

Dimensões e densidade estomática em diferentes variedades de mandioca

Eli Carlos de Oliveira¹; Édison Miglioranza²

¹Doutorando em Fitotecnia Universidade Estadual de Londrina/UEL - Centro de Ciências Agrárias/CCA - Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Londrina, – elioliveira.agro@gmail.com.

²Prof. Dr. Universidade Estadual de Londrina/UEL - Centro de Ciências Agrárias/CCA – Programa de Pós-Graduação em Agronomia - Londrina, PR – emiglior@uel.br.

Resumo: Os estômatos compreendem o principal meio de troca gasosa das plantas. Na cultura da mandioca (*Manihot esculenta* Crantz), a redução do volume de água perdida pela planta ocorre por conta de alterações no mecanismo, tamanho e distribuição dos estômatos. O presente trabalho teve como objetivo comparar as dimensões dos estômatos e a densidade estomática de mandioca em diferentes variedades e nas diferentes regiões das folhas. Foram analisadas as regiões apical, mediana e basal de folhas completamente expandidas das variedades IAC 12, IAC 13, IAC 14, IAC 15 e IAC 90. O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado num esquema fatorial 5x3 (cinco variedades e três regiões da folha) com três repetições. Os dados foram submetidos à anova e ao teste de média de Tukey. Foram avaliados diâmetro polar e equatorial dos estômatos e calculados a densidade a funcionalidade estomática e a correlação entre os parâmetros. De todos os parâmetros avaliados, apenas o diâmetro polar apresentou interação entre os fatores variedade e região da folha, enquanto que para os demais somente efeito isolado do fator variedade. Houve diferença nas dimensões e na densidade dos estômatos nas diferentes variedades de mandioca estudadas, sendo que há uma forte correlação negativa entre diâmetro equatorial e funcionalidade dos estômatos.

Palavras-chave: face abaxial, funcionalidade estomática, *Manihot esculenta* Crantz.

Dimensions and stomatal density in different cassava varieties

Abstract: The stomata comprise the primary means of gas exchange in plants. In cassava (*Manihot esculenta* Crantz), the amount of water lost by the plant occurs because of changes in the mechanism, size and distribution of stomata. This study aimed to compare the dimensions of the stomata and stomatal density in different cassava varieties and in different regions of the leaves. The apical, middle and basal regions of fully expanded leaves from varieties IAC 12, IAC 13, IAC 14, IAC 15 and IAC 90 were analyzed. The experimental design was completely randomized in a 5x3 factorial design (five varieties and three leaf regions) with three replications. Data were submitted to ANOVA and Tukey test medium. Polar and equatorial diameter of the stomata was evaluated and calculated stomatal density function and the correlation between the parameters. Of the parameters evaluated, only the polar diameter showed interaction between the factors variety and region the leaf, while for others, only isolated effect the factors. There were differences in the size and density of stomata in different cassava varieties studied there is a strong negative correlation between equatorial diameter and functionality of the stomata.

Key words: abaxial, stomata functionality, *Manihot esculenta* Crantz.

Introdução

A mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) é matéria-prima de amplo e diversificado emprego industrial através do fornecimento de inúmeros subprodutos. O Brasil é o terceiro

maior produtor de mandioca no mundo, ficando atrás apenas da Nigéria e Tailândia, sua produção em 2013 é de aproximadamente 21.178.686 t de raízes, ocupando 2.149.403 ha, com produtividade média de 14 t ha⁻¹ (IBGE, 2013).

Os aspectos anatômicos da mandioca são ainda pouco estudados, no entanto, de são importantes devido à plasticidade na anatomia foliar em diferentes genótipos, o que pode interferir na taxa fotossintética alterando assim a difusão de CO₂ (El-Sharkawi, 2006).

A estrutura responsável pelas trocas gasosas durante a transpiração, fotossíntese e respiração nas plantas são denominadas por estômatos. São encontrados na maioria das plantas, predominantemente nas folhas, e consistem basicamente de um poro circundado por duas células-guarda (Cutter, 2002). Segundo Cock *et al.*, (1987) a distribuição de estômatos em folhas de mandioca, ocorrem na epiderme abaxial e restrita apenas as proximidades dos maiores feixes vasculares.

A forma mais conhecida de algumas espécies em prevenir a perda de água, na forma de vapor, é mediante o fechamento dos estômatos, o que as caracterizam como espécies com maior sensibilidade estomática. No entanto, a redução do volume de água perdida pelas plantas ocorre também por conta das mudanças observadas no tamanho e distribuição dos estômatos (Lake *et al.*, 2001). Sendo a densidade estomática um importante parâmetro eco-fisiológico que afeta as trocas gasosas e a fotossíntese (Camargo e Marengo, 2011).

Tanto a densidade estomática quanto as dimensões dos estômatos podem sofrer variações em folhas de plantas da mesma espécie (Al Afas *et al.*, 2006). O conhecimento sobre alterações na anatomia foliar da mandioca pode contribuir em indicar características que atribuem tolerância a diferentes condições ambientais, como tolerância à seca (BATISTA *et al.*, 2010).

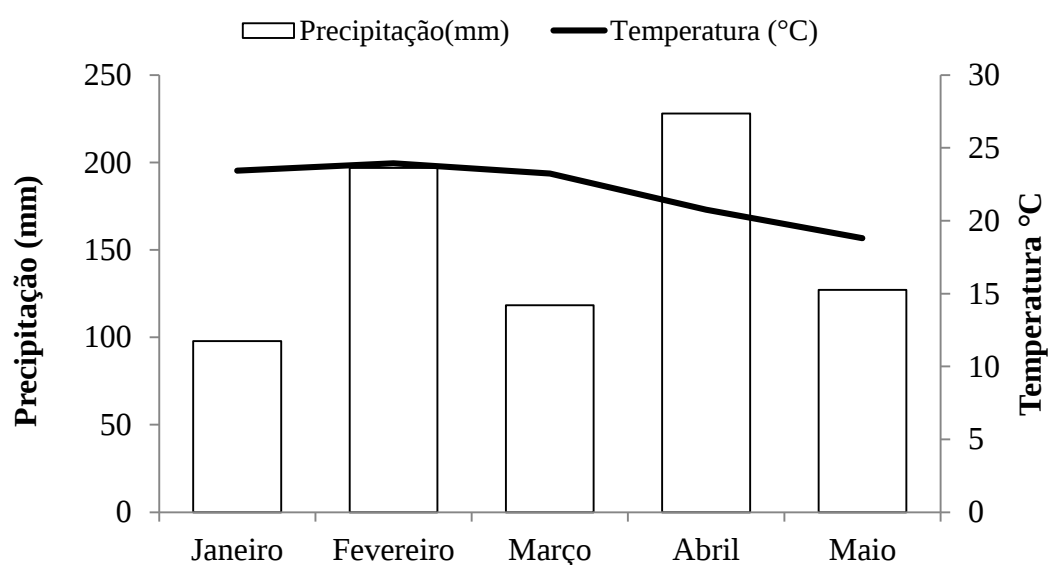
Assim o presente trabalho teve como objetivo comparar as dimensões dos estômatos e a densidade estomática de mandioca em diferentes variedades e nas diferentes regiões das folhas.

Material e Métodos

Para o estudo da densidade estomática, foram coletadas folhas de diferentes variedades de mandioca pertencentes ao Pólo Regional do Vale do Paranapanema da Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios (APTA), localizado em Assis, SP. (latitude 22° 40'S, longitude 50° 26'W e altitude média de 563m).

O clima da região é do tipo “Cwa”, subtropical com inverno seco e verão quente e úmido (BRASIL, 1992). Foram coletados os valores médios mensais de temperatura e precipitação do período de janeiro a maio de 2013 (Figura 1). As folhas foram coletadas no dia 30 de abril de 2013 das 09:00 as 11:30 horas, onde não houve registro de precipitação, enquanto que a temperatura mínima e máxima registravam 14 e 28 °C respectivamente.

Foram analisadas as regiões apical, mediana e basal de folhas completamente expandidas em três plantas das variedades, IAC 12, IAC 13, IAC 14, IAC 15 e IAC 90, os quais foram plantados no dia 27 de junho de 2012 no solo tipo Latosolo Vermelho escuro de textura



média (EMBRAPA, 2013).

Figura 1 - Temperatura média mensal e precipitação média no período de janeiro a maio de 2013 na cidade de Assis, SP.

As amostras de folhas foram fixadas em solução, contendo 5% de formol, 90% de álcool etílico a 70^oGL e 5% de ácido acético (F.A.A), por 24 horas à temperatura ambiente. Preparou-se o material foliar segundo a metodologia proposta por Johansen (1940), para visualização e caracterização do tipo de estômato através de observação por microscópio eletrônico de varredura (MEV).

A observação da densidade e da distribuição dos estômatos foi realizada empregando-se o método de réplica de North (1956), onde uma impressão da superfície foliar foi obtida com acetato de celulose com uma fita adesiva transparente em uma área de aproximadamente de 1,0cm². Seções da película de acetato formada foram removidas e montadas em lâminas para serem avaliadas ao microscópio. Para as observações, utilizou um microscópio ótico, ocular de 15x e objetiva de 40x, o que proporcionou aumento de 600x e campo real visível de 0,39mm². As imagens utilizadas para análise foram capturadas por meio de um sistema de captura (Carl Zeiss, Germany) composto de microscópio AxioPhot I, equipado com câmera AxioCam ICc3 e software Bel View. O processamento e análise das imagens foram realizados através do software de domínio público ImageJ 1.43a, versão 64, com a medição de cinco campos por repetição para cada folha analisada. Para as avaliações, diâmetro polar dos estômatos (DP) e diâmetro equatorial dos estômatos (DQ), preparou-se lamina com safranina, sendo observadas em câmara clara, segundo técnica de Labouriau (Castro *et al.*, 2009).

Foram calculados a densidade estomática (DE - número de estômatos por unidade de área) e a funcionalidade estomática (FUN – considerada como a relação diâmetro polar/diâmetro equatorial dos estômatos) segundo Castro *et al.*, (2009). Para efeito de análise estatística, estudou-se a densidade dos estômatos na face abaxial e a frequência dos estômatos nas regiões do ápice, meio e base das folhas. O delineamento foi inteiramente casualizado no esquema fatorial 5 x 3 (cinco variedades de mandioca, com três regiões amostradas e três repetições), cada região da folha foi observado em cinco campos microscópicos.

Os dados foram submetidos à análise de variância. Foram realizados testes de correlações Pearson ($p < 0,05$) entre os parâmetros avaliados e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Como os dados apresentaram distribuição normal (Shapiro-Wilk) nenhuma transformação foi utilizada antes de realizar a análise de variância. Para análise estatística foi utilizado o software o Sisvar (Ferreira, 2004).

Resultados e Discussão

O diâmetro polar dos estômatos (DP) foi o único parâmetro que apresentou interação entre os fatores variedade e região da folha. Já a densidade estomática (DE), diâmetro equatorial (DQ) e a funcionalidade (FUN) apresentaram somente efeito isolado do fator variedade (Tabela 1).

Tabela 1 - Resumo da análise de variância com os quadrados médios, e coeficientes de variação referentes à densidade estomática (DE), diâmetro polar dos estômatos (DP), diâmetro equatorial dos estômatos (DQ) e a funcionalidade estomática (FUN)

Causas da variação	GL	DE	DP	DQ	FUN
Variedade (V)	4	672,13**	21,45**	6,53**	0,02**
Região da Folha (R)	2	46,82 ^{ns}	1,83**	1,03 ^{ns}	0,05 ^{ns}
V * R	8	56,35 ^{ns}	0,56**	1,24 ^{ns}	0,05 ^{ns}
Resíduo	30	28,57	0,14	0,65	0,03
C.V.(%)		4,91	0,82	3,12	3,19

C.V. = Coeficiente de variação; n.s.; não significativo; **, significativo a 1% de probabilidade.

As maiores DE foram observadas nas variedades IAC 13 e IAC 15. A variedade IAC 90 apresentou a menor DE, com 67,00 estômatos por milímetro quadrado (Tabela 2).

Resultados semelhantes em relação à diferença na densidade estomática em diferentes variedades foram verificados por Cerqueira (1992), estudando o efeito da deficiência de água na anatomia foliar de genótipos de mandioca, verificou alta plasticidade na DE para o genótipo UFLA E, em condições de deficiência hídrica, sendo que o nível de plasticidade foi diferente para os diferentes genótipos estudados. Uma maior quantidade de estômatos por unidade de área foliar pode conferir a variedade de mandioca uma alta adaptabilidade a ambientes secos ou de pouca disponibilidade de água (Connor e Palta, 1981; Castro *et al.*, 2009). Logo, uma maior DE pode permitir uma abertura estomática em um espaço de tempo menor, permitindo uma captação adequada de CO₂ e reduzindo o tempo em que esses estômatos ficam abertos, diminuindo, conseqüentemente a transpiração, permitindo uma melhor adaptação das plantas de mandioca às condições de pouca disponibilidade de água.

Tabela 2 - Densidade estomática (estômatos por mm²) da face abaxial de folhas em diferentes variedades de mandioca

Variedade	Densidade Estomática (Número de estômatos mm ²)
IAC 12	72,00 cd ¹
IAC 13	82,00 ab
IAC 14	77,00 bc

IAC 15	89,00 a
IAC 90	67,00 d
d.m.s	7,32
C.V.(%)	4,91

d.m.s. diferença mínima significativa; C.V. = Coeficiente de variação.

¹Médias seguidas por letras iguais, nas colunas, não diferem entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

Os resultados relacionados ao diâmetro polar dos estômatos (DP) apresentaram interação entre os fatores estudados (Tabela 3). A variedade IAC 90 apresentou o maior DP na região apical da folha (47,66 μm), quando comparado às demais variedades. Observa-se também que não há diferença significativa entre demais posições da folha, o que mostra uma distribuição homogênea em relação à DP em todo o limbo foliar para esta variedade. Tanto na região mediana quanto basal da folha a variedade IAC 12 também apresentou os maiores valores de DP não diferindo significativamente da IAC 90. Os menores valores de DP foram observados para a variedade IAC 15 em relação às demais variedades. Verifica-se que os menores diâmetros estão na região apical seguido pela região basal, com valores de 43,30 μm e 44,30 μm respectivamente (Tabela 3).

Segundo Boeger e Wisniewski (2003) a dimensão e a posição dos estômatos também afetam na absorção de CO_2 . A redução no tamanho dos estômatos é um evento reconhecidamente importante na regulação das trocas gasosas, uma vez que folhas com estômatos menores apresentam maior eficiência no uso da água por apresentarem um menor tamanho dos poros estomáticos, condicionando assim uma menor perda de água por transpiração (Nejad e Van Meeteren 2005; Pearce *et al.*, 2006).

No entanto, variações no comportamento estomático, em relação a sua dimensão, é uma característica muito variável em plantas em função do ambiente (Melo *et al.*, 2004), da constituição genética da espécie (Alves *et al.*, 2001; Camargo e Marenco, 2011), e frequentemente em plantas submetidas a diferentes condições de estresses (Castro *et al.*, 2005).

Tabela 3 - Diâmetro polar (μm) das regiões apical, mediana e basal da face abaxial foliar em diferentes variedades de mandioca.

Variedade	Regiões da folha		
	Apical	Mediana	Basal
IAC 12	47,80 cC ¹	47,86 aA	47,60 aA
IAC 13	45,70 bB	46,23 bAB	46,63 bA
IAC 14	45,07 bA	45,65 bcA	45,13 cA
IAC 15	43,30 cC	45,30 cA	44,30 cB
IAC 90	47,66 aA	47,96 aA	47,90 aA
d.m.s.²		0,89	
d.m.s.³		0,75	

¹Médias seguidas por letras iguais, nas colunas, não diferem entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

d.m.s.² para colunas; d.m.s.³ para linhas.

Como podem ser observados pela Tabela 4, os maiores diâmetros equatoriais foram verificados nas variedades IAC 13, IAC 12 e IAC 90 com DQ de 26,84, 26,32 e 26,32 μm respectivamente. Para a variedade IAC 14 verificou-se DQ 24,63 μm .

Outra característica adaptativa das plantas em situação de estresses em relação aos seus estômatos é o diâmetro equatorial. De acordo com Khan *et al.*, (2003), alterações na forma dos estômatos afeta diretamente a funcionalidade dos mesmos, sendo que a forma mais elíptica é característica de estômatos funcionais, enquanto que a forma mais esférica está, frequentemente, associada a estômatos com baixa funcionalidade e ambas formas são obtidas de acordo com o maior ou menor DQ respectivamente.

Estas afirmações corroboram com os resultados de Yukawa *et al.*, (1992), que observaram diferenças no DQ dos estômatos do gênero *Dendrobium*, para diferentes indivíduo como entre os indivíduos da mesma espécie. Para estes autores o diâmetro equatorial pode ser vantajoso como marcador taxonômico de espécies. Alterações no DQ de estômatos de cevada foram observadas em estudos de alagamento por Yordanova *et al.*, (2005), entretanto, Striker *et al.*, (2005) não observaram mudanças na quantidade e no tamanho de estômatos em legumes de regiões alagadas. Desta forma pode-se sustentar que as modificações estomáticas não são muito claras para todas as espécies, mesmo expostas ao mesmo tipo de alteração ambiental, e que estudar alteração anatômica dos estômatos com diferentes situações, pode contribuir tanto na caracterização de diferentes matérias cultivados quanto sua adaptabilidade em condições adversas.

Tabela 4 – Diâmetro equatorial (μm) da face abaxial de folhas em diferentes variedades de mandioca.

Variedade	Diâmetro equatorial (μm)
IAC 12	26,32 ab ¹
IAC 13	26,84 a
IAC 14	24,63 c
IAC 15	25,62 bc
IAC 90	26,32 ab
d.m.s	1,10
C.V.(%)	3,12

d.m.s. diferença mínima significativa; C.V. = Coeficiente de variação.

¹Médias seguidas por letras iguais, nas colunas, não diferem entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

Observando a Tabela 5, verificam-se dois comportamentos em relação à funcionalidade dos estômatos. Embora, o teste de média utilizado nesta pesquisa não agrupa as médias, pode-se inferir que há uma distinção entre dois grupos de variedades de mandioca em relação à funcionalidade dos estômatos. Variedades como IAC 12, IAC 14 e IAC 90 compõem os maiores valores de FUN não diferindo estatisticamente entre si. Da mesma forma observa que as variedades IAC 13 e IAC 15 não diferem entre si em formam um grupo de menor FUN. Neste trabalho foi possível verificar que há uma relação inversa entre DE, DQ e a FUN. Pois observou que as variedades que apresentaram as maiores densidades de estômatos não foram as mais funcionais. Da mesma forma para o parâmetro DQ com exceção apenas da variedade IAC 90 que apresentou maiores valores de DQ e FUN.

Estes resultados são diferentes dos encontrados por Souza *et al.*, (2007) onde, os genótipos de mandiocas estudados apresentaram tanto os maiores valores de DE quanto os maiores valores para a FUN. O importante dos resultados da FUN está na redução da transpiração (Barrios e Hernández, 2003; Souza *et al.*, 2010). A redução da transpiração foi observada em plantas que apresentaram alta funcionalidade estomática (Santiago *et al.*, 2001; Boeger e Wisniewski, 2003; Souza *et al.*, 2007; Castro *et al.*, 2009).

Tabela 5 – Funcionalidade dos estômatos na face abaxial de folhas em diferentes variedades de mandioca.

Variedade	Funcionalidade
------------------	-----------------------

IAC 12	1,81 a ¹
IAC 13	1,72 b
IAC 14	1,84 a
IAC 15	1,73 b
IAC 90	1,82 a
d.m.s	1,10
C.V.(%)	3,12

d.m.s. diferença mínima significativa; C.V. = Coeficiente de variação.

¹Médias seguidas por letras iguais, nas colunas, não diferem entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

Os coeficientes de correlação foram classificados como fortes para $r > 0,70$, e que mostram uma associação negativa e significativa ($P \leq 0,05$) entre os parâmetros DQ e FUN para todas as variedades estudadas. No entanto, para os demais parâmetros não foi verificado correlação tanto positiva quanto negativa (Tabela 6).

Segundo Rocha (2005), a relação entre os DQ e FUN fornece um bom indicativo do formato dos estômatos, e a relação com a taxa transpiratória das plantas. De acordo com os resultados desta pesquisa, podemos deduzir que estômatos menos elipsoides possuem maior funcionalidade e podem apresentar uma menor transpiração, embora não tenha sido testada neste trabalho esta hipótese.

Tabela 6 - Coeficientes de correlação entre as variáveis avaliadas nos lóbulos foliares de diferentes genótipos de mandioca.

Variedades	Parâmetros	DP	DQ	FUN
IAC 12	DE	-0,25 ^{ns}	0,27 ^{ns}	-0,35 ^{ns}
	DP	---	0,26 ^{ns}	-0,01 ^{ns}
	DQ		---	-0,96 ^{**}
IAC 13	DE	0,76 ^{ns}	-0,10 ^{ns}	0,28 ^{ns}
	DP		-0,24 ^{ns}	0,46 ^{ns}
	DQ			-0,97 ^{**}
IAC 14	DE	-0,28 ^{ns}	-0,46 ^{ns}	0,37 ^{ns}
	DP		0,17 ^{ns}	0,18 ^{ns}
	DQ			-0,93 ^{**}

IAC 15	DE	-0,51 ^{ns}	-0,34 ^{ns}	0,02 ^{ns}
	DP	---	0,32 ^{ns}	0,28 ^{ns}
	DQ		---	-0,82 ^{**}
IAC 90	DE	-0,36 ^{ns}	0,55 ^{ns}	-0,61 ^{ns}
	DP		0,17 ^{ns}	0,02 ^{ns}
	DQ			-0,98 ^{**}

**Significativo pelo teste F, $P \leq 0,05$; ^{ns} – não significativo.

Plantas de mandioca são bem adaptáveis as diferentes condições do ambiente. Entretanto, estudos das características dos estômatos demonstram que a folha, órgão responsável pela síntese de carboidratos e principal responsável pela tuberização da raiz, apresenta características distintas na distribuição e dimensões de seus estômatos. Portanto, estudar certos aspectos da anatomia dos estômatos será útil no futuro para contribuir na gestão da cultura da mandioca em diferentes condições ambientais.

Conclusões

Há diferença nas dimensões e na densidade dos estômatos em diferentes variedades de mandioca;

Apenas o diâmetro polar dos estômatos apresenta diferenças em relação às regiões da folha.

Há uma forte correlação negativa entre diâmetro equatorial e funcionalidade dos estômatos.

Agradecimentos

Os autores agradecem ao IAC pelo acesso aos genótipos de mandioca utilizados nesta pesquisa.

Referências

- ALVES, E.S.; GIUSTI, P.M.; DOMINGOS, M. Anatomic studies on *Trandescantia* hibrid clone 4430 leaves: changes caused by urban air pollution. **Revista Brasileira de Botânica** 24: 561-566, 2001.
- BARRIOS, E.P.; HERNÁNDEZ, B.C.R. Phenology, growth and response to light of *ciruelamexicana* (*Spondiaspurpurea* L., Anacardiaceae). **Economy Botany**, v. 57, n. 4, p. 481-49. 2003.
- BATISTA, L.A. et al. Anatomia foliar e potencial hídrico na tolerância de cultivares de café ao estresse hídrico. **Revista Ciência Agronômica**, v. 41, n. 03, p. 475-481, 2010.
- BOEGER, M.R.T.; WISNIEWSKI, C. Comparação da morfologia foliar de espécies arbóreas de três estádios sucessionais distintos de Floresta Ombrófila Densa (Floresta Atlântica) no sul do Brasil. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 26, n. 1, p. 61-72, 2003.
- BRASIL. Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. **Normais climatológicas de 1961-1990**. Brasília. 1992. 84p.
- CAMARGO, M.A.B.; MARENCO, R.A. Density, size and distribution of stomata in 35 rainforest tree species in Central Amazonia. **Acta Amaz.** Manaus, v. 41, n. 2. 2011.
- CASTRO, E.M.; PINTO, J.E.B.P.; MELO, H.C.; SOARES, A.M.; ALVARENGA, A.A.; LIMA, E.C. Aspectos anatômicos e fisiológicos de plantas de guaco submetidas a diferentes fotoperíodos. **Horticultura Brasileira**. 23: 846-850, 2005.
- CASTRO, E.M.; PEREIRA, F.J.; PAIVA, R. **Histologia Vegetal: estrutura e função dos órgãos vegetativos**. Lavras: UFLA, 2009. 234p.
- CERQUEIRA, Y.M. Efeito da deficiência de água na anatomia foliar de cultivares de mandioca *Manihot esculenta* Crantz. I-Densidade estomática. **Sitientibus**, n. 10, p. 103-115, 1992.
- COCK, J.H.; NESTOR, M.; EL-SHARKAWY, M.A. C3-C4 intermediate photosynthetic characteristics of cassava (*Manihot esculenta* Crantz) - II. Initial products of 14 CO₂ fixation. **Photosynthesis Research**, v. 12, p. 237-241, 1987.
- CONNOR, D.J.; PALTA, J. Response of cassava to water shortage. III. Stomatal control of plant water status. **Field Crops Res** 4: p. 297-311, 1981.
- CUTTER, E.G. Introdução: anatomia e o vegetal e a planta em crescimento. In: CUTTER, E. G. **Anatomia vegetal: parte I: células e tecidos**. São Paulo: Roca, 2002. cap.1, p.1-7.
- EL-SHARKAWY, M.A. International research on cassava photosynthesis, productivity, ecophysiology, and responses to environmental stresses in the tropics. **Photosynthetica**, v. 44, n. 04, p. 481-512, 2006.
- Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária/EMBRAPA. **Sistema Brasileiro de Classificação de Solos**. 3. ed. ver. ampl. Brasília, DF: Embrapa, 2013. 353 p.

FERREIRA, D.F. **SISVAR** - versão 4.6. Lavras: DEX/UFLA. 2004. 32p.

IBGE (2013) Sistema IBGE de Recuperação Automática: **Levantamento Sistemático da Produção Agrícola (LSPA)**. Disponível em: <<http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/prevsaf>>. Acesso em: 10 setembro. 2013.

JOHANSEN, B.A. **Plant microtechnique**. McGraw-Hill Book. New York. 1940. 523p.

KHAN, P.S.; KOZAI, T.; NGUYEN, Q.T.; KUBOTA, C.; DHAWAN, V. Growth and water relations of *Paulownia fortunei* under photomixotrophic and photoautotrophic conditions. **Biologia Plantarum**, Copenhagen, v.46, n.2, p.161-166, 2003.

LAKE, J.A.; QUICK, W.P.; BEERLING, D.J.; WOODWARD, E.I. Signals from mature to new leaves. **Nature**, vol. 411, p. 154. 2001.

MELO, H.C.; CASTRO, E.M.; ERRER, J.L.R.; ALVES, J.D.; FRIES, D.D.; MELO, L.A.; MAGALHAES, P.C. Influência da aplicação de cálcio e alagamento do solo sobre características anatômicas das folhas de milho (*Zea mays* L.) “Saracura” BRS-4154. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo** 3: 333-342, 2004.

NEJAD, A.R.; VAN MEETEREN, U. Stomatal response characteristics of *Tradescantia virginiana* grown at high relative air humidity. **Physiologia Plantarum**, 125: 324-332, 2005.

NORTH, C.A. Technique for measuring structural features of plant epidermis using cellulose acetate films. **Nature**, 178: 1186–1187, 1956.

PEARCE, D.W.; MILLARDS, S.; BRAY, D.F.; ROOD, S.B. Stomatal characteristics of riparian poplar species in a semi-arid environment. **Tree Physiology**, 26: 211-218, 2006.

SANTIAGO, E.J.A. et al. Aspectos da anatomia foliar da pimenta-longa (*Piper hispidinervium* C. DC.) sob diferentes condições de luminosidade. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 25, n. 05, p. 1035-1042, 2001.

SOUZA, G.S. et al. Estrutura foliar e de cloroplastídeos em *Mikania laevigata* Shultz Bip. ex Baker em diferentes condições de qualidade de luz. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 05. p. 78-80, 2007.

SOUZA, T.C. et al. Leaf plasticity in successive selection cycles of ‘Saracura’ maize in response to soil flooding. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília v. 45, n.1, p.16-24, 2010.

STRIKER, G.G.; INSAUSTI, P.; GRIMOLDI, A.A.; PLOCHUK, E.E.; VASELLATI, V. Physiological and anatomical basis of differential tolerance to soil flooding of *Lotus corniculatus* L. and *Lotus glaber* Mill. **Plant and Soil**, The Hague, v. 276, p. 301-311, 2005.

YORDANOVA, R.Y.; UZUNOVA, A.; POPOVA, L.P. Effects of short-term soil flooding on stomata behaviour and leaf gas exchange in barley plants. **Biologia Plantarum**, Prague, v. 49, p. 317-319, 2005.

YUKAWA, T.; ANDO, T.; KARASAWA, K.; HASHIMOTO, K. Existence of two stomatal shapes in the genus *Dendrobium* (Orchidaceae) and its systematic significance. **American Journal of Botany** 79: 946-952, 1992.