ao aumento de temperatura (média da variação do VPD dentro de cada curva de resposta foi de $2,3 \text{ kPa}$).

Medições de fluorescência

Na estação seca (agosto e setembro de 2007), realizamos medições de fluorescência da clorofila *a* nas mesmas folhas utilizadas nas medições de trocas gasosas utilizando um fluorômetro de amplitude de pulso modulado (PAM 2100, Walz, Effeltrich). No período que antecede o nascer do sol, medimos a fluorescência mínima (F_o), aplicando luz modulada de baixa intensidade, e a fluorescência máxima (F_m), obtida durante pulso de luz saturante. Calculamos com estes dados o rendimento quântico intrínseco do fotossistema II (F_v/F_m) segundo Maxwell & Johnson (2000) como: $F_v/F_m = (F_m - F_o)/F_m$. Para verificar o efeito de níveis elevados de iluminação, realizamos medições das folhas aclimatadas à luz no período de 12:30 a 13:30, utilizando iluminação artificial com PPFD de $\sim 1700 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ (lâmpada halogena do fluorômetro sendo a câmara coberta com papel alumínio para impedir entrada de luz ambiente). Após a estabilização do sinal de fluorescência (aproximadamente 1-2 minutos), medimos a fluorescência das folhas aclimatadas a luz (F_t), fluorescência máxima da folha aclimatada a luz (F'_m) e fluorescência mínima de folhas aclimatadas à luz (F'_o). Calculamos o rendimento quântico do fotossistema II (Φ_{PSII}) conforme Maxwell & Johnson (2000) como: $\Phi_{\text{PSII}} = (F'_m - F_t)/F'_m$. Calculamos a proporção dos centros de reação do fotossistema II abertos (q_L) de acordo com Kramer et al. (2004) como: $q_L = ((F'_m - F_t)/(F'_m - F'_o)) \cdot (F'_o/F_t)$. Calculamos o particionamento de energia no fotossistema II para processos não fotoquímicos conforme equações de Kramer et al. (2004), sendo o rendimento quântico da extinção não fotoquímica relacionada à foto-proteção (Φ_{NPQ}) definido como $\Phi_{\text{NPQ}} = 1 - \Phi_{\text{PSII}} - (1/(((F_m - F'_m)/F'_m) + 1 + q_L \cdot (F_m/F_o - 1)))$ e o rendimento quântico da extinção associada a outros processos não fotoquímicos (Φ_{NO}) definido como: $\Phi_{\text{NO}} = 1/(((F_m - F'_m)/F'_m) + 1 + q_L \cdot (F_m/F_o - 1))$. Vale notar que, nesta abordagem $\Phi_{\text{PSII}} + \Phi_{\text{NPQ}} + \Phi_{\text{NO}} = 1$.

Status hídrico

Para estimar a disponibilidade de água para as folhas, medimos o potencial hídrico do meio do dia (Ψ_{MD}) no período entre 12 e 14 horas, utilizando bomba de pressão (modelo 600, PMS Instrument Company, Albany, USA), seguindo protocolo padrão (Cleary et al. 2005). Realizamos estas medições nos mesmos dias de medição de trocas gasosas, utilizando folhas dos mesmos indivíduos e que apresentassem tamanho, grau de desenvolvimento e posição no dossel semelhantes à da folha empregada nas demais medições. Tais medições representam o potencial hídrico foliar mínimo nestas plantas, servindo, portanto, como indicador do maior grau de estresse hídrico que as plantas estariam sujeitas.

Ajuste de modelos e análise estatística

Utilizamos para todas as análises o programa R versão 2.10.1 (R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria). Ajustamos os dados das curvas de resposta a luz ao modelo de hipérbole não retangular indicado por Thornley (1976) :

$$A = \frac{\alpha Q + (A_{\max} + R_d) - \sqrt{[(\alpha Q + (A_{\max} + R_d))^2 - 4\xi\alpha Q(A_{\max} + R_d)]}}{2\xi} - R_d \quad (1)$$

sendo que A é taxa fotossintética líquida, Q é PPFD incidente na folha, α é o rendimento quântico da fotossíntese, A_{\max} é a taxa fotossintética líquida máxima, R_d é a respiração mitocondrial (R_d), ξ define o grau de convexidade da curva (detalhes do procedimento de ajuste não linear a diante). Para as subseqüentes análises, utilizamos parâmetro A_{1900} , que corresponde ao valor de fotossíntese líquida estimados pela equação 1 para PPFD = 1900 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ (valor máximo observado em campo) em vez de A_{\max} , uma vez que o último parâmetro pode apresentar valores irreais em curvas que não obtiveram completa estabilização. Avaliamos a intensidade de luz sub-saturante ($Q_{95\%}$) como a intensidade de luz na qual A seja 95% de A_{1900} .

Para os dados das curvas de resposta a CO_2 , ajustamos o modelo de Farquhar – von

Caemmerer – Berry (Farquhar et al. 1980) com modificações propostas por Sharkey *et al.* (2007). Quando predomina a limitação pela Rubisco, a fotossíntese líquida é expressa como:

$$A = V_{c \max} \left[\frac{C_c - \Gamma^*}{C_c + K_c (1 + O/K_o)} \right] - R_d \quad (2)$$

enquanto na faixa de concentrações no qual a ribulose 1,5 – bisfosfato (RuBP) é o maior fator limitante

$$A = J \frac{C_c - \Gamma^*}{4C_c + 8\Gamma^*} - R_d \quad (3)$$

sendo que $V_{c \max}$ é a taxa de carboxilação máxima com saturação de RuBP; C_c é a concentração de CO_2 no interior dos cloroplastos; Γ^* é o ponto de compensação de CO_2 na ausência de respiração mitocondrial; K_c e K_o são as constantes de Michaelis da Rubisco para o CO_2 e O_2 ; R_d é a respiração mitocondrial e J_{\max} é a taxa de transporte de elétrons. Por motivo de simplicidade, assumimos que a condutância do mesofilo tenderia ao infinito e com isto que C_c é igual a C_i (concentração intercelular de CO_2). Utilizamos valores padrão de Γ^* , K_c e K_o uma vez que as propriedades da cinética da Rubisco são bastante conservadas dentre as espécies de metabolismo C_3 (Sharkey et al. 2007). Estimamos os valores de $V_{c \max}$, R_d , J_{\max} por meio de ajuste não linear com estimação simultânea seguindo recomendações de Dubois et al. (2007). Esta técnica permite submeter todo o conjunto de dados de A e C_i de uma curva para os dois sub-modelos simultaneamente sem a segmentação prévia dos dados, evitando subjetividade nas análises (descrição da implementação a diante e no anexo II). Adicionalmente, estimamos a limitação estomática da fotossíntese, definida como $L_s = (A'' - A')/A''$, sendo A' a taxa fotossintética líquida medida em concentração ambiental de CO_2 de $380 \mu\text{mol.l}^{-1}$ e A'' a taxa fotossintética líquida estimada pelo modelo para C_i de $380 \mu\text{mol.l}^{-1}$ (Long & Bernacchi 2003).

Utilizamos três estratégias para analisar os dados de curvas de resposta a luz e CO_2 . Na primeira estratégia, os dados foram analisados em dois estágios, empregando duas técnicas estatísticas distintas nesta análise. Inicialmente, ajustamos as curvas estimando assim os

coeficientes das equações 1 a 3 para cada indivíduo. Posteriormente utilizamos uma análise distinta para avaliar o efeito de outras variáveis nos coeficientes obtidos. Realizamos o primeiro estágio desta análise (ajuste não linear das curvas) com o pacote FME versão 1.0 utilizando algoritmo *Pseudo Random Search* (Soetaert & Petzoldt 2010) e informando ao modelo a estrutura de autocorrelação nos dados de uma mesma curva. O segundo estágio da análise consistiu da seleção de modelos mistos lineares com o pacote nlme versão 3.1-96 (Pinheiro et al. 2009). Utilizamos para isto o protocolo de seleção com testes de razão de verossimilhança descrito por Zuur et al. (2009). Partimos de modelos cheios nos quais cada coeficiente obtido no primeiro estágio foi associada com o grupo funcional (floresta ou savana), estação do ano e potencial hídrico do meio dia. Utilizamos o gênero como variável de efeito aleatório para estabelecer a estrutura de correlação filogenética dos dados. Nos casos em que constatamos heterocedasticidade na análise gráfica dos dados, adicionamos a estrutura de variância ao modelo. Esta análise “em dois estágios” possibilita uma estimativa mais precisa dos parâmetros de cada curva de resposta, porém, uma vez que utilizamos os coeficientes das curvas para sumarizar o conjunto de dados na segunda etapa, o poder de detecção de padrões no segundo estágio é relativamente baixo (Zuur et al. 2009).

A segunda estratégia empregada na análise das curvas de resposta a luz e CO₂ foi empregar os dados originais em modelos mistos não lineares. Desta forma é possível em uma mesma análise estimar os coeficientes das curvas de respostas (equações 1 a 3) para uma “planta média” e verificar se há suporte estatístico para a hipótese de que uma planta média de grupos funcionais diferentes ou em estações diferentes apresentariam coeficientes distintos. Esta segunda estratégia de análise dos dados, apesar de ser apontada como preferencial por Peek et al. (2002), apresenta como desvantagem a dificuldade do algoritmo em alcançar a convergência na estimação dos coeficientes de equações com vários parâmetros respeitando a estrutura hierárquica dos dados (correlação de dados no indivíduo e no gênero). Por isto,

fizemos algumas simplificações no modelo, como a não inclusão da estrutura de autocorrelação dos dados da curva de um mesmo indivíduo e a não inclusão de muitas variáveis preditivas (como o potencial hídrico do indivíduo). Seleccionamos o melhor modelo por meio do protocolo de Zuur et al. (2009) partindo do modelo mais completo em que o algoritmo obtinha convergência das estimativas. Utilizamos como critério de seleção os valores de Critério de Informação de Akaike (AIC) e, quando cabível, testes de razão de verossimilhança. Realizamos estas análises com o pacote nlme versão 3.1-96 (Pinheiro et al. 2009).

A terceira estratégia utilizada foi de analisar os dados originais das curvas de resposta a luz e CO₂ por meio de modelos mistos aditivos generalizados (GAMM). Esta análise permite identificar possíveis modificações nos padrões de resposta fotossintética relacionados a luz e CO₂ que não sejam previstas pelos modelos utilizados (equações 1 a 3). Desta forma, comparamos por meio de valores de AIC os ajustes de GAMM obtidos com: (a) uma função que descreve todos os dados; (b) modelos de coeficiente variável nos quais há funções diferentes para descrever plantas de cada grupo funcional e/ou estação do ano. Apesar da sensibilidade de identificação de diferenças na forma das curvas, esta abordagem não permite uma interpretação de quais caracteres das curvas de resposta seriam diferentes. Realizamos este procedimento com o pacote mgcv versão 1.6-1 (Wood 2004) informando estrutura de dados auto-correlacionada no mesmo indivíduo e estabelecendo o gênero dos indivíduos como variável de efeito aleatório.

Para os dados de resposta fotossintética a modificação de temperatura, utilizamos modelos lineares mistos. Nesta análise, verificamos se há influência linear de T_{folha} , g_s , grupo funcional e ψ_{MD} nos valores de fotossíntese líquida. Estabelecemos como variáveis de efeito aleatório hierárquicas o gênero e indivíduo a que cada medição pertence e informamos a estrutura de autocorrelação nos dados de um mesmo indivíduo. Seguimos o protocolo de

seleção de modelos partindo do modelo cheio utilizando teste de razão de verossimilhança (Zuur et al. 2009) por meio do pacote nlme versão 3.1-96 (Pinheiro et al. 2009).

Verificamos a relação dos demais parâmetros medidos ($A_{\text{pré-curva}}$, $g_{s(\text{pré-curva})}$, WUE, Ψ_{MD} , L_s e parâmetros de fluorescência) com o grupo funcional e estação do ano por meio de modelos lineares mistos utilizando gênero como variável de efeito aleatório (para considerar a correlação filogenética nos dados). Seguimos o protocolo de seleção partindo do modelo cheio com teste de razão de verossimilhança (Zuur et al. 2009) informando estrutura de variância dos dados quando constatada heterocedasticidade nas análises gráficas. Utilizamos o pacote nlme versão 3.1-96 (Pinheiro et al. 2009).

Resultados

Conforme sumarizado na Tabela II, nenhum dos modelos selecionados incluiu influência do grupo funcional nos parâmetros fotossintéticos e potencial hídrico. Constatamos isto na seleção de modelos, uma vez que a variável “grupo funcional” não adicionou informação relevante a nenhum dos modelos de acordo com testes de razão de verossimilhança, testes t ou valores de AIC utilizados na comparação de modelos com e sem esta variável. Os valores de $A_{\text{pré-curva}}$ foram associados positivamente com Ψ_{MD} e $g_{s(\text{pré-curva})}$ sendo observados maiores valores na estação chuvosa (Tabela III; fig. 1 e 2**). É importante destacar que, apesar da inspeção visual da figura 2 sugerir que o coeficiente angular da relação $A_{\text{pré-curva}}$ e $g_{s(\text{pré-curva})}$ seja diferente nas duas estações do ano, não obtivemos melhorias no modelo adicionando a interação entre as duas variáveis (razão de verossimilhança=3,127; $p=0,077$) nem adicionando a inclinação da curva como variável aleatória (comparação de

** Apesar da representação gráfica da maioria das figuras, utilizada letras para diferenciar espécies, ser mais difícil, permite ao leitor verificar visualmente se houve tendência de espécies do mesmo gênero apresentarem respostas fisiológicas similares ou não. Omitimos propositalmente a referência de qual espécie corresponde a cada letra para evitar a interpretação de que estes indicariam a tendência central da espécie. Isto porque nossos dados não suportam tal estimativa uma vez que não temos replicações de leituras dentro de cada espécie.

valores de AIC). Uma vez que os resíduos da análise (dados não apresentados) se distribuíram com razoável homogeneidade de variação em todas as faixas de valores previstos, fica claro a qualidade preditiva do modelo é constante ao longo de todas as faixas de valores previstos. Desta forma, a divergência entre a linha representando o modelo na estação seca e os dados observados é resultado da simplificação do modelo necessária para a elaboração da figura 2, na qual o valor de Ψ_{MD} foi considerado constante em cada estação do ano. Obtivemos maiores valores de $g_{s(\text{pré-curva})}$ na estação chuvosa sendo também influenciada negativamente pela variação de Ψ_{MD} dos indivíduos (Tab. III; fig. 3) com pequena influência da T_{foliar} . Identificamos a modificação sazonal dos valores de WUE, com menores valores na estação chuvosa, sem associação adicional com a variação individual do status hídrico dos indivíduos (Tabela III; fig. 4). É importante destacar que, apesar de não ser constatada visualmente uma diferença nítida entre estações na fig. 4, o processo de seleção de modelos indica o efeito significativo dessa variável. Esta maior sensibilidade da técnica estatística é decorrente da utilização de informações de diferenças na variação nos dados, permitindo desta forma, detectar padrões mais complexos.

As curvas de resposta à luz indicaram a influência marcante da estação do ano em todos os parâmetros do modelo de hipérbole não retangular (NLM seguido de LMM – Tabela III; fig. 5). Na estação chuvosa, observamos maiores valores de R_d , α , A_{max} , A_{1900} , $Q_{95\%}$ e menores valores de ξ (Tabela III, fig. 5 a 10). Indivíduos com menores Ψ_{MD} apresentaram menores valores de R_d (fig. 6), A_{max} e A_{1900} (fig. 9). Analisando o padrão geral das curvas de resposta a luz por meio de GAMM, identificamos somente padrões diferenciados entre estação seca e chuvosa sem distinção entre plantas de grupos funcionais distintos (tabelas II e III).

As curvas de resposta a CO_2 mostraram elevada variação no padrão de resposta (Tabela III, fig. 11). Dentre as variáveis testadas, detectamos somente influência do Ψ_{MD} na

V_{cmax} (Tabela III, fig. 12). É importante destacar que não foi possível investigar a relação da estação do ano nestes parâmetros pois as curvas A/C_i realizadas na estação seca não produziram dados confiáveis devido aos baixos valores de g_s neste período (dados não apresentados). A análise das curvas de resposta a CO_2 por meio de GAMM também não indicou diferenças no padrão de resposta associado ao grupo funcional (tabelas II e III).

As curvas de resposta à temperatura indicaram influência negativa de T_{folha} na taxa fotossintética, porém, a g_s explicou a maior parte da variação da taxa fotossintética nestas curvas (Tabela III, fig. 13). Vale destacar que o valor de correlação linear de Pearson entre T_{folha} e g_s é de somente -0,212, enquanto a correlação entre A e g_s nas curvas de temperatura é 0,709. As estimativas de L_s , assim como q_L e F_v/F_m não apresentaram relação com as demais variáveis testadas (Tabela III, fig. 14). A partição de energia no fotossistema II só demonstrou pequena influência de Ψ_{MD} no Φ_{NO} (Tabela III, fig. 15). Os valores de Ψ_{MD} foram semelhantes nos dois grupos funcionais sendo influenciados somente pela estação do ano (Tabela III, fig. 16).

Tabela II: Avaliação da influência do grupo funcional nas estimativas de parâmetros ecofisiológicos, indicando a análise estatística empregada

Parâmetro	Análise	Avaliação Estatística	d.f.	Valor da Estatística	P
$A_{\text{pre-curva}}$	LMM	L. Ratio	1	0.752	0.386
$g_{s(\text{pre-curva})}$	LMM	L. Ratio	1	1.218	0.270
WUE	LMM	L. Ratio	1	0.224	0.636
$R_d(\text{curva A/Q})$	NLM+LMM	L. Ratio	1	0.041	0.839
α	NLM+LMM	L. Ratio	1	0.061	0.805
ξ	NLM+LMM	L. Ratio	1	0.158	0.691
A_{max}	NLM+LMM	L. Ratio	1	1.085	0.298
A_{1900}	NLM+LMM	L. Ratio	1	0.727	0.394
$Q_{95\%}$	NLM+LMM	L. Ratio	1	1.735	0.188
V_{cmax}	NLM+LMM	L. Ratio	1	0.997	0.318
$R_d(\text{curva A/Ci})$	NLM+LMM	L. Ratio	1	0.845	0.358
J_{max}	NLM+LMM	L. Ratio	1	1.007	0.316
Curva A/ T_{folha}	LMM	t*	9	1.162	0.275
Curva A/Q	NLMM	**	-	-	-
Curva A/Ci	NLMM	L. Ratio	3	6.391	0.094
Curva A/Q	GAMM	AIC	-	-	-
Curva A/Ci	GAMM	AIC	-	-	-
L_s	LMM	L. Ratio	1	0.566	0.452
Fv/Fm	LMM	L. Ratio	1	0.228	0.633
Φ_{PSII}	LMM	L. Ratio	1	0.017	0.896
Φ_{NPQ}	LMM	L. Ratio	1	2.483	0.115
Φ_{NO}	LMM	L. Ratio	1	1.990	0.158
q_L	LMM	L. Ratio	1	0.848	0.357
Ψ_{MD}	LMM	L. Ratio	1	1.331	0.249

LMM: modelo misto linear; NLM: modelo não linear; L. Ratio: razão de verossimilhança; d.f. graus de liberdade; AIC: Critério de Informação de Akaike. Abreviaturas dos parâmetros encontra-se na seção materiais e métodos. * indica uso de forma alternativa de avaliação de modelos devido a problemas com convergência. ** indica que modelo não obteve nenhuma solução.

Tabela III: Parâmetros ecofisiológicos e melhores modelos estatísticos obtidos para descrever influência das demais variáveis.

Parâmetro	Época da medição	Análise estatística	Variáveis utilizadas no início da seleção de modelos	Modelo final
$A_{pre-curva}$	Ch,Se	LMM	grupo, estação, $g_{s(pre-curva)} T_{folha} \Psi_{MD}$	$A_{pre-curva} = 7.371(1.602) \cdot g_s + 2.402(0.819) \cdot \Psi_{MD} + 3.256(0.860) \cdot estação_{chuvosa} + 10.004(1.554)$
$g_{s(pre-curva)}$	Ch,Se	LMM	grupo, estação, $T_{folha} \Psi_{MD}$	$g_s = -0.032(0.012) \cdot T_{folha} + 0.065(0.032) \cdot \Psi_{MD} + 0.408(0.049) \cdot estação_{chuvosa} + 1.037(0.313)$
WUE	Ch,Se	LMM	grupo, estação, $T_{folha} \Psi_{MD}$	$WUE = -0.604(0.290) \cdot estação_{chuvosa} + 3.651(0.240)$
R_d (curva A/Q)	Ch,Se	NLM+LMM	grupo, estação, Ψ_{MD}	$R_d = -0.668(0.270) \cdot estação_{chuvosa} + 0.880(0.267) \cdot \Psi_{MD} + 2.837(0.524)$
α	Ch,Se	NLM+LMM	grupo, estação, Ψ_{MD}	$\alpha = 0.012(0.004) \cdot estação_{chuvosa} + 0.043(0.002)$
ξ	Ch,Se	NLM+LMM	grupo, estação, Ψ_{MD}	$\xi = -0.186(0.039) \cdot estação_{chuvosa} + 0.755(0.038)$
A_{max}	Ch,Se	NLM+LMM	grupo, estação, Ψ_{MD}	$A_{max} = 4.995(1.061) \cdot estação_{chuvosa} + 4.346(1.290) \cdot \Psi_{MD} + 17.746(2.444)$
A_{1900}	Ch,Se	NLM+LMM	grupo, estação, Ψ_{MD}	$A_{1900} = 5.700(0.941) \cdot estação_{chuvosa} + 2.546(1.148) \cdot \Psi_{MD} + 11.594(2.148)$
$Q_{95\%}$	Ch,Se	NLM+LMM	grupo, estação, Ψ_{MD}	$Q_{95\%} = 357.25(79.554) \cdot estação_{chuvosa} + 764.25(78.323)$
V_{cmax}	Ch	NLM+LMM	grupo, Ψ_{MD}	$V_{cmax} = 79.736(37.061) \cdot \Psi_{MD} + 215.958(52.016)$
R_d (curva A/C _i)	Ch	NLM+LMM	grupo, Ψ_{MD}	$R_d = 14.502(16.345)^*$
J_{max}	Ch	NLM+LMM	grupo, Ψ_{MD}	$J = 226.370(160.783)^*$
Curva A/T _{folha}	Se	LMM	grupo, g_s, Ψ_{MD}	$A = -0.073(0.019) \cdot T_{folha} + 23.659(3.443) \cdot g_s + 1.512(0.607) \cdot \Psi_{MD} + 7.410(1.497)^{**}$
Curva A/Q	Ch,Se	NLMM	grupo, estação	Sem solução
Curva A/C _i	Ch	NLMM	grupo	$V_{cmax} = 101.362(17.659); J = 217.144(42.540); R_d = 13.964(4.455)$
Curva A/Q	Ch,Se	GAMM	grupo, estação	$A = f(Q_{estação\ chuvosa}) + f(Q_{estação\ seca})$
Curva A/C _i	Ch	GAMM	grupo	$A = f(C_i)$
L_g	Ch	LMM	grupo, Ψ_{MD}	$L_g = 0.228[0.163]^*$
q_L	Se	LMM	grupo, Ψ_{MD}	$q_L = 0.284[0.091]^*$
F_v/F_m	Se	LMM	grupo, Ψ_{MD}	$F_v/F_m = 0.806[0.035]^*$
Φ_{PSII}	Se	LMM	grupo, Ψ_{MD}	$\Phi_{PSII} = 0.121[0.038]^*$
Φ_{NPQ}	Se	LMM	grupo, Ψ_{MD}	$\Phi_{NPQ} = 0.683[0.048]^*$
Φ_{NO}	Se	LMM	grupo, Ψ_{MD}	$\Phi_{NO} = -0.064(0.025) \cdot \Psi_{MD} + 0.095(0.042)$
Ψ_{MD}	Ch,Se	LMM	grupo, estação	$\Psi_{MD} = 0.340(0.102) \cdot estação_{chuvosa} - 1.645(0.109)$

Ch: estação chuvosa; Se: estação seca; LMM: modelo misto linear; NLM: modelo não linear; GAMM: modelo aditivo misto generalizado. Valores entre parênteses representam erro padrão e valores entre colchete representam desvio padrão. * indica parâmetro com o qual não foi obtido nenhum modelo significativo, sendo apresentado o valor médio e desvio padrão; ** indica que foram omitidas variáveis sem efeito significativo.

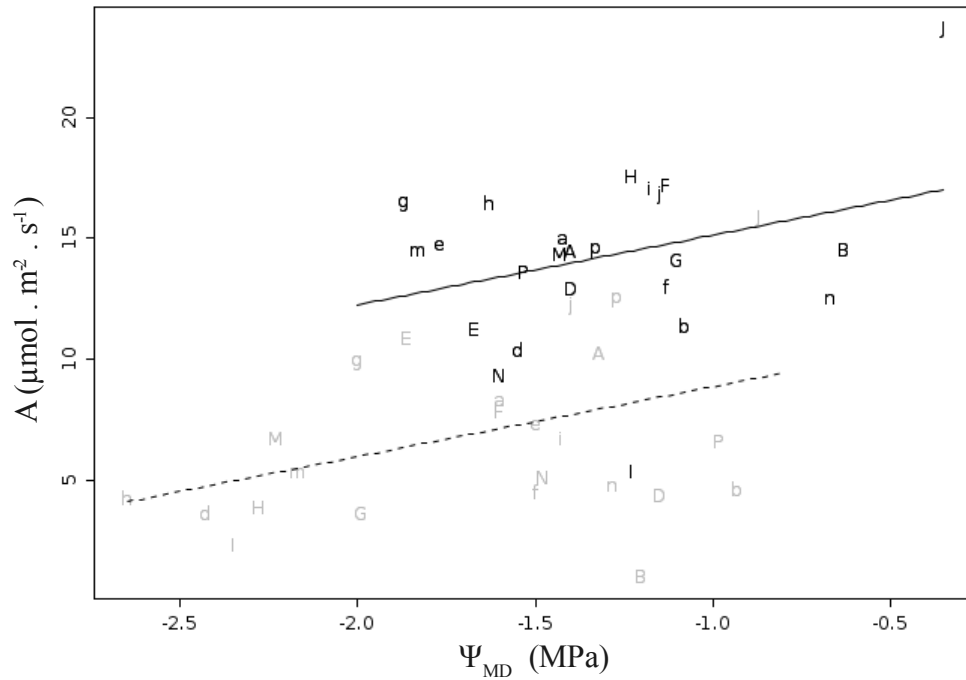


Fig. 1 – Relação entre fotossíntese líquida no início da manhã com PFD de $1600 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ (pré-curva) e potencial hídrico (estimado no meio do dia). Letras maiúsculas representam espécies típicas de cerrado e letras minúsculas, espécies típicas de floresta; letras diferentes representam gêneros diferentes (não utilizamos as letras C,L,O devido a similaridade entre caractere maiúsculo e minúsculo). Símbolos em cinza representam leituras na estação seca e símbolos em preto leituras na estação chuvosa. Linhas representam o modelo obtido por meio de LMM (tabela III) combinado com equações obtidas para g_s , assumindo temperatura foliar de 25°C e, sendo linha tracejada referente ao previsto para estação seca e linha contínua, para estação chuvosa.

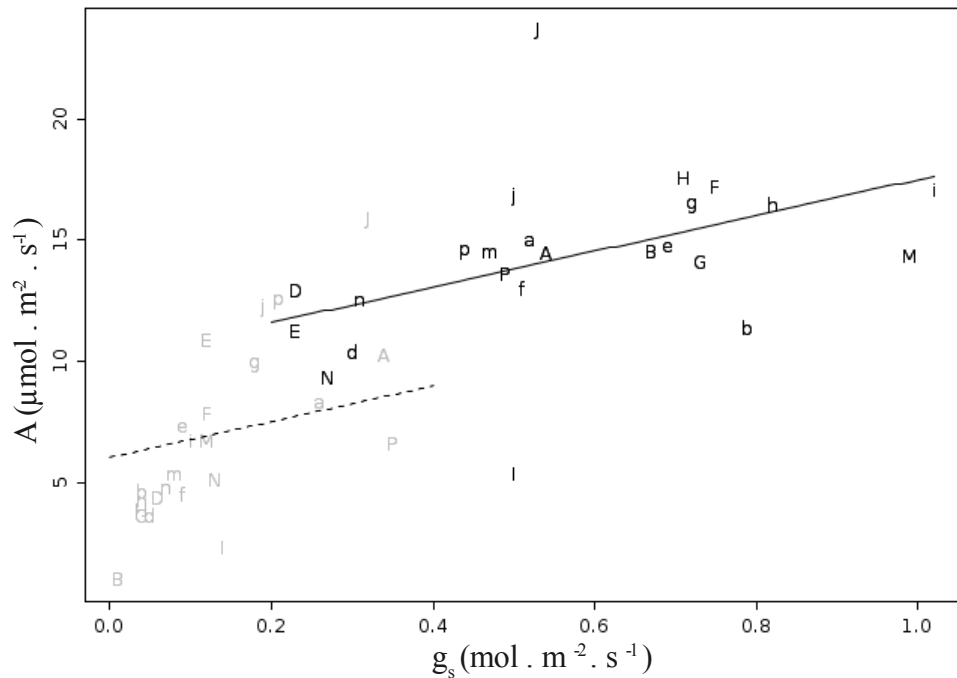


Fig. 2 – Relação entre fotossíntese líquida no início da manhã com PFD de $1600 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ (pré-curva) e condutância estomática. Letras maiúsculas representam espécies típicas de cerrado e letras minúsculas, espécies típicas de floresta; letras diferentes representam gêneros diferentes (não utilizamos as letras C,L,O devido a similaridade entre caractere maiúsculo e minúsculo). Símbolos em cinza representam leituras na estação seca e símbolos em preto, leituras na estação chuvosa. Linhas representam o modelo obtido por meio de LMM (tabela III) assumindo Ψ_{MD} médio de cada estação, sendo linha tracejada referente ao previsto para estação seca e linha contínua, para estação chuvosa.

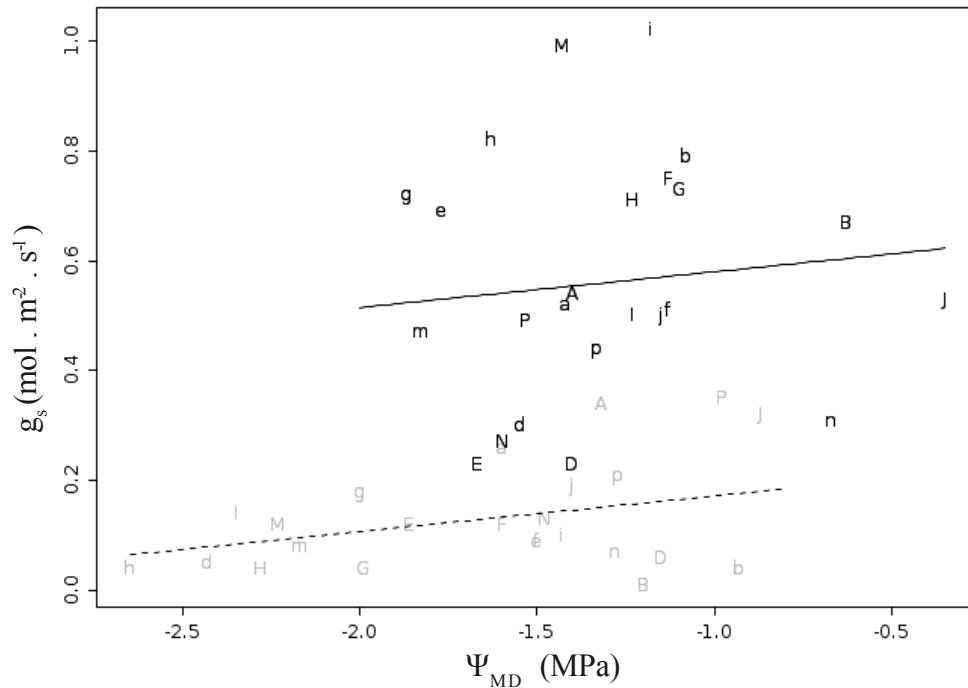


Fig. 3 – Relação entre condutância estomática no início da manhã com PPFD de $1600 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ (pré-curva) e potencial hídrico (estimado no meio dia). Letras maiúsculas representam espécies típicas de cerrado e letras minúsculas, espécies típicas de floresta; letras diferentes representam gêneros diferentes (não utilizamos as letras C,L,O devido a similaridade entre caractere maiúsculo e minúsculo). Símbolos em cinza representam leituras na estação seca e símbolos em preto, leituras na estação chuvosa. Linhas representam o modelo obtido por meio de LMM (tabela III) assumindo temperatura foliar de 25°C sendo linha tracejada referente ao previsto para estação seca e linha contínua, para estação chuvosa.

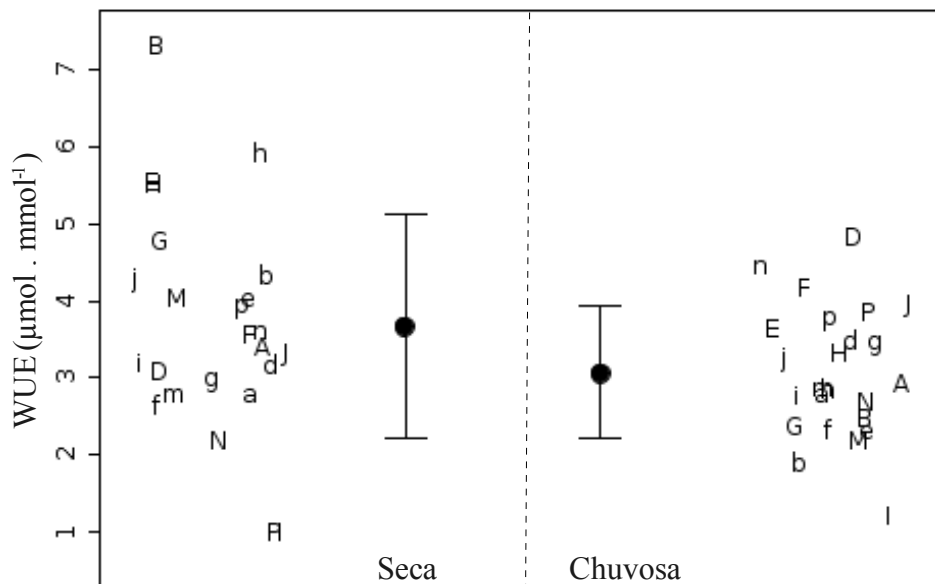


Fig. 4 – Eficiência do uso da água observada na estação seca e chuvosa no início da manhã com PPFD de $1600 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ (pré-curva). Círculos representam as médias e barras de erro o desvio padrão. Letras representam as mesmas variáveis, exibindo o valor individual de cada planta. Letras maiúsculas representam espécies típicas de cerrado e letras minúsculas, espécies típicas de floresta; letras diferentes representam gêneros diferentes (não utilizamos as letras C,L,O devido a similaridade entre caractere maiúsculo e minúsculo). Posicionamento horizontal das letras realizado somente para facilitar a visualização.

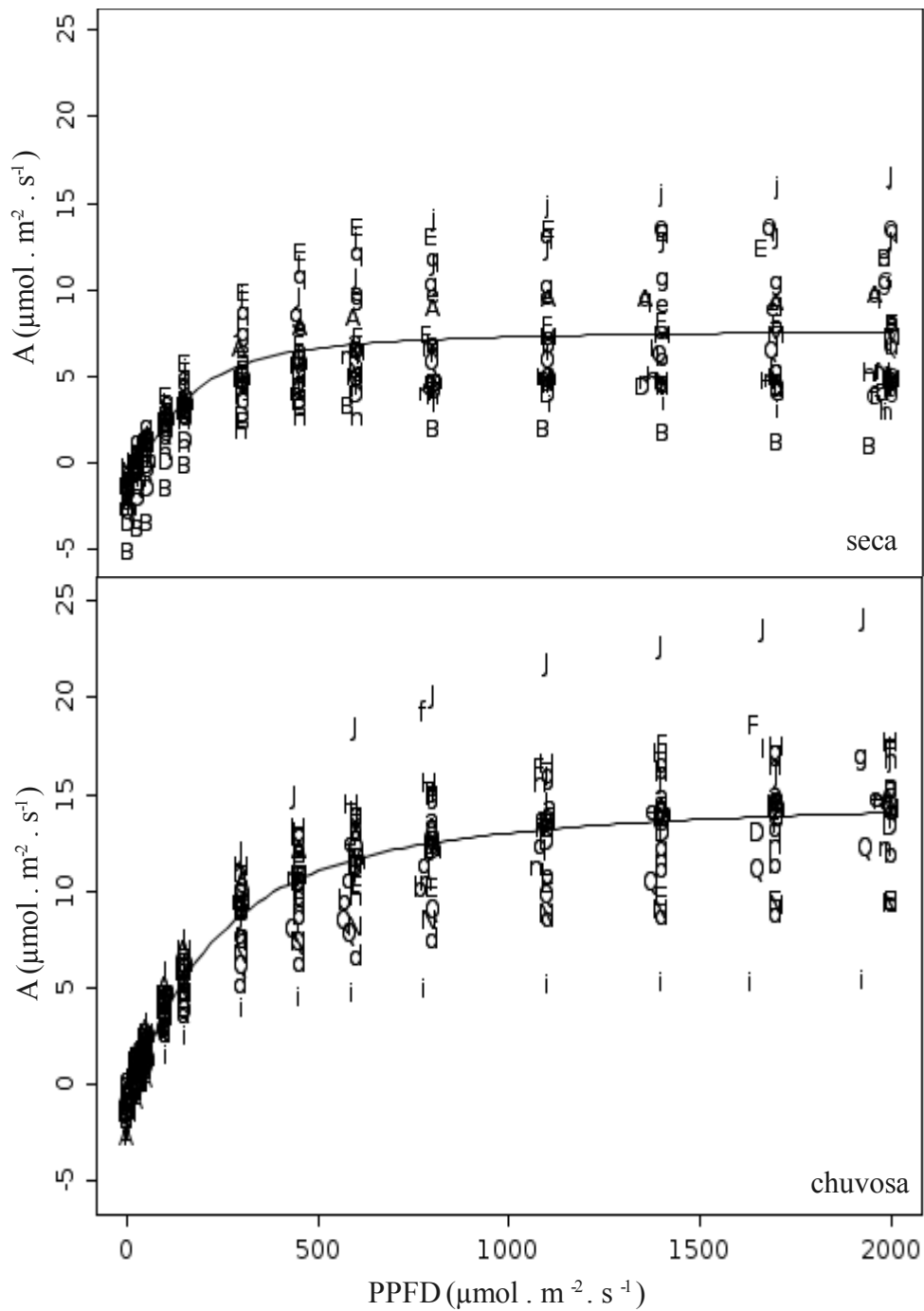


Fig. 5 – Curvas de resposta a luz realizadas na estação seca e chuvosa. Letras representam as mesmas variáveis, exibindo o valor individual de cada planta. Letras maiúsculas representam espécies típicas de cerrado e letras minúsculas, espécies típicas de floresta; letras diferentes representam gêneros diferentes (não utilizamos as letras C,L,O devido a similaridade entre caractere maiúsculo e minúsculo). Linhas representam ajuste do modelo de hipérbole não retangular utilizando parâmetros estimados pela análise de dois estágios (NLE seguido de LMM).

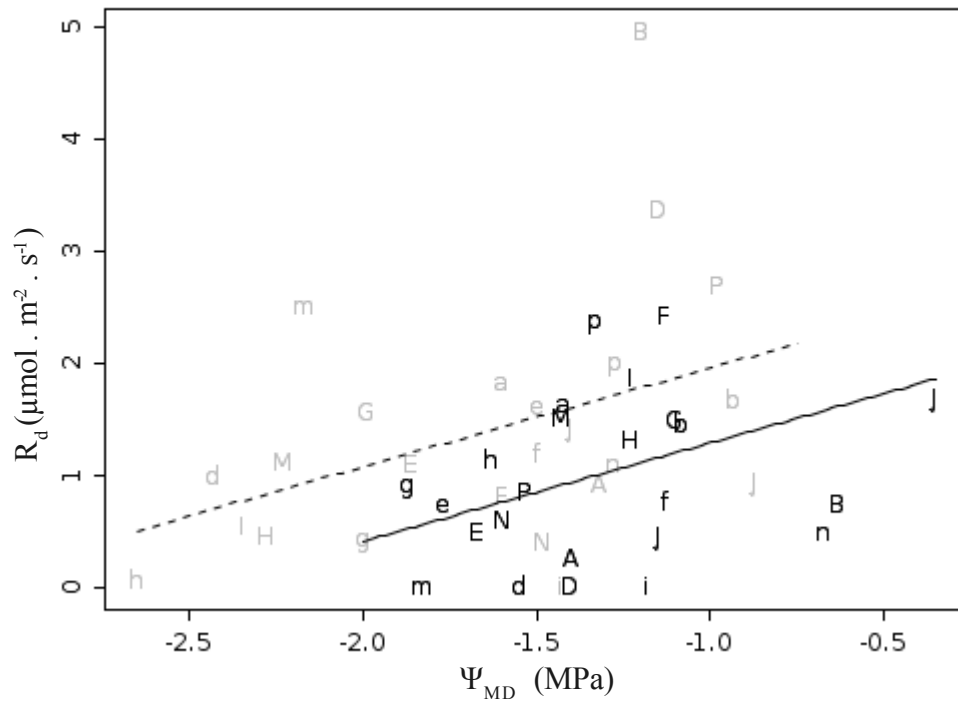


Fig. 6 – Relação entre respiração mitocondrial e status hídrico (estimado no meio dia). Letras maiúsculas representam espécies típicas de cerrado e letras minúsculas, espécies típicas de floresta; letras diferentes representam gêneros diferentes (não utilizamos as letras C,L,O devido a similaridade entre caractere maiúsculo e minúsculo). Símbolos em cinza representam leituras na estação seca e símbolos em preto, leituras na estação chuvosa. Linhas representam o modelo obtido por meio de LMM (tabela III) sendo linha tracejada referente ao previsto para estação seca e linha contínua, para estação chuvosa.

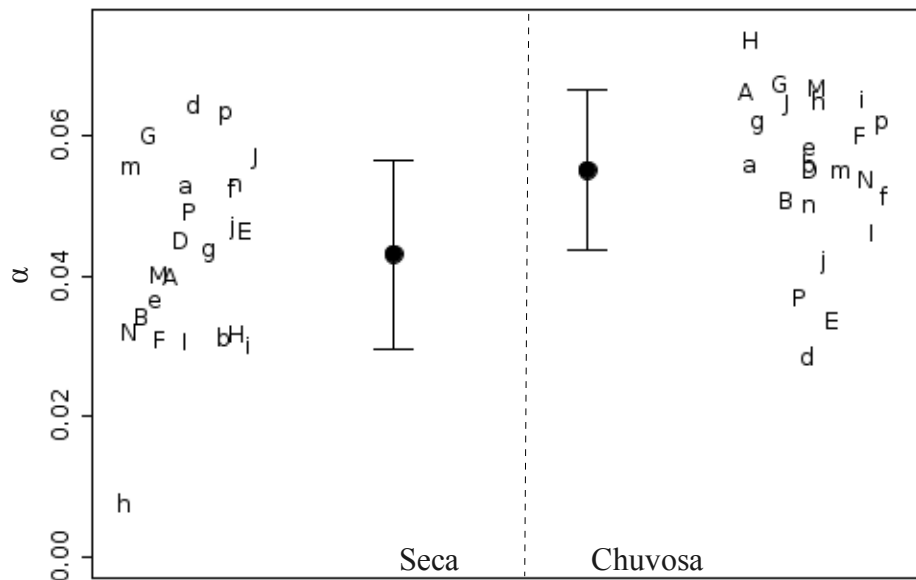


Fig. 7 – Rendimento quântico da fotossíntese observada na estação seca e chuvosa. Círculos representam as médias e barras de erro o desvio padrão. Letras representam as mesmas variáveis, exibindo o valor individual de cada planta. Letras maiúsculas representam espécies típicas de cerrado e letras minúsculas, espécies típicas de floresta; letras diferentes representam gêneros diferentes (não utilizamos as letras C,L,O devido a similaridade entre caractere maiúsculo e minúsculo). Posicionamento horizontal das letras realizado somente para facilitar a visualização.

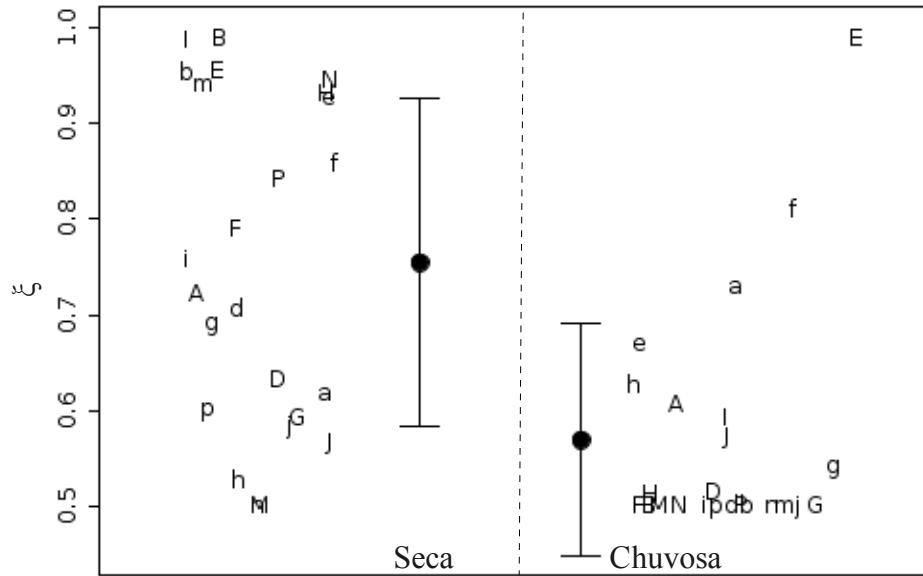


Fig. 8 – Grao de inflexão da curva de resposta à luz observada na estação seca e chuvosa. Círculos representam as médias e barras de erro o desvio padrão. Letras representam as mesmas variáveis, exibindo o valor individual de cada planta. Letras maiúsculas representam espécies típicas de cerrado e letras minúsculas, espécies típicas de floresta; letras diferentes representam gêneros diferentes (não utilizamos as letras C,L,O devido a similaridade entre caractere maiúsculo e minúsculo). Posicionamento horizontal das letras realizado somente para facilitar a visualização.

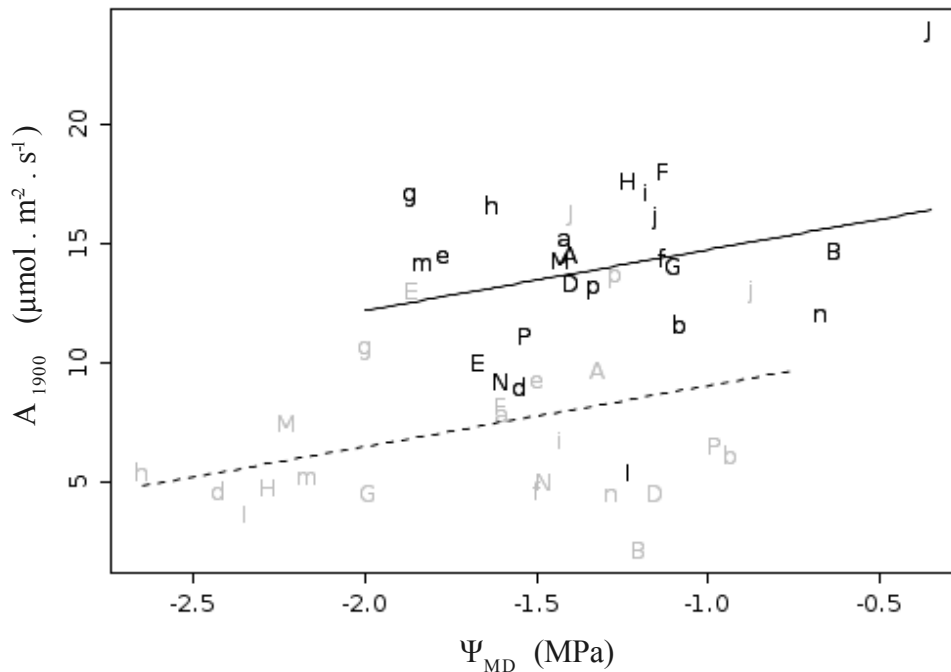


Fig. 9 – Relação entre fotossíntese líquida estimada para PFD=1900 mol.m².s⁻¹ (considerando NLM obtido para cada indivíduo) e potencial hídrico (estimado no meio dia). Letras maiúsculas representam espécies típicas de cerrado e letras minúsculas, espécies típicas de floresta; letras diferentes representam gêneros diferentes (não utilizamos as letras C,L,O devido a similaridade entre caractere maiúsculo e minúsculo). Símbolos em cinza representam leituras na estação seca e símbolos em preto, leituras na estação chuvosa. Linhas representam o modelo obtido por meio de LMM (tabela III), sendo linha tracejada referente ao previsto para estação seca e linha contínua, para estação chuvosa.

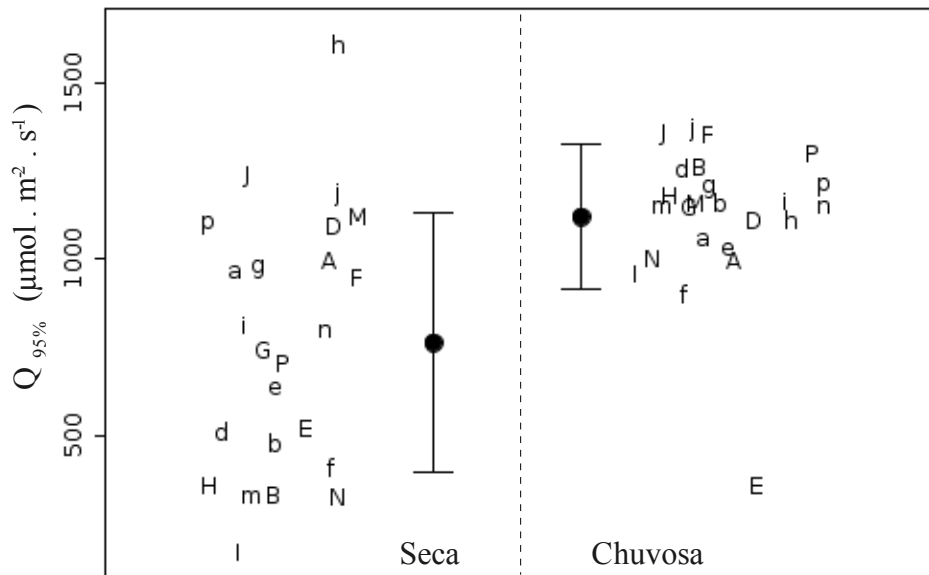


Fig. 10 – Intensidade de luz sub-saturante (PPFD que resulta em taxa fotossintética igual a A_{1900}) observada na estação seca e chuvosa. Círculos representam as médias e barras de erro o desvio padrão. Letras representam as mesmas variáveis, exibindo o valor individual de cada planta. Letras maiúsculas representam espécies típicas de cerrado e letras minúsculas, espécies típicas de floresta; letras diferentes representam gêneros diferentes (não utilizamos as letras C,L,O devido a similaridade entre caractere maiúsculo e minúsculo). Posicionamento horizontal das letras realizado somente para facilitar a visualização.

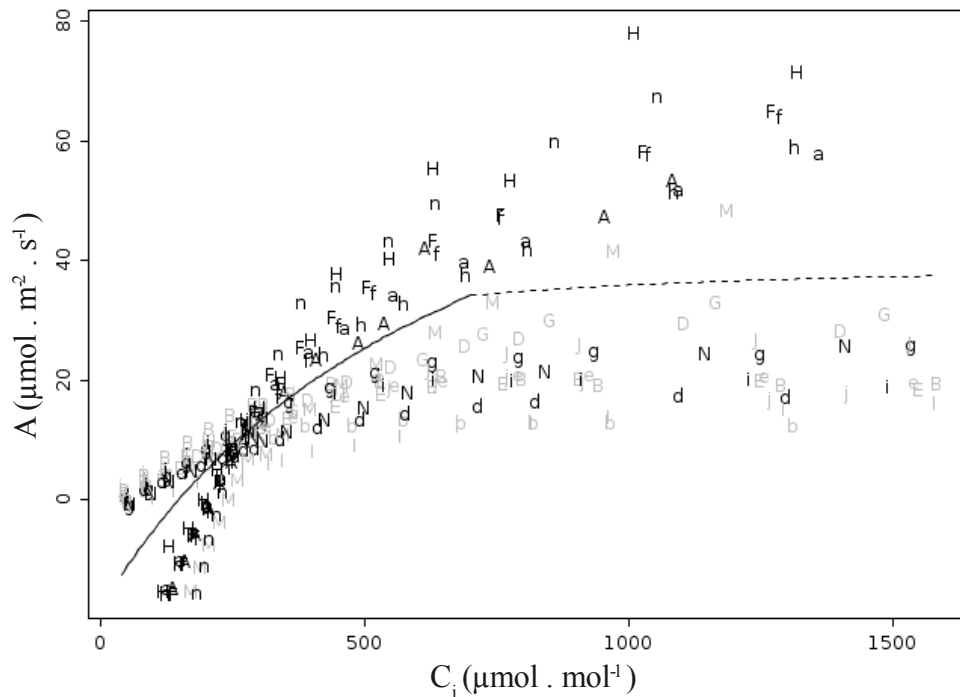


Fig. 11 – Curvas de resposta a CO_2 . Símbolos em **preto** representam leituras de espécies **sempre-verdes** e símbolos em **cinza** espécies **decíduas** ou **breve-decíduas**. Letras maiúsculas representam espécies típicas de cerrado e letras minúsculas, espécies típicas de floresta; letras diferentes representam gêneros diferentes (não utilizamos as letras C,L,O devido a similaridade entre caractere maiúsculo e minúsculo). Linhas representam o modelo obtido por meio de NLMM assumindo temperatura foliar de 25 °C, sendo a linha contínua referente a faixa de valores com fotossíntese limitada pela atividade da Rubisco e linha tracejada, limitada por RuBP.

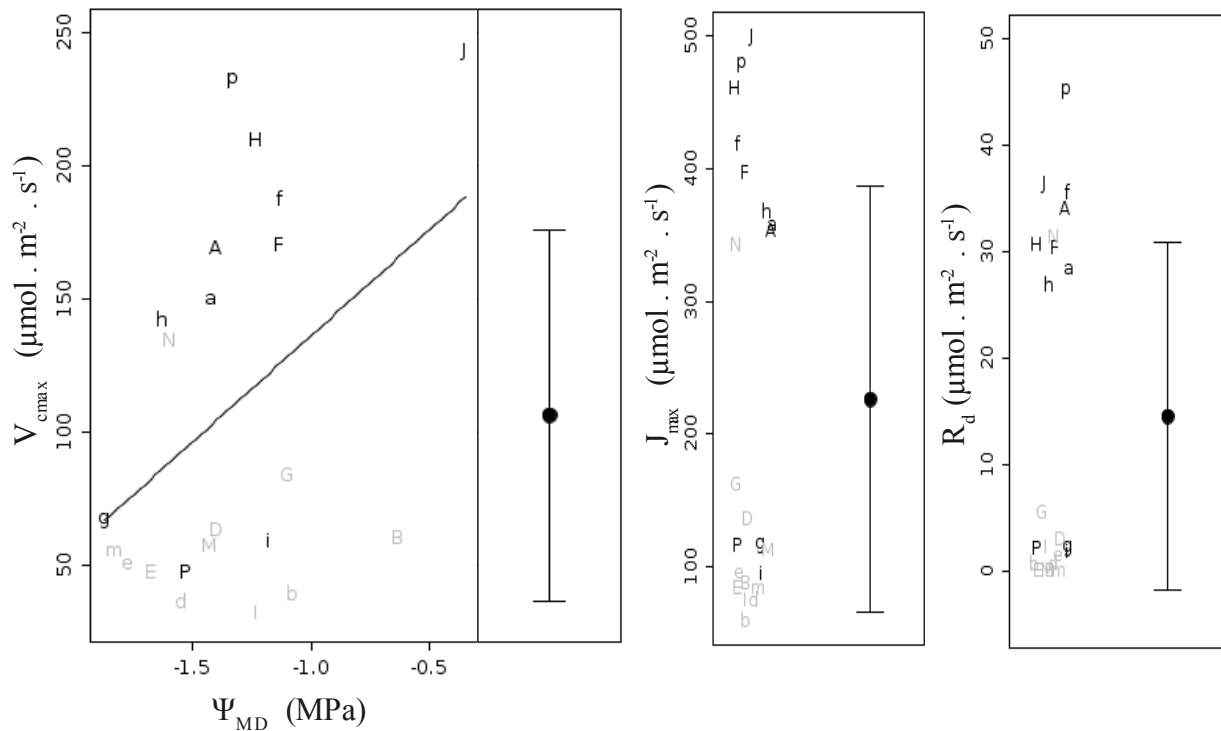


Fig. 12 – Relação entre taxa de carboxilação máxima (V_{cmax}) e potencial hídrico estimado no meio dia (esquerda), taxa máxima de transporte de elétrons (J_{max}) (centro) e respiração mitocondrial (R_d) (direita). Letras em **preto** representam leituras de espécies **sempre-verdes** e em **cinza** espécies **decíduas** ou **breve-decíduas**. Letras maiúsculas representam espécies típicas de cerrado e letras minúsculas, espécies típicas de floresta; letras diferentes representam gêneros diferentes (não utilizamos as letras C,L,O devido a similaridade entre caractere maiúsculo e minúsculo; espécies florestais “j” e “n” não foram utilizadas devido a problemas em seus ajustes de curva). Linhas representam o modelo obtido por meio de LMM (tabela III). Círculos representam as médias e barras de erro o desvio padrão. Posicionamento horizontal das letras nos gráficos de J_{max} e R_d realizado somente para facilitar a visualização.

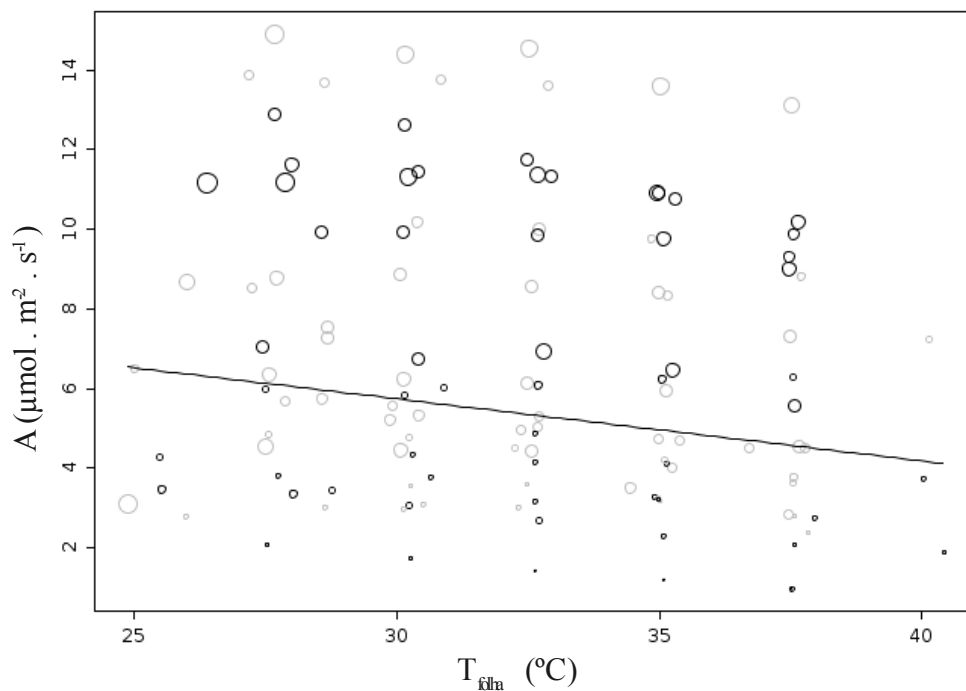


Fig. 13 – Curvas de resposta a temperatura realizadas no meio do dia. Círculos em cinza representam espécies típicas de cerrado e círculos em preto, espécies típicas de floresta. Tamanho do círculo é proporcional a condutância estomática. Linha representa o modelo obtido por meio de LMM assumindo potencial hídrico médio do período.

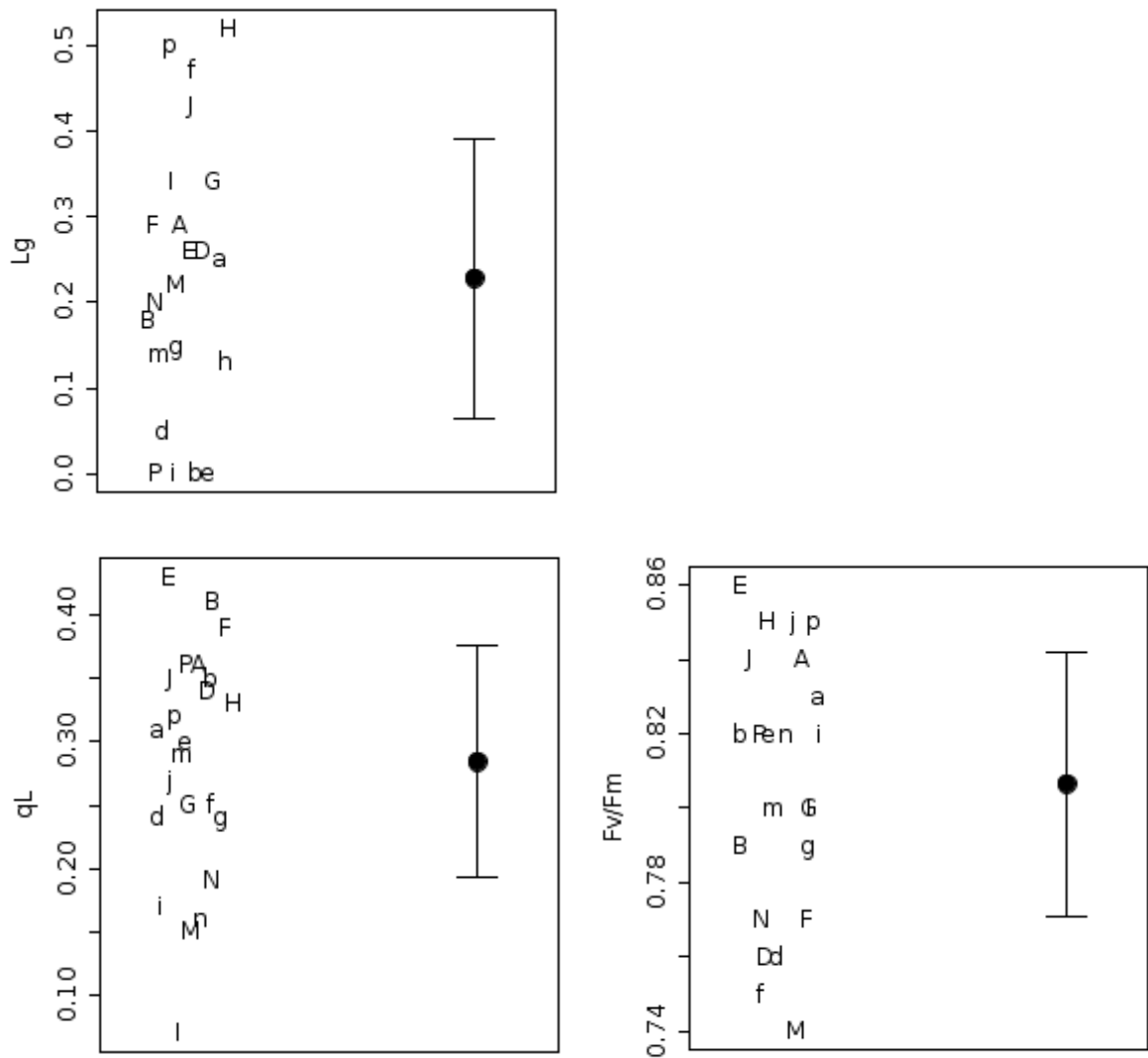


Fig. 14 – Limitação fotossintética associada a condutância (acima), proporção de centros de reação do fotossistema II abertos ao meio dia com PPFD de $\sim 1700 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ (esquerda) e rendimento quântico potencial do fotossistema II medidos na antemanhã (direita). Círculos representam as médias e barras de erro o desvio padrão. Letras representam os mesmos dados, exibindo o valor individual de cada planta. Letras maiúsculas representam espécies típicas de cerrado e letras minúsculas, espécies típicas de floresta; letras diferentes representam gêneros diferentes (não utilizamos as letras C,L,O devido a similaridade entre caractere maiúsculo e minúsculo). As espécies florestais “j” e “n” não foram utilizadas na análise de limitação fotossintética associada a condutância devido a problemas em seus ajustes de curva. Posicionamento horizontal das letras realizado somente para facilitar a visualização.

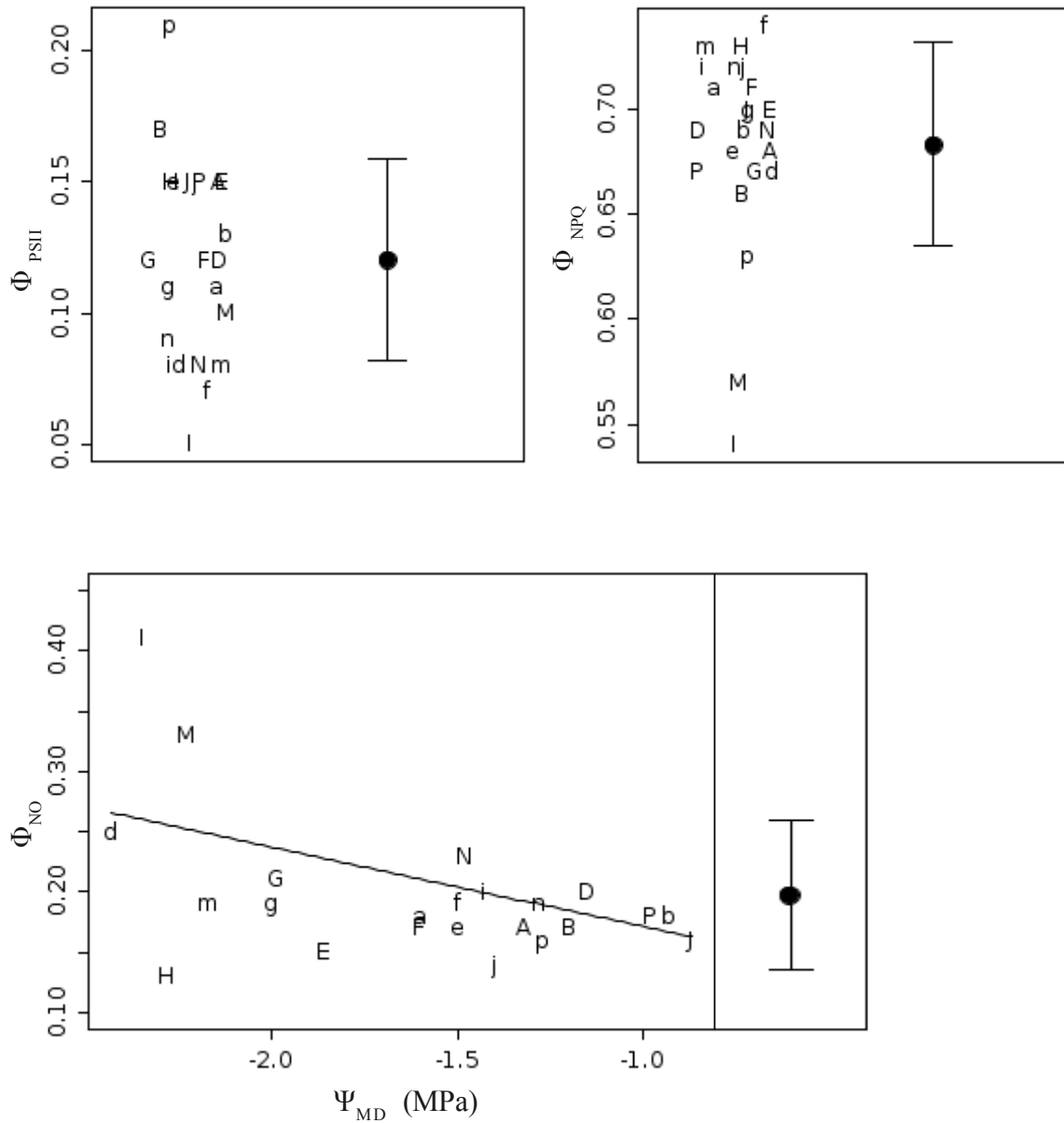


Fig. 15 – Particionamento de energia no fotossistema II no meio dia com PFD de $\sim 1700 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$: para processos fotoquímicos (superior a esquerda), dissipada por mecanismos de proteção (superior a direita) e direcionada para outros processos (inferior). Influência do status hídrico no Φ_{NO} demonstrado no gráfico inferior sendo a linha representando o modelo obtido por LMM (tabela II). Círculos representam as médias e barras de erro o desvio padrão. Letras representam os mesmos dados, exibindo o valor individual de cada planta. Letras maiúsculas representam espécies típicas de cerrado e letras minúsculas, espécies típicas de floresta; letras diferentes representam gêneros diferentes (não utilizamos as letras C,L,O devido a similaridade entre caractere maiúsculo e minúsculo). Posicionamento horizontal das letras nos gráficos superiores realizado somente para facilitar a visualização.

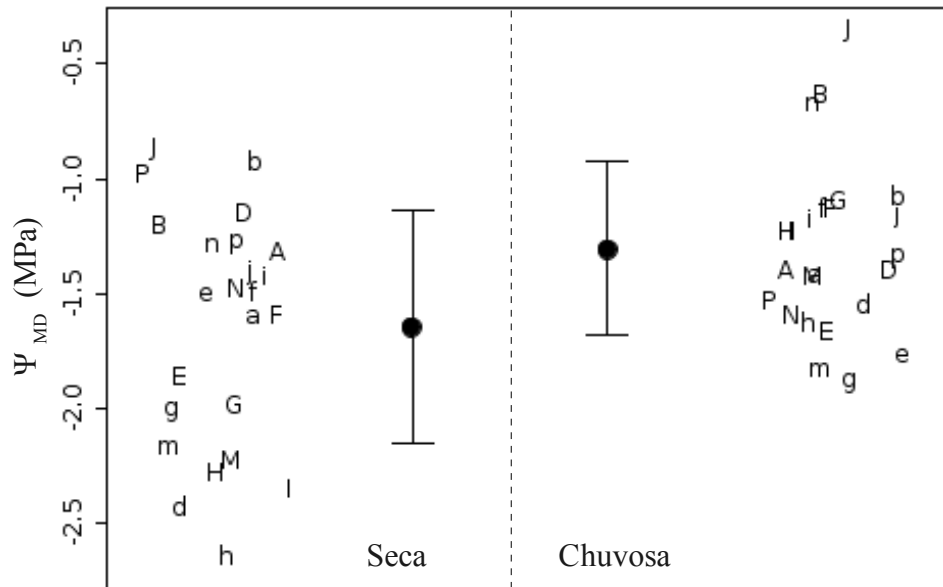


Fig. 16 – Potencial hídrico do meio dia na estação seca e chuvosa. Círculos representam as médias e barras de erro o desvio padrão. Letras representam as mesmas variáveis, exibindo o valor individual de cada planta. Letras maiúsculas representam espécies típicas de cerrado e letras minúsculas, espécies típicas de floresta; letras diferentes representam gêneros diferentes (não utilizamos as letras C,L,O devido a similaridade entre caractere maiúsculo e minúsculo). Posicionamento horizontal das letras realizado somente para facilitar a visualização.

Discussão

Ambientes florestais (como o de matas de galeria) e savânicos apresentam diferenças marcantes. Merece destaque a pronunciada mudança na disponibilidade de luz próximo ao solo e a composição de espécies nitidamente distinta nos dois ambientes (Hoffmann et al. 2009). Desta forma, pode-se supor que pressões seletivas distintas atuem nos dois ambientes, resultando na evolução de aparatos fotossintéticos com características diferenciadas. Isto se deve ao fato de vários caracteres bioquímicos e estruturais relacionados à adaptação a ambientes com alta ou baixa luminosidade são mutuamente excludentes (Walters 2005). Outra diferença importante entre os ambientes é a maior quantidade de matéria orgânica nas camadas superficiais do solo de florestas quando comparado a áreas savânicas adjacentes, o que proporciona uma maior capacidade de retenção de água (Silva et al. 2010). Com isto, fica

claro que, no ambiente florestal, a aquisição de luz representaria um fator limitante mais importante do que disponibilidade de água. Tal previsão recebeu suporte em outro estudo na mesma região no qual foi constatado uma maior eficiência no transporte de água por plantas típicas de savana relacionado ao maior investimento estrutural no transporte de água (estimado pela área do alburno) por unidade de área foliar (Gotsch et al. 2010).

Paradoxalmente, não observamos nenhuma tendência de diferenciação do aparato fotossintético de espécies pertencentes ao grupo funcional florestal e savânico, quando indivíduos de ambos os grupos estão estabelecidos no ambiente savânico. O fato de não encontrarmos diferenças entre os dois grupos funcionais, mesmo utilizando diferentes análises estatísticas com diferentes propriedades, indica que eventuais diferenças no funcionamento fotossintético dos dois grupos são de pequena magnitude ou com padrão mais complexo do que o previsto. Merece destaque a não diferenciação dos padrões observados nas curvas de resposta à luz e CO_2 analisados por GAMM. Por se tratar de uma análise não paramétrica, esta técnica seria capaz de identificar diferenças na resposta fotossintética a luz nos dois grupos funcionais estudados, independentemente do modelo matemático escolhido. Por isto, diferenças não previstas pelo modelo (ex. não saturação fotossintética sob intensidades luminosas encontradas naturalmente ou fotoinibição nos níveis de luz mais elevados) poderiam ser identificadas com esta técnica estatística. Desta forma, a não detecção de diferenciação nos padrões de resposta fotossintética à luz e ao CO_2 é um forte indício de que não há diferenças destes aspectos fotossintéticos entre plantas do grupo funcional típico de floresta e do grupo funcional típico de savana quando ambos se estabelecem na savana.

A grande similaridade de aspectos fotossintéticos dos dois grupos potencialmente pode representar um elevado grau de plasticidade fenotípica das espécies florestais que são capazes de colonizar o ambiente savânico. Desta forma, estas espécies florestais poderiam desenvolver características típicas de plantas savânicas quando se estabelecessem neste ambiente.

Alternativamente, esta aparente similaridade entre os dois grupos de espécies poderia ser um artefato analítico ocasionado pela existência de múltiplas configurações favoráveis de caracteres fisiológicos para sobrevivência e crescimento de árvores nas savanas. Considerando que, em cada gênero utilizado no estudo, ocorreu um evento independente de conquista do ambiente florestal por um ancestral savânico ou a conquista do ambiente savânico por um ancestral florestal, podem ter surgido múltiplas soluções adaptativas ao ambiente (isto é, os atributos fisiológicos poderiam apresentar diversas combinações de estados que sejam favoráveis ao estabelecimento em um mesmo ambiente). Neste cenário, seria difícil a detecção de um padrão único para espécies de origem florestal e um padrão único para espécies de origem savânica. Estudos investigando a ocorrência de múltiplos tipos funcionais formados por espécies de savana e por espécies de floresta poderiam favorecer a identificação de padrões de diferenciação funcional mais complexos associados a adaptação ao ambiente savânico.

Dentre os parâmetros medidos, $A_{\text{pré-curva}}$, $g_{s(\text{pré-curva})}$ e WUE são indicadores da atividade fotossintética instantânea no início do período luminoso. Os valores de $g_{s(\text{pré-curva})}$ foram nitidamente diferenciados entre os indivíduos das espécies estudadas, sendo a $A_{\text{pré-curva}}$ fortemente explicada por esta variação de condutância estomática. É interessante destacar que, mesmo na estação chuvosa, os estômatos representam um forte fator de regulação da fotossíntese, apresentando uma média de limitação estomática à fotossíntese de 0,23 neste período. Mas é importante notar que a variação de $A_{\text{pré-curva}}$ não foi explicada somente pela variação na g_s . O processo de seleção de modelos indicou que a estação do ano influenciou fortemente este parâmetro com efeitos adicionais aos relacionados a modificação sazonal da g_s . Possivelmente, este efeito extra da estação do ano pode ser relacionado ao estado de desenvolvimento das folhas, sendo este fato exacerbado nas espécies decíduas, apresentando folhas relativamente jovens ao final da estação seca (época na qual executamos as medições

da seca) e atingindo a maturidade na estação chuvosa. Estas diferenças de maturação podem resultar em valores diferentes de condutância do mesófilo, limitando assim fortemente a assimilação de carbono (Flexas et al. 2008). Adicionalmente, identificamos pelo processo de seleção de modelos que ψ_{MD} influencia $A_{pré-curva}$ de modo independente das demais variáveis, isto é, reduzindo a fotossíntese além do esperado pela diminuição da $g_{s(pré-curva)}$ relacionada ao ψ_{MD} . Analisando a figura 2, percebemos que nas plantas com $g_{s(pré-curva)}$ mais baixos, os valores de $A_{pré-curva}$ foram menores do que o previsto pelo modelo ao assumir que todas as plantas apresentam potencial hídrico médio em cada estação. Desta forma, ψ_{MD} potencialmente seria o responsável pela redução adicional dos valores de $A_{pré-curva}$, uma vez que aumentando a severidade do estresse hídrico a limitação bioquímica da fotossíntese aumenta sua importância relativa (Galmés et al. 2007). Estes valores marcadamente mais baixos de $A_{pré-curva}$ em condições de baixo ψ_{MD} e g_s também podem ser ocasionados pela regulação da atividade da Rubisco e síntese de ATP, ou mesmo por disfunções metabólicas no aparato fotossintético (Flexas & Medrano 2002).

Os valores de $g_{s(pré-curva)}$ foram influenciados primariamente pela estação do ano, sendo que, observamos adicionalmente relação desta com a variação individual do ψ_{MD} . É importante destacar que apesar de detectarmos diferenças nos valores médios de ψ_{MD} nas duas estações do ano, observamos grande faixa de sobreposição destes valores. Resultados similares foram obtidos em trabalho anterior na mesma região, na qual não foi detectada diferença entre ψ_{MD} das duas estações do ano em espécies típicas da savana (Bucci et al. 2005). Este trabalho demonstrou que a variação sazonal de $g_{s(pré-curva)}$ seria uma forma de manter a homeostase hídrica, sendo o abaixamento destes valores na estação seca uma estratégia que compensa parcialmente o aumento do déficit de saturação do ar. É importante destacar que apesar de detectarmos uma variação nos valores de ψ_{MD} entre estações, mesmo os menores valores obtidos na estação seca, são considerados equivalentes a situação de estresse

hídrico moderado. Nesta faixa, tipicamente se observa primariamente a regulação estomática e da condutância do mesofilo, ocorrendo somente pequenas alterações metabólicas (Galmés et al. 2007).

Apesar de observarmos também um pequeno efeito da T_{foliar} na $g_{s(\text{pré-curva})}$ (Tabela III), consideramos que a faixa de variação de temperatura relativamente pequena (câmara ajustada para manter a T_{foliar} próxima a 25°C) não nos permitiu inferir significado biológico deste padrão, servindo este então primariamente como co-variável no modelo. Alternativamente, analisamos a influência de T_{foliar} na fotossíntese por meio de curvas de resposta empregando uma faixa mais ampla de temperaturas. Uma vez que não fizemos ajustes de umidade do ar, pudemos verificar alterações de trocas gasosas relacionadas às mudanças da temperatura em condições semelhantes às naturais. Desta forma, o aumento da temperatura resulta na diminuição da assimilação de carbono relacionada tanto à redução da condutância estomática, desencadeada pelo aumento do déficit de pressão de vapor (Berry & Bjorkman 1980), quanto por modificações na taxa de transporte de elétrons e atividade da Rubisco (Medlyn et al. 2002). Nossos dados indicaram uma fraca relação entre assimilação de carbono e a temperatura foliar (tabela III e fig. 13), sendo que, a maior parte do padrão detectado pode ser atribuído ao fechamento estomática ocasionado pelo aumento do déficit de pressão de vapor (Tabela III e fig. S1 do material suplementar).

A WUE, nas duas estações do ano, seguiu padrão compatível com observado em plantas de clima mediterrâneo com maiores valores deste parâmetro em situações de abaixamento moderado do ψ_{MD} (Medrano et al. 2009). É importante destacar que, apesar desta diferença de WUE entre estações não ser nítida pela observação direta da fig.4, tal diferença foi confirmada pelo processo de seleção de modelos que levou em conta informações que dificilmente são utilizadas na observação visual de gráficos (diferença de variância entre estações e entre grupos de espécies, autocorrelação entre medições de espécies do mesmo

gênero e entre medições dos mesmos indivíduos nas duas estações).

Considerando a tendência observada por Medrano et al. (2009) de folhas com elevada área foliar específica (SLA: área foliar por unidade de massa da folha) apresentarem menor WUE, seria esperado que espécies típicas de floresta apresentassem menor WUE uma vez que estas mantêm área foliar específica relativamente altas mesmo em indivíduos estabelecidos em áreas savânicas (Hoffmann et al. 2005). A associação dos valores de WUE e área foliar específica seria relacionada com a tendência de plantas de ambientes com baixa disponibilidade de água apresentarem maiores valores de área foliar específica (Wright et al. 2003). Isto propicia maiores concentrações de nitrogênio por unidade de área foliar e, como a maior parte do nitrogênio foliar está associado com enzimas fotossintéticas, resultaria em maiores WUE. Entretanto, não identificamos este padrão em nossos dados uma vez que a WUE de plantas típicas de floresta e savana foi similar. Porém, é importante destacar que nossas medições de WUE retratam somente as trocas gasosas do início das manhãs no final da estação seca e meio da estação chuvosa. Por outro lado, a avaliação da WUE por meio de razões isotópicas, que indicam a estratégia de uso de água ao longo da história de vida da folha (Seibt et al. 2008), revelou, em outro trabalho com espécies da região, diferenças de WUE para plantas de espécies savânicas e florestais estabelecidas no ambiente savânico (Hoffmann et al. 2005).

As curvas de reposta à luz indicaram notável diferença da utilização de luz nas duas estações, mas não entre os dois grupos de espécies. Na estação seca, o maior ξ indica uma saturação fotossintética mais abrupta com o aumento de luminosidade. Os valores médios estimados de $Q_{95\%}$ em 764 e 1121 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ na estação seca e chuvosa respectivamente (Tabela III) indicaram a forte influência da estação do ano no aproveitamento de luz, sendo nítida a saturação fotossintética em intensidades luminosas relativamente baixas na estação seca. Vale notar que, a baixa ocorrência de nuvens nesta estação proporciona elevada

insolação ao longo do dia. Este excesso de irradiação luminosa acima da faixa de saturação fotossintética associada à escassez de água, poderia favorecer a ocorrência de processos fotoinibitórios e a um aumento dos processos de fotoproteção (Valladares et al. 2005). Porém, os valores relativamente elevados de F_v/F_m não sugeriram a ocorrência de fotoinibição crônica nestas plantas (ie. redução da eficiência do fotossistema II não revertida após várias horas no escuro). Esperávamos que espécies do grupo funcional proveniente de florestas apresentassem uma maior tendência à fotoinibição (baixo F_v/F_m e q_L acompanhados de alto Φ_{NO}) devido à menor luminosidade do ambiente do interior de florestas e o maior auto-sombreamento das folhas destas espécies. Porém, mesmo medindo folhas em porções do dossel mais expostas, não encontramos evidências de que as espécies florestais apresentem pior desempenho na savana quando comparado com plantas típicas deste ambiente. Os altos valores de Φ_{NPQ} sugerem que o mecanismo de dissipação térmica de energia no fotossistema II tem um importante papel na proteção do aparato fotossintético contra danos por excesso de luminosidade. Tal mecanismo seria particularmente importante no meio do dia, momento em que o fechamento dos estômatos aliado com alta luminosidade resultam no aumento da suscetibilidade a este tipo de dano (Franco et al. 2007).

É importante destacar que não ocorreu saturação luminosa em folhas de algumas espécies medidas durante a estação chuvosa, mesmo utilizando PPFD de $2000 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ que é uma intensidade luminosa superior a que uma planta na região recebe tipicamente (levando em conta o ângulo da folha). Nestes casos, qualquer aumento de exposição da folha à luz propiciaria o aumento da assimilação de carbono, cenário este bastante diferente do observado na estação seca, na qual todas as folhas pararam de responder à elevação da luminosidade em faixas relativamente baixas. Nos casos de não saturação luminosa, a estimativa de A_{max} pelo modelo de hipérbole não retangular não apresenta significado biológico, uma vez que não ocorrem naturalmente intensidades luminosas necessárias para a

alcançar estes valores de fotossíntese. Alternativamente, utilizamos o parâmetro A_{1900} como indicador de fotossíntese máxima alcançada em condições típicas de luminosidade. Este parâmetro também foi fortemente associado com a estação do ano, apresentando valores superiores na estação chuvosa, sendo influenciado adicionalmente pelo ψ_{MD} dos indivíduos, de modo que indivíduos com maior potencial hídrico na mesma estação, tendem a atingir maiores valores de A_{1900} . Os valores de α observados na estação seca foram inferiores aos da estação chuvosa, indicando menor eficiência do aparato fotossintético nesta estação. Diferenças sazonais qualitativamente equivalente na resposta à luz também foram constatadas em árvores de uma floresta na transição entre cerrado e amazônia (Sendall et al. 2009). Apesar destes resultados serem compatíveis com a tendência de redução na atividade fotossintética decorrente da menor disponibilidade de água (Galmés et al. 2007), potencialmente as diferenças de idade das folhas ao longo do ano também poderiam contribuir com o este padrão sazonal, principalmente em espécies decíduas.

As curvas de resposta ao CO_2 (realizadas somente na estação chuvosa) não indicaram diferenciação entre espécies típicas de savana e floresta, apresentando contudo dois tipos distintos de resposta (Fig. 11). Com isto, pudemos inferir pela observação das figuras 11 e 12 que o metabolismo fotossintético estaria associado ao padrão de troca de folhas das espécies. Plantas sempre-verdes possivelmente teriam a tendência de atingir maiores taxas de carboxilação máxima, taxas de transporte de elétrons e respiração mitocondrial do que plantas decíduas e brevi-decíduas. Notamos também a ocorrência de maior V_{cmax} em plantas que mantiveram maiores valores de ψ_{MD} , o que poderia indicar que plantas capazes de manter potencial hídrico elevado apresentam maior eficiência metabólica na fotossíntese sendo este padrão aparentemente mais pronunciado nas espécies decíduas. Porém, considerando que nossos objetivos originais não contemplavam a verificação do efeito da fenologia foliar, optamos por não incluir posteriormente esta variável nas análises estatísticas. Isto porque a

inclusão de variáveis motivada pela observação dos resultados ocasionaria uma estimativa tendenciosa do efeito destas. Adicionalmente, para a realização de testes rigorosos da relação entre fenologia foliar e resposta fotossintética da comunidade vegetal, seria necessária a coleta de dados de modo a garantir a independência filogenética das amostras, de maneira análoga ao presente trabalho, porém utilizando pares congêneros compostos por uma espécie sempre-verde e uma decídua. Por estes motivos, destacamos que a sugestão de influência da fenologia foliar em parâmetros fotossintéticos apresentadas no presente trabalho deve ser considerada como uma hipótese a ser testada em trabalhos futuros.

Conclusões

A hipótese central do estudo, de que plantas típicas de savana e de floresta teriam características fotossintéticas distintas quando ambas se estabelecem nas savanas, não foi corroborada. Apesar das plantas típicas de floresta terem evoluído em ambientes marcadamente diferentes das savanas em termos de luminosidade e disponibilidade hídrica, os indivíduos deste grupo estabelecidos em ambientes savânicos apresentaram características fotossintéticas similares às plantas típicas de savana.

A estação do ano influenciou o funcionamento fotossintético das plantas estudadas, sendo identificadas modificações em todos os aspectos que avaliamos em ambas as estações. Observamos, na estação chuvosa, o aumento da fotossíntese ($A_{precurva}$), condutância estomática ($g_{s(pre-curva)}$) e eficiência do uso da água (WUE) sob luz saturante no início da manhã. A estação chuvosa também induziu o aumento da respiração mitocondrial (R_d), do rendimento quântico da fotossíntese (α), da taxa fotossintética máxima (avaliados por meio de A_{max} ou A_{1900}) e da intensidade saturante de luz ($Q_{95\%}$), acompanhados de uma resposta ao aumento da intensidade de luz com saturação mais gradual (menor valor de ξ).

As plantas típicas de savana e de floresta apresentaram estratégias similares de resposta às mudanças sazonais do ambiente. A redução do potencial hídrico do meio dia (Ψ_{MD}) na estação seca e a resposta fotossintética neste período indicaram que as plantas estariam sob moderado estresse hídrico, faixa na qual tipicamente são observadas regulações fisiológicas sem a ocorrência de dano ao aparato fotossintético.

Referências

- BERRY, J. & BJORKMAN, O. 1980. Photosynthetic response and adaptation to temperature in higher plants. *Annual Review of Plant Physiology* 31:491–543.
- BONAL, D., BARIGAH, T., GRANIER, A. & GUEHL, J. 2000. Late-stage canopy tree species with extremely low $\delta^{13}C$ and high stomatal sensitivity to seasonal soil drought in the tropical rainforest of French Guiana. *Plant, Cell & Environment* 23:445-459.
- BUCCI, S. J., GOLDSTEIN, G., MEINZER, F. C., FRANCO, A. C., CAMPANELLO, P. & SCHOLZ, F. G. 2005. Mechanisms contributing to seasonal homeostasis of minimum leaf water potential and predawn disequilibrium between soil and plant water potential in Neotropical savanna trees. *Trees* 19:296-304.
- BUCCI, S. J., SCHOLZ, F. G., GOLDSTEIN, G., HOFFMANN, W. A., MEINZER, F. C., FRANCO, A. C., GIAMBELLUCA, T. & MIRALLES-WILHELM, F. 2008. Controls on stand transpiration and soil water utilization along a tree density gradient in a Neotropical savanna. *Agricultural and Forest Meteorology* 148:839-849.
- CLEARY, B., ZAERR, J. & HAMEL, J. 2005. Guidelines for measuring plant moisture stress with a pressure chamber.
- DUBOIS, J., FISCUS, E., BOOKER, F., FLOWERS, M. & REID, C. 2007. Optimizing the statistical estimation of the parameters of the Farquhar-von Caemmerer-Berry model of photosynthesis. *New Phytologist* 176:402-414.

- FARQUHAR, G., CAEMMERER, S. & BERRY, J. 1980. A biochemical model of photosynthetic CO₂ assimilation in leaves of C₃ species. *Planta* 149:78-90.
- FELFILI, J. & SILVA JUNIOR, M. 1992. Floristic composition, phytosociology and comparison of cerrado and gallery forests at Fazenda Agua Limpa, Federal District, Brazil. Pp. 393-429 in Furley, P., Proctor, J. & Ratter, J. (orgs.). *Nature and Dynamics of the Forest-Savanna Boundaries*. Chapman and Hall, London.
- FELFILI, J., SOUSA-SILVA, J. & SCARIOT, A. 2005. Biodiversidade, ecologia e conservação do Cerrado: avanços no conhecimento. Pp. 25-44 in Scariot, A., Sousa-Silva, J. & Felfili, J. (orgs.). *Cerrado: Ecologia, biodiversidade e conservação*. Ministério do Meio Ambiente, Brasília.
- FLEXAS, J., DIAZ-ESPEJO, A., BERRY, J., CIFRE, J., GALMES, J., KAIDENHOFF, R., MEDRANO, H. & RIBAS-CARBO, M. 2007. Analysis of leakage in IRGA's leaf chambers of open gas exchange systems: quantification and its effects in photosynthesis parameterization. *Journal of Experimental Botany* 58:1533-1543.
- FLEXAS, J. & MEDRANO, H. 2002. Drought-inhibition of Photosynthesis in C₃ Plants: Stomatal and Non-stomatal Limitations Revisited. *Annals of Botany* 89:183-189.
- FLEXAS, J., RIBAS-CARBÓ, M., DIAZ-ESPEJO, A., GALMÉS, J. & MEDRANO, H. 2008. Mesophyll conductance to CO₂: current knowledge and future prospects. *Plant, Cell & Environment* 31:602-621.
- FRANCO, A. C. 1998. Seasonal patterns of gas exchange, water relations and growth of *Roupala montana*, an evergreen savanna species. *Plant Ecology* 136:69:76.
- FRANCO, A. C. 2005. Biodiversidade de formas e funções: implicações ecofisiológicas das estratégias de utilização de água e luz em plantas lenhosas do Cerrado. Pp. 179-196 in Scariot, A., Sousa-Silva, J. C. & Felfili, J. M. (orgs.). *Cerrado: Ecologia, biodiversidade e conservação*. Ministério do Meio Ambiente, Brasília.

- FRANCO, A. 2002. Ecophysiology of woody plants. Pp. 178-197 in Oliveira, P. & Marquis, R. (orgs.). *Cerrados of Brazil: ecology and natural history of a neotropical savanna*. Columbia University Press, New York.
- FRANCO, A. & LÜTTGE, U. 2002. Midday depression in savanna trees: coordinated adjustments in photochemical efficiency, photorespiration, CO₂ assimilation and water use efficiency. *Oecologia* 131:356-365.
- FRANCO, A. C., MATSUBARA, S. & ORTHEN, B. 2007. Photoinhibition, carotenoid composition and the co-regulation of photochemical and non-photochemical quenching in neotropical savanna trees. *Tree Physiology* 27:717-725.
- FURLEY, P. 1992. Edaphic changes at the forest-savanna boundary with particular reference to the neotropics. Pp. 91-118 in Furley, P., Proctor, J. & Ratter, J. (orgs.). *Nature and dynamics of forest-savanna boundaries*. Chapman & Hall, London.
- GALMÉS, J., MEDRANO, H. & FLEXAS, J. 2007. Photosynthetic limitations in response to water stress and recovery in Mediterranean plants with different growth forms. *New Phytologist* 175:81-93.
- GOTSCH, S. G., GEIGER, E. L., FRANCO, A. C., GOLDSTEIN, G., MEINZER, F. C. & HOFFMANN, W. A. 2010. Allocation to leaf area and sapwood area affects water relations of co-occurring savanna and forest trees. *Oecologia* 163:291-301.
- HARIDASAN, M. 1998. Solos de matas de galeria e nutrição mineral de espécies arbóreas em condições naturais. Pp. 19-28 in Ribeiro, J. (org.). *Cerrado: matas de galeria*. EMBRAPA-CPAC, Planaltina.
- HOFFMANN, W. A. & FRANCO, A. C. 2008. The importance of evolutionary history in studies of plant physiological ecology: examples from cerrados and forests of central Brazil. *Brazilian Journal of Plant Physiology* 20:247-256.
- HOFFMANN, W. A. & FRANCO, A. C. 2003. Comparative growth analysis of tropical forest

- and savanna woody plants using phylogenetically independent contrasts. *Journal of Ecology* 91:475-484.
- HOFFMANN, W. A., FRANCO, A. C., MOREIRA, M. Z. & HARIDASAN, M. 2005. Specific leaf area explains differences in leaf traits between congeneric savanna and forest trees. *Functional Ecology* 19:932-940.
- HOFFMANN, W. A., ADASME, R., HARIDASAN, M., DE CARVALHO, M. T., GEIGER, E. L., PEREIRA, M. A. B., GOTSCH, S. G. & FRANCO, A. C. 2009. Tree topkill, not mortality, governs the dynamics of savanna-forest boundaries under frequent fire in central Brazil. *Ecology* 90:1326-1337.
- KRAMER, D., JOHNSON, G., KIIRATS, O. & EDWARDS, G. 2004. New fluorescence parameters for the determination of QA redox state and excitation energy fluxes. *Photosynthesis Research* 79:209-218.
- LONG, S. & BERNACCHI, C. 2003. Gas exchange measurements, what can they tell us about the underlying limitations to photosynthesis? Procedures and sources of error. *Journal of Experimental Botany* 54:2393-2401.
- MAXWELL, K. & JOHNSON, G. 2000. Chlorophyll fluorescence - a practical guide. *Journal of Experimental Botany* 51:659-668.
- MEDLYN, B. E., DREYER, E., ELLSWORTH, D., FORSTREUTER, M., HARLEY, P. C., KIRSCHBAUM, M. U. F., LE ROUX, X., MONTPIED, P., STRASSEMAYER, J., WALCROFT, A., WANG, K. & LOUSTAU, D. 2002. Temperature response of parameters of a biochemically based model of photosynthesis. II. A review of experimental data. *Plant, Cell & Environment* 25:1167-1179.
- MEDRANO, H., FLEXAS, J. & GALMÉS, J. 2009. Variability in water use efficiency at the leaf level among Mediterranean plants with different growth forms. *Plant and Soil* 317:17-29.

- MIRANDA, A. C., MIRANDA, H. S., LLOYD, J., GRACE, J., FRANCEY, R. J., MCINTYRE, J. A., MEIR, P., RIGGAN, P., LOCKWOOD, R. & BRASS, J. 1997. Fluxes of carbon, water and energy over Brazilian cerrado: An analysis using eddy covariance and stable isotopes. *Plant, Cell & Environment* 20:315-328.
- MIRANDA, E., VOURLITIS, G., PRIANTE, N., PRIANTE, P., CAMPELO, J., SULI, G., FRITZEN, C., LOBO, F. & SHIRAIWA, S. 2005. Seasonal variation in the leaf gas exchange of tropical forest trees in the rain forest-savanna transition of the southern Amazon Basin. *Journal of Tropical Ecology* 21:451-460.
- MONTGOMERY, R. & CHAZDON, R. 2002. Light gradient partitioning by tropical tree seedlings in the absence of canopy gaps. *Oecologia* 131:165-174.
- OLIVEIRA-FILHO, A. T. & RATTER, J. A. 2002. Vegetation physiognomies and woody flora of the cerrado biome. Pp. 91-120 in Oliveira, P. S. & Marquis, R. J. (orgs.). *Cerrados of Brazil: ecology and natural history of a neotropical savanna*. Columbia University Press, New York.
- PEEK, M., RUSSEK-COHEN, E., WAIT, D. & FORSETH, I. 2002. Physiological response curve analysis using nonlinear mixed models. *Oecologia* 132:175-180.
- PINHEIRO, J., BATES, D., DEBROY, S., SARKAR, D. & R CORE TEAM. 2009. Mixed Effects Models and Extensions in Ecology with R. R package.
- PRADO, C. H. B. A., WENHUI, Z., ROJAS, M. H. C. & SOUZA, G. M. 2004. Seasonal leaf gas exchange and water potential in a woody cerrado species community. *Brazilian Journal of Plant Physiology* 16:7-16.
- ROSSATTO, D. R., TAKAHASHI, F. S., SILVA, L. & FRANCO, A. C. 2010. Características funcionais de folhas de sol e sombra de espécies arbóreas em uma mata de galeria no Distrito Federal, Brasil. *Acta Bot Bras* (no prelo).
- SEIBT, U., RAJABI, A., GRIFFITHS, H. & BERRY, J. A. 2008. Carbon isotopes and water

- use efficiency: sense and sensitivity. *Oecologia* 155:441-454.
- SENDALL, K. M., VOURLITIS, G. L. & LOBO, F. A. 2009. Seasonal variation in the maximum rate of leaf gas exchange of canopy and understory tree species in an Amazonian semi-deciduous forest. *Brazilian Journal of Plant Physiology* 21:65-74.
- SHARKEY, T., BERNACCHI, C., FARQUHAR, G. & SINGSAAS, E. 2007. Fitting photosynthetic carbon dioxide response curves for C₃ leaves. *Plant, Cell & Environment* 30:1035-1040.
- SILVA, L. C. R., HARIDASAN, M., STERNBERG, L. S. L., FRANCO, A. C. & HOFFMANN, W. A. 2010. Not all forests are expanding over central Brazilian savannas. *Plant and Soil* 333:431-442.
- SILVA, L. C. R., STERNBERG, L., HARIDASAN, M., HOFFMANN, W. A., MIRALLES-WILHELM, F. & FRANCO, A. C. 2008. Expansion of gallery forests into central Brazilian savannas. *Global Change Biology* 14:2108-2118.
- SOETAERT, K. & PETZOLDT, T. 2010. Inverse Modelling, Sensitivity and Monte Carlo Analysis in R Using Package FME. *Journal of Statistical Software* 33:1-28.
- SOUZA, G., RIBEIRO, R., SATO, A. & OLIVEIRA, M. 2008. Diurnal and seasonal carbon balance of four tropical tree species differing in successional status. *Brazilian Journal of Biology* 68:781-793.
- VALLADARES, F., DOBARRO, I., SANCHEZ-GOMEZ, D. & PEARCY, R. W. 2005. Photoinhibition and drought in Mediterranean woody saplings: scaling effects and interactions in sun and shade phenotypes. *Journal of Experimental Botany* 56:483.
- VENEKLAAS, E., FAJARDO, A., OBREGON, S. & LOZANO, J. 2005. Gallery forest types and their environmental correlates in a Colombian savanna landscape. *Ecography* 28:236-252.
- WALTERS, R. 2005. Towards an understanding of photosynthetic acclimation. *Journal of*

Experimental Botany 56:435-447.

WOOD, S. 2004. Stable and efficient multiple smoothing parameter estimation for generalized additive models. *Journal of the American Statistical Association* 99:673-686.

WRIGHT, I. J., REICH, P. B. & WESTOBY, M. 2003. Least-cost input mixtures of water and nitrogen for photosynthesis. *The American Naturalist* 161:98-111.

ZUUR, A., IENO, E., WALKER, N., SAVELIEV, A. & SMITH, G. 2009. *Mixed Effects Models and Extensions in Ecology with R*. Springer, New York.

Material Suplementar

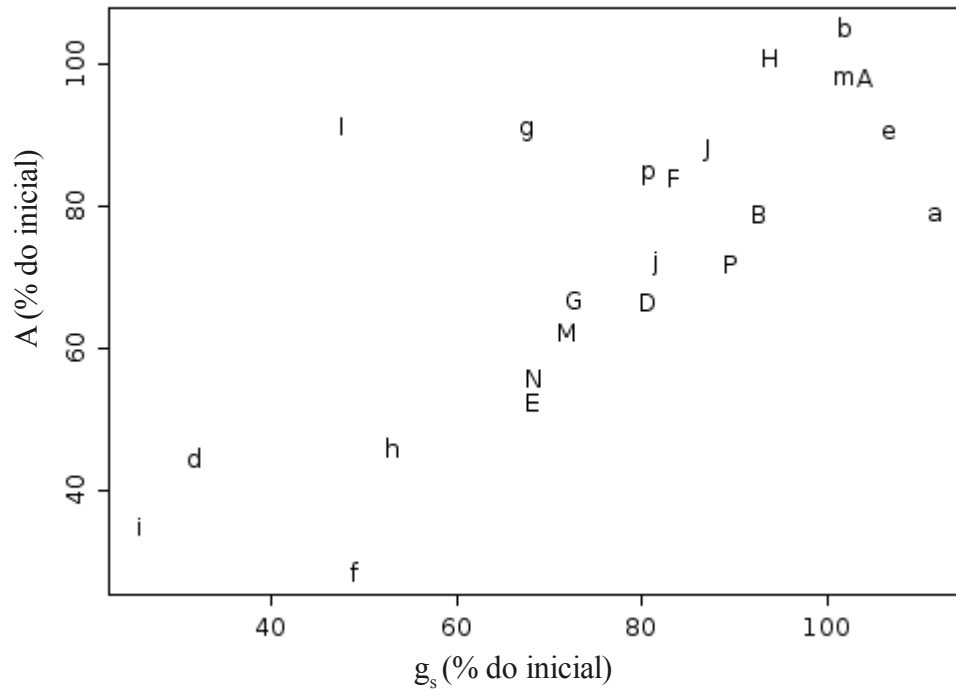


Fig. S1 – Relação entre modificação percentual da fotossíntese e da condutância estomática ao longo das curvas de resposta a temperatura. Símbolos expressam valores obtidos ao final das curvas (temperatura elevada) ajustados como porcentagem dos valores observados no início das curvas (temperatura baixa). Letras maiúsculas representam espécies típicas de cerrado e letras minúsculas, espécies típicas de floresta; letras diferentes representam gêneros diferentes (não utilizamos as letras C,L,O devido a similaridade entre caractere maiúsculo e minúsculo).

Capítulo 2 – Maior disponibilidade de água no solo e ar úmido evitariam a diminuição da condutância estomática e fotossíntese em plantas do cerrado na estação seca?

Introdução

O cerrado cobre aproximadamente 22% do território brasileiro, o que equivale a cerca de 2 milhões de km², sendo predominante fitofisionomias savânicas (Oliveira-Filho & Ratter 2002). Esta área apresenta pluviosidade média anual de 600 a 2000 mm distribuídas de forma marcadamente sazonal, com uma estação seca de quatro a cinco meses (Assad 1994), sendo registrados 95% das chuvas concentradas nos meses de outubro a abril (Miranda et al. 1997). O auge da estação seca tipicamente apresenta 2-3 meses com total ou quase total ausência de chuvas, resultando em solos com baixos potenciais hídricos (inferiores a -3 MPa nos 5 cm superficiais), acompanhados de temperaturas diurnas elevadas (Franco 1998, 2002).

Esta grande sazonalidade ocasiona severas mudanças na fisiologia e morfologia da vegetação da região. Estima-se uma redução da taxa líquida fotossintética do ecossistema da ordem de 50% na estação seca fortemente relacionada com a morte de indivíduos herbáceos e diminuição da área foliar de plantas lenhosas (Miranda et al. 1997). Paralelamente, são observadas marcantes alterações na fisiologia de indivíduos arbóreos deste ambiente. Isto ocorre porque mesmo os indivíduos arbóreos que têm acesso a reservas subterrâneas de água muitas vezes não obtêm água suficiente para compensar a elevada demanda evaporativa (Franco 2005). Estima-se que a comunidade de plantas lenhosas do cerrado apresenta uma redução da ordem de 35% na sua taxa fotossintética líquida durante a estação seca (Prado et al. 2004). Em *Roupala montana*, uma espécie abundante no cerrado, foi observada uma redução de 66% na assimilação de carbono durante a estação seca em função da maior limitação estomática da fotossíntese e diminuição de sua área foliar total (Franco 1998). Tal

limitação na assimilação de carbono resulta na estagnação do crescimento radial de árvores típicas do cerrado no período seco (Rossatto et al. 2009).

Apesar da marcante sazonalidade do ambiente e das modificações na fisiologia das plantas arbóreas das savanas do cerrado, a maioria destas espécies são isoidricas, isto é, mantêm os valores de potencial hídrico mínimo razoavelmente constantes ao longo de todo ano, independentemente do aumento do déficit hídrico no solo e da demanda evaporativa da estação seca (Goldstein et al. 2008). Em um estudo com oito espécies lenhosas dominantes do cerrado, foram constatadas modificações alométricas e fisiológicas ao longo do ano relacionadas com a manutenção de potencial hídrico mínimo constante (Bucci et al. 2005). Foi identificada diminuição da condutância estomática (g_s) associada ao aumento da demanda evaporativa durante estação seca, período no qual também ocorreu aumento da condutância hidráulica da via solo-folha (G_i) por meio da diminuição da área foliar dos indivíduos.

Vale destacar que, apesar da formação de um pronunciado déficit hídrico nas camadas superficiais do solo durante a estação seca, a elevada demanda evaporativa pode ser o principal fator limitante das trocas gasosas neste período (Miranda et al. 1997, Meinzer et al. 1999). As linhas de evidência neste sentido são relacionadas a grande influência da demanda evaporativa na g_s (Meinzer et al. 1999, Bucci et al. 2005) e a disponibilidade relativamente elevada de água no solo em profundidades acessíveis a árvores adultas (Miranda et al. 1997). Porém, subsequentes experimentos sugerem que mesmo as árvores com raízes profundas utilizam primariamente água de camadas relativamente superficiais do solo, sujeitas a déficit hídrico (Moreira et al. 2003), aonde se concentram a maior parte das raízes finas (Oliveira et al. 2005). Desta forma, não se sabe ao certo se as trocas gasosas de plantas das savanas do cerrado são primariamente relacionadas com a disponibilidade de água do solo ou com a demanda evaporativa.

O objetivo deste trabalho foi investigar o efeito da baixa umidade do ar e baixa

disponibilidade de água no solo durante a estação seca nas trocas gasosas de árvores do cerrado. Para isto, realizamos um experimento de irrigação de áreas com vegetação naturalmente estabelecida para retirar o efeito do déficit hídrico dos solos. Nestas parcelas, verificamos a resposta das folhas à variação de umidade do ar. Desta forma, pretendíamos verificar se: (a) na ausência de déficit hídrico no solo, fotossíntese líquida (A_L) e condutância estomática (g_s) seriam mais elevadas; (b) a alta demanda evaporativa ocasionada pela baixa umidade do ar induziria à diminuição de g_s restringindo a A_L mesmo na ausência de déficit hídrico no solo; (c) em situações de baixa disponibilidade de água no solo, a influência da demanda evaporativa na resposta estomática (e sua limitação na A_L) seria menos acentuada.

Material e Métodos

Conduzimos o estudo na Reserva Ecológica do IBGE (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística) localizado na região central do Brasil, próximo a cidade de Brasília no Distrito Federal (15° 57' S, 47° 57' W). A vegetação natural da região é composta predominantemente por savanas apresentando faixas de vegetação florestal acompanhado os rios (matas de galeria). A região apresenta pluviosidade média anual de aproximadamente 1400 mm com pronunciada sazonalidade das chuvas (dados meteorológicos da área de estudo apresentados por Miranda et al. 1997, Franco 1998, Bucci et al. 2008).

Realizamos as medições em agosto e setembro de 2008 (final da estação seca), em parcelas de um experimento de irrigação de áreas de transição entre savana e mata de galeria composto por parcelas irrigadas e controle. Utilizamos no presente trabalho somente plantas estabelecidas em áreas de savana das parcelas. Os solos, na área de estudo, são latossolos profundos com boa drenagem. A irrigação foi realizada anualmente a partir do ano de 2007 no período entre o final da estação chuvosa (junho) até o final da estação seca (setembro). Cada

parcela irrigada recebeu água por um período de 12 horas distribuídos em 1 a 2 noites por semana de modo a totalizar o equivalente a 240 mm de chuva por mês. O potencial hídrico do solo a 70 cm de profundidade nas parcelas irrigadas foi da ordem de -0.26 ± 0.04 MPa enquanto em parcelas controle o valor foi de -1.3 ± 0.07 MPa (dados não publicados cedidos por E. L. Geiger).

Empregamos no presente trabalho indivíduos estabelecidos naturalmente nas parcelas pertencentes a três espécies abundantes na região (tabela I). Optamos por utilizar espécies sempre-verdes, ou breve-decíduas que apresentassem folhas maduras no final da estação seca e que fossem abundantes na área de estudo. Uma vez que o foco do trabalho era identificar possíveis respostas convergentes de árvores deste ambiente, selecionamos espécies pouco relacionadas filogeneticamente (de famílias diferentes) e que apresentassem padrões de distribuição diferenciados nas diferentes fitofisionomias, com predomínio em ambientes florestais ou savânicos (tabela I).

Tabela I – Caracterização das espécies utilizadas e indicação do número de indivíduos medidos

Espécie	Família	Ambiente típico	Fenologia	N. de indivíduos	
				Controle	Irrigação
<i>Eriotheca pubescens</i> (Mart. & Zucc.) Schott & Endl.	Malvaceae	savana ¹ , cerrado florestal (cerradão) e bordas de mata de galeria ²	BD	4	5
<i>Roupala montana</i> Aubl.	Proteaceae	savana ¹ e secundariamente em matas de galeria ³	SV	4	3
<i>Styrax camporum</i> (Pohl)	Styracaceae	bordas de mata de galeria, cerrado florestal (cerradão) e matas estacionais ⁴ ; secundariamente na savana ¹	SV	4	2

1- Felfili e Silva Júnior 1993; 2- Silva Júnior 2005 ;3- Felfili 1995; 4- Silva Júnior e Pereira 2009; BD- breve-decídua; SV- sempre-verde

Realizamos curvas de resposta à umidade do ar com um sistema portátil de análise de fotossíntese (LI-6400, LI-COR, Lincoln, USA). Antes do início de cada curva de resposta, submetemos as folhas a um período de 10 a 20 minutos de aclimação a câmara (tempo variava em função do grau de estabilidade das medições de fotossíntese líquida).

Configuramos a câmara para densidade de fluxo de fótons fotossinteticamente ativos (PPFD) de $1600 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ (intensidade suficiente para saturação luminosa destas espécies de acordo com testes preliminares) e umidade relativa do ar (UR) de aproximadamente 85%. Obtivemos tais valores de UR acrescentando algumas gotas de água ao tubo de cal sodada do circuito de ar do instrumento. Ao longo de todas as leituras, o CO_2 foi mantido em $380 \mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$ (valor equivalente à concentração ambiente), porém permitimos que a temperatura foliar (T_{folha}) variasse em função da temperatura ambiente e transpiração (medições realizadas com temperatura foliar entre 22 e 42 °C com variação média da ordem 2,4 °C dentro de uma mesma curva). Após estabilização das leituras, iniciamos a curva de resposta a umidade com leituras em sete níveis decrescentes de UR (aproximadamente de 85 a 25%) por meio do ajuste manual da válvula que direciona ar do circuito do aparelho para o tubo contendo dessecante. Após cada mudança de nível de UR, aguardamos 10 minutos para a aclimação da folha antes de registrar as leituras. Na análise dos dados, utilizamos os valores de déficit de pressão de vapor entre a folha e a atmosfera (DPV) ao invés de UR, uma vez que o primeiro é um melhor indicador de demanda evaporativa. Para evitar a interferência da elevação da umidade relativa do ar ocasionado diretamente pela irrigação, medimos as plantas de parcelas irrigadas após pelo menos 24 horas do fim da irrigação, tempo suficiente para evaporação da água depositada superficialmente. Conduzimos todas as medições no período entre 8:00 e 12:00 horas.

Para analisar os dados das curvas de resposta à umidade, utilizamos modelos lineares mistos empregando o programa R versão 2.10.1 (R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria). Nestas análises, estabelecemos a espécie e indivíduo a que cada medição pertenceria como variáveis de efeito aleatório hierárquicas e indicamos estrutura de autocorrelação nos dados de um mesmo indivíduo. Vale destacar que a inclusão de espécie como variável de efeito aleatório se deve ao fato de não objetivarmos identificar diferenças

entre espécies neste trabalho (isto é, informamos que a variável espécie influencia as trocas gasosas, porém não pretendemos estimar este parâmetro). Já a inclusão de indivíduo como variável de efeito aleatório visa evitar que cada medição no mesmo indivíduo seja considerada como medição independente, o que corresponderia a utilização de pseudo-réplicas. Por meio de análise de gráficos de resíduos e da comparação dos valores de Critério de Informação de Akaike (AIC), optamos por incluir no modelo que relaciona g_s e DPV a heterocedasticidade relacionada às espécies. Seguimos o protocolo de seleção de modelos partindo do modelo cheio com teste de razão de verossimilhança (Zuur et al. 2009) por meio do pacote nlme versão 3.1-96 (Pinheiro et al. 2009). Neste procedimento, utilizamos as seguintes variáveis fixas nos modelos iniciais: $g_s \sim \text{DPV} * \text{irrigação} + T_{\text{folha}}$; $A_L \sim \ln(g_s) * \text{irrigação} + T_{\text{folha}}$; sendo irrigação uma variável binária. Vale notar que optamos por não inserir DPV e g_s na mesma análise porque a correlação entre g_s e DPV prejudicaria o ajuste de modelos que contivessem as duas variáveis simultaneamente como preditoras uma vez que adicionaria colinearidade aos modelos e dificultaria a interpretação dos resultados (Quinn & Keough 2002). Consideramos o valor de significância de 0,05 em todas as análises.

Resultados

Analisando os fatores que influenciam a g_s , constatamos efeito da interação entre DPV e irrigação (razão de verossimilhança= 8,723; $p=0,003$) enquanto T_{folha} não apresentou relação (razão de verossimilhança=3,731; $p=0,053$). O modelo final obtido, demonstra que g_s tendeu a ser maior em plantas irrigadas ocorrendo decréscimo destes valores com o aumento do DPV (tabela II, fig. 1 e fig. S1 do material suplementar). Este decréscimo de g_s associado ao DPV foi mais pronunciado nas plantas irrigadas.

Identificamos influência da interação entre g_s e irrigação nos valores de A_L (razão de

verossimilhança=11,683; $p < 0,001$) sem a influência da T_{folha} (razão de verossimilhança=2,122; $p=0,1451$). O melhor modelo obtido indicou aumento não linear da A_L associado a g_s com influência mais acentuada da g_s em plantas irrigadas (tabela II, fig. 2 e fig. S2 do material suplementar).

Tabela II – Coeficientes dos modelos obtidos e resultados dos testes de significância

	Coeficiente	Erro padrão	Graus de Liberdade	t	p
var. depen.: g_s					
intercepto	0.209	0.029	130	7.199	<0.001
Irrigação	0.181	0.046	18	3.957	<0.001
DPV	-0.033	0.006	130	-5.612	<0.001
DPV:irrigação §	-0.030	0.009	130	3.276	0.001
var. depen.: A_L					
intercepto	12.192	1.001	130	12.174	<0.001
Irrigação	3.914	1.148	18	3.409	0.003
$\ln(g_s)$	2.689	0.299	130	9.002	<0.001
$\ln(g_s)$:irrigação §	1.504	0.431	130	3.493	<0.001

§: interações apresentam efeito aditivo em relação ao nível basal (plantas não irrigadas).

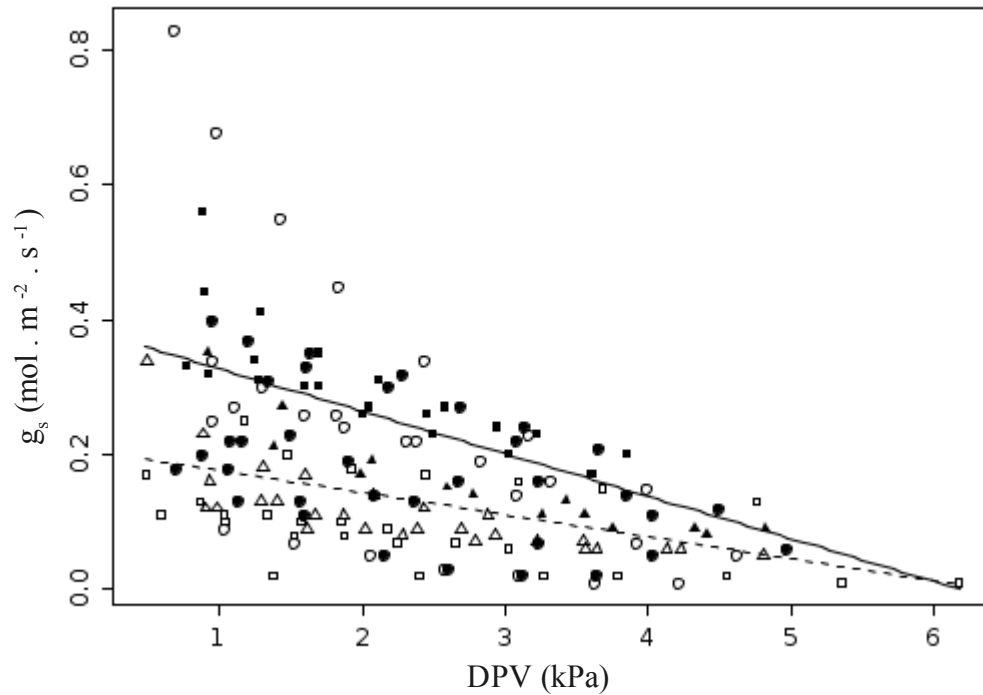


Fig. 1 – Influência do déficit de pressão de vapor folha-atmosfera (DPV) na condutância estomática (g_s). Símbolos preenchidos representam plantas situadas em parcelas irrigadas e símbolos vazios, em parcelas controle. Quadrados representam *Roupala montana* (7 indivíduos); círculos *Eriotheca pubescens* (9 indivíduos) e triângulos *Styrax camporum* (6 indivíduos). Linhas representam modelos ajustados (tabela II) para plantas situadas nas parcelas irrigadas (linha contínua) e parcelas controle (linha tracejada).

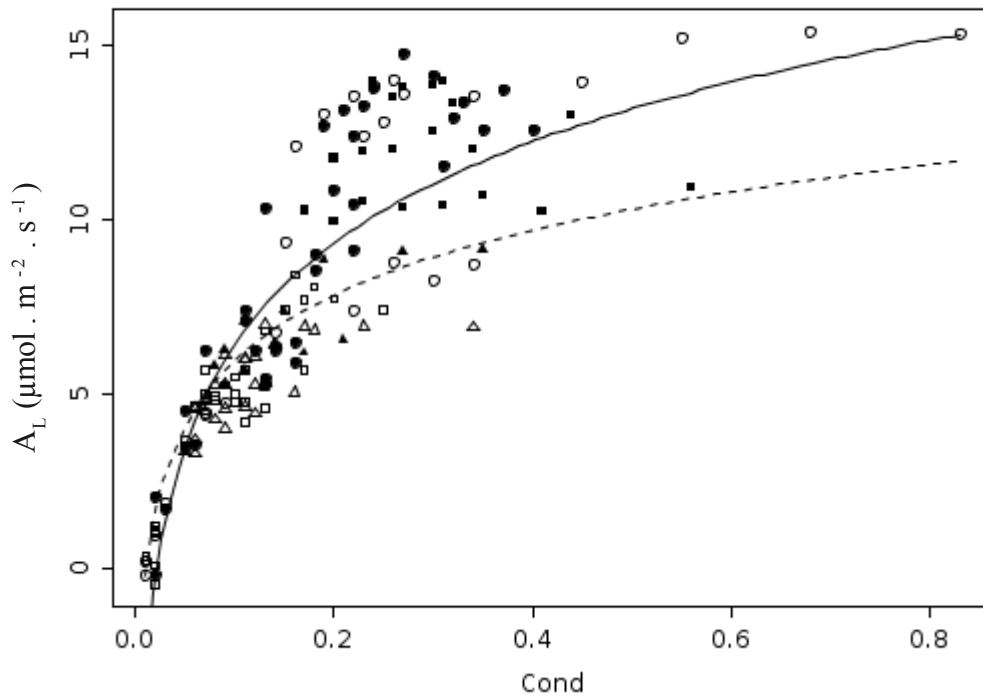


Fig. 2 – Influência da condutância estomática (g_s) na fotossíntese líquida (A_L). Símbolos preenchidos representam plantas situadas em parcelas irrigadas e símbolos vazios, em parcelas controle. Quadrados representam *Roupala montana* (7 indivíduos); círculos *Eriotheca pubescens* (9 indivíduos) e triângulos *Styrax camporum* (6 indivíduos). Linhas representam modelos ajustados (tabela II) para plantas situadas nas parcelas irrigadas (linha contínua) e parcelas controle (linha tracejada).

Discussão

Os resultados do presente trabalho confirmaram a modulação da g_s das plantas das savanas do cerrado em função da demanda evaporativa anteriormente relatada (Meinzer et al. 1999, Bucci et al. 2005). Porém, diferentemente dos trabalhos anteriores que associaram a g_s com a variação de demanda evaporativa observada ao longo do ano, observamos experimentalmente esta relação. Isto permitiu acompanhar a resposta estomática independentemente da modificação de outros fatores ao longo do ano, como o grau de desenvolvimento das folhas e a variação de g_s ($\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$) no solo. Desta forma, conseguimos demonstrar que tanto g_s quanto A_L tendem a ser mais elevadas durante a estação seca quando se remove o déficit hídrico no solo. Os valores de A_L obtidos em nossas medições em *R. montana* retirando o estresse hídrico e sob baixo DPV são compatíveis com medições realizadas na estação chuvosa (Franco 1998). Considerando a tendência de baixa variação sazonal do potencial hídrico foliar mínimo nas árvores do cerrado (Bucci et al. 2005), os valores mais elevados de A_L observados em plantas irrigadas provavelmente são ocasionados primariamente pelo maior suprimento de CO_2 propiciado pela maior g_s . Isto resulta não só no aumento de disponibilidade deste substrato da reação de fotossíntese, mas também em mudanças no metabolismo fotossintético, tais como na atividade da rubisco, síntese de ATP e regeneração de ribulose bis-fosfato (Lawlor & Cornic 2002, Flexas & Medrano 2002). Por sua vez, este aumento de g_s observado seria relacionado a sinais hidráulicos como o aumento da condutância total ao longo do caminho raiz-folha e/ou proveniente de sinalizadores químicos produzidos na raiz (Whitehead 1998).

A demanda evaporativa da atmosfera apresentou maior influência em plantas com maior disponibilidade de água no solo (conforme verificado pelo coeficiente angular da

relação $g_s \sim \text{DPV}$, tabela II). Isto indica que a baixa disponibilidade de água no solo, típica da estação seca, limita g_s e A_L de maneira mais marcante, resultando numa faixa de valores de g_s mais estreita, e com isto menor possibilidade de modulação da abertura estomática pelo DPV. Este padrão é compatível com a forma de regulação da abertura estomática por dois componentes em plantas arbóreas/arbustivas: respostas rápidas relacionadas a sinais hidráulicos na folha e regulação a longo prazo relacionadas a mudanças de concentração de ácido abscísico na seiva do xilema, em resposta à variação gradual da disponibilidade de água no solo (Whitehead 1998).

A resposta estomática ocorreu em períodos relativamente curtos, sendo observada marcante modificação ao longo de curvas de duração total de aproximadamente 70 minutos. Podemos notar pela figura 1 (e S1 do material suplementar) a ocorrência de padrão de decréscimo de g_s mesmo nos valores mais baixos de DPV, que correspondem ao início das curvas de resposta. Uma vez que o intervalo entre cada nível da curva era de 10 minutos, pudemos notar que a resposta à modificação do DPV ocorrem em intervalos na ordem de poucos minutos. Outro aspecto importante foi a presença de resposta de folhas individualmente a mudança de DPV e não a alterações no dossel como um todo. Isto evidencia o forte controle individual da g_s em função das condições ambientais, destacando a importância da modulação da g_s por sinais locais (isto é, não relacionados à condutância total ao longo do caminho raiz-folha e a sinalizadores químicos produzidos na raiz). Acredita-se que a regulação local em questão seja desencadeada pela diferença de potencial hídrico entre as células guarda e outras células da epiderme gerada pelo fluxo transpiratório na folha (Bunce 1997). Tal regulação individual da g_s potencialmente seria vantajosa no ambiente de savana, uma vez que porções diferentes da copa de árvores estão sujeitas a níveis de iluminação bastante distintos em dado momento do dia o que ocasiona pronunciadas diferenças de temperatura foliar e, conseqüentemente, do DPV no seu micro-ambiente.

Considerando que há uma tendência de saturação luminosa do aparato fotossintético em intensidades luminosas relativamente baixas durante a estação seca no ambiente de cerrado (densidade de fluxo de fótons de $\sim 760 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$, de acordo com dados do capítulo 1), possivelmente a redução da g_s de folhas submetidas a altas luminosidades pode representar uma estratégia de economia de água, sem resultar em pronunciada perda fotossintética, uma vez que porções do dossel menos iluminadas teriam potencial fotossintético equivalente apresentando contudo menor perda de água por transpiração.

Apesar dos padrões de resposta fotossintética à g_s apresentarem algumas diferenças entre as espécies (fig S2 do material suplementar), foi possível identificar um padrão geral de limitação estomática da fotossíntese. As taxas fotossintéticas (A_L) foram mais fortemente limitadas pela g_s na faixa de valores mais baixos desta variável (menores que $0,2 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$) (figura 2). Este padrão é compatível com o relatado para plantas mediterrâneas sob estresse hídrico moderado, nas quais a fotossíntese passa a ser limitada adicionalmente por alterações bioquímicas e pela diminuição da condutância do mesófilo em situações de baixa g_s (Galmés et al. 2007). Adicionalmente, o descompasso entre g_s e A_L em faixas de valores mais elevados de g_s indica a diminuição da eficiência do uso da água em situações de g_s mais elevados (fig. S3 do material suplementar). Nestas condições, outros fatores como a atividade da rubisco, regeneração de ribulose bis-fosfato (Farquhar & Sharkey 1982) ou modificação na condutância do mesófilo (Flexas et al. 2008) contribuiriam para a limitação da fotossíntese.

Nossos resultados indicam que se as árvores do cerrado tiverem maior acesso à água no solo do que em condições naturais da estação seca, apresentariam maiores taxas fotossintéticas e condutância estomática. Porém, mesmo na ausência de déficit hídrico no solo, a elevada demanda evaporativa da estação seca limitaria a condutância estomática e fotossíntese líquida. Desta forma, uma maior disponibilidade de água no solo resultaria em ganhos de assimilação de carbono restritos às situações de menor demanda evaporativa, como

no início da manhã e em folhas de porções menos expostas da copa. Constatamos também que, na presença de déficit hídrico do solo em níveis típicos da estação seca, a demanda evaporativa influencia de maneira menos marcante a condutância estomática. Pudemos concluir que as plantas estudadas apresentaram marcante regulação das trocas gasosas relacionadas tanto à disponibilidade de água no solo quanto à demanda evaporativa. Deste modo, a restrição da assimilação de carbono imposta pela estação seca só seria evitada em situações que propiciassem a elevação da disponibilidade de água no solo acompanhada de condições microclimáticas que diminuíssem a demanda evaporativa.

Referências

- ASSAD, E. D. 1994. Chuva nos cerrados: análise e espacialização. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa), Brasília. 423 pp.
- BUCCI, S. J., SCHOLZ, F. G., GOLDSTEIN, G., HOFFMANN, W. A., MEINZER, F. C., FRANCO, A. C., GIAMBELLUCA, T. & MIRALLES-WILHELM, F. 2008. Controls on stand transpiration and soil water utilization along a tree density gradient in a Neotropical savanna. *Agricultural and Forest Meteorology* 148:839-849.
- BUCCI, S. J., GOLDSTEIN, G., MEINZER, F. C., FRANCO, A. C., CAMPANELLO, P. & SCHOLZ, F. G. 2005. Mechanisms contributing to seasonal homeostasis of minimum leaf water potential and predawn disequilibrium between soil and plant water potential in neotropical savanna trees. *Trees* 19:296-304.
- BUNCE, J. A. 1997. Does transpiration control stomatal responses to water vapour pressure deficit? *Plant, Cell & Environment* 20:131-135.
- FARQUHAR, G. D. & SHARKEY, T. D. 1982. Stomatal conductance and photosynthesis. *Annual Review of Plant Physiology* 33:317-345.

- FELFILI, J. M. 1995. Diversity, structure and dynamics of a gallery forest in central Brazil. *Plant Ecology* 117:1-15.
- FELFILI, J. M. & SILVA JÚNIOR, M. C. 1993. A comparative study of cerrado (sensu stricto) vegetation in Central Brazil. *Journal of Tropical Ecology* 9:277-289.
- FLEXAS, J. & MEDRANO, H. 2002. Drought-inhibition of Photosynthesis in C3 Plants: Stomatal and Non-stomatal Limitations Revisited. *Annals of Botany* 89:183-189.
- FLEXAS, J., RIBAS-CARBÓ, M., DIAZ-ESPEJO, A., GALMÉS, J. & MEDRANO, H. 2008. Mesophyll conductance to CO₂: current knowledge and future prospects. *Plant, Cell & Environment* 31:602-621.
- FRANCO, A. C. 1998. Seasonal patterns of gas exchange, water relations and growth of *Roupala montana*, an evergreen savanna species. *Plant Ecology* 136:69-76.
- FRANCO, A. C. 2005. Biodiversidade de formas e funções: implicações ecofisiológicas das estratégias de utilização de água e luz em plantas lenhosas do Cerrado. Pp. 179-196 in Scariot, A., Sousa-Silva, J. C. & Felfili, J. M. (orgs.). *Cerrado: Ecologia, biodiversidade e conservação*. Ministério do Meio Ambiente, Brasília.
- FRANCO, A. 2002. Ecophysiology of woody plants. Pp. 178-197 in Oliveira, P. & Marquis, R. (orgs.). *Cerrados of Brazil: ecology and natural history of a neotropical savanna*. Columbia University Press, New York.
- GALMÉS, J., MEDRANO, H. & FLEXAS, J. 2007. Photosynthetic limitations in response to water stress and recovery in Mediterranean plants with different growth forms. *New Phytologist* 175:81-93.
- GOLDSTEIN, G., MEINZER, F. C., BUCCI, S. J., SCHOLZ, F. G., FRANCO, A. C. & HOFFMANN, W. A. 2008. Water economy of Neotropical savanna trees: six paradigms revisited. *Tree Physiology* 28:395-404.
- LAWLOR, D. W. & CORNIC, G. 2002. Photosynthetic carbon assimilation and associated

- metabolism in relation to water deficits in higher plants. *Plant, Cell & Environment* 25:275-294.
- MEINZER, F. C., GOLDSTEIN, G., FRANCO, A. C., BUSTAMANTE, M., IGLER, E., JACKSON, P., CALDAS, L. & RUNDEL, P. W. 1999. Atmospheric and hydraulic limitations on transpiration in Brazilian cerrado woody species. *Functional Ecology* 13:273-282.
- MIRANDA, A. C., MIRANDA, H. S., LLOYD, J., GRACE, J., FRANCEY, R. J., MCINTYRE, J. A., MEIR, P., RIGGAN, P., LOCKWOOD, R. & BRASS, J. 1997. Fluxes of carbon, water and energy over Brazilian cerrado: An analysis using eddy covariance and stable isotopes. *Plant, Cell & Environment* 20:315-328.
- MOREIRA, M. Z., SCHOLZ, F. G., BUCCI, S. J., STERNBERG, L. S., GOLDSTEIN, G., MEINZER, F. C. & FRANCO, A. C. 2003. Hydraulic lift in a neotropical savanna. *Functional Ecology* 17:573-581.
- OLIVEIRA-FILHO, A. T. & RATTER, J. A. 2002. Vegetation physiognomies and woody flora of the cerrado biome. Pp. 91-120 in Oliveira, P. S. & Marquis, R. J. (orgs.). *Cerrados of Brazil: ecology and natural history of a neotropical savanna*. Columbia University Press, New York.
- OLIVEIRA, R. S., BEZERRA, L., DAVIDSON, E. A., PINTO, F., KLINK, C. A., NEPSTAD, D. C. & MOREIRA, A. 2005. Deep root function in soil water dynamics in cerrado savannas of central Brazil. *Functional Ecology* 19:574-581.
- PINHEIRO, J., BATES, D., DEBROY, S., SARKAR, D. & R CORE TEAM. 2009. Mixed Effects Models and Extensions in Ecology with R. R package.
- PRADO, C. H. B. A., WENHUI, Z., ROJAS, M. H. C. & SOUZA, G. M. 2004. Seasonal leaf gas exchange and water potential in a woody cerrado species community. *Brazilian Journal of Plant Physiology* 16:7-16.

- QUINN, G. P. & KEOUGH, M. J. 2002. Experimental design and data analysis for biologists. Cambridge University Press, New York. 560 pp.
- ROSSATTO, D. R., HOFFMANN, W. A. & FRANCO, A. C. 2009. Differences in growth patterns between co-occurring forest and savanna trees affect the forest-savanna boundary. *Functional Ecology* 23:689-698.
- SILVA JÚNIOR, M. C. 2005. 100 árvores do cerrado: guia de campo. Rede de Sementes do Cerrado, Brasília.
- SILVA JÚNIOR, M. C. & PEREIRA, B. A. S. 2009. +100 árvores do cerrado - Matas de Galeria: guia de campo. Rede de Sementes do Cerrado, Brasília.
- WHITEHEAD, D. 1998. Regulation of stomatal conductance and transpiration in forest canopies. *Tree Physiology* 18:633-644.
- ZUUR, A., IENO, E., WALKER, N., SAVELIEV, A. & SMITH, G. 2009. Mixed Effects Models and Extensions in Ecology with R. Springer, New York.

Material suplementar

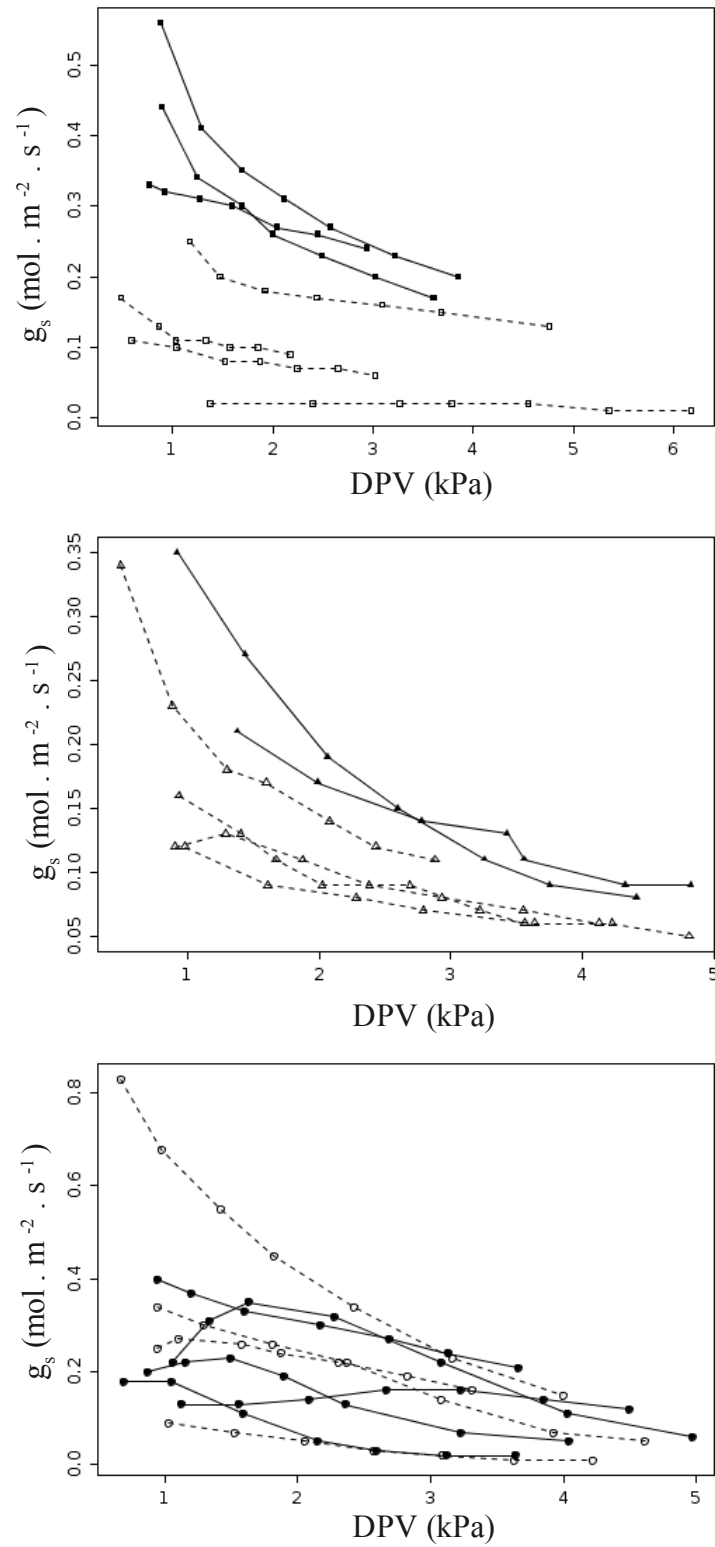


Fig. S1 – Influência do deficit de pressão de vapor folha-atmosfera (DPV) na condutância estomática (g_s). Símbolos preenchidos representam plantas situadas em parcelas irrigadas e símbolos vazios, em parcelas controle. Quadrados representam *Roupala montana* (7 indivíduos); triângulos *Styrox camporum* (6 indivíduos) e círculos *Eriotheca pubescens* (9 indivíduos). Linhas conectam medições de um mesmo indivíduo em plantas situadas nas parcelas irrigadas (linha contínua) e parcelas controle (linha tracejada).

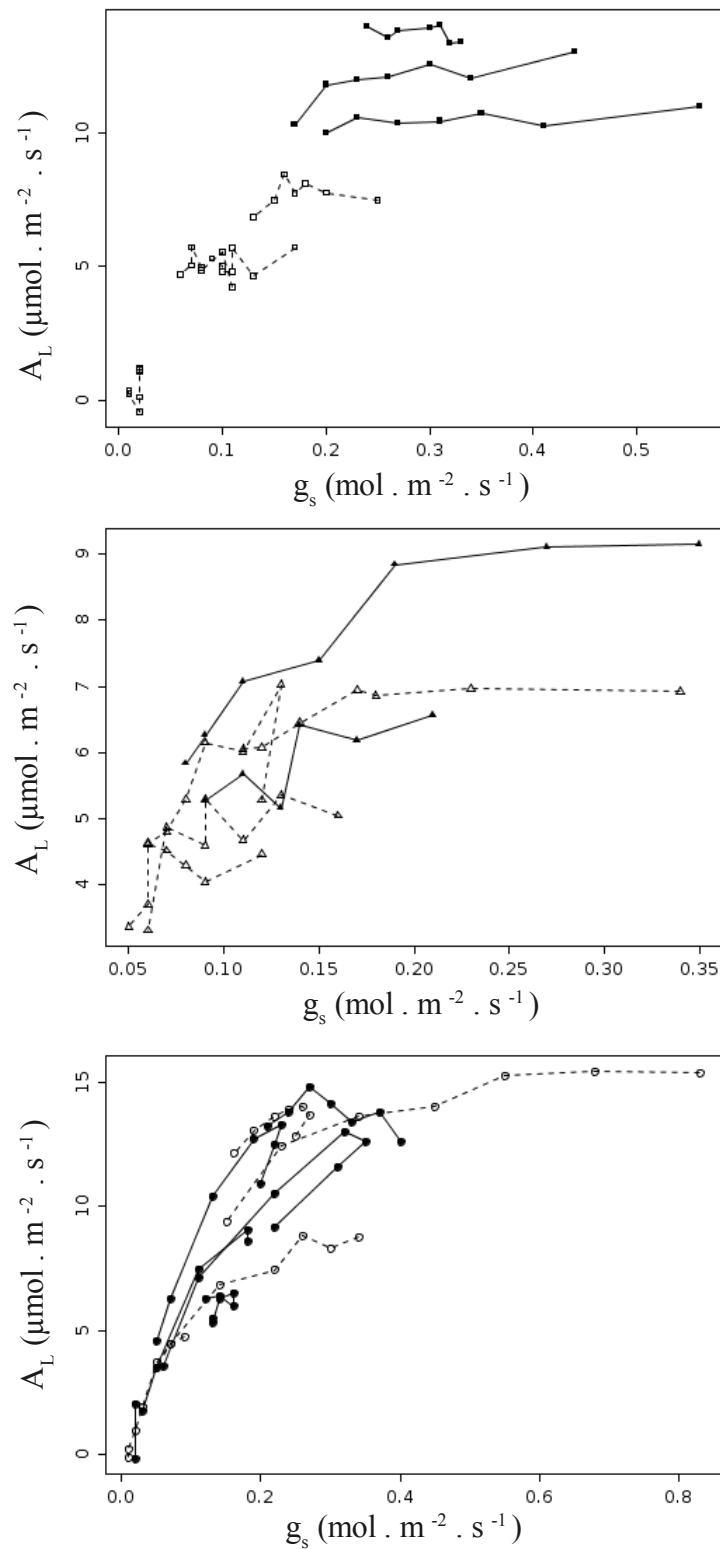


Fig. S2 – Influência da condutância estomática (g_s) na fotossíntese líquida (A_L). Símbolos preenchidos representam plantas situadas em parcelas irrigadas e símbolos vazios, em parcelas controle. Quadrados representam *Roupala montana* (7 indivíduos); triângulos *Syrax camporum* (6 indivíduos) e círculos *Eriotheca pubescens* (9 indivíduos). Linhas conectam medições de um mesmo indivíduo em plantas situadas nas parcelas irrigadas (linha contínua) e parcelas controle (linha tracejada).

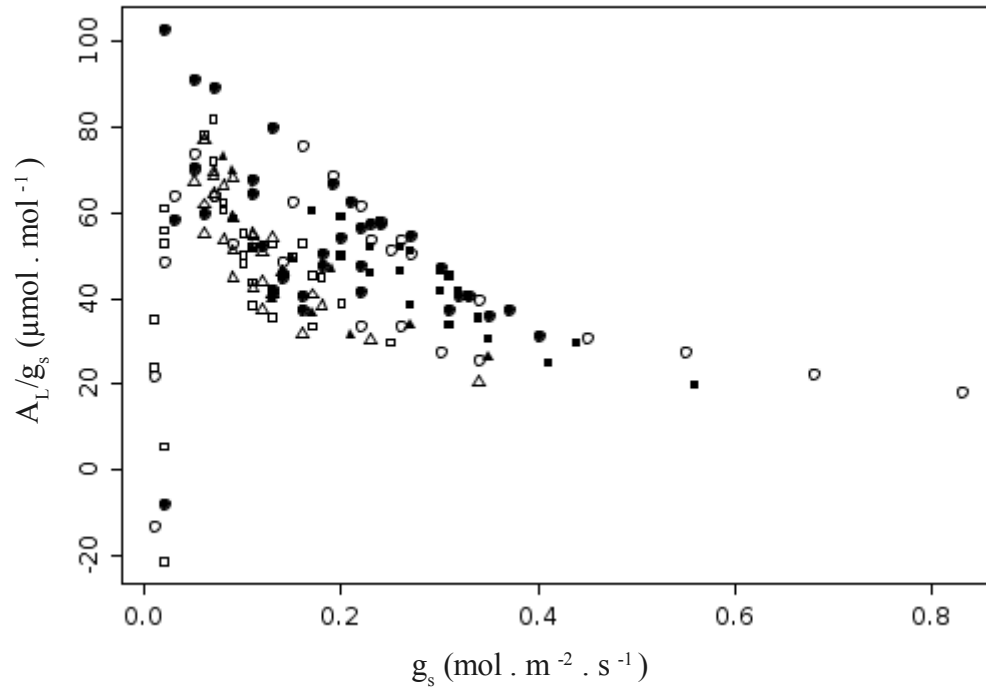


Fig. S3 – Influência da condutância estomática (g_s) na eficiência do uso da água instantânea (razão A_L/g_s). Símbolos preenchidos representam plantas situadas em parcelas irrigadas e símbolos vazios, em parcelas controle. Quadrados representam *Roupala montana* (7 indivíduos); triângulos *Styrox camporum* (6 indivíduos) e círculos *Eriotheca pubescens* (9 indivíduos).

Capítulo 3 - Identificação de tipos funcionais de árvores do cerrado e padrões de atributos relacionados aos diferentes adensamentos da vegetação

Introdução

Cerca de 22% do território brasileiro, o que corresponde a aproximadamente 2 milhões de km², originalmente era coberto pelo cerrado: um conjunto de fitofisionomias compostas predominantemente de formações savânicas (Oliveira-Filho & Ratter 2002). Estas áreas apresentam elevada riqueza de espécies arbóreas, porém com grande similaridade na sua composição ao longo de toda sua extensão, sendo as principais diferenças entre regiões dadas em termos de diferenças de abundância (Felfili et al. 2005). Entretanto, enfocando escalas espaciais finas, percebemos que o cerrado apresenta uma grande variação na estrutura de sua vegetação. Mesmo considerando somente as regiões savânicas, há uma marcante variação do grau de adensamento arbóreo e abundância da vegetação graminoide, resultando em gradientes de savanas abertas a fechadas ocorrendo em distâncias por vezes da ordem de dezenas de metros apresentando neste gradiente diferenças importantes na interação da vegetação com o ambiente (Bucci et al. 2008, Giambelluca et al. 2009). Desta forma, as savanas do cerrado formam um mosaico de vegetações com diferentes graus de adensamento em uma escala espacial fina.

Os motivos para tal variação no adensamento da vegetação, entretanto, não são claros. Apesar de fatores ambientais abióticos possivelmente apresentarem papel neste padrão em escala fina, fatores biológicos associados às características dos indivíduos estabelecidos nas diferentes porções deste mosaico de adensamentos podem ter importância fundamental na formação deste padrão. Isto porque o aumento do adensamento da vegetação apresenta

retroalimentação positiva causada pela modificação do ambiente pelas árvores estabelecidas (ex. sombreamento, alteração de propriedades do solo e microclima), favorecendo com isto o estabelecimento de novos indivíduos arbóreos (Wilson & Agnew 1992, Duarte et al. 2007). Desta forma, as diferentes espécies arbóreas teriam simultaneamente a capacidade de alterar o ambiente e serem influenciadas por este.

Uma das estratégias para analisar a interação das espécies de uma comunidade com o ambiente é o agrupamento das espécies em tipos funcionais (Lavorel & Garnier 2002). Assumindo que espécies com atributos funcionais similares interagem com o ambiente de forma similar, é possível simplificar interpretação dos dados ao considerar a ocorrência de redundância funcional dentro de grupos de espécies enfocando assim as diferenças fundamentais de estratégias. Tal simplificação se mostra essencial para estudos empregando modelos de previsão de resposta da vegetação a mudanças climáticas ou de uso da terra (Diaz & Cabido 1997, Pausas 1999, Lavorel et al. 2007). Além disto, o estudo de tipos funcionais permite extrapolar as conclusões obtidas para outras regiões com condições ambientais equivalentes, mesmo que estas se encontrem fora da área de distribuição biogeográfica das espécies estudadas (Pillar 1999, Diaz et al. 2004).

Apesar das vantagens de se analisar uma comunidade vegetal por meio de tipos funcionais, o critério utilizado na delimitação destes grupos é de importância fundamental. Vários trabalhos utilizam critérios definidos *a priori* em função do conhecimento bem consolidado de atributos com importância funcional, como exemplo, a classificação de grupos de espécies vegetais baseada na sua tolerância à sombra (Poorter et al. 2003, Niinemets 2006). Porém, é improvável que mesmo as classificações de grupos baseadas em evidências fortes, sejam relevantes para associar a resposta funcional destes grupos a uma ampla gama de fatores ambientais que não sejam diretamente relacionados. Desta forma, uma maneira conveniente de identificação de tipos funcionais relacionados a um dado fator ambiental é por

meio de análises numéricas utilizando informações de diversos atributos das espécies com potencial relevância funcional na resposta e/ou efeito da vegetação em relação aos gradientes ambientais de interesse (Pillar & Sosinski 2003).

Ao avaliar os atributos com potencial importância funcional, devemos considerar o papel destes na comunidade. A composição de uma comunidade biológica é moldada por dois processos antagônicos: filtros ambientais e interações competitivas (Keddy 1992, Keller et al. 2001). Pelo processo de filtragem ambiental, a composição de espécies seria definida pela adequação dos requerimentos de recursos e condições ambientais de cada espécie às características da região. Desta forma, seria esperado que em locais com condições ambientais similares, se estabeleçam espécies com combinações de atributos funcionais que favoreçam a aptidão neste ambiente. Por outro lado, a elevada similaridade dos atributos funcionais das espécies resultaria numa grande sobreposição do nicho destas, e com isto no aumento da competição inter-específica entre espécies com atributos similares. Com isto, os filtros ambientais moldam as comunidades de modo a apresentar espécies com atributos funcionais relativamente similares (convergência de atributos), enquanto a competição inter-específica molda as comunidades para apresentarem espécies com atributos funcionais diferenciados (divergência de atributos) (Weiher & Keddy 1995).

O objetivo do presente trabalho foi identificar tipos funcionais de árvores das savanas do cerrado relacionados à capacidade das diferentes espécies ocorrerem em ambientes com graus de adensamento arbóreo diferentes. Para isto, avaliamos quais os atributos das espécies potencialmente têm importância funcional nesta relação da vegetação arbórea com ambientes de adensamentos arbóreos variados. Verificamos também se em uma escala espacial fina (compreendendo poucos quilômetros de distância) ocorrem padrões de convergência de caracteres da vegetação arbórea acompanhando as variações do ambiente ou se predominam padrões de divergência de caracteres das espécies que coexistem na área.

Material e Métodos

Área de estudo e material vegetal

Realizamos o trabalho na Reserva Ecológica do IBGE, localizada próximo a cidade de Brasília na região centro-oeste do Brasil. A vegetação natural da região é denominada cerrado, sendo composta predominantemente por fitofisionomias savânicas (denominadas cerrado *sensu lato*). A região apresenta pluviosidade média anual de aproximadamente 1400 mm com pronunciada sazonalidade, sendo 75% da precipitação anual concentrada no período entre novembro a março.

Estabelecemos 100 parcelas de 25 m² distribuídas por sorteio de coordenadas dentro das regiões com vegetação savânica sem sinais de perturbações recentes (incêndios nos últimos 10 anos, alterações antrópicas ou presença de espécies invasoras) sendo mantida uma distância mínima de 100 metros entre as parcelas (figura 1). Esta distribuição possibilitou a amostragem de áreas savânicas com diferentes graus de adensamento arbóreo (abertura do dossel variando de 13 a 72%, figura S1 do material suplementar). Identificamos e marcamos todas as árvores e arbustos dentro das parcelas com diâmetro do tronco a 30 cm do solo igual ou maior que 5 cm.



Fig. 1 – Imagem de satélite destacando a área de estudo (Reserva Ecológica do IBGE, Brasília, DF). Polígonos com contorno branco representam áreas com vegetação savânica preservadas (sem sinais de queimadas recentes, invasões biológicas ou impactos antrópico); quadrados pequenos representam a posição das parcelas. Adaptado de imagem disponível no sistema Google Earth.

Atributos das espécies

Utilizamos caracteres de fácil obtenção que potencialmente apresentam marcante influência na capacidade de estabelecimento das espécies nos diferentes ambientes do cerrado e na forma que estas influenciam o ambiente (tabela I). Como indicadores da capacidade dispersão e estabelecimento inicial das plantas, utilizamos a forma de dispersão de diásporos e a massa das sementes, ambos os dados obtidos da literatura (fontes indicadas na tabela I).

Avaliamos a área foliar específica (SLA: razão área foliar pela massa foliar), caractere este relacionado a regulação da fotossíntese e eficiência do uso da água (Hoffmann et al. 2005, Franco et al. 2005, Flexas et al. 2008). Obtivemos estes valores por meio de coleta de folhas de um indivíduo por espécie em cada parcela e posterior medição da área foliar utilizando sistema computadorizado (WinDIAS Image Analysis System, Delta-T, Cambridge, UK) e medição da massa seca das amostras. Obtivemos da literatura o tipo fenológico foliar (sempre verde, brevidecídua, decídua), parâmetro este que em plantas do cerrado está associado com a capacidade de captação de água, eficiência fotossintética, grau de exposição das folhas e padrão de alocação de biomassa entre folhas e ramos (Franco et al. 2005, Goldstein et al. 2008, Souza et al. 2009). Adicionalmente, utilizamos em uma segunda análise, enfocando somente o subconjunto com as espécies mais frequentes, dados de fotossíntese líquida sob luz saturante (A_L) e condutância estomática (g_s) medidos na estação seca e chuvosa. Utilizamos também a razão A_L/g_s denominada eficiência instantânea intrínseca do uso da água (WUEi) para avaliar o custo da fotossíntese em termos de perda de água (Medrano et al. 2009). Tais dados foram obtidos com sistema de análise de fotossíntese (modelo LCi, ADC BioScientific, Herts, UK) utilizando luz natural ou lâmpada halogena em dias nublados com medições no horário entre 8-12 horas. Nossas medições foram complementadas por dados de outro trabalho realizado na mesma área que utilizou métodos semelhantes (Peixoto 2007).

Por último, avaliamos em todas os indivíduos utilizado no trabalho as razões área da copa/área basal e altura/área basal. Esta primeira razão alométrica representa uma simplificação do “valor de Huber” (razão área foliar/área de xilema ativo), sendo relacionado a suficiência do caule em conduzir água para as folhas (Tyree & Ewers 1991). A segunda razão alométrica indica o particionamento da biomassa das plantas entre (1) crescimento em altura, que resulta em um moderado aumento de captação de luz em ambientes savânicos mais

densos (com o custo de dificultar o transporte de água) ou (2) em crescimento em diâmetro (relacionado ao aumento da capacidade de conduzir água e de resistência estrutural). Obtivemos a área da copa por meio de medições da projeção de dois eixos perpendiculares da copa das árvores, calculando com isto a área da elipse. A área basal foi estimada por meio da medição da circunferência a 30 cm do solo sendo calculada a área assumindo forma circular. Medimos a altura considerando a distância do solo até a folha mais alta do indivíduo.

Tabela I: Atributos de espécies utilizados

Atributo	Estados possíveis	Fonte
Dispersão	Qualitativo (autocoria, anemocoria, zoocoria) convertido em 3 variáveis binárias	1,2,3,4
Massa das sementes	Classes (1: <0,01g; 2: 0,01–0,05g; 3: >0,05g)	5,6,7
Área foliar específica (SLA)	Quantitativo ($\text{cm}^2 \cdot \text{g}^{-1}$)	P
Fenologia foliar	Classes de tempo sem folha (0: sempre verde; 1: brevidecídua; 2: decídua)	1,8,9,P
Área da copa/Área basal	Quantitativo ($\text{m}^2 \cdot \text{m}^{-2}$)	P
Altura/Área basal	Quantitativo ($\text{m} \cdot \text{m}^{-2}$)	P
Fotossíntese líquida (A_L)*	Quantitativo ($\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$)	10,P
Condutância estomática (g_s)*	Quantitativo ($\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$)	10,P
Efic. uso da água (WUEi)*	Quantitativo ($\text{mol} \cdot \mu\text{mol}^{-1}$)	10,P

P: observações/medições próprias; 1: (Lenza & Klink 2006); 2: (Pirani et al. 2009); 3: (Batalha & Mantovani 2000); 4: (Oliveira & Silva 2009); 5: (Salazar-Parra 2010); 6: (Hoffmann 1996); 7: (Silva Júnior 2005); 8: (Bucci et al. 2008); 9: (Araújo & Haridasan 2007); 10: (Peixoto 2007). * Variáveis ecofisiológicas estimadas para estação seca e chuvosa sendo avaliadas somente nas 10 espécies mais frequentes.

Variáveis ambientais

Descrevemos o ambiente das parcelas por meio de variáveis que caracterizam o gradiente de fitofisionomias savânicas do cerrado. Desta forma, utilizamos variáveis que potencialmente influenciam na capacidade de estabelecimento das espécies estudadas e que simultaneamente são afetadas pelas espécies estabelecidas nas parcelas. Medimos a abertura do dossel arbóreo-arbustivo por meio de fotografias hemisféricas obtidas no centro das parcelas a aproximadamente 50 cm do chão com equipamento digital (modelo SLM4, Delta-T Devices, Cambridge, UK) e processadas com o programa Hemiview 2.1 (Delta-T Devices, Cambridge, UK). Utilizamos a soma da área basal e a média dos valores de altura de plantas com diâmetro maior ou igual a 5 cm como indicadores de porte da vegetação e biomassa de plantas lenhosas nas parcelas. Por último, estimamos a biomassa de gramíneas e o acúmulo de serapilheira de cada parcela. Coletamos estes materiais em cinco áreas dispostas regularmente

ao longo de uma transecção de 5 m, com centro posicionado sobre o centro da parcela e orientado na direção norte-sul, totalizando uma área amostrada de 0,512 m² por parcela. Caso algum dos pontos de amostragem coincidissem com uma árvore com mais de 5 cm de diâmetro ou outro obstáculo (ex. cupinzeiro, toca de tatu) realizávamos a amostragem em posição adjacente a este obstáculo. Coletamos a porção aérea de gramíneas e a serapilheira depositada sobre o solo para posterior secagem em estufa e medição da massa. Considerávamos como gramíneas, todo material de vegetação graminoide que apresentava conexão com raízes, sem avaliar contudo se o tecido estava vivo ou não.

Análise dos dados

Realizamos a delimitação de tipos funcionais empregando somente espécies com frequência igual ou maior do que 5 parcelas, de modo a reduzir o ruído nos dados associado com espécies de baixa frequência (Hirst & Jackson 2007). Associamos o padrão de ocorrência destas espécies e dos tipos funcionais delimitados às variáveis ambientais e a distribuição espacial das parcelas. Avaliamos também neste conjunto de espécies a ocorrência de padrões de divergência de caracteres (PDC) e padrão de convergência de caracteres (PCC) na formação da comunidade. Para as 10 espécies com maior frequência (igual ou superior a 15 parcelas), analisamos adicionalmente o PCC e PDC incluindo na lista de atributos das espécies os caracteres relacionados a trocas gasosas. Sumarizamos as análises realizadas na figura 2.

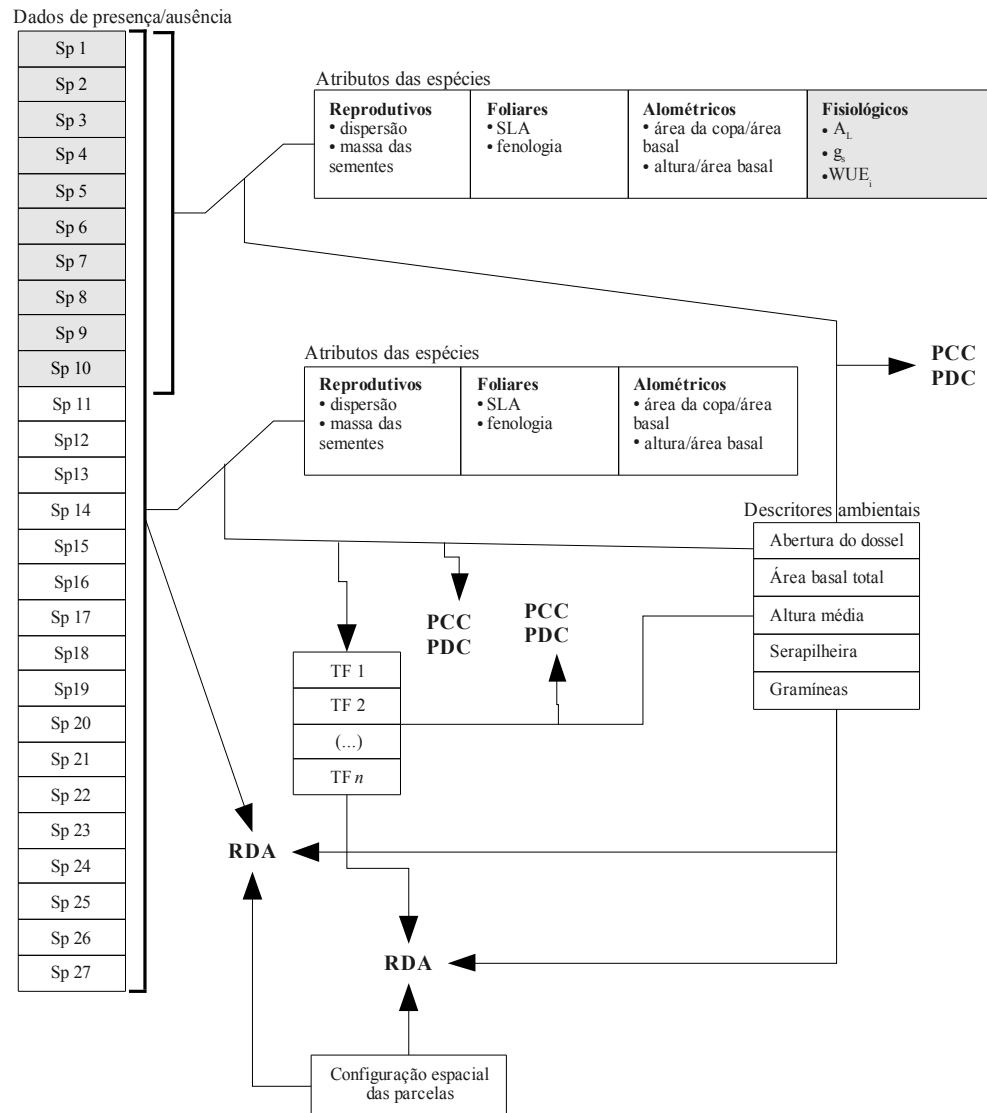


Fig. 2 – Fluxograma resumindo a análise de dados realizada. Caixas indicam os conjuntos de dados, linhas ligam os conjuntos de dados usados em uma mesma análise e setas indicam a análise realizada (PCC e PDC indicam análise para verificar ocorrência de padrão de convergência de caracteres ou padrão de divergência de caracteres; RDA: análise de redundância; SLA: área foliar específica; A_L : fotossíntese líquida; g_s : condutância estomática; WUE_i : eficiência do uso da água intrínseca; Sp1 a Sp 27: espécies utilizadas, em ordem crescente de frequência, TF 1 a TFn: tipos funcionais delimitado).

Utilizamos o método proposta por Pillar e Sosinski (2003) para delimitação de tipos funcionais e método de Pillar et al. (2009) para discriminar PCC e PDC na formação da comunidade utilizando o programa SYNCSA v2.71b (Vallerio Pillar, disponível em <http://ecoqua.ecologia.ufrgs.br>). Estes métodos utilizam dados organizados em três matrizes: de estados dos atributos das espécies (B); de desempenho das espécies em cada parcela (W); e

de variáveis ambientais em cada parcela que afetariam ou seriam afetadas pela comunidade vegetal (E). No presente trabalho, optamos por utilizar dados de presença e ausência na matriz W. Descrevemos de forma sucinta os principais passos destes algoritmos abaixo, sendo a descrição detalhada apresentada em Pillar *et al.* (2009).

Para a definição de tipos funcionais, as espécies são agregadas por meio de análise agrupamento com ligação completa em função das informações da matriz B. Foi obtido então o grau de adequação de cada espécie a cada tipo funcional (matriz U), calculado pela semelhança média com os atributos das espécies (matriz B). Pela multiplicação da matriz U transposta por W, obtêm-se a matriz X que expressa a ocorrência de tipos funcionais em cada parcela com pesos difusos (*fuzzy weights*) dado pelos caracteres de B. A convergência entre X e E é avaliada por meio de correlação entre a matriz de distâncias de X e a matriz de distâncias de E. Para definir qual o melhor grau de particionamento da comunidade em tipos funcionais (número de tipo) e quais os atributos das espécies com maior relevância funcional, são testadas pelo algoritmo todas as combinações de número de tipos funcionais e de atributos de espécies, sendo escolhida a solução com maior convergência entre X e E.

A avaliação da PCC foi feita pela multiplicação de B por W, obtendo assim uma matriz T que expressa a ocorrência dos caracteres em cada parcela. A convergência entre T e E, avaliada por correlação das matrizes de distância de T e E, representa o grau PCC na comunidade. O protocolo de avaliação de PDC utiliza basicamente dos mesmo passos do protocolo de delimitação de tipos funcionais, porém utiliza a correlação parcial XE.T para avaliar a convergência do resultado (grau de PDC). A significância destas correlações de matrizes foi avaliada por meio de testes de permutação para obtenção de modelos nulos.

Posteriormente avaliamos por um conjunto distinto de análises a relação das variáveis ambientais (matriz E) na ocorrência das espécies (matriz W) ou dos tipos funcionais delimitados na etapa anterior. Com esta análise, particionamos a proporção da variação nos

dados de ocorrência de espécies ou tipos funcionais (denominados a seguir como matriz de ocorrência) relacionada às variáveis ambientais (matriz E) ou a configuração espacial das parcelas (denominados a seguir como matriz espacial). Para tanto, empregamos a técnica de partição de variação descrita em Peres-Neto et al. (2006). Para esta análise, utilizamos a matriz de comunidade (dados de abundância das espécies em cada ponto de amostragem), matriz de dados ambientais e uma matriz descritora da estruturação espacial dos pontos de amostragem. Descrevemos esta estratégia analítica sucintamente a seguir.

A primeira etapa consistiu em obter a melhor matriz descritora da configuração espacial (denominados a seguir simplesmente como matriz espacial) para o conjunto de dados em questão, de modo que esta matriz possa ser utilizada como covariável na análise. Para isto, empregamos os Mapas de Autovalores de Moran (MEM) conforme descrito por Dray et al. (2006) testando diversas combinações de MEM gerados a partir da combinação fatorial de diferentes matrizes de ligação e funções de distância. As matrizes de ligação analisadas, utilizavam critério de distâncias considerando desde a ligação somente de parcelas com maior relação (inferido pela observação do variograma multivariado) até a ligação de todas as parcelas entre si. Em conjunto com este descritor binário da influência potencial de um ponto de amostragem no outro, utilizamos também funções que representem o decréscimo da influência que um ponto teria sobre outro com o aumento da distância. Estas funções de distância seguiram as recomendações de Dray et al. (2006), utilizando funções de pesos lineares, com concavidade para baixo ou concavidade para cima. Em cada um destes cenários, foi gerada um MEM. Posteriormente, verificamos qual das opções apresentava o maior ajuste com os dados de ocorrência de espécies ou tipos funcionais. Para esta avaliação, realizamos a transformação de Hellinger na matriz de ocorrência conforme recomendação de Legendre & Gallagher (2001) com posterior retirada de tendências lineares. Utilizamos uma extensão multivariada do Critério de Informação de Akaike para selecionar a melhor matriz espacial.

Realizamos este procedimento com o pacote SpacemakeR v0.0-5 (Stephane Dray, disponível em <http://R-Forge.R-project.org/projects/sedar>) implementado no programa R v2.11.1 (R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria).

Em posse desta matriz espacial, procedemos com a análise da relação da comunidade com ambiente e espaço físico, conforme descrito por Peres-Neto et al. (2006). Para tanto, utilizamos a matriz de ocorrência com transformação de Hellinger e matriz de variáveis ambientais com transformações logarítmicas das variáveis soma da área basal e massa de gramíneas para correção de normalidade. Realizamos Análises de Redundância (RDA) parcial com estas três matrizes seguido de testes de Monte Carlo para aferição da significância da relação. Os valores das frações das estatísticas de redundância foram ajustados para compensar o efeito do número de variáveis e amostras nesta estatística, apresentando desta forma significado análogo ao R^2 ajustado das análises de regressão múltipla (Peres-Neto et al. 2006b). Realizamos este procedimento utilizando o pacote Vegan v1.17-3 (Jari Oksanen et al.) implementado no programa R.

Resultados

Inventariamos 27 espécies com frequência igual ou maior do que cinco parcelas (tabela II), sendo que das 100 parcelas amostradas, 99 apresentaram ao menos uma destas espécies. O algoritmo de otimização identificou sete tipos funcionais (tabela III) baseados na relação de cinco atributos das espécies com as variáveis ambientais ($\rho(XE) = 0,363$; $P < 0,001$; sendo os atributos utilizados listados na tabela IV). Apresentamos, na tabela V, a descrição dos estados dos atributos em cada um dos tipos funcionais delimitados.

A figura 3a representa a associação das espécies com as variáveis ambientais, sendo

que apesar de boa parte das espécies serem associadas a condições ambientais médias (centro do gráfico) é possível identificar algumas espécies relacionadas aos extremos das condições ambientais estudadas, merecendo destaque *D. elliptica* nos ambientes mais abertos e *B. salicifolius* nos ambientes mais fechados. Conforme sumarizado na fig. 3b, a variável ambiental com maior grau de associação com os tipos funcionais foi a massa de gramíneas seguido de área basal, altura média e abertura do dossel com grau de associação similar e quantidade de serapilheira, com baixo poder de explicação (apesar de ser nítida sua correlação negativa com gramíneas). Analisando as principais associações dos tipos funcionais com o ambiente, podemos destacar a associação de TF1 com áreas com árvores de baixa altura e baixa área basal total, quantidade média de gramíneas e grande abertura do dossel. O TF7 ocorre em áreas com maior abertura do dossel e maior quantidade de gramíneas. TF2 e TF5 estão associados com áreas mais fechadas e com maior área basal total e maior altura média, porém, TF5 está associado a quantidades médias de gramíneas e TF2 a quantidades baixas. Já TF4 e TF6 estão associados a áreas com baixas quantidades de gramíneas e árvores de alturas moderadas e com moderada área basal total e dossel moderadamente fechado. Por sua vez, TF3 teria maior associação com ambientes com características ambientais médias. A avaliação das variáveis ambientais associadas com as espécies individuais por sua vez mostrou interpretação mais difícil, com grande quantidade de espécies associadas a níveis intermediários dos caracteres ambientais.

Tabela II – Espécies utilizadas no trabalho (frequência ≥ 5)

Espécie	Frequência	
	(n parcelas)	n indivíduos
<i>Ouratea hexasperma</i>	40	54
<i>Roupala montana</i>	34	44
<i>Dalbergia miscolobium</i>	28	30
<i>Blepharocalyx salicifolius</i>	22	28
<i>Myrsine guianensis</i>	19	31
<i>Davilla elliptica</i>	17	19
<i>Guapira noxia</i>	17	22
<i>Eremanthus glomerulatus</i>	16	20
<i>Qualea parviflora</i>	15	16
<i>Schefflera macrocarpa</i>	15	16
<i>Erythroxylum suberosum</i>	14	15
<i>Syrax ferrugineus</i>	14	18
<i>Byrsonima verbascifolia</i>	13	18
<i>Qualea multiflora</i>	11	12
<i>Qualea grandiflora</i>	10	15
<i>Vochysia elliptica</i>	10	11
<i>Leptolobium dasycarpum</i> *	8	9
<i>Caryocar brasiliense</i>	8	10
<i>Kielmeyera speciosa</i>	8	18
<i>Miconia burchellii</i>	8	12
<i>Miconia ferruginata</i>	8	8
<i>Sclerolobium melinonii</i> **	8	8
<i>Stryphnodendron adstringens</i>	7	9
<i>Eriotheca pubescens</i>	6	6
<i>Kielmeyera coriacea</i>	6	6
<i>Byrsonima crassa</i>	5	5
<i>Vochysia thyrsoidea</i>	5	7

Espécies frequentemente tratadas pelas seguintes sinônimas:

* *Acosmium dasycarpum* e ** *Sclerolobium paniculatum*

Tabela III – Composição de espécies dos tipos funcionais delimitados e sua frequência e abundância

	TF1	TF 2	TF 3	TF 4	TF 5	TF 6	TF 7
	<i>B. crassa</i>	<i>B. salicifolius</i>	<i>L. dasycarpum</i>	<i>E. glomerulatus</i>	<i>M. burchellii</i>	<i>C. brasiliense</i>	<i>D. elliptica</i>
	<i>B. verbascifolia</i>	<i>G. noxia</i>	<i>R. montana</i>	<i>M. guianensis</i>	<i>M. ferruginata</i>	<i>K. coriacea</i>	
	<i>D. miscolobium</i>	<i>Q. parviflora</i>			<i>S. macrocarpa</i>	<i>Q. multiflora</i>	
	<i>E. pubescens</i>					<i>S. melinonii</i>	
	<i>E. suberosum</i>						
	<i>K. speciosa</i>						
	<i>O. hexasperma</i>						
	<i>Q. grandiflora</i>						
	<i>S. adstringens</i>						
	<i>S. ferrugineus</i>						
	<i>V. elliptica</i>						
	<i>V. thyrsoidea</i>						
Freq.	90	45	39	31	28	27	17
Ind.	206	66	53	51	36	36	19

TF 1 a 7: composição dos tipos funcionais delimitados; Freq.: frequência dada pelo número de parcela contendo cada tipo funcional; Ind: abundância, dada pelo número de indivíduos das espécies componentes)

Tabela IV – Atributos das espécies ou tipos funcionais de maior relevância

Padrão observado	Dados analisados											Seca			Chuvosa		
		feno	auto	anem	zooc	seme	SLA	AC/AB	alt/AB	g _s	A _L	WUEi	g _s	A _L	WUEi		
TF	27 sp		X			X	X	X	X	NA	NA	NA	NA	NA	NA		
PCC	27 sp	X	X			X	X	X	X	NA	NA	NA	NA	NA	NA		
PDC	27 sp		X						X	NA	NA	NA	NA	NA	NA		
PDC	7 TF		X			X	X	X	X	NA	NA	NA	NA	NA	NA		
PCC	10 sp		X			X		X	X			X		X			
PDC	10 sp						X	X	X			X		X			

TF: tipos funcionais; feno: fenologia foliar; auto: autocóricico; anemo: anemocóricico; zooc: zoocóricico; seme: massa das sementes; AC: área da copa; AB: área basal; alt: altura; NA: não analisado.

Tabela V – Valores médios dos atributos nos tipos funcionais delimitados

	auto	seme	SLA	AC/AB	alt/AB
TF1	0	3.0	59.89	470.91	6.28
TF2	0	2.0	85.26	500.16	6.93
TF3	1	2.0	61.21	588.75	7.12
TF4	0	1.5	61.40	322.19	8.89
TF5	0	1.0	37.77	681.34	6.45
TF6	0	3.0	64.49	880.60	8.18
TF7	1	3.0	72.66	257.83	4.55

Apresentado somente atributos selecionados para delimitação dos tipos funcionais (TF: tipos funcionais segundo numeração da tabela III; auto: autocóricico; seme: classes de massa das sementes; AC: área da copa; AB: área basal; alt: altura)

O particionamento da variação da ocorrência das espécies indicou que a proporção de 0,023 da variação seria relacionada às variáveis ambientais medidas ($P = 0,001$; figura 3a) e 0,030 da variação estaria associada a configuração espacial das parcelas ($P < 0,001$). Repetindo esta análise com as espécies agrupadas em tipos funcionais, constatamos aumento do grau de explicação da análise. Observamos a proporção de 0,056 de variação da ocorrência dos tipos funcionais associada a variáveis ambientais ($P < 0,001$; figura 3b) e 0,144 de variação associada a configuração espacial das parcelas ($P < 0,001$). É importante destacar que as variáveis ambientais utilizadas apresentam correlação entre si, o que poderia proporcionar redução da qualidade dos modelos por introduzir multicolinearidade nas análises de regressão múltipla implícitas na RDA. Porém, a retirada de variáveis com maior correlação não aumentou o grau de explicação dos modelos nem modificou a interpretação dos resultados, motivo pelo qual optamos por apresentar somente resultados com o conjunto completo de variáveis ambientais.

Observamos a ocorrência de PDC associado a variação dos caracteres ambientais avaliados, considerando tanto as espécies separadamente ($\rho(XE.T) = 0,184$; $P = 0,027$) quanto os tipos funcionais ($\rho(XE.T) = 0,241$; $P = 0,001$) sendo também constatada PCC ($\rho(TE) = 0,281$; $P = 0,019$). Os atributos das espécies com maior associação com estes padrões estão apresentados na tabela IV. Ao avaliar o subconjunto das espécies mais frequentes na amostragem, presentes em 15 ou mais parcelas, reduzimos nossa lista de espécies para somente 10. Entretanto é interessante destacar que este subconjunto estava presente em 92 das 100 parcelas de estudo. Constatamos neste grupo de espécies mais frequentes tanto um PDC quanto PCC em função da variação ambiental (PDC: $\rho(XE.T) = 0,261$; $P = 0,002$; PCC: $\rho(TE) = 0,228$; $P = 0,002$) sendo os atributos das espécies com maior relação com estes padrões listados na tabela IV

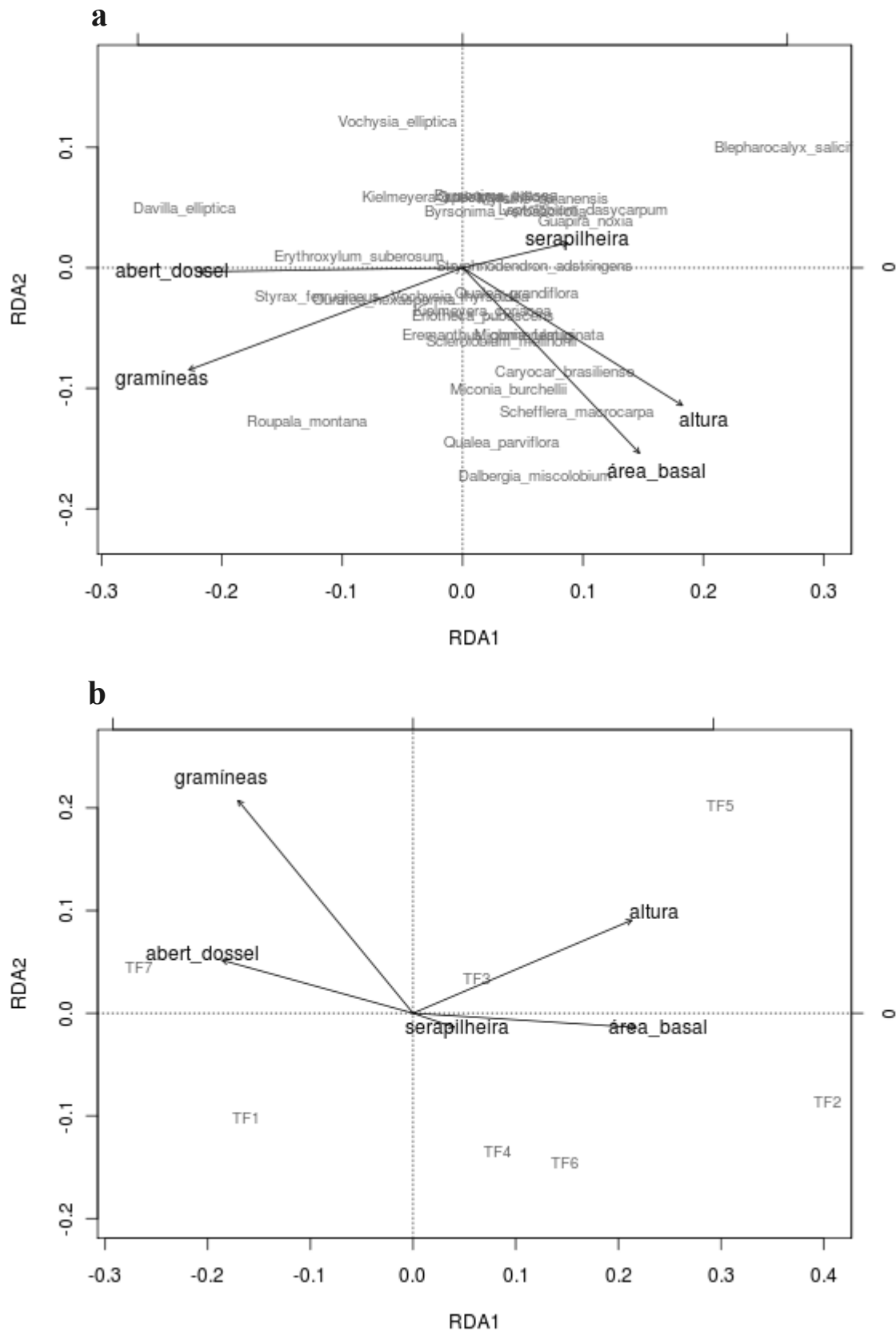


Fig. 3 – Influência de variáveis ambientais na ocorrência de espécies (a) ou de tipos funcionais (b) analisada por RDA parcial com exclusão do efeito da distribuição espacial das parcelas. TF representa tipos funcionais conforme numeração apresentada na tabela III. Nomes de espécies ou de tipos funcionais indicam “scores das espécies” e setas indicam a direção dos gradientes ambientais e o seu comprimento indica a força desta variável em cada uma das dimensões da ordenação (ponta das setas indicam a correlação entre cada variável ambiental e a combinação linear das variáveis; origem das setas indica a média ponderada da variável ambiental).

Discussão

Nossos dados demonstraram a existência sete tipos funcionais distintos no conjunto de espécies estudadas. É interessante destacar que dentre os atributos analisados, somente a fenologia foliar não demonstrou relevância na delimitação dos tipos funcionais (ao considerar os três atributos binários referentes a forma de dispersão de diásporos como correspondendo de fato a um atributo categórico). Esta não inclusão da fenologia foliar na lista de atributos com importância para distinguir tipos funcionais chama a atenção uma vez que é conhecida a relação da fenologia foliar com profundidade das raízes, concentração de nutrientes foliares, e na capacidade fotossintética, sendo por isto frequentemente considerado um atributo com grande importância funcional em plantas do cerrado (Franco et al. 2005, Araújo & Haridasan 2007, Carvalho et al. 2007, Goldstein et al. 2008). Entretanto, é importante destacar que este resultado é relacionado com o conjunto de variáveis ambientais estudado, e com isto, em diferentes contextos, a fenologia foliar pode ter importância funcional.

A comparação dos gráficos de RDA gerados com dados de espécies e de tipos funcionais nos permite avaliar de uma forma independente a qualidade da delimitação de tipos funcionais. Isto porque, uma vez que por definição as espécies componentes de cada um mesmo tipo funcional interagem com o ambiente de forma semelhante, há de se esperar que haja a concordância entre os resultados da RDA com dados agrupados em tipos funcionais e o padrão observado na RDA com dados das espécies em separado. Obtivemos nesta comparação razoável concordância dos resultados, apesar de observarmos algumas divergências. A mais marcante é a associação entre gramíneas e *R. montana* e *Q. parviflora* que é diferenciada quando se observa as espécies em separado e quando se observa a resposta de seus tipos funcionais. Na análise por espécie, estas teriam maior associação com áreas com grande quantidade de gramíneas, o que não seria confirmado pelo padrão atribuído ao TF2 e

TF3. Porém, o baixo grau de variação explicada por variáveis ambientais na RDA das espécies (0,023) pode ser responsável por tais divergências nos resultados.

O principal padrão de resposta dos tipos funcionais é sintetizado pelo primeiro eixo de ordenação da figura 3b. Neste está definida a maior parte da variação das variáveis ambientais, definindo um gradiente de adensamento da vegetação savânica do cerrado. Em um dos extremos, temos os dois tipos funcionais mais relacionados com ambientes abertos (TF7, seguido de TF1). Dentre os atributos destes tipos funcionais, podemos destacar que ambos apresentam sementes de massa elevada, o que poderia ser uma compensação à maior dificuldade de estabelecimento que plantas arbóreas do cerrado apresentam em locais abertos, sendo o maior estoque de nutrientes de sementes grandes uma forma de compensar a maior severidade deste ambiente (Hoffmann 1996). O TF1 (grupo mais frequente) apresenta dispersão não autocórica e valores em faixas intermediários para os demais parâmetros. Por outro lado, TF7 (composto somente por *D. elliptica*) apresenta dispersão autocórica, valores altos de SLA e da razão altura/área basal e baixos valores da razão área da copa/área basal. Estes atributos estariam associados com alta eficiência fotossintética em folhas de baixo custo de produção, a um grande investimento proporcionalmente elevado em tecidos de condução de água e baixo investimento em crescimento vertical, características estas compatíveis com o estabelecimento em regiões com vegetação pouco adensada (Franco et al. 2005). No outro extremo do gradiente, observamos o TF5 e TF2 em áreas mais adensadas. O TF5, que foi associado a área com abertura de dossel e abundância de gramíneas um pouco superior, foi caracterizado por espécies com sementes leves, baixa SLA e razão área da copa/área basal relativamente elevada. Já o TF2, associado às áreas mais adensadas, apresentou atributos em faixas intermediários, com exceção de SLA, que apresentou valor elevado, indicando potencialmente elevada eficiência fotossintética e folhas de baixo custo de produção (Franco et al. 2005). Os demais tipos funcionais (TF3, TF4, TF6) se associaram a ambientes com

características ambientais intermediárias, sendo TF3 o grupo mais associado a condições ambientais médias sendo caracterizado pela dispersão autocórica e demais atributos em estados intermediários.

É importante destacar contudo que, apesar do baixo grau de explicação da variação da comunidade associada a variáveis ambientais em ambas as RDA, tal associação foi considerada maior do que esperada ao acaso. Até momento da escrita deste trabalho, desconhecíamos a existência de outros trabalho avaliando comunidades de árvores com metodologia de partição de variação de RDA proposta por Peres-Neto et al. (2006) o que inviabiliza a comparação da grandeza relativa destes resultados. É importante destacar que parte do motivo deste baixo grau de explicação da variação pode ser a forma de amostragem utilizada. Isto porque o tamanho das parcelas influencia o grau de variação explicada por técnicas de ordenação com gradientes diretos, sendo que o uso de parcelas pequenas, ocasiona resultados com menores graus de variação explicada (discussão deste tópico no anexo III). Porém, considerando o interesse do presente trabalho de estudar variações ambientais que se processam em escala espacial da ordem de dezenas de metros, não seria possível o emprego de parcelas de tamanho muito superior ao utilizado (5x5 m). A análise baseada em dados agrupados por tipos funcionais pode ser uma alternativa viável para reduzir o ruído nos dados obtidos em amostragem empregando parcelas pequenas. Com isto, seria possível uma melhor avaliação do efeito de variáveis ambientais em escala espacial fina, sendo neste caso a avaliação da redundância funcional das espécies realizada durante a delimitação dos tipos funcionais e não baseada nos resultados da ordenação com gradientes diretos.

O elevado grau de associação da comunidade com o espaço físico revela que fatores históricos da comunidade, como eventos de incêndio ou a colonização e dispersão das espécies na área podem ter grande contribuição na distribuição das espécies e de tipos funcionais no ambiente (Peres-Neto 2006). Porém, não se pode descartar o possível papel que

variáveis ambientais estruturadas espacialmente que não foram avaliadas neste estudo poderiam exercer na modelagem da comunidade. Variáveis ambientais, como propriedades do solo, profundidade do lençol freático ou altitude, merecem investigação em futuros trabalhos.

A formação da comunidade de árvores analisada demonstrou presença tanto de PCC quanto PDC. Contrariando as previsões do PDC predominar em escalas espaciais finas (Weiher & Keddy 1995), houve contribuição de ambos os padrões na formação da comunidade, sendo detectado predomínio do PCC para o conjunto de atributos e variáveis ambientais analisados. Isto indica que, mesmo na escala espacial fina enfocada neste trabalho, há forte influência de filtros ambientais na formação da comunidade, sendo que todos os atributos analisados apresentavam PCC (considerando forma de dispersão como um único atributo qualitativo composto por três estados). Vale notar que, utilizando técnicas analíticas diferentes (e com isto com premissas diferentes), Silva e Batalha (2010) também identificaram a ocorrência de convergência de caracteres e divergência de caracteres em escala espacial fina em uma comunidade de árvores de uma área savânica do cerrado. O baixo valor de convergência do PDC observado ao analisar as espécies em separado, provavelmente foi relacionado ao ruído nos dados associado a amostragens com parcelas pequenas. Quando avaliamos o PDC tomando como base os sete tipos funcionais formados, observamos um padrão de maior convergência e que estaria associado a cinco dos seis atributos relacionados ao PCC (tabela IV). Como a maior parte dos atributos analisados é componente de ambos os padrões, a torna-se difícil interpretar a associação entre atributos da vegetação e a variação do ambiente.

Uma forma indireta de verificar estes padrões é por meio da interpretação da ocorrência dos tipos funcionais ao longo do gradiente de adensamento, expresso na figura 3b. Por meio da projeção dos tipos funcionais nas setas que representam a variação ambiental, notamos que TF3, TF4 e TF6 ocorrem em áreas com valores de alturas médias próximos.

Comparando os atributos destes tipos funcionais, percebemos valores de SLA em uma mesma faixa e valores das razões área da copa/área basal e altura/área basal diferenciados entre os grupos, o que pode indicar, respectivamente, PCC e PDC destes atributos nesta faixa de valores altura média. Analisando a variação da quantidade de gramíneas, observamos TF1 e TF3 ocorrendo na mesma faixa de valores desta variável ambiental. Assim como no exemplo anterior, observamos a convergência dos valores de SLA e divergências das razões alométricas associadas ao porte das plantas. Já analisando a variação de abertura do dossel, observamos TF5 e TF6 na mesma faixa de valores desta variável ambiental, sendo neste caso observada divergência de todos os atributos, exceto forma de dispersão.

Analisando o subconjunto de espécies mais frequentes (10 mais frequentes), notamos um conjunto diferente de atributos associados ao PCC (tabela IV), sendo que merece destaque a WUE_i na estação seca e A_L na estação chuvosa. Isto indica que o grau de adensamento arbóreo/arbustivo filtra as espécies com capacidade de se estabelecer e crescer em cada localidade em função de suas características fotossintéticas e de regulação estomática, mesmo considerando a faixa relativamente pequena de variação de adensamento da vegetação nas savanas do cerrado (isto é, variação muito menor do que observada por exemplo na transição entre mata de galeria e savana). Destacamos também o PDC referente a g_s das duas estações e a WUE_i na estação seca. A ocorrência de valores contrastantes destes atributos ecofisiológicos em ambientes com adensamentos similares indica a competição inter-específica por recursos como água e/ou luz (resultando na ocorrência de plantas com maior e menor acesso à água e/ou plantas com maior e menor sombreamento no mesmo local).

Nossos resultados nos permitiram delimitar sete tipos funcionais nas savanas do cerrado relacionados à variação do adensamento lenhoso presente neste ambiente. Detectamos ocorrência tanto de padrões de convergência de caracteres (PCC) quanto de padrões de divergência de caracteres (PDC) nesta comunidade. Isto indica que mesmo em escalas

espaciais pequenas (compreendendo poucos quilômetros de distância), filtros ambientais e competição inter-específica modelam a comunidade. Em função destes resultados, destacamos a possibilidade de aprimoramentos nos estudos que enfocam a identificação de estratégias adaptativas da vegetação na sua interação com o ambiente das savanas do cerrado. Dada a existência de redundância funcional de algumas espécies em relação a um dado conjunto de características ambientais, tal tipo de investigação pode ser otimizado ao focar espécies pertencentes a diferentes tipos funcionais. Adicionalmente, a existência de PDC dificulta a identificação de um padrão único de resposta da comunidade às condições ambientais, sendo necessária portanto a execução experimentos e análises que considerem a possibilidade de ocorrência de múltiplas estratégias adaptativas ao fator ambiental de interesse.

Referências

- ARAÚJO, J. F. & HARIDASAN, M. 2007. Relação entre deciduidade e concentrações foliares de nutrientes em espécies lenhosas do cerrado. *Revista Brasileira de Botânica* 30:533-542.
- BATALHA, M. A. & MANTOVANI, W. 2000. Reproductive phenological patterns of cerrado plant species at the Pé-de-Gigante Reserve (Santa Rita do Passa Quatro, SP, Brazil): a comparison between the herbaceous and woody floras. *Revista Brasileira de Biologia* 60:129–145.
- BUCCI, S. J., SCHOLZ, F. G., GOLDSTEIN, G., HOFFMANN, W. A., MEINZER, F. C., FRANCO, A. C., GIAMBELLUCA, T. & MIRALLES-WILHELM, F. 2008. Controls on stand transpiration and soil water utilization along a tree density gradient in a Neotropical Savanna. *Agricultural and Forest Meteorology* 148:839–849.
- CARVALHO, A. P. F., BUSTAMANTE, M. M., KOZOVITS, A. R. & ASNER, G. P. 2007. Variações sazonais nas concentrações de pigmentos e nutrientes em folhas de espécies

- de cerrado com diferentes estratégias fenológicas. *Revista Brasileira de Botânica* 30:19-27.
- DIAZ, S. & CABIDO, M. 1997. Plant functional types and ecosystem function in relation to global change. *Journal of Vegetation Science* 8:463-474.
- DIAZ, S., HODGSON, J. G., THOMPSON, K., CABIDO, M., CORNELISSEN, J. H. C., JALILI, A., MONTSERRAT-MARTÍ, G., GRIME, J. P., ZARRINKAMAR, F., ASRI, Y., BAND, S. R., BASCONCELO, S., CASTRO-DÍEZ, P., FUNES, G., HAMZEHEE, B., KHOSHNEVI, M., PÉREZ-HARGUINDEGUY, N., PÉREZ-RONTOMÉ, M. C., SHIRVANY, F. A., VENDRAMINI, F., YAZDANI, S., ABBAS-AZIMI, R., BOGAARD, A., BOUSTANI, S., CHARLES, M., DEGHAN, M., TORRES-ESPUNY, L., FALCZUK, V., GUERRERO-CAMPO, J., HYND, A., JONES, G., KOWSARY, E., KAZEMI-SAEED, F., MAESTRO-MARTÍNEZ, M., ROMO-DÍEZ, A., SHAW, S., SIAVASH, B., VILLAR-SALVADOR, P. & ZAK, M. R. 2004. The plant traits that drive ecosystems: Evidence from three continents. *Journal of Vegetation Science* 15:295-304.
- DRAY, S., LEGENDRE, P. & PERES-NETO, P. 2006. Spatial modelling: a comprehensive framework for principal coordinate analysis of neighbour matrices (PCNM). *Ecological Modelling* 196:483-493.
- DUARTE, L. D. S., CARLUCCI, M. B., HARTZ, S. M. & PILLAR, V. D. 2007. Plant dispersal strategies and the colonization of Araucaria forest patches in a grassland-forest mosaic. *Journal of Vegetation Science* 18:847-858.
- FELFILI, J., SOUSA-SILVA, J. & SCARIOT, A. 2005. Biodiversidade, ecologia e conservação do Cerrado: avanços no conhecimento. Pp. 25-44 in Scariot, A., Sousa-Silva, J. & Felfili, J. (orgs.). *Cerrado: Ecologia, biodiversidade e conservação*. Ministério do Meio Ambiente, Brasília.

- FLEXAS, J., RIBAS-CARBÓ, M., DIAZ-ESPEJO, A., GALMÉS, J. & MEDRANO, H. 2008. Mesophyll conductance to CO₂: current knowledge and future prospects. *Plant, Cell & Environment* 31:602-621.
- FRANCO, A., BUSTAMANTE, M., CALDAS, L., GOLDSTEIN, G., MEINZER, F., KOZOVITS, A., RUNDEL, P. & CORADIN, V. 2005. Leaf functional traits of Neotropical savanna trees in relation to seasonal water deficit. *Trees* 19:326-335.
- GIAMBELLUCA, T. W., SCHOLZ, F. G., BUCCI, S. J., MEINZER, F. C., GOLDSTEIN, G., HOFFMANN, W. A., FRANCO, A. C. & BUCHERT, M. P. 2009. Evapotranspiration and energy balance of Brazilian savannas with contrasting tree density. *Agricultural and Forest Meteorology* 149:1365-1376.
- GOLDSTEIN, G., MEINZER, F. C., BUCCI, S. J., SCHOLZ, F. G., FRANCO, A. C. & HOFFMANN, W. A. 2008. Water economy of Neotropical savanna trees: six paradigms revisited. *Tree Physiology* 28:395-404.
- HIRST, C. N. & JACKSON, D. A. 2007. Reconstructing community relationships: the impact of sampling error, ordination approach, and gradient length. *Diversity & Distributions* 13:361-371.
- HOFFMANN, W. A. 1996. The effects of fire and cover on seedling establishment in a neotropical savanna. *Journal of Ecology* 84:383-393.
- HOFFMANN, W. A., FRANCO, A. C., MOREIRA, M. Z. & HARIDASAN, M. 2005. Specific leaf area explains differences in leaf traits between congeneric savanna and forest trees. *Functional Ecology* 19:932-940.
- KEDDY, P. A. 1992. Assembly and response rules: two goals for predictive community ecology. *Journal of Vegetation Science* 3:157-164.
- KELLER, M., PALACE, M. & HURTT, G. 2001. Biomass estimation in the Tapajos National Forest, Brazil - Examination of sampling and allometric uncertainties. *Forest Ecology*

- and Management* 154:371-382.
- LAVOREL, S. & GARNIER, E. 2002. Predicting changes in community composition and ecosystem functioning from plant traits: revisiting the Holy Grail. *Functional Ecology* 16:545-556.
- LAVOREL, S., DÍAZ, S., CORNELISSEN, J., GARNIER, E., HARRISON, S., MCINTYRE, S., PAUSAS, J., PÉREZ-HARGUINDEGUY, N., ROUMET, C. & URCELAY, C. 2007. Plant functional types: are we getting any closer to the holy grail? Pp. 149-164 in Canadell, J. G., Pataki, D. E. & Pitelka, L. F. (orgs.). *Terrestrial ecosystems in a changing world*. Springer-Verlag, Berlin.
- LEGENDRE, P. & GALLAGHER, E. 2001. Ecologically meaningful transformations for ordination of species data. *Oecologia* 129:271-280.
- LENZA, E. & KLINK, C. A. 2006. Comportamento fenológico de espécies lenhosas em um cerrado sentido restrito de Brasília, DF. *Revista Brasileira de Botânica* 29:627-638.
- MEDRANO, H., FLEXAS, J. & GALMÉS, J. 2009. Variability in water use efficiency at the leaf level among Mediterranean plants with different growth forms. *Plant and Soil* 317:17-29.
- NIINEMETS, Ü. 2006. The controversy over traits conferring shade-tolerance in trees: ontogenetic changes revisited. *Journal of Ecology* 94:464-470.
- OLIVEIRA-FILHO, A. T. & RATTER, J. A. 2002. Vegetation physiognomies and woody flora of the cerrado biome. Pp. 91-120 in Oliveira, P. S. & Marquis, R. J. (orgs.). *Cerrados of Brazil: ecology and natural history of a neotropical savanna*. Columbia University Press, New York.
- OLIVEIRA, P. E. & SILVA, J. C. 2009. Reproductive biology of two species of *Kielmeyera* (Guttiferae) in the cerrados of Central Brazil. *Journal of Tropical Ecology* 9:67-79.
- PAUSAS, J. G. 1999. Response of plant functional types to changes in the fire regime in

- mediterranean ecosystems: a simulation approach. *Journal of Vegetation Science* 10:717-722.
- PEIXOTO, M. M. 2007. Variações sazonais no metabolismo de carbono e relações hídricas em espécies lenhosas do Cerrado de diferentes grupos funcionais. Dissertação de mestrado, Universidade de Brasília, Brasília, Brasil. 46 pp.
- PERES-NETO, P. R. 2006. A unified strategy for estimating and controlling spatial, temporal and phylogenetic autocorrelation in ecological models. *Oecologia Brasiliensis* 10:105-119.
- PERES-NETO, P., LEGENDRE, P., DRAY, S. & BORCARD, D. 2006. Variation partitioning of species data matrices: estimation and comparison of fractions. *Ecology* 87:2614-2625.
- PILLAR, V. D., DUARTE, L. D. S., SOSINSKI, E. E. & JONER, F. 2009. Discriminating trait-convergence and trait-divergence assembly patterns in ecological community gradients. *Journal of Vegetation Science* 20:334-348.
- PILLAR, V. D. 1999. On the identification of optimal plant functional types. *Journal of Vegetation Science* 10:631-640.
- PILLAR, V. & SOSINSKI, E. 2003. An improved method for searching plant functional types by numerical analysis. *Journal of Vegetation Science* 14:323-332.
- PIRANI, F. R., SANCHEZ, M. & PEDRONI, F. 2009. Phenology of a tree community in a cerrado sensu stricto, Barra do Garças, Mato Grosso State, Brasil. *Acta Botanica Brasilica* 23:1096-1110.
- POORTER, L., BONGERS, F., STERCK, F. J. & WÖLL, H. 2003. Architecture of 53 rain forest tree species differing in adult stature and shade tolerance. *Ecology* 84:602-608.
- SALAZAR-PARRA, A. 2010. Seed dynamics and seedling establishment of woody species in the tropical savannas of Central Brazil (Cerrado). PhD thesis, University of Miami,

- Coral Gables, USA. 180 pp.
- SILVA, I. A. & BATALHA, M. A. 2010. Woody plant species co-occurrence in Brazilian savannas under different fire frequencies. *Acta Oecologica* 36:85-91.
- SILVA JÚNIOR, M. C. 2005. 100 árvores do cerrado: guia de campo. Rede de Sementes do Cerrado, Brasília.
- SOUZA, J. P., PRADO, C. H. B. A., ALBINO, A. L. S. & DAMASCOS, M. A. 2009. Shoot-foilage relationships in deciduous, semideciduous, and evergreen cerrado tree species. *Brazilian Journal of Plant Physiology* 21:76-86.
- TYREE, M. T. & EWERS, F. W. 1991. The hydraulic architecture of trees and other woody plants. *New Phytologist* 119:345-360.
- WEIHER, E. & KEDDY, P. A. 1995. Assembly rules, null models, and trait dispersion: new questions from old patterns. *Oikos* 74:159-164.
- WILSON, J. B. & AGNEW, A. D. 1992. Positive-feedback switches in plant communities. *Advances in Ecological Research* 23:263-336.

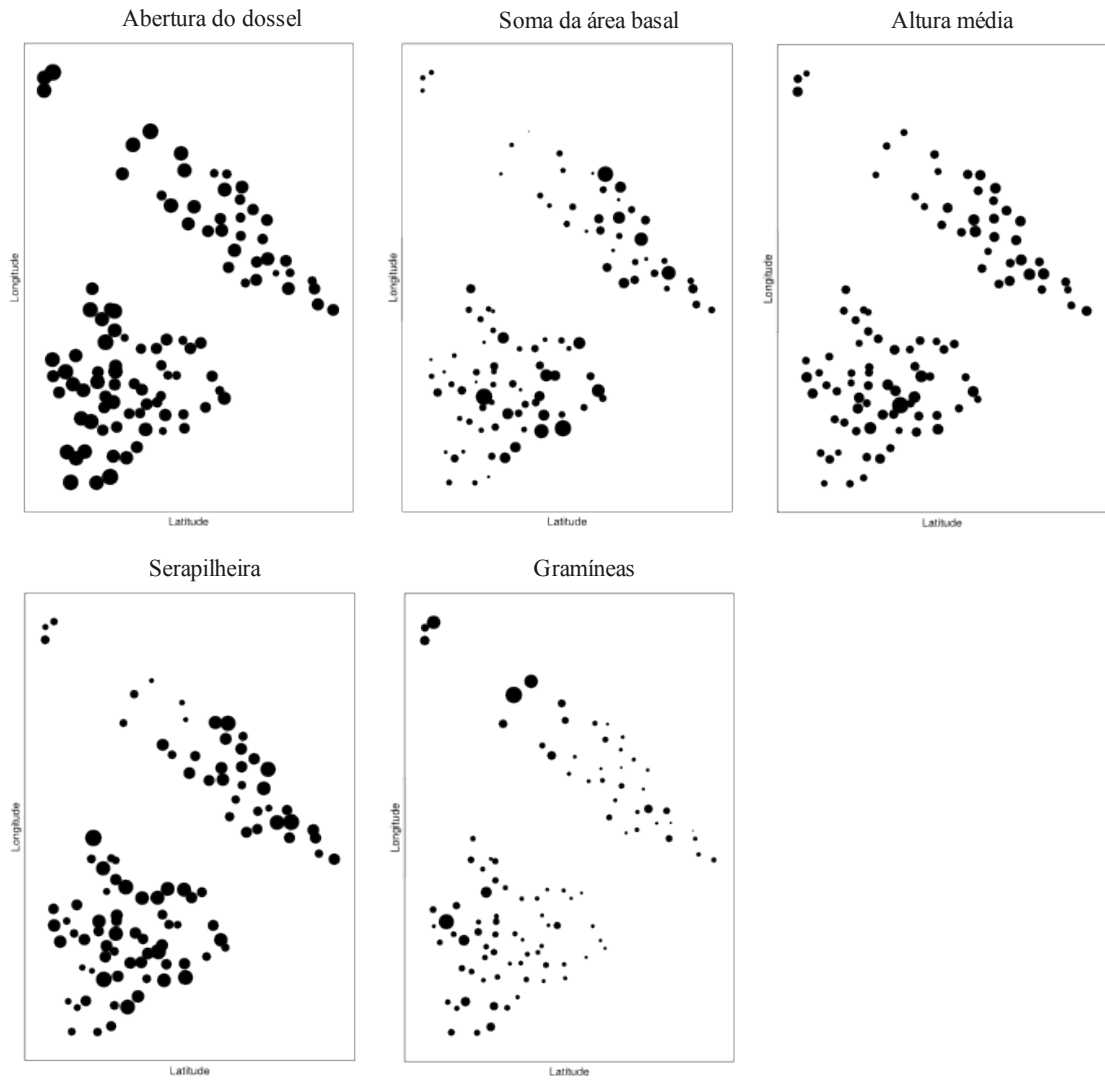
Material Suplementar

Fig. S1 – Distribuição espacial das parcelas com a representação de suas variáveis ambientais (valores proporcionais ao tamanho dos círculos).

Considerações finais

Os resultados obtidos estão de acordo com a premissa de uma forte limitação da vegetação lenhosa nas savanas do cerrado pelo ambiente. Uma evidência disto é a tendência de que indivíduos de espécies originárias de ambientes florestais, quando estabelecidos na savana, apresentem repostas fotossintéticas equivalentes às plantas típicas de savana. Tal constatação merece destaque ao considerar que as plantas típicas de floresta evoluíram em ambientes marcadamente diferentes das savanas em termos de luminosidade e disponibilidade hídrica. Tal convergência de atributos ecofisiológicos nas plantas que se estabelecem nas savanas do cerrado possivelmente seria causada por pressões seletivas do ambiente, em termos de seleção natural ou de filtragem ambiental.

A sazonalidade do clima da região influenciou diversos aspectos da fisiologia das plantas estudadas. Tal padrão contraria a ideia de que as árvores do cerrado não seriam afetadas pela seca em função de um sistema radicular profundo, que teria a capacidade de acessar reservas abundantes de água ao longo de todo o ano. Nossos dados demonstraram que diversos aspectos das trocas gasosas variaram ao longo do ano, sendo que merece destaque a redução na estação seca da condutância estomática, taxa fotossintética máxima e intensidade de saturação luminosa da fotossíntese. Constatamos também que os efeitos da seca não são relacionados exclusivamente à diminuição da disponibilidade de água no solo. A redução da umidade do ar aliada a temperaturas ambientais relativamente altas resultam em elevadas demandas evaporativas. Nestas condições, constatamos que ocorre forte limitação estomática da fotossíntese, mesmo em locais com grande disponibilidade de água no solo. Com isto, fica claro que o acesso à água no solo, propiciado por um sistema radicular profundo ou pela presença de lençol freático superficial, não seria suficiente para aumentar consideravelmente a assimilação de carbono das árvores do cerrado. Características do micro ambiente das plantas,

potencialmente, teriam papel fundamental nas trocas gasosas, uma vez que diferenças do adensamento da vegetação arbórea e das características de seu dossel arbóreo podem influenciar a temperatura e evapotranspiração, modificando assim a demanda evaporativa do local.

Ao estudar a comunidade de árvores da savana ao longo de ambientes com adensamentos arbóreos variados, constatamos que existe uma tendência de grupos de espécies distintas se estabelecerem em porções do ambiente com diferentes adensamentos arbóreos. Com base nestes dados e na descrição de atributos de cada espécie, elaboramos uma separação das espécies da área em sete grupos funcionais. Apesar de tal delimitação não representar todos os aspectos funcionais das espécies, indica a capacidade dos grupos de espécies de se estabelecerem em ambientes mais ou menos adensados e sua contribuição nesse adensamento. Verificamos assim que a heterogeneidade espacial do ambiente, em termos de adensamento arbóreo, representa um filtro ambiental que seleciona espécies em função de seus atributos. Vale notar que os filtros ambientais atuaram nas escalas espaciais relativamente pequenas (poucos quilômetros de distância) enfocadas no presente trabalho, apesar destes serem considerados mais importantes na seleção de espécies em escalas espaciais biogeográficas. Paralelamente, detectamos também um padrão de divergência de caracteres nas espécies que coexistem na mesma área, provavelmente em função de competição inter-específica por recursos.

Anexo I – Automatização do Sistema de Análise Fotossíntese – LI6400

O sistema de medição de fotossíntese LI6400 (LI-COR, Lincoln, USA) apresenta grande flexibilidade de operação, permitindo o uso controlado diretamente pelo usuário ou a sua operação automatizada. As curvas de luz e curvas de CO₂ podem ser automatizadas por meio dos programas *LightCurve* e *A-CiCurve* incluídas no aparelho. Porém, estes programas implementam um algoritmo de controle muito simples que poder resultar em uma coletada de dados com qualidade inferior da obtida por operação manual do aparelho por usuário experiente.

Uma das principais limitações dos programas originais é o critério de estabilidade utilizado para realização do registro de dados e início do próximo passo. Nas versões destes programas desenvolvidos para aparelhos mais antigos (com sistema operacional OPEN 4 ou inferior), o critério de estabilidade é o coeficiente de variação total (leva em conta flutuação nas leituras de fluxo, concentração de água e CO₂). Com isto, se o valor do coeficiente de variação total atingir valores inferiores ao estabelecido pelo usuário, realiza-se o registro de dados. Porém, durante medições com grande instabilidade, é frequente a ocorrência de grandes flutuações nos valores do coeficiente de variação total. Isto pode ocasionar instantes nos quais o valor de coeficiente de variação total é transitoriamente baixo o que o programa interpreta como indicativo de estabilidade suficiente para realizar o registro dos dados e passar para o próximo passo.

Este problema foi contornado em aparelhos produzidos a partir de 2002 que utilizam sistema operacional OPEN 5 e empregam novos critérios para avaliar a estabilidade das medições. Porém, tais melhorias não podem ser implementadas em equipamentos mais antigos sem a substituição da placa principal de circuitos do aparelho.

Em função disto, realizei alterações nos programas originais visando minimizar a

variação nos dados coletados associada a flutuação nas medições sem a necessidade de modificações do *hardware* do equipamento. Para isto, adicionei a avaliação de outros critérios de estabilidade e a condição de que estes permaneçam em determinada faixa de valores por um um tempo mínimo antes de iniciar o registro das medições. Para curvas de luz, adicionei a avaliação de coeficientes angulares do ΔCO_2 e $\Delta\text{H}_2\text{O}$ ¹ como indicadores extra de estabilidade. Para curvas de CO_2 , adicionei a avaliação do coeficiente de variação dos valores de concentração de CO_2 na câmara. É importante destacar que modificações, como as realizadas no programa de curvas de CO_2 , são essenciais em protocolos com curvas rápidas como o sugerido por Long e Bernacchi (2003)², uma vez que períodos de estabilização prolongados em cada nível de CO_2 ocasionariam erros advindos da aclimação do aparato fotossintético a níveis de CO_2 alterados.

Outra limitação dos programas originais é a realização de só um registro ao fim de cada etapa das curvas. Isto pode comprometer a qualidade dos dados obtidos em medições nas quais há uma flutuação considerável nas leituras. Nos programas modificados, há a opção de realizar várias medições ao final de cada nível, de modo a capturar possíveis flutuações dos dados que podem servir como indicadores da qualidade da medição. Estas sucessivas medições podem ser convertidas em um valor médio, representando uma estimativa mais acurada dos parâmetros de trocas gasosas.

Um fator que pode adicionar ruído extra nas leituras realizadas com o LI6400, em especial nas automatizadas, é o modo de operação do sistema de controle de CO_2 na câmara. Este sistema injeta CO_2 no ar de entrada na câmara de modo que seja mantida uma concentração constante deste gás na câmara. Quando ocorre um desvio da concentração de CO_2 selecionada, o sistema compensa tal desvio alterando a regulagem da válvula que

¹ ΔCO_2 e $\Delta\text{H}_2\text{O}$ representam a diferença das medidas de concentração de CO_2 e H_2O entre sensores de gás de referência (equivalente ao que entra na câmara foliar) e da câmara foliar.

² Long SP, Bernacchi CJ (2003) Gas exchange measurements, what can they tell us about the underlying limitations to photosynthesis? Procedures and sources of error. *Journal of Experimental Botany* 54:2393-2401

adiciona CO₂ ao ar, de modo a alcançar à concentração desejada. Porém tal modificação resulta em leituras de fotossíntese irreais por alguns segundos. Isto é devido ao fato de que o tempo necessário para a câmara ser preenchida com ar na concentração de CO₂ corrigida ser maior do que o tempo necessário para este seja lido pelo sensor de referência. Com isto, se o registro das medições ocorrer simultaneamente a tal ajuste, os valores de fotossíntese líquida obtidos apresentarão erro considerável. Em curvas de resposta a CO₂ rápidas, estes erros podem ser mais graves e frequentes, pois muitas vezes não há tempo para se atingir a concentração de CO₂ exatamente igual ao valor selecionado para cada nível da curva. Isto ocorre porque o aparelho inicialmente ajusta sua válvula de injeção de CO₂ para um valor obtido em curva de calibração e aguarda a estabilização das leituras antes de iniciar o ajuste fino para alcançar a concentração de CO₂ selecionada. Para contornar este problema, adicionei aos programas uma rotina que, pouco antes do início do período de registro de medições, fixa a abertura da válvula de injeção de CO₂ na posição em que esta se encontra.

Outra importante fonte de variação nas leituras é a modificação no fluxo de ar que entra na câmara. Esta modificação de fluxo pode ser configurada para ocorrer automaticamente de modo a manter a umidade relativa do ar na câmara constante. Porém, tal recurso em um protocolo automatizado pode resultar em registros de leituras irreais, uma vez que modificações no fluxo geram períodos de transições na concentração de gases na câmara além de demandar novo ajuste na válvula do injetor de CO₂. Desta forma, considero prioritária a manutenção do fluxo de ar constante na câmara. Porém, é importante destacar que o aumento da umidade relativa no interior da câmara para valores próximos do ponto de condensação resultam em medições irreais. Para minimizar este risco, adicionei uma rotina nos programas que ajusta a bomba de ar para fluxo máximo caso a umidade relativa atinja valores muito elevados. Esta medida, apesar de ocasionar um período de medições irreais, pode evitar a perda completa de dados ocasionada por mudanças de valores de transpiração ou

alterações de temperatura durante medições.

Uma facilidade adicional presente nas versões modificadas dos programas de controle do aparelho é a presença de um período de aclimatação da folha antes do início das curvas. Desta forma, é possível a estabilização das folhas na câmara e a aclimatação da folha às condições de medição de maneira automatizada. Isto é obtido configurando um tempo mínimo de aclimatação, seguido por um período no qual se os valores de fotossíntese líquida variarem menos do que valor configurado, inicia-se a curva.

O funcionamento das versões modificadas dos programas de controle do LI6400 está sintetizado na tabela AI-I. Na tabela AI-II, apresento as configurações que se mostraram adequadas para medições das espécies utilizadas neste estudo. Com estas configurações, uma curva de luz gasta de 1 hora a 1 hora e 40 minutos para sua realização, e uma curva de CO₂ de 30 minutos a 1 hora e 15 minutos. O código completo dos programas de controle modificados é apresentado nas caixas de texto AI-I e AI-II.

Tabela AI-I – Resumo do algoritmo dos programas desenvolvidos para automatizar medições do LI6400.

Curva de luz	Curva de CO₂
1. Aclimatação	1. Aclimatação
1.1. Aguarda tempo mínimo.	1.1. Aguarda tempo mínimo.
1.2. Verifica se atingiu estabilidade: variação de A nos últimos 5 minutos foi menor que valor limite.	1.2. Verifica se atingiu estabilidade: variação de A nos últimos 5 minutos foi menor que valor limite.
1.3. Se atingir tempo máximo, passa ao item 2, caso contrário, volta ao 1.2.	1.3. Se atingir tempo máximo, passa ao item 2, caso contrário, volta ao 1.2.
2. Fixa a abertura do injetor de CO ₂ .	2. Fixa a abertura do injetor de CO ₂ .
3. Inicia período de registro das medições.	3. Inicia período de registro das medições.
3.1. Aguarda 5 segundos.	3.1. Aguarda 3 segundos.
3.2. Registra as medições	3.2. Registra as medições
3.3. Volta ao item 3.1, até obter o número de registros que o programa foi configurado. Após isto, passa ao item 4.	3.3. Volta ao item 3.1, até obter o número de registros que o programa foi configurado. Após isto, passa ao item 4.
4. Retorna o controle do injetor de CO ₂ para o automático.	4. Retorna o controle do injetor de CO ₂ para o automático.
5. Atribui a n o valor de 1.	5. Atribui a n o valor de 1.
6. Inicia nível n da curva de luz, mudando a intensidade luminosa para o valor configurado para esta etapa.	6. Inicia nível n da curva de CO ₂ , mudando a concentração de CO ₂ da referência para o valor configurado para esta etapa.
6.1. Aguarda tempo mínimo.	6.1. Aguarda tempo mínimo.
6.2. Verifica se atingiu estabilidade:	6.2. Verifica se atingiu estabilidade:
6.2.1. Caso os coeficientes angulares dos	6.2.1. Caso o coeficiente de variação

ΔCO_2 e $\Delta\text{H}_2\text{O}$ (amostrados ao longo de 4 segundos) forem menores que os valores limite estabelecidos pelo usuário por m períodos de 3 segundos consecutivos passa ao item 6.2.3.	da leitura de CO_2 da câmara seja inferior limite estabelecidos pelo usuário passa ao item 6.2.3.
6.2.2. Se atingir o tempo máximo da etapa, passa para o item 7, caso contrário, retorna ao 6.2.1.	6.2.2. Se atingir o tempo máximo da etapa, passa para o item 7, caso contrário, retorna ao 6.2.1.
6.2.3. Caso o coeficiente de variação total seja menor que o valor estabelecido pelo usuário, passa para o item 7.	6.2.3. Caso o coeficiente de variação total seja menor que o valor estabelecido pelo usuário, passa para o item 7.
6.2.4. Se atingir o tempo máximo da etapa, passa para o item 7, caso contrário, retorna ao 6.2.3.	6.2.4. Se atingir o tempo máximo da etapa, passa para o item 7, caso contrário, retorna ao 6.2.3.
7. Fixa a abertura do injetor de CO_2 .	7. Fixa a abertura do injetor de CO_2 .
8. Inicia período de registro das medições	8. Inicia período de registro das medições
8.1. Aguarda 5 segundos.	8.1. Aguarda 3 segundos.
8.2. Registra as medições	8.2. Registra as medições
8.3. Volta ao item 8.1, até obter o número de registros que o programa foi configurado. Após isto, passa ao item 9.	8.3. Volta ao item 8.1, até obter o número de registros que o programa foi configurado. Após isto, passa ao item 9.
9. Retorna o controle do injetor de CO_2 para o automático.	9. Retorna o controle do injetor de CO_2 para o automático.
10. Atribui a n o valor de $n+1$	10. Atribui a n o valor de $n+1$
11. Caso tenha terminado o último nível de luz (n =número de níveis de luz programados), termina o programa, caso contrário volta ao item 6.	11. Caso tenha terminado o último nível de luz (n =número de níveis de CO_2 programados), termina o programa, caso contrário volta ao item 6.

Tabela AI-II – Configuração considerada adequada para curvas de luz e de CO_2

	Valor na curva de luz	Valor na curva de CO_2
<i>Configuração anterior ao início dos programas</i>		
Fluxo ($\mu\text{mol}\cdot\text{s}^{-1}$)	400	500
$[\text{CO}_2]$ câmara ($\mu\text{mol}\cdot\text{mol}^{-1}$)	380	380
Temperatura da folha ($^{\circ}\text{C}$)	25	25
PPFD ($\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$)	1600	1600
<i>Valores informados aos programas</i>		
Tempo mínimo de aclimatação (s)	600	900
Tempo máximo de aclimatação (s)	900	1200
Variação máxima de A na aclimatação (%)	2	2
Níveis de PPFD ($\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$)	2000 1700 1400 1100 800 600 450 300 150 10 0 50 25 0	-
Níveis de $[\text{CO}_2]$ de referência ($\mu\text{mol}\cdot\text{mol}^{-1}$)	-	350 300 250 200 150 100 50 380 380 450 550 650 750 900 1050 1400 1700
Tempo mínimo de cada etapa (s)	180	45
Tempo máximo de cada etapa (s)	360	180
Coefficiente angular máximo do ΔCO_2	0,4	-
Coefficiente angular máximo do $\Delta\text{H}_2\text{O}$	0,1	-
Número de períodos com baixos coeficientes angulares	4	-
Coefficiente de variação máximo de $[\text{CO}_2]$ câmara (%)	-	0,7
Coefficiente de variação total (%)	0,3	0,3
Número de registros por etapa	8	5

Caixa AI-I - Código do programa de automatização de curva de CO₂ para sistema LI6400 (baseado no programa *A-CiCurve* disponível no aparelho).

```

:CHAR defaultFile[] "A-CiCurve v6 Dflts"
:FLOAT  co2Vals[20] {350 300 250 200 150 100 50 380 380 450 550 650 750 900 1050 1400 1700}

:PTR user[]
{
    :PTR { co2Vals "\nDesired Ca values (µmol/mol)\n" }
    :PTR { matchsteps "Choose when to match\nType the step numbers (induction=step 0)\n " }
}

:FLOAT
ca1 1
ca2 1
ca3 1
ca4 1
ca5 1
ca6 1
ca7 1
ca8 1
ca9 1
ca10 1000000
mean 0
sd 0
cv 0
castable 1

indmin 0
indmax 0
indCa 0
A1 0
A2 0
A3 0
A4 0
A5 0
meanA 0
tolA 10
devA 0

cvttotal 1.0
initialflow 400

:DOUBLE
co2mv 0
co2molar 0

:INT
co2control 0
matchsteps[20] { 9 }
matchcount 1
stepnumber 0
pass 0
minWaitTime 2
maxWaitTime 50
remainWaitTime 0
elapsedTime 0
nlogs 1
lognumber 0
alert 0

lap 0
inducted 0

:LONG
tds 0
beginStep 0

:CHAR
remarkfile[50] ""

:FCT main
{
    CLEAR
    "Induction" PRINT
    "\n CO2 sample (µmol/l): " PRINT &indCa "%d" ENTER
    "Wait time (sec)" PRINT
    "\n minimum: " PRINT &indmin "%d" ENTER
    " maximum: " PRINT &indmax "%d" ENTER
    "Max variation of A (%): " PRINT &tolA "%d" ENTER
    indmin 300 < IF "\n minimum wait is 300s!!!\n Press any key to accept" PRINT GETKEY DROP
    300 &indmin =
    THEN
    indmax 300 < IF "\n max wait need to be at least 300s!!!\n Press any key to accept" PRINT GETKEY DROP
    300 &indmax =
    THEN
    CLEAR
    "A/Ci Curve \nWait time of each step (sec)" PRINT
    "\n minimum: " PRINT &minWaitTime "%d" ENTER
    " maximum: " PRINT &maxWaitTime "%d" ENTER
    minWaitTime 30 < IF "\n minimum wait is 30s!!!\n Press any key to accept" PRINT GETKEY DROP
    30 &minWaitTime =

```

```

THEN
maxWaitTime 40 < IF "\n max wait need to be at least 40s!!!\n Press any key to accept" PRINT GETKEY DROP
40 &maxWaitTime =
THEN
CLEAR
"Stability considerations" PRINT
"\n maximum CO2 Ref CV(%): "PRINT &castable "%f" ENTER
" maximum total CV(%): " PRINT &cvttotal "%f" ENTER
CLEAR
"Enter the log file name (with patch) or another file to save remarks about stability (ex. /User/remarkfile)\n"PRINT
&remarkfile "%50c" ENTER
"\nNumber of Logs in each step \n(interval of 3 sec)? " PRINT
&nlogs "%d" ENTER
"wa" remarkfile OPEN_FILE IF RETURN THEN
:PTR message0
cvttotal castable maxWaitTime minWaitTime tolA indmax indmin clocktime "\n\n[%s] Begin of A/Ci curve v6\n
Induction:
min wait time (sec): %d
max wait time (sec): %d
max variation of A: %f
In each step:
min wait time (sec): %d
max wait time (sec): %d
max CO2 ref CV: %f
max total CV: %f \n" message0 PRINT
message0 CLOSE
      0 :FLOAT waitTime
      LPIsTargetB :INT target
      /* Get rid of the non-serious....
      */
      mixerAvail NOT IF
          1 "Sorry. Need a CO2 Mixer for this." MESSBOX DROP
          RETURN
      THEN
      IsCO2MixerOn NOT IF
          1 "Turn on the CO2 Mixer and get it
stabilized before running this." MESSBOX DROP RETURN
      THEN
      "A-Ci Curve" DUP LPSetName
      "\f%s\n" PRINT
      defaultFile user LPPrompts2 IF RETURN THEN
      LPPrep
      FlowGetTarget DROP &initialflow =
      InductionFct
      MixerGetTarget SWAP DROP :INT theTarget
      1 :INT i
      target LPMixerTarget
      co2Vals READY LPRegLoop NLOOP LPLoopStat
          co2Vals i PICK VAL DUP IF
              theTarget
          ELSE
              0 1
          THEN
              MixerSetNewTarget
              0 &pass =
              StabilityFct
              &i 1 + DROP
      ENDLOOP LPDeregLoop

900 BEEP
1 LPMeasure
900 BEEP
1 LPMeasure
10000 BEEP
indCa 3 MixerSetNewTarget
LPCleanup
}

MatchFct
{
matchsteps matchcount PICK VAL stepnumber == IF
    LPMatch
    15 LPMeasure
    matchcount 1 + &matchcount =
    THEN
stepnumber 1 + &stepnumber =
}

InductionFct
{
LPPrep
indCa 3 MixerSetNewTarget
GETTDS &beginStep =
indmin 299 - LPMeasure
lpAbort

LOOP
30 FmtGetVarAddr &A1 =
AstableFct
inducted 0 <> BREAKIF
lpAbort BREAKIF
30 FmtGetVarAddr &A2 =
AstableFct
inducted 0 <> BREAKIF
30 FmtGetVarAddr &A3 =
AstableFct
inducted 0 <> BREAKIF
30 FmtGetVarAddr &A4 =
AstableFct
inducted 0 <> BREAKIF

```

```

30 FmtGetVarAddr &A5 =
1 &lap =
AstableFct
inducted 0 <> BREAKIF
lpAbort BREAKIF
ENDLOOP

inducted 2 == IF
"wa" remarkfile OPEN_FILE IF RETURN THEN
:PTR message1
clocktime "\n[%s] Induction period have not a stable A!!!\n" message1 PRINT
message1 CLOSE
THEN
LogFct
indCa 2 MixerSetNewTarget
}

AstableFct
{
60 LPMeasure
A1 A2 + A3 + A4 + A5 + 5 / &meanA =
meanA 100 / tolA * ABS &devA =
A1 meanA - ABS devA <= A2 meanA - ABS devA <= A3 meanA - ABS devA <= A4 meanA - ABS devA <= A5 meanA - ABS devA <= lap 0 <>
AND IF 1 &inducted =
THEN

GETTDS &tds = A1
tds beginStep - indmax >= IF 2 &inducted =
THEN
}

StabilityFct
{
GETTDS &beginStep =
minWaitTime 29 - LPMeasure

LOOP
co2_2_um &ca1 =
CVFct
pass 0 <> BREAKIF
co2_2_um &ca2 =
CVFct
pass 0 <> BREAKIF
co2_2_um &ca3 =
CVFct
pass 0 <> BREAKIF
co2_2_um &ca4 =
CVFct
pass 0 <> BREAKIF
co2_2_um &ca5 =
CVFct
pass 0 <> BREAKIF
RUFct
co2_2_um &ca6 =
CVFct
pass 0 <> BREAKIF
co2_2_um &ca7 =
CVFct
pass 0 <> BREAKIF
co2_2_um &ca8 =
CVFct
pass 0 <> BREAKIF
co2_2_um &ca9 =
CVFct
pass 0 <> BREAKIF
co2_2_um &ca10 =
CVFct
pass 0 <> BREAKIF
lpAbort BREAKIF

ENDLOOP

1000000 &ca10 =
maxWaitTime GETTDS beginStep - - &remainWaitTime =
remainWaitTime 1 < IF
1 &remainWaitTime =
THEN
cvttotal 0 remainWaitTime LPMeasureTilStable
lpAbort
GETTDS beginStep - &elapsedTime =
pass 1 == maxWaitTime elapsedTime <= AND IF
"wa" remarkfile OPEN_FILE IF RETURN THEN
:PTR message2
clocktime "\n[%s] Logged by max time exceeded - High total CV!!!\n" message2 PRINT
message2 CLOSE
THEN
pass 2 == IF
"wa" remarkfile OPEN_FILE IF RETURN THEN
:PTR message3
clocktime "\n[%s] Logged by max time exceeded - High sample cell CO2 CV!!!\n" message3 PRINT
message3 CLOSE
THEN
0 &pass =
LogFct
}

CVFct
{
cal ca2 + ca3 + ca4 + ca5 + ca6 + ca7 + ca8 + ca9 + ca10 + 10 / &mean =
cal mean - 2 ^ ca2 mean - 2 ^ + ca3 mean - 2 ^ + ca4 mean - 2 ^ +

```

```

ca5 mean - 2 ^ + ca6 mean - 2 ^ + ca7 mean - 2 ^ + ca8 mean - 2 ^ +
ca9 mean - 2 ^ + ca10 mean - 2 ^ + 0.111111 * SQRT &sd =
sd mean / 100 * &cv =
cv castable <= IF 1 &pass =
THEN
GETTDS &tds =
tds beginStep - maxWaitTime >= IF 2 &pass =
THEN
3 LPMeasure
}

RUFct
{
press_kpa 1000 / h2o_2_mm * tblk_c SatVap / 100 * 92 >= IF
800 2 FlowSetNewTarget
10 LPMeasure
1 &alert =
ELSE
    alert 1 == IF
    THEN
        initialflow 2 FlowSetNewTarget
        0 &alert =
    THEN
}

LogFct
{
MixerGetTarget &co2control = &co2molar =
GetCo2MixerMv &co2mv =
co2mv 4 MixerSetNewTarget
MatchFct

LOOP
    LPPrep
    lognumber nlogs == IF
    0 &lognumber =
    BREAK
    THEN
        3 LPMeasure
        LPLog
        lognumber 1 + &lognumber =
        lpAbort BREAKIF
    ENDLOOP

co2molar co2control MixerSetNewTarget
}

```

Caixa AI-II - Código do programa de automatização de curva de luz para sistema LI6400 (baseado no programa *LightCurve* disponível no aparelho).

```

:CHAR defaultFile[] "LightCurve v7 Dflts"
:FLOAT
lampVals[20] {2000 1700 1400 1100 800 600 450 300 150 100 50 25 0}
indmin 0
indmax 0
A1 0
A2 0
A3 0
A4 0
A5 0
meanA 0
tolA 10
devA 0

:DOUBLE
co2mv 0
co2molar 0
indlamp 0

:INT
co2control 0
alert 0
matchsteps[20] { 6 11 }
matchcount 1
stepnumber 0
pass 0
minWaitTime 30
maxWaitTime 60
remainWaitTime 0
elapsedTime 0
nlogs 1
lognumber 0

lap 0
inducted 0

:LONG

```

```

tds 0
beginStep 0

:CHAR
remarkfile[50] ""

:FLOAT
initialflow 400
cv 1.0
slopeCO2 1
slopeH2O 1
sampling 2

:PTR user[] {
    :PTR { lampVals "Desired lamp settings (æmol/m2/s)\n"}
    :PTR { matchsteps "Choose when to match\nType the step numbers (acclim.=step 0):\n " }
}

:FCT main
{
CLEAR
"Wait time in current light intensity for acclimation (sec)" PRINT
"n minimum: " PRINT &indmin "%d" ENTER
" maximum: " PRINT &indmax "%d" ENTER
"Max variation of A (%): " PRINT &toIA "%d" ENTER
indmin 300 < IF "n minimum wait is 300s!!\n Press any key to accept" PRINT GETKEY DROP
300 &indmin =
THEN
indmax 300 < IF "n max wait need to be at least 300s!!\n Press any key to accept" PRINT GETKEY DROP
300 &indmax =
THEN

CLEAR
"Light Curve \nWait time of each step (sec)" PRINT
"n minimum: " PRINT &minWaitTime "%d" ENTER
" maximum: " PRINT &maxWaitTime "%d" ENTER
minWaitTime 30 < IF
"n minimum wait is 30s!!\n Press any key to accept" PRINT GETKEY DROP
30 &minWaitTime =
THEN
maxWaitTime 30 < IF
"n max wait need to be at least 30s!!\n Press any key to accept" PRINT GETKEY DROP
30 &maxWaitTime =
THEN

CLEAR
"Stability considerations" PRINT
"n maximum |slope| of sample CO2: "PRINT &slopeCO2 "%f" ENTER
" maximum |slope| of sample H2O: "PRINT &slopeH2O "%f" ENTER
" Number of subsequent stable periods \n(3 sec): " PRINT &sampling "%f" ENTER
" maximum total CV (%): " PRINT &cv "%f" ENTER

CLEAR
"Enter the log file name (with patch) or another file to save remarks about stability (ex. /User/remarkfile)\n"PRINT
&remarkfile "%50c" ENTER
"nNumber of Logs in each step \n(interval of 5 sec)? " PRINT
&nlogs "%d" ENTER

"wa" remarkfile OPEN_FILE IF RETURN THEN
:PTR message0
cv slopeH2O slopeCO2 maxWaitTime minWaitTime clocktime "\n[%s] Begin of Light Curve v6.1\n
min wait time (sec): %d
max wait time (sec): %d
max |slope| of sample CO2: %f
max |slope| of sample H2O: %f
max total CV: %f\n" message0 PRINT
message0 CLOSE
/*          Set program name
*/
"Light Curve v7" DUP LPSetName
"%f%s\n" PRINT
defaultFile user LPPrompts2 IF RETURN THEN
LPPrep /* Must be done */
FlowGetTarget DROP &initialflow =

InductionFct
/* Loop over the lamp values */
1 :INT i
lampVals READY LPRegLoop NLOOP LPLoopStat
    lampVals i PICK VAL 0 == IF
        0 LampSetNewTarget
    ELSE
        lampVals i PICK VAL LPSetLamp /* set lamp */
    THEN
        StabilityFct
        &i 1 + DROP /* increment */
ENDLOOP LPDeregLoop

```

```

900 BEEP
1 LPMeasure
900 BEEP
1 LPMeasure
5000 BEEP
indlamp 2 LampSetNewTarget
      LPCleanup /* must be done */
}

MatchFct
{
matchsteps matchcount PICK VAL stepnumber == IF
      LPMatch
      15 LPMeasure
      matchcount 1 + &matchcount =
      THEN
stepnumber 1 + &stepnumber =
}

StabilityFct
{
GETTDS &beginStep =
30 LPMeasure
RUFct
minWaitTime 29 - LPMeasure
lpAbort

LOOP
dcddt ABS slopeCO2 <= dwdtdt ABS slopeH2O <= AND IF
pass 1 + &pass =
ELSE
0 &pass =
THEN
pass sampling == BREAKIF
GETTDS &tds =
tds beginStep - maxWaitTime >= IF
"wa" remarkfile OPEN_FILE IF RETURN THEN
:PTR message1
clocktime "\n[%s] Logged by max time exceeded - High slope!!!\n" message1 PRINT
message1 CLOSE
BREAK
THEN
3 LPMeasure
lpAbort BREAKIF
ENDLOOP
0 &pass =
maxWaitTime GETTDS beginStep - - &remainWaitTime =
remainWaitTime 1 < IF
1 &remainWaitTime =
THEN

cv 0 remainWaitTime LPMeasureTilStable
lpAbort
GETTDS beginStep - &elapsedTime =
remainWaitTime 0 > maxWaitTime elapsedTime <= AND IF
"wa" remarkfile OPEN_FILE IF RETURN THEN
:PTR message2
clocktime "\n[%s] Logged by max time exceeded - High CV!!!\n" message2 PRINT
message2 CLOSE
THEN
LogFct
}

InductionFct
{
/* This Fct is not the same that in A/Ci curves!!! */
LPPrep
GETTDS &beginStep =
indmin 299 - LPMeasure
lpAbort

LOOP
30 FmtGetVarAddr &A1 =
AstableFct
inducted 0 <> BREAKIF
lpAbort BREAKIF
30 FmtGetVarAddr &A2 =
AstableFct
inducted 0 <> BREAKIF
30 FmtGetVarAddr &A3 =
AstableFct
inducted 0 <> BREAKIF
30 FmtGetVarAddr &A4 =
AstableFct
inducted 0 <> BREAKIF
30 FmtGetVarAddr &A5 =

```

```

1 &lap =
AstableFct
inducted 0 <> BREAKIF
lpAbort BREAKIF
ENDLOOP

inducted 2 == IF
"wa" remarkfile OPEN _FILE IF RETURN THEN
:PTR message1
clocktime "\n[%s] Acclimation period have not a stable A!!!\n" message1 PRINT
message1 CLOSE
THEN
LampGetTarget DROP &indlamp =
LogFct
}

AstableFct
{
60 LPMeasure
A1 A2 + A3 + A4 + A5 + 5 / &meanA =
meanA 100 / toLA * ABS &devA =
A1 meanA - ABS devA <= A2 meanA - ABS devA <= A3 meanA - ABS devA <= A4 meanA - ABS devA <= A5 meanA - ABS devA <= lap 0 <> AND IF 1
&inducted =
THEN
GETTDS &tds = A1
tds beginStep - indmax >= IF 2 &inducted =
THEN
}

RUFct
{
alert 1 == LampGetTarget SWAP DROP 1 == AND IF
initialflow 2 FlowSetNewTarget
ELSE
press_kpa 1000 / h2o_2_mm * tblk_c SatVap / 100 * 90 >= IF
800 2 FlowSetNewTarget
5 LPMeasure
1 &alert =
THEN
THEN
}

LogFct
{
MixerGetTarget &co2control = &co2molar =
GetCo2MixerMv &co2mv =
co2mv 4 MixerSetNewTarget
MatchFct

LOOP
LPPrep
lognumber nlogs == IF
0 &lognumber =
BREAK
THEN
5 LPMeasure
LPLog
lognumber 1 + &lognumber =
lpAbort BREAKIF
ENDLOOP

co2molar co2control MixerSetNewTarget
}

```

Anexo II – Linha de comando em R para ajuste de curvas A/C_i

Implementação em R do ajuste não linear de curvas de A/C_i descrito na metodologia do capítulo 1, seguindo orientações de Doboys et al. 2007³, porém utilizando algoritmo de otimização *Pseudo Random Search* implementado no pacote FME versão 1.0 (Soetaert & Petzoldt 2010⁴)

```
#Formato dos dados
#aci: dataframe com colunas de valores de A, Ci, Tfoliar nomeados como PhotoTab; CiTab;
      TleafTab
#IDaci: dataframe com três colunas indicando respectivamente: linha de início da curva de cada
      planta, linha de término de medições de cada planta, linha a ser excluída (para
      excluir automaticamente o nível de retorno a CO2 ambiente)

library(FME)
dados<-read.table("aci",h=T)
attach(dados)
ind<-read.table("IDaci")
final<-data.frame()
postscript(file="curvasaci.ps",onefile=T)

#constants
R<-0.008314472
O<-210

#initial values and bondaries
initial<-c(Vcmax=100, J=130, Rd=25) #reasonable values in cerrado species (is not essential to
      do a good first guess in this algorithm)
initialLower<-c(Vcmax=5, J=10, Rd=0) #little more liberal than Dubois et al. 2007
      (suplementar online material)
initialUpper<-c(Vcmax=300, J=500, Rd=50) # originals:400,600,15

#Photosynthesis models
rubisco<-function(xx,initial,Tleaf) (((initial[1]*(xx-(exp(19.02-38.83/(R*(Tleaf+273.15)))))/
      (xx+((exp(38.05-79.43/(R*(Tleaf+273.15))))*(1+(O/(exp(20.30-36.38/
      (R*(Tleaf+273.15))))))))))
RuBP<-function(xx,initial,Tleaf) ((initial[2]*(xx-(exp(19.02-38.83/(R*(Tleaf+273.15)))))/
      ((4*xx)+(8*(exp(19.02-38.83/(R*(Tleaf+273.15)))))))

residual<-function(p,          observed,          xx,Tleaf)          observed          -
      ((ifelse(rubisco(xx,p,Tleaf)<RuBP(xx,p,Tleaf),rubisco(xx,p,Tleaf),RuBP(xx,p,Tleaf)))-
      p[3])

##Loop begin
for (i in 1:length(ind[,1])){
#subsetting the data and checking
range<-ind[i,1]:ind[i,2]
range<-range[range!=ind[i,3]]
print("#####")
print(as.character(dados$sp[range[1]]))
print(c("leituras:",range))
print(c("numero de sp (deve ser 1)",nlevels(factor(dados$sp[range]))))
print(as.character(dados$estacao[range[1]]))

#reading the data for this curve
A<-PhotoTab[range]
Ci<-CiTab[range]
Temp<-TleafTab[range]
```

³ DUBOIS, J., FISCUS, E., BOOKER, F., FLOWERS, M. & REID, C. 2007. Optimizing the statistical estimation of the parameters of the Farquhar-von Caemmerer-Berry model of photosynthesis. *New Phytol.* 176:402-414.

⁴ SOETAERT, K. & PETZOLDT, T. 2010. Inverse Modelling, Sensitivity and Monte Carlo Analysis in R Using Package FME. *Journal of Statistical Software* 33:1-28.


```

#estimating and testing
result<-modFit(f=residual, p=initial, observed=A, xx=Ci, Tleaf=Temp, method="Pseudo"),
lower=initialLower, upper=initialUpper,control=c(numiter=100000)#default
numiter=10000,varleft=1e-8

#show the results
print(summary(result))
print(c("iterations",result$iterations))
print(c("SSR",result$ssr))
print(c("MS",result$ms))

#log the results
step<-
  cbind(as.character(dados$estacao[range[1]]),as.character(dados$sp[range[1]]),result$par[1],result$par[2],result$par[3])
final<-rbind(final,step)

#Graph it!
##for graph: need to create values of Tleaf between measurements for feeding the model
  allowing the curves to be draw->pseudoTleaf
#just organizing a little
prov<-data.frame(A,Ci,Temp)
prov<-prov[order(Ci),]
A<-prov$A
Ci<-prov$Ci
Temp<-prov$Temp
#creating the pseudoTleaf(filling the gaps)
pseudoTleaf<-Temp[1]

  for (j in 1:(length(Temp)-1))
  {
    gap<-length(seq(Ci[j],Ci[j+1],by=0.1))
    partial<-seq(Temp[j],Temp[j+1],length.out=gap)
    pseudoTleaf<-c(pseudoTleaf,partial[-1])
  }

plot(A~Ci,xlab=expression("Ci      "(\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-1})),ylab=expression("A      "(\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1})),main=c(as.character(dados$sp[range[1]]),as.character(dados$estacao[range[1]])))

lines(seq(min(Ci),max(Ci),by=0.1),rubisco(seq(min(Ci),max(Ci),by=0.1),result$par,pseudoTleaf)-result$par[3],col="black")

lines(seq(min(Ci),max(Ci),by=0.1),RuBP(seq(min(Ci),max(Ci),by=0.1),result$par,pseudoTleaf)-result$par[3],col="gray")
}

dev.off()
colnames(final)<-c("estacao","sp","Vcmax","J","Rd")
write.table(final,"paraci.R",quote=F)

```

Anexo III – Amostrar muitas parcelas pequenas ou poucas parcelas grandes para associar uma comunidade biológica a variáveis ambientais? Simulações com uma comunidade de árvores do cerrado

Trabalho publicado nos Anais do III Congresso Latino Americano de Ecologia (2009)



AMOSTRAR MUITAS PARCELAS PEQUENAS OU POUCAS PARCELAS GRANDES PARA ASSOCIAR UMA COMUNIDADE BIOLÓGICA A VARIÁVEIS AMBIENTAIS? SIMULAÇÕES COM UMA COMUNIDADE DE ÁRVORES DO CERRADO

F.S.C. Takahashi

Universidade de Brasília, Instituto de Ciências Biológicas, Departamento de Ecologia-C.P. 04457 CEP 70919 - 970 - Brasília, DF - Brasil-fredtaka@gmail.com

INTRODUÇÃO

Determinar os fatores que influenciam a distribuição das espécies em uma comunidade biológica é um dos principais temas em estudos ecológicos. A avaliação de dados obtidos neste contexto apresenta grande complexidade, considerando a natureza multidimensional dos dados que sintetizam a ocorrência ou abundância de múltiplas espécies em função de gradientes ambientais distintos. Diversas técnicas estatísticas multivariadas foram apresentadas como possíveis formas de analisar tais dados, com conjuntos diferentes de premissas e objetivos analíticos (Magnusson & Mourão, 2005).

Uma das análises mais utilizadas por ecólogos para estudar esta associação é a Análise de Correspondência Canônica (CCA) (Birks *et al.*, 1998). A descrição detalhada da técnica está disponível em Ter Braak (1986) e em Legendre e Legendre (1998), porém algumas de suas propriedades merecem destaque aqui. Um dos principais atrativos desta técnica é que a matriz de variáveis ambientais interfere no cálculo dos vetores de ordenação, de modo que a relação dos vetores de ordenação e a combinação linear das variáveis ambientais seja maximizada (Legendre e Legendre, 1998). Esta técnica de ordenação com análise de “gradientes diretos” permite avaliar hipóteses ecológicas formuladas *a priori* ao utilizar toda a variação na comunidade relacionada às variáveis ambientais (Legendre e Legendre, 1998).

Contudo a aplicação da CCA apresenta uma série de dificuldades. Decisões que influenciam marcadamente na qualidade dos resultados obtidos devem ser tomadas não só na análise dos dados, mas também para delinear sua coleta. Um ponto fundamental é determinar qual o tamanho da amostragem que deverá ser conduzida de forma a representar bem o sistema de estudo. Um conceito prevalente entre pesquisadores é que técnicas estatísticas complexas, como a CCA, necessitam de um número relativamente elevado de amostras para obtenção de análises válidas. Porém tal requisito, de grandeza subjetiva, é dificilmente alcançado em trabalhos em campo, sendo então o tamanho da amostragem

escolhido com base em fatores logísticos e não técnicos (ex. maior amostragem que o tempo disponível permitir). Paralelamente à escolha do número de amostras de um experimento, é necessário estabelecer o tamanho destas unidades amostrais. Tal ponto apresenta dificuldades adicionais de decisão, devido à ausência de estudos teóricos ou empíricos enfocando a CCA que possam guiar a decisão. Neste cenário de recursos limitados (ie. tempo, material, equipe), fica evidente a dificuldade de alocar o esforço amostral entre número de amostras e tamanho desta. Com isto a decisão de se é melhor amostrar muitas unidades amostrais pequenas ou, em outro extremo, poucas unidades amostrais grandes é tomada de maneira arbitrária.

OBJETIVOS

O objetivo deste trabalho foi testar diferentes delineamentos amostrais que podem ser empregados em estudos da associação da comunidade biológica com caracteres ambientais de modo a avaliar a consistência dos resultados obtidos. Enfoquei neste estudo uma comunidade simulada equivalente a de árvores do cerrado, de modo a definir neste sistema qual a melhor estratégia de amostragem: poucas parcelas grandes ou várias pequenas.

MATERIAL E MÉTODOS

Como base para avaliar as diferentes formas de amostragem, criei um modelo representando a comunidade de árvores do cerrado e de fatores ambientais que influenciam esta comunidade. Inicialmente criei 10 matrizes (1000 linhas e 1000 colunas) cada uma representando uma variável ambiental hipotética. Estas foram elaboradas por meio de equações matemáticas escolhidas de modo que sejam representados gradientes ambientais com variações graduais ou bruscas formando diferentes padrões. Paralelamente, elaborei uma matriz de igual tamanho para representar a comunidade de

árvores. Nesta matriz, cada célula recebeu o valor de 0 a 54, representando desta forma se uma unidade de área estava vazia (valor 0) ou ocupada por alguma espécie de árvore (valores de 1 a 54, cada um representando uma espécie diferente). Para a alocação das espécies na matriz, utilizei uma função probabilística binomial em que a probabilidade de ocorrência de uma espécie em cada célula era proporcional ao valor de uma das variáveis ambientais nesta posição. Adicionalmente a esta presença de espécies condicionada a variáveis ambientais, aloquei uma menor quantidade de células para serem ocupadas por cada espécie independentemente de qualquer variável ambiental por meio de sorteio com probabilidade de ocorrência igual para todas as células. Para as células nas quais foram designadas mais de uma espécie, realizei sorteios para definir qual destas ocuparia cada célula. Defini as probabilidades de ocorrência associadas a gradientes ambientais e probabilidades de ocorrência independentes de posição de modo que a matriz resultante apresente abundâncias relativas de cada espécie aproximadamente iguais às observadas em amostragem fitossociológica numa área de cerrado *sensu stricto* de Brasília (Assunção & Felfili, 2004).

Para realizar as comparações das diferentes estratégias de amostragem, sorteei coordenadas da matriz, de forma a simular o sorteio de parcelas no ambiente natural. A partir destas coordenadas de referência, registrei os valores da matriz de espécies nas coordenadas sorteadas e dos valores adjacentes a este, conforme a opção de delimitação testada, simulando assim a amostragem de uma parcela no ambiente natural. Paralelamente, registrei os valores de cinco matrizes de variáveis ambientais nas coordenadas da parcela simulada, obtendo então os valores médios de cada variável ambiental em cada parcela. Repeti este procedimento de forma a simular a obtenção de amostras em um experimento real. Deste modo, pude simular diferentes estratégias de coleta de dados em campo, variando o tamanho da parcela e o número de parcelas.

A primeira estratégia testada (T1) consistia na obtenção de 125 parcelas contendo 4 células da matriz em cada parcela. A segunda estratégia (T2) consistia na obtenção de 56 parcelas contendo 9 células cada. A terceira abordagem testada (T3) consistia na obtenção de 32 parcelas com 16 células cada. Para avaliar qual das respostas obtidas melhor refletia a realidade do sistema simulado, realizei uma amostragem de referência (R), composta de 1000 parcelas com 49 células. Desta forma, com exceção de R, os demais esquemas de amostragem mantinham um total de células analisadas aproximadamente igual (T1: 500 células, T2: 504 células, T3: 512 células). Para avaliar a variabilidade dos resultados dentro de um mesmo esquema de amostragem, repeti cada um deles três vezes.

Analisei os dados obtidos do modelo de cerrado utilizando CCA. Para avaliar a qualidade do ajuste de cada estratégia de amostragem, calculei a proporção da inércia total que é associada aos dois primeiros eixos canônicos. Para calcular a influência que cada variável ambiental tinha na comunidade em cada estratégia de amostragem, calculei a correlação entre cada variável ambiental e o escore canônico de cada parcela. Estes valores, denominados *intraset correlations*, apresentam interpretação similar ao dos coeficientes

canônicos, porém são mais confiáveis em situações em que há correlação entre as variáveis ambientais (Ter Braak, 1986). Avaliei também a posição relativa que cada espécie ocuparia ao longo de cada gradiente ambiental. Para isto, calculei o ranque das *weighted average* de cada espécie em função de cada variável ambiental. Em cada CCA, testei a significância dos *constraints* por meio de testes de permutação com modelo reduzido utilizando alfa igual a 0,001. Para sumarizar os resultados de uma mesma estratégia de amostragem, calculei o valor médio dos indicadores de qualidade de ajuste, influência de cada variável ambiental (ie. *intraset correlation*) e posição relativa das espécies nos gradientes ambientais (ie. ranque das espécies em função do seu *weighted average* em cada variável ambiental). Adicionalmente, para os últimos dois indicadores, calculei também o valor médio dos desvios padrão de todas as *intraset correlations* e ranques de espécies. Para avaliar os resultados das diferentes estratégias de amostragem (T1, T2 e T3), comparei os resultados destas com o obtido na amostragem de referência (R). Desta forma, calculei a correlação entre a *intraset correlation* de R com T1, T2 e T3 para os dois primeiros eixos da CCA. Paralelamente, calculei as diferenças dos ranques obtidos pelas 20 espécies mais abundantes ao longo de cada gradiente ambiental nas diferentes estratégias de amostragem, da seguinte forma:

Erro geral de ranqueamento = \sum módulo[ranque da espécie(i) ao longo da variável(j) estimado em R - ranque da espécie(i) ao longo da variável(j) estimado em T]

sendo i de 1 a 20, representando as 20 espécies mais abundantes; j de 1 a 5 representando as 5 variáveis ambientais analisadas. Adicionalmente repeti esta avaliação desconsiderando as variáveis ambientais com baixo *intraset correlation*, uma vez que estas habitualmente não são utilizadas na interpretação dos resultados.

Em todas as etapas deste trabalho utilizei o software R versão 2.7.2 (R Foundation for Statistical Computing). Para as análises de correspondência canônica, utilizei o pacote "Vegan: Community Ecology Package" versão 1.15 - 0 (Oksanen *et. al.*, 2008).

RESULTADOS

Todos as CCA analisadas apresentaram associação significativa ($p < 0,001$) indicando que todas as estratégias de amostragem conseguiram captar alguma associação entre comunidade e ambiente físico. A qualidade dos ajustes foi superior em T3, assumindo valores próximos à R (média da qualidade do ajuste: R: 0,193; T1: 0,045; T2: 0,093; T3: 0,177). Isto indica que a estratégia T3 conseguiu explicar uma maior proporção da variação nos dados que os demais nos dois primeiros eixos, que são os que geralmente são utilizados na interpretação dos resultados.

A análise do peso das variáveis ambientais na comunidade avaliado pela *intraset correlation* indicou boa consistência dos resultados de T1 e T3. A correlação entre *intraset correlations* de cada estratégia com R apresentou os valores de 0,932; 0,698 e 0,824 para T1, T2 e T3 no eixo 1 e de 0,684; 0,634 e 0,891 para o eixo 2. Porém, a média dos desvios padrão dos valores de *intraset correlations* mais elevados no T1, indicam a menor confiabilidade dos resultados obtidos

nesta estratégia do que nas demais (T1: 0,326; T2: 0,248 e T3: 0,265). Os dois maiores *intraset correlations* associados aos dois primeiros eixos de R, T1 e T3 indicaram três variáveis ambientais como as mais influentes na comunidade, enquanto T2 conduziria a seleção de uma variável ambiental distinta (valores não apresentados).

A posição relativa das 20 espécies mais abundantes nos gradientes ambientais indicou que as estratégias T1 e T3 obtiveram resultados relativamente próximos enquanto T2 apresentou maior erro geral de ranqueamento (T1: 226; T2: 244 e T3: 221). O ranqueamento também pode ser avaliado considerando somente os gradientes ambientais que apresentaram maior relação com composição de espécies. Desta forma, considerando somente as duas variáveis ambientais mais importantes de cada eixo, os erros gerais de ranqueamento foram próximos entre os diferentes esquemas de amostragem (T1: 124; T2: 121; T3: 119). Porém, é importante destacar que T1 apresentou maior variação na estimativa de ranque do que as demais estratégias, o que resultaria numa menor confiabilidade de seus resultados (média dos desvios padrão dos ranques dentro de cada estratégia, utilizando todas as variáveis ambientais: T1: 4,972; T2: 4,810 e T3: 4,469; e desconsiderando variáveis ambientais com baixas *intraset correlations*: T1: 4,466; T2: 4,431 e T3: 4,201).

Todas as estratégias de amostragem analisadas forneceram dados que permitiram interpretações realísticas por meio de CCA. Entretanto, a qualidade dos resultados obtidos em cada estratégia de amostragem foi bastante diferenciada. A estratégia de amostragem baseada em um número relativamente pequeno de parcelas grandes (T3) apresentou simultaneamente resultados menos variados e mais realistas, sendo por isto a melhor das opções analisadas. Vale notar inclusive, que esta estratégia de amostragem é a com maior facilidade de implementação em campo, uma vez que envolve menor coleta de dados ambientais e menor deslocamento entre sítios.

Os resultados intermediários de T2 foram compatíveis com o esperado, considerando que esta estratégia tinha balanceamento intermediário do número de amostras e tamanho das parcelas. Entretanto, o pior ajuste dos dados coletados na estratégia T1 merece atenção especial, uma vez que tal delineamento empregava o maior número de unidades amostrais independentes, o que geralmente é desejável para análises estatísticas. Dentre as possíveis causas está a grande variação na composição de espécies que ocorre ao amostrar parcelas muito pequenas. Desta forma, a ausência de espécies devido ao acaso em parcelas com condições ambientais favoráveis a sua ocorrência gera ruído nos dados. Conforme demonstrado por McCune (1997), a CCA é fortemente prejudicada por este tipo de variação. Outro fator que pode ter prejudicado o ajuste dos dados de T1 e favorecido T3 é o maior número de espécies detectadas em T1. Isto porque a presença de espécies raras tende também a gerar ruído nestas análises (Hirst & Jackson, 2007). A retirada de espécies pouco frequentes em T1 potencialmente resultaria no melhor ajuste destes dados, porém, em muitos casos a informação referente às espécies pouco frequentes é importante dentro dos objetivos do estudo.

A concepção de que em análises multivariadas complexas

é necessária uma quantidade elevada de amostras independentes não se mostrou universalmente válida. Este estudo reforça a demonstração de McCune (1997) a respeito do efeito do ruído nos dados de forma que a avaliação do grau de ruído nos dados seja um fator importante no planejamento de experimentos. Desta forma, a realização de testes equivalentes aos apresentados no presente trabalho, empregando conjuntos de dados simulados, pode ser uma ferramenta importante para subsidiar a escolha do delineamento amostral. A construção de representações da comunidade biológica de interesse e de gradientes ambientais hipotéticos poderiam ser etapas valiosas no planejamento de um estudo, nas quais o pesquisador poderia representar o conhecimento atual do sistema e suas hipóteses. Com isto, seria possível testar a amostragem mais eficiente e também obter uma previsão de resultados possíveis.

CONCLUSÃO

A amostragem de um número relativamente pequeno de parcelas grandes (32 parcelas com 16 células cada) proporcionou resultados mais realistas e menos variáveis neste ambiente simulado de cerrado. Porém, é importante destacar que sistemas biológicos com propriedades distintas do utilizado neste trabalho, podem ter requisitos de amostragem diferenciados. Desta forma é prudente a repetição do protocolo demonstrado aqui para a adequação ao sistema de interesse.

REFERÊNCIAS

- Assunção, S.L. & Felfli, J.M. 2004. Fitossociologia de um fragmento de cerrado *sensu stricto* na APA do Paranoá, DF, Brasil. *Acta Bot. Bras.* 18(4):903 - 909
- Birks, H. J. B., S. M. Peglar & H. A. Austin. 1998. An annotated bibliography of canonical correspondence analysis and related constrained ordination methods 1986 - 1996. Disponível online: http://www.bio.umontreal.ca/Casgrain/cca_bib/index.html
- Hirst, C.N. & Jackson, D.A. 2007. Reconstructing community relationships: the impact of sampling error, ordination approach, and gradient length. *Diversity Distrib.* 13:361 - 371
- Legendre, P. & Legendre, L. 1998. *Numerical ecology*. 2a. ed. Amsterdam, Elsevier Science. 853 p.
- Magnusson, W.E. & Mourão, G. 2005. *Estatística sem Matemática*, 2a. ed. Londrina, Editora Planta. 138 p.
- McCune, B. 1997. Influence of noisy environmental data on canonical correspondence analysis. *Ecology* 78: 2617 - 2623
- Oksanen J., Kindt R., Legendre P., O'Hara B., Simpson G.L., Solymos P., Stevens M.H.H. & Wagner H. 2008. *Vegan: Community Ecology Package*. R package version 1.15 - 0. Disponível online: <http://cran.r-project.org/>
- Ter Braak, C.J.F. 1986. Canonical correspondence analysis: A new eigenvector technique for multivariate direct gradient analysis. *Ecology* 67:1167 - 1179