

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FFCLRP – DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA COMPARADA

**Estudo comparativo dos mecanismos de defesa contra
radicais livres em espécies arbóreas pioneiras e não
pioneiras de Mata Mesófila Semidecidual**

Viviane de Fátima Favaretto

Orientador: Carlos Alberto Martinez y Huaman

**Tese apresentada à Faculdade de
Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão
Preto da USP, como parte das
exigências para obtenção de título de
Doutor em Ciências, Área: Biologia
Comparada.**

RIBEIRÃO PRETO-SP

2009

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

Ficha Catalográfica

Favaretto, Viviane de Fátima

Estudo comparativo dos mecanismos de defesa contra radicais livres em espécies arbóreas pioneiras e não pioneiras de Mata Mesófila Semidecidual. Ribeirão Preto, 2009

189p. il., 30cm.

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências, Área de contratação: Biologia Comparada, da Faculdade de Filosofia Ciências e Letras de Ribeirão Preto-USP, 2009-01-29

Orientador: Martinez, Carlos Alberto Y Huaman

1-Enzimas antioxidativas 2-fluorescência da clorofila a 3-espécies pioneiras
4-espécies não pioneiras 5- pigmentos fotossintéticos 6-sol 7- sombra

Ofereço

*À Deus por tudo o que ele
representa em minha vida.*

*Aqueles que amam, respeitam e
defendem a natureza e a vida.*

Dedico

*Aos meus pais **Miriam e Ricardo Favaretto** por todo amor, carinho e respeito que sempre tiveram por mim e por sempre me apoiarem na realização de meus sonhos.*

*Ao meu irmão **Ricardo Junior** que sempre esteve e estará ao meu lado.*

Amo vocês

É Proibido

*É proibido chorar sem aprender,
Levantar-se um dia sem saber o que fazer
Ter medo de suas lembranças.
É proibido não rir dos problemas
Não lutar pelo que se quer,
Abandonar tudo por medo,
Não transformar sonhos em realidade.
É proibido não demonstrar amor
Fazer com que alguém pague por tuas dúvidas e mau-humor.
É proibido deixar os amigos
Chamá-los somente quando necessita deles.
É proibido não ser você mesmo diante das pessoas,
Ter medo da vida e de seus compromissos,
Não saber que cada um tem seu caminho e sua sorte.
É proibido não criar sua história,
Deixar de dar graças a Deus por sua vida,
Não ter um momento para quem necessita de você,
Não compreender que o que a vida te dá, também te tira.
É proibido não buscar a felicidade,
Não viver sua vida com uma atitude positiva,
Não pensar que podemos ser melhores,
Não sentir que sem você este mundo não seria igual.*

Pablo Neruda

AGRADECIMENTOS

Ao programa de pós-graduação em Biologia Comparada do Departamento de Biologia da Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto.

Ao CNPq pela concessão da bolsa de Doutorado

*Ao Prof. Dr. **Carlos Alberto Martinez Y Huaman** pela oportunidade, confiança e atenção concedidas durante a realização deste trabalho.*

*À Profa. Dra. **Rosa P. M. Furriel Inocentes** pelo auxílio e apoio com os experimentos das atividades enzimáticas e pela amizade.*

*Ao Prof. Dr. **Rodrigo Augusto Santinelo Pereira** pela correção de meus relatórios e sugestões para o trabalho.*

*À Profa. Dra. **Silvana Giuliatti** pelo auxílio com as análises estatísticas*

*À Prof. Dra. **Maria Helena de Souza Goldman** por disponibilizar o uso de nitrogênio líquido no laboratório de Biologia Molecular de Plantas, USP- RP.*

*À Profa. Dra. **Ana Lilian Alzate Marin** por disponibilizar o uso da microcentrífuga no laboratório de Genética Vegetal, USP-RP.*

*À secretária **Renata Cavallari** pela disponibilidade em resolver as dúvidas relacionadas ao programa de pós-graduação, pelo carinho, amizade e por todos os bolos de aniversário.*

*À grande amiga e companheira **Hilda H. Soriani**, pela indispensável ajuda prática, teórica e emocional que foram essenciais para a realização deste trabalho. Meus mais sinceros agradecimentos.*

*Aos queridos colegas de laboratório pela amizade, companheirismo e por não reclamarem muito quando eu ocupava o laboratório inteiro! À **Andressa, Dani***

e Lili pela sincera amizade, força e auxílio nos momentos de maior necessidade. Ao Eduardo pela ajuda "braçal", com as vidrarias e pelo carinho. À Jana, Zé e Lincoln, pela atenção e agradável convívio. Agora vai sobrar espaço pra todo mundo! E não vai mais ter cheiro de methionina!

*Ao jardineiro **Edilson** imensa ajuda com os plantios e pela amizade.*

Aos amigos não mencionados, são muitos, graças à Deus!!!! Da medicina, da Genética, da Ecologia, da casa da pós, da Natura, de Pontal, de Sertãozinho, que sempre tiveram muita paciência e carinho comigo, sempre me convidando para sair e descontraír mesmo sabendo que eu não iria de jeito nenhum!!! Agora podem me convidar p/ festas que eu vou! Eu juro!

*Aos meus pais **Ricardo** e **Miriam** por acreditarem, e torcerem pelo meu sucesso e pelo amor incondicional.*

À toda minha amada, unida e divertida família pelo amor, carinho, incentivo e principalmente pela paciência e compreensão nos momentos, comemorações e festinhas em que estive ausente para me dedicar a este trabalho, e foram muitas! Voltei galera! Agora é só alegria!

*À minha querida amiga **Elizabete Rosa** por sempre me ouvir nos momentos de desespero, depressão e crises existenciais, uma verdadeira terapeuta e que nunca cobrou nada, nem as contas do telefone !*

*Ao meu namorado **Rodrigo** pela imensa paciência e compreensão nesse momento tão importante e atribulado de minha vida.*

E a todos aqueles que de alguma forma contribuíram para realização deste trabalho.

Meus sinceros agradecimentos!

SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS E SIMBOLOS	6
RESUMO GERAL	8
ABSTRACT	10
APRESENTAÇÃO.....	12
CAPITULO I	14
RESUMO	15
I. INTRUDUÇÃO.....	17
1.1. Estresse abiótico e radicais livres	17
1.2. Defesas enzimáticas contra ROS	19
1.2.1. Superóxido dismutase (SOD, EC 1.15.1.1)	19
1.2.2. Catalase (CAT, EC 1.11.1.6).....	21
1.2.3. Ascorbato peroxidase (APX, EC 1.11.1.11)	22
1.2.4. Carotenóides como antioxidantes não enzimáticos.....	23
1.3. As plantas e sua resposta à radiação luminosa.....	24
II. HIPÓTESE.....	26
III. OBJETIVOS	26
VI. MATERIAL E MÉTODOS	27
4.1. Material vegetal.....	27
4.1.1. Descrição do material vegetal	30
4.1.1.1. <i>Cecropia pachystachya</i> Trec.....	30
4.1.1.2. <i>Croton floribundus</i> Spreng	30
4.1.1.3. <i>Croton urucurana</i> Baill.....	30
4.1.1.4. <i>Schinus terebinthifolius</i> Raddi	31
4.1.1.5. <i>Cariniana legalis</i> (Mart.) Kuntze	31
4.1.1.6. <i>Esenbeckia leiocarpa</i> Engl	31

4.1.1.7. <i>Hymenaea courbaril</i> L. var. <i>stilbocarpa</i> (Hayme) Lee et Lang	32
4.1.1.8. <i>Tabebuia roseo-alba</i> (Ridl.) Sand	32
4.2. Plantio e condições de crescimento.....	33
4.3. Condições micro-meteorológicas.....	35
4.4. Avaliações.....	36
4.4.1. Fluorescência da clorofila	36
4.4.2. Determinação dos pigmentos fotossintéticos: Clorofilas/Carotenóides.....	37
4.4.3. Extração enzimática	38
4.4.4. Superóxido Dismutase	38
4.4.5. Catalase	39
4.4.6. Ascorbato Peroxidase	39
4.4.7. Quantificação de proteínas.....	39
4.5. Análise estatística.....	40
V. RESULTADOS.....	41
5.1 Fluorescência da clorofila	41
5.1.1. Valores de F_0	41
5.1.2. Razão F_v/F_m	43
5.1.3. Razão FV/F_0	46
5.2 Pigmentos fotossintéticos	49
5.2.1. Clorofila total.....	49
5.2.2. Razão Clorofila <i>a</i> /clorofila <i>b</i>	51
5.2.3. Razão carotenóides/clorofila total.....	53
5.3. Atividade das enzimas antioxidantes e proteína total	57
5.3.1. Superóxido Dismutase (SOD)	57
5.3.2. Catalase (CAT).....	59
5.3.3. Ascorbato Peroxidase (APX).....	62
5.3.4. Proteína total	64
VI. DISCUSSÃO	68
VII. CONCLUSÕES	78
VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	80

CAPÍTULO II	93
RESUMO	94
I. INTRUDUÇÃO	96
II. OBJETIVOS	99
III. HIPÓTESE	99
IV. MATERIAL E MÉTODOS	100
4.1. Material vegetal	100
4.2. Condições de crescimento	100
4.3. Condições micro-meteorológicas	101
4.4. Avaliações	102
4.4.1. Fluorescência da clorofila	102
4.4.2. Conteúdo Relativo de água	103
4.4.3. Determinação dos pigmentos fotossintéticos:	
Clorofilas/Carotenóides	103
4.4.4. Extração enzimática	103
4.4.5. Superóxido Dismutase (SOD; EC 1.15.1.1)	104
4.4.6. Catalase (CAT; EC 1.11.1.11)	104
4.4.7. Ascorbato Peroxidase (APX; EC 1.11.1.11)	104
4.4.8. Quantificação de proteínas	104
4.4.9. Análise estatística	104
V. RESULTADOS	105
5.1. Umidade do solo	105
5.2. Conteúdo relativo de água	105
5.3. Fluorescência da clorofila	108
5.3.1. Valores de F_0	108
5.3.2. Razão F_v/F_m	108
5.3.3. Razão F_v/F_0	111
5.4. Pigmentos fotossintéticos	115
5.4.1. Clorofila total	115
5.4.2. Razão clorofila <i>a</i> /clorofila <i>b</i>	115
5.4.3. Razão carotenóides/clorofila total	118
5.5. Atividade das enzimas antioxidantes e proteína total	122

5.5.1. Superóxido dismutase (SOD).....	122
5.5.2. Catalase (CAT).....	122
5.5.3. Ascorbato peroxidase (APX)	125
5.5.4. Proteína total	127
VI. DISCUSSÃO	131
VII. CONCLUSÕES	136
VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	137
<i>CAPÍTULO III</i>	142
RESUMO	143
I. INTRUDUÇÃO.....	144
II. HIPÓTESE.....	147
III. OBJETIVO.....	147
IV. MATERIAL E MÉTODOS	148
4.1. Material vegetal.....	148
4.2. Condições de crescimento.....	148
4.3 Modificações morfológicas de crescimento.....	149
4.4. Área foliar específica	149
4.5. Massa seca e partição de biomassa.....	149
4.6. Análise estatística	150
V. RESULTADOS.....	151
5.1. Crescimento em altura, diâmetro do caule, número de folhas e área foliar específica.....	151
5.1.1. Incremento na altura.....	151
5.1.2. Incremento no diâmetro do caule	153
5.1.3. Incremento no número de folhas	155
5.1.4. Área foliar específica (AFE).....	157
5.2. Massa seca	161
5.2.1. Massa seca total (MST).....	161
5.2.2. Massa seca de raízes (MSR)	161
5.2.3. Massa seca de caule (MSC).....	164
5.2.4. Massa seca de pecíolos (MSP).....	164

5.2.5. Massa seca do limbo (MSL)	167
5.2.6. Massa seca raiz/parte aérea (MSR/MSA)	169
5.2.7. Massa seca entre os grupos sucessionais	171
5.3. Partição de biomassa	174
VI. DISCUSSÃO	179
VII. CONCLUSÕES.....	183
VIII. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	184
IX. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	186

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

AFE	Área foliar específica
AOX	Ascorbato oxidase
APX	Ascorbato peroxidase
C.f.	<i>Croton floribundus</i>
C.l	<i>Cariniana legalis</i>
C.p	<i>Cecropia pachystachya</i>
C.u.	<i>Croton urucurana</i>
Car/Clor	Carotenóides/clorofila total
CAT	Catalase
CC	Capacidade de campo
CC ₁₀₀	100% da capacidade de campo
CC ₅₀	50% da capacidade de campo
Clor total	Clorofila total
Clor <i>a</i>	Clorofila <i>a</i>
Clor <i>b</i>	Clorofila <i>b</i>
CRA	Conteúdo relativo de água
CTC	Capacidade de troca catiônica
DTT	Dithiothreitol
E.l	<i>Esenbeckia leiocarpa</i>
EDTA	Ácido etilenodiaminotetracético
F ₀	Fluorescência inicial
FFFA	Fluxo de fótons fotossinteticamente ativos
F _m	Fluorescência máxima
F _v	Fluorescência variável
F _v /F ₀	Fluorescência variável/Fluorescência inicial
F _v /F _m	Eficiência quântica máxima do fotossistema II
H ₂ O ₂	Peróxido de hidrogênio
Hc	<i>Hymenaea courbaril</i>
MO	Matéria orgânica
MSC	Massa seca de caules
MSL	Massa seca de limbos
MSP	Massa seca de pecíolos

MSR	Massa seca de raízes
MSR/MSA	Massa seca de raízes/massa seca aérea
MST	Massa seca total
N-P-K	Adubo nitrogênio/fósforo/potássio
NBT	Nitro blue tetrazolium
O ₂	Oxigênio molecular
O ₂ ^{•-}	Radical superóxido
OH [•]	Radical hidroxila
PSII	Fotossistema II
PVPP	Polivinil polipirrolidona
RFA	Radiação fotossinteticamente ativa
RFA	Radiação fotossinteticamente ativa
ROS	Espécies reativas de oxigênio
S.t	<i>Schinus terebinthifolius</i>
SOD	Superóxido dismutase
T.ra	<i>Tabebuia roseo-alba</i>
¹ O ₂	Oxigênio singleto

RESUMO GERAL

Para investigar a capacidade adaptativa de espécies arbóreas tropicais de sucessão inicial (pioneiras) e de espécies de sucessão tardia (não pioneiras) a ambientes de alta radiação como os encontrados em áreas do reflorestamento, foi examinada a atividade das enzimas antioxidativas, Superóxido Dismutase (SOD; EC 1.15.1.1), Catalase (CAT; EC 1.11.1.11), Ascorbato Peroxidase (APX; EC 1.11.1.11), em relação a variações da fluorescência da clorofila *a*, concentração de pigmentos fotossintéticos e crescimento em oito espécies arbóreas jovens, crescidas sob duas condições contrastantes de luminosidade: 10% e 100% de fluxo de fótons fotossinteticamente ativos (FFFA), sob duas condições hídricas do solo, 100% da capacidade de campo (CC₁₀₀) e 50% da capacidade de campo (CC₅₀). As avaliações foram realizadas em dois horários, 06:00 e 13:00h a fim de avaliar as respostas bioquímicas e a capacidade de tolerância destas espécies pertencentes a grupos sucessionais diferentes ao FFFA que pode gerar estresse oxidativo. Em condições de alto FFFA, o declínio da relação fluorescência variável/ fluorescência máxima (Fv/Fm), que expressa a eficiência fotoquímica máxima do fotossistema II, foi maior nas espécies não pioneiras em comparação às pioneiras. A atividade de SOD foi significativamente maior nas plantas crescidas sob pleno sol em todas as espécies (a exceção de *C. legalis*) e também em média nas espécies pioneiras em relação às espécies não pioneiras, nas plantas crescidas sob pleno sol. A atividade de CAT foi significativamente menor nas plantas sob pleno sol, comparadas às plantas crescidas na sombra. A atividade de CAT foi em média maior entre as espécies pioneiras do que entre as espécies não pioneiras. No entanto, alterações significativas na atividade da APX em função do tratamento luminoso não foram

observadas. O conteúdo de clorofila total foi significativamente maior nas plantas sob condição de sombra em todas as espécies avaliadas. Nas espécies pioneiras, a relação clorofila *a*/clorofila *b* foi maior nas plantas sob pleno sol. Todas as espécies tiveram maiores valores da razão carotenóides/clorofila total nas plantas mantidas sob alta radiação, do que nas plantas mantidas na sombra. Neste trabalho, a hipótese de que as espécies pioneiras teriam melhor resposta em situação de provável formação de radicais livres, sob alta radiação, do que as espécies não pioneiras foi confirmada. A confirmação da hipótese se deu pelo fato das espécies pioneiras apresentarem maior eficiência quântica máxima do fotossistema II, evidenciada pelos maiores valores da razão F_v/F_m e pela maior atividade das enzimas antioxidantes SOD e CAT, do que as espécies não pioneiras, em situação de alta radiação. Nas espécies pioneiras crescidas sob ambiente de alta radiação solar foi determinada boa performance de crescimento e ganho de biomassa, quando comparadas com as não pioneiras. A deficiência hídrica aplicada não foi suficientemente severa como para induzir alterações significativas nos parâmetros bioquímicos e fisiológicos analisados. A menor predisposição à fotoinibição das espécies pioneiras, provavelmente seja devido a sua maior capacidade fotossintética, como determinado previamente em outro estudo.

Palavras-chave: Enzimas antioxidativas, fluorescência da clorofila *a*, espécies pioneiras, espécies não pioneiras, pigmentos fotossintéticos, sol, sombra.

ABSTRACT

To investigate the adaptive capacity of pioneer and late-succession (non pioneer) species to a strong light environment when used in reforestation areas, we examined the activity of antioxidant enzymes in relation to photosystem II chlorophyll *a* fluorescence, the photosynthetic pigment concentration and growth for eight tropical tree species grown under 100% (sun) and 10% (shade) sunlight irradiation in interaction with slight water deficit (50% water field capacity versus 100% water field capacity). The pioneer (early succession) species (PS) were *Cecropia pachystachya* Trécul, *Croton floribundus* Spreng, *Croton urucurana* Baill., and *Schinus terebinthifolius* Raddi). The non pioneer species were *Cariniana legalis* (Mart.) Kuntze., *Esenbeckia leiocarpa* Engl., *Hymenaea courbaril* L. var. *stilbocarpa* (Hayme) Y.T.Lee & Langenh. and *Tabebuia roseo-alba*(Ridl.) Sand. The decline of the ratio of variable to maximum chlorophyll *a* fluorescence (F_v/F_m) under full sunlight irradiation was much stronger in late-succession species than in pioneer-species. In both pioneer and late-succession species, chlorophyll *a*, chlorophyll *b*, and total chlorophyll were higher in the shade, whereas the carotenoids/total chlorophyll ratio was higher under high sunlight irradiation. The better performance of pioneer species under high sunlight was accompanied by increased superoxide dismutase (SOD, EC 1.15.1.1) activity, but light-dependent increases in the activity of ascorbate peroxidase (APX, EC 1.11.1.11) were not observed. The activity of catalase (CAT, EC 1.11.1.6) was reduced by the effect of high irradiation, but higher CAT activity was observed in both pioneer when compared to late successional species. The water deficit applied was not too severe to induce significant biochemical or physiological responses in both pioneer and non-pioneer species. Our results demonstrate a better performance of pioneer species under high sunlight irradiation as compared

with late-succession species, manifested by increased SOD activity, higher F_v/F_m and growth in pioneer species and suggesting a superior potential for tolerance to photo-oxidative damage in pioneer plants as compared to late-succession species. Reduced photoinhibition in pioneer species probably results from its higher photosynthetic capacities, as observed in a previous survey.

Keywords: Antioxidant enzymes; Chlorophyll fluorescence; Late-succession species; Pioneer species; Photosynthetic pigments; Sun and shade

APRESENTAÇÃO

Os ecossistemas florestais cobrem aproximadamente 45% da superfície terrestre, respondem por quase 75% da produtividade primária líquida terrestre e, contém aproximadamente 60% de todo o carbono armazenado na biosfera, constituindo o maior reservatório de carbono do planeta. Calcula-se que mais de 85% do carbono total das plantas e entre 60-70% do total de carbono do solo está contido nas florestas. Por tanto, no contexto atual dos problemas das mudanças climáticas, causados pelo incremento de gases de efeito estufa, há um grande potencial das florestas exercerem um significativo impacto sobre o balanço global de carbono ao agirem como seqüestradoras do CO₂. No entanto, apesar da vasta pesquisa realizada em espécies florestais em regiões temperadas, ainda pouco se conhece sobre o comportamento ecofisiológico de espécies florestais nativas de regiões tropicais. Em face disso, torna-se imperativo elucidar como as plantas de florestas tropicais, especialmente aquelas com grande potencial para reflorestamento ou revegetação, respondem aos fatores ambientais como radiação, temperatura, disponibilidade de água, entre outros, que freqüentemente se tornam adversos gerando estresse abiótico. As informações fisiológicas, bioquímicas e de crescimento das espécies florestais sob diferentes condições de crescimento, servirão, ao final, para incrementar a efetividade dos modelos de predição dos efeitos da mudança global sobre ecossistemas florestais nos países tropicais como o Brasil.

Em virtude da urgente necessidade de caracterizar as respostas das espécies arbóreas tropicais às mudanças climáticas, neste projeto de pesquisa foi proposto avaliar o comportamento fisiológico e bioquímico de oito espécies arbóreas jovens de mata mesófila semidecidual, entre as quais foram selecionadas quatro espécies de sucessão inicial (pioneiras) e quatro espécies de sucessão tardia (não pioneiras). Em particular, para estabelecer as hipóteses de trabalho foram realizadas as seguintes perguntas:

1. Existe alguma relação entre característica sucessional e tolerância ou sensibilidade a fatores abióticos como radiação e disponibilidade hídrica que possam ser identificados fisiológica ou bioquimicamente?

2. Plantas com características sucesionais iniciais como as pioneiras são mais tolerantes a fatores ambientais adversos que plantas de sucessão tardia como as climácicas (não pioneiras)?
3. As avaliações bioquímicas e fisiológicas poderiam servir como critérios para caracterizar o comportamento eco-fisiológico das espécies em estudo?

Os resultados de esta Tese serão apresentados em três capítulos. No primeiro, serão mostrados os resultados de experimento realizado para determinar os efeitos de duas condições contrastantes de radiação, sol e sombra (100% e 10 % de fluxo de fótons fotossinteticamente ativos, FFFA, respectivamente), sobre a atividade das enzimas antioxidativas SOD, CAT e APX, bem como de seus efeitos sobre a concentração dos pigmentos fotossintéticos e sobre a fluorescência da clorofila **a**.

No segundo capítulo serão apresentados os resultados de experimento realizado para determinar os efeitos combinados de duas condições de radiação, sol (100% radiação solar) e sombra (10% radiação solar) e da redução da disponibilidade hídrica sobre os parâmetros analisados no capítulo I.

No terceiro capítulo serão apresentados os resultados da avaliação do crescimento e partição da biomassa em plantas crescidas sobre duas condições contrastantes de radiação.

Capítulo I

Resposta antioxidativa em espécies arbóreas
jovens pioneiras e não pioneiras crescidas
sob duas condições contrastantes de
luminosidade

RESUMO

Com o objetivo de determinar possíveis associações entre classe successional e respostas antioxidativas, mudas de oito espécies arbóreas nativas de Mata Mesófila Semidecidual, quatro espécies pioneiras (*Cecropia pachystachya*, *Croton urucurana*, *Croton floribundus* e *Schinus terebinthifolius*) e quatro espécies não pioneiras (*Cariniana legalis*, *Tabebuia roseo-alba*, *Esenbeckia leiocarpa* e *Hymenaea courbaril*) foram plantadas sob duas condições contrastantes de luminosidade, 10% e 100% de fluxo de fótons fotossinteticamente ativos (FFFA). Foram determinadas as atividades das enzimas antioxidativas Superóxido Dismutase (SOD; EC 1.15.1.1), Catalase (CAT; EC 1.11.1.11), Ascorbato Peroxidase (APX; EC 1.11.1.11), o conteúdo dos pigmentos fotossintéticos clorofilas e carotenóides e a eficiência fotossintética máxima, expressa pela razão fluorescência variável/ fluorescência máxima (Fv/Fm) em dois horários, 06:00 e 13:00h a fim de avaliar as respostas bioquímicas e a capacidade de tolerância destas espécies pertencentes a grupos sucessionais diferentes ao FFFA que pode gerar estresse oxidativo. A atividade de SOD foi significativamente maior nas plantas crescidas sob pleno sol em todas as espécies (a exceção de *C. legalis*) e também em média nas espécies pioneiras em relação às espécies não pioneiras nas plantas crescidas sob pleno sol. A atividade de CAT foi significativamente menor nas plantas sob pleno sol, comparadas às plantas crescidas na sombra. A atividade de CAT foi em média maior entre nas espécies pioneiras do que nas espécies não pioneiras. Entre as espécies pioneiras, a atividade de APX não apresentou diferença significativa tanto entre os tratamentos de luz quanto do horário de avaliação. As espécies não pioneiras tiveram em média maior atividade de APX do que as espécies pioneiras. O conteúdo de clorofila total foi significativamente maior nas plantas sob condição de sombra em todas as espécies e as espécies pioneiras tiveram maiores valores destes pigmentos que espécies não pioneiras. A relação clorofila *a*/clorofila *b* foi em média maior nas plantas sob pleno sol nas espécies pioneiras. Nas espécies não pioneiras, essa razão foi maior nas plantas sob sombreamento. Todas as espécies tiveram maiores valores da razão carotenóides/clorofila total nas plantas mantidas sob alta radiação do que nas plantas sob sombra. Maiores valores médios dessa razão foram encontrados nas

espécies não pioneiras crescidas sob pleno sol. Os valores da razão F_v/F_m mostraram que nenhuma das espécies pioneiras sofreu fotoinibição, porém o mesmo não ocorreu com espécies não pioneiras como *C. legalis*. Em geral, entre as espécies pioneiras não foram observadas diferenças significativas da atividade das enzimas antioxidativas em função do horário de medição. Entretanto, nas espécies não pioneiras diferenças nas atividades enzimáticas entre os horários foram encontradas em algumas espécies. Os resultados mostram uma melhor performance de espécies pioneiras sobre alto FFFA quando comparado com espécies sucessionais tardias, não pioneiras, manifestada pela baixa sensibilidade à fotoinibição e maior atividade de SOD. Além do aumento na atividade da SOD, o padrão de aclimação a alta radiação esteve associada à manutenção da eficiência fotoquímica máxima do PSII e à atividade de CAT.

I. INTRODUÇÃO

1.1. Estresse abiótico e radicais livres.

Em condições naturais as plantas estão freqüentemente expostas a estresses ambientais (abióticos) que podem prejudicar seu desenvolvimento. O estresse pode ser definido como um desvio significativo das condições ótimas para a vida e que induz respostas e mudanças em todos os níveis do organismo (Larcher, 2000). Após o reconhecimento do estresse pelas plantas, são emitidos sinais que resultam em alteração da expressão genética nas células o que pode influenciar o metabolismo e o desenvolvimento de toda a planta (Bray *et al.*, 2000).

O conceito de estresse está intimamente relacionado ao de tolerância ao estresse, que é a aptidão da planta para enfrentar um ambiente desfavorável. Se a tolerância aumenta como consequência de exposição anterior ao estresse, diz-se que a planta está aclimatada (Taiz e Zeiger, 2004). Um número cada vez maior de evidências sugere que muitos dos estresses ambientais causam danos diretamente ou indiretamente através da formação de espécies reativas de oxigênio (ROS) a partir do sistema de transporte dos elétrons (Smirnoff, 1993; Bray *et al.*, 2000).

O oxigênio atmosférico tem sido reconhecido a mais de 100 anos como o principal agente responsável pela deterioração de materiais orgânicos expostos ao ar. O papel paralelo do oxigênio, uma molécula essencial para a respiração de muitas formas de vida, como um agente destrutivo (tóxico) para tecidos vivos tem sido descoberto nas últimas décadas (Larson, 1988). O oxigênio necessita de quatro elétrons para sua redução completa, tendo como produto final uma molécula de água, porém, quando a redução da molécula de oxigênio acontece em etapas univalentes, geram-se vários intermediários os quais são reativos. As ROS que se formam como consequências da redução do oxigênio são o radical superóxido ($O_2^{\bullet-}$), peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e o radical hidroxila (OH^{\bullet}), os quais em conjunto com o oxigênio singleto (1O_2), que se forma no processo fotoquímico da fotossíntese, constituem as formas biológicas mais importantes de ROS.

ROS podem ser referidas como radicais livres os quais são definidos como moléculas ou fragmentos moleculares que possuem um elétron não pareado. Desta forma, um radical livre tem a capacidade de subtrair um elétron de uma molécula

próxima a ele, o que causa a formação de outro radical livre, provocando assim uma reação em cadeia (Slater, 1984). Os radicais livres podem ser formados (1) através da absorção de radiação: ionizante, UV, visível ou térmica, ou (2) por reações redox como reações de transferência de elétrons não enzimáticas, reações catalisadas por metais ou processos catalisados por enzimas. Esses radicais, geralmente são do tipo oxirradicais e são altamente tóxicos e o estresse oxidativo resultante de sua ação é um fenômeno muito comum nos sistemas biológicos (Monk *et al.*, 1989).

As ROS são extremamente citotóxicas para todos os organismos, pois inativa enzimas e provocam importantes danos nas células. São também responsáveis pelo início da peroxidação de lipídios e produzem radicais peroxilipídios e hidroperoxilipídios, que por sua vez são também muito reativos. A peroxidação dos lipídios do plasmalema provoca perda de eletrólitos e outros componentes celulares, rápida dessecação e morte celular (Benson, 1990). As ROS têm importante papel na ativação de endonucleases, enzimas que causam danos ao DNA (Hagar *et al.*, 1996). Radicais hidroxilas podem causar danos a todas as classes de macromoléculas biologicamente importantes, especialmente aos ácidos nucléicos. Estudos extensivos com sistemas modelos, e com materiais biológicos *in vitro*, têm mostrado claramente que as ROS são capazes de produzir modificações químicas e danos em proteínas, lipídeos, carboidratos e nucleotídeos. Por isso, se ROS são produzidos *in vivo*, ou em células *in vitro*, em quantias suficientes que superam os mecanismos protetores normalmente eficientes, pode-se esperar que ocorram distúrbios metabólicos e celulares de vários tipos (Slater, 1984).

Se as ROS formadas dentro das células podem provocar diversidade tão ampla de reações que danificam estas severamente, pode ser perguntado como as células fazem para sobreviver a tudo isto? A resposta é que normalmente as células possuem mecanismos protetores de vários tipos, os quais são muito eficientes (Slater, 1984). Pelo fato de viver em um ambiente altamente oxidativo, os organismos aeróbicos desenvolveram mecanismos enzimáticos e não-enzimáticos para proteger suas células dos efeitos tóxicos das ROS. Os antioxidantes não enzimáticos são, geralmente, moléculas pequenas. Dentre estas substâncias se incluem glutatona, cisteína, hidroquinonas, manitol, vitamina C, vitamina E, flavonóides e alguns alcalóides e carotenóides (Demmig-Adams e Adams, 1992; Larson, 1988). As defesas enzimáticas incluem a atividade da catalase, da ascorbato peroxidase, da superóxide dismutase, da monodeidroascorbato-redutase,

da deidroascorbato redutase e da glutathione redutase (Foyer *et al.*, 1994). Os carotenóides, que são componentes essenciais das membranas dos tilacóides, podem eliminar eficientemente o oxigênio singlete (Knox e Dodge, 1985). A vitamina C (ascorbato) e a vitamina E (α -tocoferol) podem eliminar radicais hidroxila, oxigênio singlete e superóxido. A glutathione atua como um redutor, em virtude de seu grupo dissulfeto, para proteger grupos tioles em enzimas, bem como regenerar ascorbato e reagir com o oxigênio singlete e radicais hidroxilas (Foyer *et al.*, 1994).

1.2. Defesas enzimáticas contra ROS

1.2.1. Superóxido dismutase (SOD, EC 1.15.1.1)

As enzimas superóxido dismutases (SODs) compreendem uma família de metaloenzimas. Estas enzimas catalisam com grande eficiência a transformação do radical superóxido ($O_2^{\bullet-}$) em peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e oxigênio (O_2) (Smirnov, 1993) e são consideradas a primeira linha de defesa contra $O_2^{\bullet-}$. Portanto esta enzima determina a concentração de $O_2^{\bullet-}$ e H_2O_2 na célula tornando-a central no mecanismo de defesa antioxidante (León *et al.*, 2002).



O $O_2^{\bullet-}$ é produzido em locais onde existe um canal de transporte de elétrons e, portanto a ativação do oxigênio pode ocorrer em diferentes compartimentos da célula (Eltner, 1991) incluindo mitocôndrias, cloroplastos, microsomos, glioxissomos, peroxissomos, apoplasto e citosol. Sendo este o caso, não é surpresa supor que as SODs estão presentes em todas as localizações subcelulares. Enquanto todos os compartimentos das células são locais possíveis para formação de $O_2^{\bullet-}$, cloroplastos, mitocôndrias e peroxissomos são supostos a serem os mais importantes geradores de $O_2^{\bullet-}$ (Fridovich, 1986).

A função catalítica da enzima SOD foi descoberta por McCord e Fridovich (1969). Baseado sobre o metal co-fator usado pela enzima, até então, tem sido identificado três tipos distintos de isoenzimas de SODs, em uma ampla faixa de organismos animais e vegetais: a SOD que contém cobre e zinco (Cu/Zn-SOD), a

SOD que contem manganês (Mn-SOD) e a SOD que contem ferro (Fe-SOD). Com poucas exceções, a Cu/Zn-SOD é encontrada no citossol e cloroplastos, a Mn-SOD na matriz mitocondrial e a Fe-SOD, geralmente, em cloroplastos (Scandalios, 1993). A sensibilidade a diferentes inibidores é utilizada para identificar tais isoenzimas. A Cu/Zn-SOD é inativada pelo cianeto e a Fe-SOD, pelo peróxido de hidrogênio, enquanto a Mn-SOD é resistente a ambos os inibidores (Baum e Scandalios, 1979).

Existem dois tipos distintos de Fe-SOD. O primeiro grupo é um homodímero formado de duas subunidades protéicas idênticas de 20 KDa. O segundo grupo de Fe-SOD, achado na maioria das plantas é um tetrâmero de quatro subunidades iguais com peso molecular de 80-90 KDa (Alsher *et al.*, 2002). A Mn-SOD é uma enzima homodimérica ou homotretamérica (Bowler *et al.*, 1994) e seu peso molecular é 96 kDa (Matés, 2000). As Cu/Zn-SODs são encontradas em todas as células das plantas. Existem dois grupos diferentes de Cu/Zn-SODs. O primeiro grupo consiste das formas citoplasmáticas e periplásmicas, que são homodímeros. O segundo grupo compreende Cu/Zn-SOD cloroplástica e extracelular que são homotetraméricas (Bordo *et al.*, 1994). As Fe-SODs e Mn-SODs estão presentes em ambos os organismos eucariontes e procariontes enquanto Cu/Zn-SODs tem sido achado principalmente em eucariotos (Alscher *et al.*, 2002).

Desde que se descobriu que as ROS são produzidas em diversas situações de estresses bióticos e abióticos, o papel da SOD em plantas submetidas a estresse ambiental tem recebido muita atenção (Bowler *et al.*, 1994). A atividade desta enzima está também ligada com a atividade de catalase (CAT) e peroxidases já que sua ação resulta na formação de H₂O₂.

1.2.2. Catalase (CAT, EC 1.11.1.6)

A metaloenzima catalase (CAT) é uma das mais eficientes proteínas catalíticas conhecidas. Ela reage diretamente com o peróxido de hidrogênio (H₂O₂) para formar água (H₂O) e oxigênio (O₂) (Smirnoff, 1993).



A CAT foi descrita em 1901 por Loew (Frugoli *et al.*, 1996). Trata-se de uma enzima tetramérica que possui grupos heme sendo encontrada em todos os organismos vivos. Foi proposto por vários pesquisadores que a CAT desempenha um papel fundamental nos sistemas que possibilitam os organismos a viverem em ambientes aeróbicos (Mallick e Mohn, 2000). As CATs podem ser divididas em três classes: CATs da classe 1 removem o H₂O₂ produzido durante a fotorrespiração em tecidos fotossintéticos; CATs da classe 2 são produzidos em tecidos vasculares e podem exercer uma função de lignificação, mas sua exata função biológica permanece desconhecida; na classe 3 estão as CATs presentes abundantemente em sementes de plantas jovens, e cuja atividade está relacionada à remoção do H₂O₂ produzido durante a degradação dos ácidos graxos no glioxissoma (Breusegem *et al.*, 2001).

O peróxido de hidrogênio, por si só, não é particularmente reativo com a maioria das moléculas biologicamente importantes, mas provavelmente ele é um precursor intracelular para outros oxidantes reativos assim como o OH[•]. Devido ao seu alto Km, a CAT supostamente decompõe quantias volumosas de H₂O₂ geradas em peroxissomos, enquanto que a ascorbato peroxidase (APX), que reduz H₂O₂ para água usando o ascorbato como doador de elétrons, dissipa o H₂O₂ que é inacessível para CAT (Miyake e Asada, 1992). As isoformas desta enzima são particularmente abundantes nos glioxissomos e nos peroxissomos (Havir e McHale, 1987). Segundo Willekens *et al.*, (1995), a ausência da atividade de CAT nas plantas as tornam mais sensíveis a uma variedade de estresses.

1.2.3. Ascorbato peroxidase (APX, EC 1.11.1.11)

Ascorbato peroxidase (APX) é uma enzima que degrada peróxido de hidrogênio (H₂O₂), encontrada em plantas superiores, algas e algumas cianobactérias (Asada, 1992). A APX catalisa a reação:



A enzima APX tem sido identificada em muitas plantas superiores e compreende uma família de isoenzimas com diferentes características. Isoenzimas de APX estão distribuídas em pelo menos quatro compartimentos celulares distintos: APX estromal (sAPX), APX aderida na membrana do tilacóide (tAPX) em cloroplastos, nos microcorpos (incluindo glioxissomo e peroxissomo), APX aderida na membrana (mAPX), e APX citosólico (cAPX) (Miyake *et al.*, 1993, Ishikawa *et al.*, 1998). Uma quinta isoforma de APX ocorre em uma forma aderida à membrana mitocondrial (mitAPX) (Jiménez *et al.*, 1997, Leonardis *et al.*, 2000). As várias isoformas da APX respondem diferencialmente a sinais metabólicos e ambientais (Kubo *et al.*, 1995)

O ascorbato é um composto vegetal chave envolvido na defesa contra danos oxidativos e fotooxidativos, através de sua ação como substrato para a degradação do H₂O₂ pela ascorbato peroxidase (Asada, 1992). A regeneração do ascorbato do monodehidroascorbato produzido pela ação da APX ocorre através de uma série de reações conhecidas como ciclo glutationa-ascorbato (Noctor e Foyer, 1998).

Segundo Pastori e Trippi (1992) a atividade de APX aumenta com atividades de outras enzimas antioxidantes como a CAT, SOD e glutationa redutase em resposta a vários fatores de estresse ambiental, sugerindo que os componentes de sistemas dissipadores de ROS são co-regulados. A APX está relacionada ao combate do estresse oxidativo gerado em compartimentos que não possuem CAT, como os cloroplastos (Neill *et al.*, 2002).

1.2.4. Carotenóides como antioxidantes não enzimáticos

Os carotenóides (carotenos e xantofilas) são moléculas lipofílicas de pigmentos presentes nos organismos fotossintéticos e são amplamente distribuídos na natureza. Tem função na captação de luz e na proteção do aparelho fotossintético contra fotodestruição sob altas irradiâncias (Bartley e Scolnik, 1995).

O centro de reação do PSII possui moléculas de β -caroteno que captam a luz em comprimentos de onda de 489 nm, 507 nm e 467 nm. Após a absorção, elas transferem a energia de excitação para a clorofila *a*. Desta maneira, as moléculas de β -caroteno também protegem o centro de reação da clorofila de danos sob alta irradiância (De Las Rivas *et al.*, 1993, Telfer *et al.*, 1994). Além disso, o β -caroteno tem função protetora contra os danos oxidativos por ser muito eficaz na dissipação do oxigênio singlete (Foot *et al.*, 1970). É necessária uma quantidade relativamente baixa de β -caroteno para que a membrana lipídica seja eficientemente protegida contra reações de $^1\text{O}_2$ que conduzem a peroxidação (Larson, 1988).

A principal função dos pigmentos do ciclo das xantofilas (zeaxantina, anteraxantina e violaxantina) nos cloroplastos é a dissipação do excesso de energia de excitação como calor no PSII e proteger assim os cloroplastos do estresse causado por alta irradiância (Bukhov *et al.*, 2001, Grudziński *et al.*, 2001). O requerimento básico para a operação do ciclo das xantofilas é a indução de pH ácido no lúmen do tilacóide. O ciclo basicamente envolve a interconversão de violaxantina em zeaxantina através da formação do intermediário anteraxantina. As enzimas envolvidas neste processo são a violaxantina deepoxidase e a zeaxantina epoxidase. No lúmen, sob pH de 5.2, a enzima violaxantina deepoxidase é responsável pela conversão de violaxantina em zeaxantina induzida por alta irradiância. E no estroma, sob pH 7.5, a atividade de zeaxantina epoxidase catalisa a formação de violaxantina a partir de zeaxantina. Pela conversão de violaxantina em zeaxantina, o excesso de energia absorvido na antena de PSII é finalmente dissipado como calor (Demming-Adams, 1990).

1.3. As plantas e sua resposta à radiação luminosa

Da radiação solar absorvida pelas folhas (Fluxo de fótons fotossinteticamente ativos, FFFA), parte é utilizada nos eventos fotoquímicos da fotossíntese. A outra parte pode seguir ainda duas outras vias energéticas: pode ser dissipada na forma de calor ou pode ser re-emitida para o ambiente na forma de luz. Esta re-emissão de radiação recebe o nome de fluorescência (Krause e Weis, 1991).

A capacidade fotossintética de uma planta pode ser severamente reduzida quando exposta a níveis de radiação que excedem aos requeridos para saturar a fotossíntese e a fotorrespiração (Critchley, 1998). Esse fenômeno denominado fotoinibição, ou inibição da fotossíntese por excessiva luz é um estresse luminoso que recebeu anteriormente outras denominações como fotoativação, fotooxidação, fotolabilidade e solarização (Powles, 1984). A fotoinibição, apesar de ser um processo reversível, pode danificar o aparelho fotossintético, porque é seguida de destruição de proteínas, degradação de pigmentos e incremento da peroxidação de lipídios devido à formação de ROS (Choudhury e Behera, 2001). Como resultado da fotoinibição, há um aumento na dissipação de calor e na emissão de fluorescência pelas folhas das plantas. A dissipação de calor, que funciona como mecanismo protetor da fotoinibição, é promovida principalmente por carotenóides. Estes pigmentos evitam que as moléculas de clorofila (pigmentos bastante sensíveis à fotoinibição) sofram ataque oxidativo, produto do estresse luminoso (Sandmann e Scheer, 1998). Portanto, mudanças nas concentrações de clorofilas e de carotenóides, bem como a razão entre eles são bons indicadores de estresses ambientais (Hendry e Price, 1993).

Por intermédio da técnica da fluorescência da clorofila *a*, tem sido comprovado que o principal alvo do dano fotoinibitório é o Fotossistema II (PSII), verificando-se um declínio na eficiência potencial do PSII e decréscimo da capacidade fotossintética máxima (Barber, 1992). A intensidade do dano fotoinibitório depende de fatores como a espécie, o estado fisiológico da planta, o tempo de exposição e da interação com outros estresses abióticos (Crichley, 1998). A magnitude dos efeitos fotoinibitórios também depende dos mecanismos protetores e dos processos que permitem o reparo e a reversibilidade do dano (Aro *et al*, 1993; Choudhury e Behera, 2001). Dado que as plantas se ajustam as mudanças prevaletentes nos níveis de radiação, no intento de otimizar e preservar o

funcionamento do aparelho fotossintético, um balanço preciso entre a radiação absorvida para fotossíntese e os mecanismos de dissipação do excesso de energia potencialmente danoso pode ser crítico para o sucesso em ambientes abertos.

Nos trópicos, as plantas freqüentemente sofrem fotoinibição porque ficam expostas a altos níveis de radiação solar, incluindo radiação ultravioleta. As espécies pioneiras de florestas tropicais normalmente apresentam maior capacidade fotossintética que espécies tolerantes a sombreamento (Krause *et al.*, 2001; Nogueira *et al.*, 2004). No entanto, a fotoinibição reversível do PSII por direta exposição à alta radiação tem sido observada em folhas de sol de espécies arbóreas (Krause *et al.*, 1995) e em folhas de plantas crescendo em clareiras das florestas tropicais (Krause e Winter, 1996).

No Brasil, apesar de sua grande relevância, a sensibilidade ou tolerância a fotoinibição das espécies da sucessão vegetal, pioneiras e não pioneiras (secundárias iniciais ou tardias) é praticamente desconhecida. Recentemente, Franco e Lüttge (2002), determinaram em espécies arbóreas de cerrado, que o controle da dissipação fotoquímica e não-fotoquímica e ajustes na partição do fluxo de elétrons entre processos assimilativos e não assimilativos, aliviam o dano fotoinibitório. No entanto as perdas no ganho potencial do carbono provocado pelo incremento da fotorrespiração impuseram fortes limitações no balanço do carbono das espécies avaliadas.

Os resultados dos trabalhos de Moreira (2003) e Torggler (2003) mostraram que as espécies pioneiras *Cecropia pachystachya*, *Croton urucurana* e *Psidium guajava* mostraram-se mais tolerantes em relação à fotoinibição do que as espécies não-pioneiras *Cariniana legalis*, *Tabebuia roseo-alba* e *Esenbeckia leiocarpa*. A intensidade do dano inibitório aumentou de acordo com o aumento da intensidade de radiação (500 e $1500 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) e do tempo de exposição (1, 2, 3 e 4 horas) para todas estas espécies. Isto mostra que as espécies pioneiras tendem a serem mais tolerantes ao estresse luminoso do que as espécies não pioneiras.

II. HIPÓTESE

A hipótese proposta para este trabalho é que as espécies pioneiras apresentam, quando comparadas com as espécies não pioneiras, maior atividade das enzimas antioxidantes SOD, CAT e APX e maior razão carotenóides/clorofilas, que as predispõe para uma maior tolerância a situações de alta radiação.

III. OBJETIVO

Determinar as atividades das enzimas dissipadoras de radicais livres (SOD, APX e CAT), o conteúdo dos pigmentos fotossintéticos (clorofilas e carotenóides) e a fluorescência da clorofila *a* em oito espécies arbóreas em estágio inicial de desenvolvimento, sendo quatro espécies pioneiras e quatro espécies não pioneiras de Mata Mesófila Semidecidual submetidas a estresse luminoso crescidas sob duas condições contrastantes de luz solar, 10% de fluxo de fótons fotossinteticamente ativos (FFFA), (sombra) e 100% de FFFA (pleno sol).

IV. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Material vegetal

Foram selecionadas, em função de suas características de grupo sucessional, oito espécies de plantas arbóreas, sendo quatro pioneiras (*Cecropia pachystachya* Trécul, *Croton floribundus* Spreng, *Croton urucurana* Baill., e *Schinus terebinthifolius* Raddi) e quatro não pioneiras (*Cariniana legalis* (Mart.) Kuntze., *Esenbeckia leiocarpa* Engl., *Hymenaea courbaril* L. var. *stilbocarpa* (Hayme) Y.T.Lee & Langenh. e *Tabebuia roseo-alba*(Ridl.) Sand.). Estas mesmas espécies foram utilizadas no projeto de recomposição florestal do *Campus* da Universidade de São Paulo em Ribeirão Preto, e são provenientes de Matas Mesófilas Semidecíduais (Lorenzi, 2002). As mudas utilizadas no presente estudo foram obtidas do Viveiro de Mudas da Prefeitura do *Campus* da Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto e do Viveiro Verde -Tambaú (Tambaú, SP). A tabela I mostra as características das espécies estudadas.

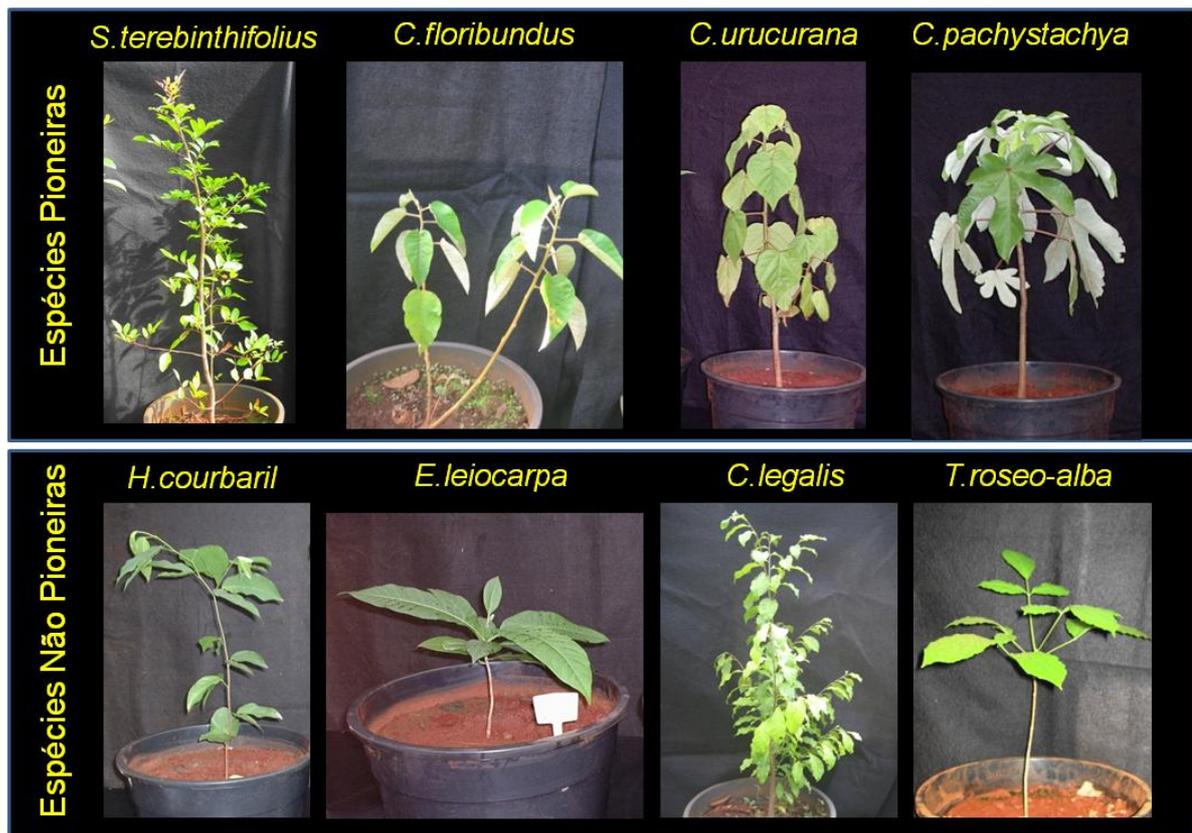


Figura 1: Fotografias das espécies de Mata Estacional Semidecidual avaliadas nesta pesquisa. Espécies pioneiras: *S. terebinthifolius*, *C. floribundus*, *C. urucurana* e *C. pachystachya*. Espécies não pioneiras: *H. courbaril*, *E. leiocarpa*, *C. legalis* e *T. roseo-alba*.

Tabela1: Espécies estudadas com suas respectivas famílias, nomes populares, grupos sucessionais e hábitos de crescimento. Dados obtidos de Lorenzi (2002), Varanda *et al.* (1998) e Rodrigues (1995). As famílias foram delimitadas segundo APGII (2003).

Espécie	Família	Nome popular	Grupo sucessional	Hábito de crescimento
<i>Cecropia pachystachya</i> Trécul.	Urticaceae	Embaúba	Pioneira	Heliófito
<i>Croton floribundus</i> Spreng.	Euphorbiaceae	Capixingui	Pioneira	Heliófito
<i>Croton urucurana</i> Baill.	Euphorbiaceae	Sangra d'água	Pioneira	Heliófito
<i>Schinus terebinthifolius</i> Raddi	Anacardiaceae	Aroeira mansa	Pioneira	Heliófito
<i>Cariniana legalis</i> (Mart.) Kuntze.	Lecythidaceae	Jequitibá rosa	Secundária tardia/clímax	Heliófito ou Esciófito
<i>Esenbeckia leiocarpa</i> Engl.	Rutaceae	Guarantã	Secundária tardia/clímax	Esciófito/ climática
<i>Hymenaea courbaril</i> L. var. <i>stilbocarpa</i> (Hayme) Y.T.Lee & Langenh.	Leguminosae- Caesalpinoideae	Jatobá	Secundária tardia	Heliófito ou Esciófito
<i>Tabebuia roseo-alba</i> (Ridl.) Sand.	Bignoniaceae	Ipê branco	Secundária inicial/tardia	Heliófito

4.1.1. Descrição do material vegetal

4.1.1.1. *Cecropia pachystachya* Trec.

A árvore conhecida popularmente por Embaúba, pertencente à família Urticaceae, tem utilidade na confecção de brinquedos, caixotaria leve, saltos para calçados, lápis, compensado e polpa celulósica. São plantas dióicas, de 4-7 metros de altura, com tronco de 15-25 cm de diâmetro. Os frutos são produzidos anualmente em grande quantidade e são procurados por muitas espécies de pássaros. As folhas são apreciadas por bicho preguiça. É uma planta heliófita, pioneira e seletiva higrófito, típica de formações secundárias, rara no interior de mata primária densa. É indispensável nos reflorestamentos heterogêneos de áreas degradadas de preservação permanente pela rapidez com que cresce (Lorenzi 2002).

4.1.1.2. *Croton floribundus* Spreng.

Popularmente conhecida por Capixingui, família Euphorbiaceae, *Croton floribundus* Spreng. é útil na carpintaria, obras internas, esteios, brinquedos, caixotes leves, artefatos de aglomerados e tabuado em geral. Sua altura pode chegar a 6-10 metros com tronco de 20-30 cm de diâmetro. Planta decídua ou semidecídua, heliófita, pioneira, característica de matas secundárias de floresta semidecídua. Pode ocorrer também no interior e principalmente nas bordas de matas primárias de onde foram extraídas madeiras. A árvore é tolerante a áreas abertas, é útil para plantios mistos em reflorestamentos de áreas degradadas de preservação permanente (Lorenzi 2002).

4.1.1.3. *Croton urucurana* Baill.

Esta espécie, que recebe o nome popular de Sangra d'água, pertence à família Euphorbiaceae, e são utilizadas na construção de canoas, obras hidráulicas, obras externas, como dormentes e esteios, carrocerias, carpintaria e marcenaria. A altura da árvore é de 7-14 metros e o tronco tem cerca de 30 cm de diâmetro. É uma planta heliófita, pioneira, decídua, seletiva higrófito, ocorrendo quase sempre em

formações secundárias. É ótima para plantios mistos em áreas ciliares degradadas por ser adaptada a terrenos muito úmidos e brejosos (Lorenzi 2002).

4.1.1.4. *Schinus terebinthifolius* Raddi

A Aroeira-mansa (nome popular) pertencente à família Anacardiaceae é utilizada para moirões, esteio, lenha e carvão. Possui altura de 5-10 metros e tronco com casca grossa de 30-60 cm. É uma planta perenifólia, heliófita e pioneira que cresce em beiras de rios, córregos e em várzeas úmidas, mas é também encontrada em terrenos secos e pobres. Possui boa regeneração natural já que é amplamente disseminada por pássaros. É útil nos reflorestamentos heterogêneos destinados a recomposição de áreas degradadas de preservação permanente, pois é uma das espécies mais procuradas pela avifauna (Lorenzi 2002).

4.1.1.5. *Cariniana legalis* (Mart.) Kuntze.

A árvore popularmente conhecida por Jequitibá-rosa, família Lecythidaceae tem madeira útil para construção civil, obras internas, contraplacados, folhas flaqueadas, móveis, para confecção de brinquedos, salto de calçados, lápis, cabos de vassoura, etc. São árvores com altura de 30-50 metros e troncos de 70-100 cm de diâmetro. A árvore é muito ornamental, podendo ser empregada no paisagismo de parques e praças públicas. É uma planta semidecídua, heliófita ou esciófita, característica da floresta latifoliada semidecídua. É uma excelente espécie para plantios mistos em áreas degradadas de preservação permanente por ser tolerante a luz direta (Lorenzi 2002).

4.1.1.6. *Esenbeckia leiocarpa* Engl.

A árvore de nome popular Guarantã pertencente à família Rutaceae possui madeira ótima para obras externas e no chão, como postes, dormentes, estivas, esteios, vigas de pontes, para construção civil, como vigas, caibros, ripas, batentes de portas e janelas, tabuas e tacos de assoalho, cabos de ferramentas, etc. A altura da árvore é de 20-30 metros e o tronco é reto de 40-60 cm de diâmetro. É uma planta semidecídua, esciófita, característica da floresta latifoliada primária. Não é

encontrada em formações secundárias por não tolerar insolação direta quando jovem. É uma planta de floresta clímax, mas pode ser utilizada para o adensamento de matas degradadas de áreas de preservação permanente (Lorenzi 2002).

4.1.1.7. *Hymenaea courbaril* L. var. *stilbocarpa* (Hayme) Lee et Lang.

O Jatobá (nome popular), da família Leguminosae-Caesalpinoideae possui madeira que pode ser empregada na construção civil, como vigas, caibros, ripas, para acabamentos internos, como marcos de portas, tacos e tabuas para assoalhos, para confecção de artigos de esportes, cabos de ferramentas, peças torneadas, esquadrias e móveis. Os frutos contêm uma farinha comestível e muito nutritiva que é consumida tanto pelo homem quanto pelos animais silvestres. A planta é semidecídua, heliófita ou esciófita, seletiva xerófita, característica de floresta latifoliada semidecídua. Geralmente ocorre em terrenos bem drenados e é pouco exigente em fertilidade e umidade do solo. A altura da árvore é de 15-20 metros, com tronco de até 1 metro de diâmetro. A árvore é de fácil multiplicação não podendo faltar na composição de reflorestamentos heterogêneos e, na arborização de parques e grandes jardins (Lorenzi 2002).

4.1.1.8. *Tabebuia roseo-alba* (Ridl.) Sand.

O Ipê branco (nome popular), da família Bignoniaceae pode ter a madeira utilizada para construção civil, principalmente para acabamentos internos. É uma árvore extremamente ornamental tanto pelo exuberante florescimento (que pode ocorrer mais de uma vez no ano) como pela densa folhagem verde azulada e a forma piramidal da copa. Sua altura varia de 7-10 metros, com tronco de 40-50 cm de diâmetro. É uma árvore decídua, heliófita e seletiva xerófita. Pode ocorrer tanto no interior de mata primária como nas formações secundária sendo característica de afloramentos rochosos e calcários da floresta semidecídua. A árvore adapta-se a terrenos secos e pedregosos, portanto, é muito útil em reflorestamentos neste tipo de ambiente, destinados a recomposição da vegetação arbórea (Lorenzi 2002).

4.2. Plantio e condições de crescimento

Foram plantadas vinte mudas de cada espécie em vasos plásticos (capacidade de 16 litros) contendo 25 kg de solo. O solo utilizado foi proveniente da área de Reflorestamento do *campus* da USP-Ribeirão Preto e a ele foi adicionado 1g de adubo N:P:K (4:14:8) para cada kg de solo, conforme o utilizado no preparo do solo do projeto de reflorestamento. Dez vasos de cada espécie foram mantidos em condições de crescimento sob 100% de FFFA (sol pleno), enquanto que outros dez vasos foram mantidos sob 10% de FFFA (sombreamento) proporcionada pela combinação de *sombrite* (50% de interferência) e *isulfilme* (35% de interferência). A combinação do *sombrite* junto com o *isulfilme* promove a modificação da qualidade da radiação incidente sobre as plantas e simulam uma condição de luminosidade semelhante a um sub-bosque. Para a escolha do *isulfilme* foram testados três tipos do material (CM5, CM20 e CM35, com 5%, 20% e 35% de interferência, respectivamente), dos quais foi selecionado o CM35 por apresentar um espectro de radiação mais próximo da radiação solar (Figura 3). O espectro de radiação foi medido gentilmente pelo Prof. Massanori Takaki, na UNESP de Rio Claro, Laboratório de Foto Morfogênese de Plantas, com um espectroradiômetro LI-1800 (LI-COR, NE, USA).

O solo foi mantido com umidade em torno da capacidade de campo. A umidade do solo foi monitorada com o medidor de umidade modelo HH2 com sensor modelo Theta Probe ML2x (Delta T Devices, UK). O experimento foi instalado no viveiro do Setor de Botânica, Departamento de Biologia, Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto-USP. Antes do plantio, o solo foi adubado com um grama do fertilizante composto (N-P-K, 4-14-8) por kg de solo. Após a adubação as características químicas do solo melhoraram substancialmente. As características químicas do solo antes e depois da adubação são apresentadas na tabela 2.

Tabela 2: Características químicas do solo antes e após adubação com N-P-K (4-14-8). (Fonte: Empresa Ribersolo, RP)

Características químicas do solo		
Elementos/Características	Solo não adubado	Solo adubado
Cálcio (mmolc/dm ³)	18	41
CTC ** (mmolc/dm ³)	42	85
Fósforo (mg/dm ³)	5	158
H+AL ***	22	37
Magnésio (mmolc/dm ³)	2	5
MO* (g/dm ³)	14	20
pH em CaCl ₂ (g/dm ³)	5,6	5
Potássio (mmolc/dm ³)	1	3,5

* Matéria Orgânica, ** Capacidade de Troca Catiônica, *** Acidez Potencial



Figura 2: Condições de crescimento das plantas: A= Condição de pleno sol (100% de FFFA), e B= condição de sombra (10% de FFFA).

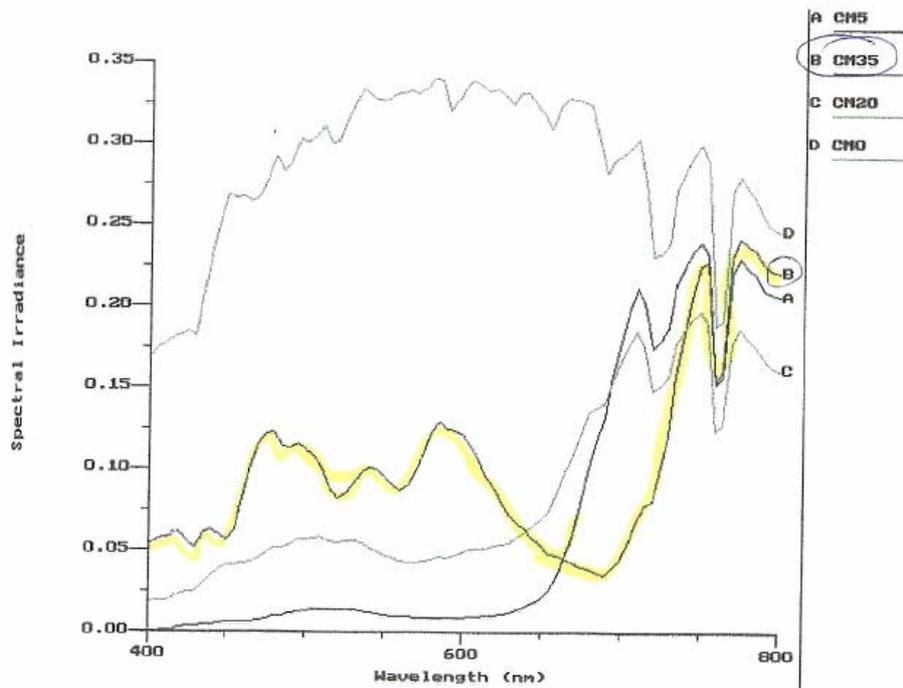


Figura 3. Espectro de radiação do material “*insufilm*” 5% (CM5) (A), 20% (CM20) (C) e 35% (CM35) (B); e sem “*insufilm*” (CM0) (D) medido com espectroradiômetro LI-1800 (LI-COR, NE, USA), realizado na UNESP de Rio Claro, Laboratório de Foto Morfogênese de Plantas (gentileza do Prof. Massanori Takaki)

4.3. Condições micro-meteorológicas

Ao mesmo tempo em que foi avaliada a fluorescência e coletadas as folhas para análise enzimática e de pigmentos foram monitoradas as condições micro-meteorológicas como, umidade relativa do ar e temperatura ambiente com um higrotermômetro, e radiação ambiente (FFFA - Fluxo de fótons fotossinteticamente ativos) com um sensor quântico LI-190, conectado a um medidor de radiação modelo LI-250A (LI-COR, NE, USA).

Tabela 3: Valores médios das condições ambientais na sombra (10% FFFA) e no sol (100% FFFA), às 6:00h e 13:00h durante o período do experimento.

Horas do Dia	Parâmetro ambiental	Sombra	Sol
6:00h	Densidade do fluxo de fótons ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	1.5	12
	Temperatura ($^{\circ}\text{C}$)	15.6	17.4
	Umidade Relativa (%)	83	76
13:00h	Densidade do fluxo de fótons ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	90	990
	Temperatura ($^{\circ}\text{C}$)	32	38
	Umidade Relativa (%)	31	20

4.4. Avaliações

Nas condições experimentais, quando comparadas às plantas de sombra, as plantas crescidas em pleno sol, são normalmente mais predispostas para sofrerem estresse luminoso, principalmente em torno do meio dia. Portanto, foram avaliadas as diferenças das respostas das plantas sob estas duas condições de crescimento (sol e sombra) e sobre dois períodos do dia (6:00h e 13:00h). Foram realizadas medições do conteúdo dos pigmentos fotossintéticos: clorofilas e carotenóides, parâmetros da fluorescência da clorofila *a*, e atividade enzimática da Catalase (CAT, EC 1.11.1.6), Ascorbato peroxidase (APX, EC 1.11.1.11) e Superóxido dismutase (SOD, EC 1.15.1.1).

4.4.1. Fluorescência da clorofila

Os parâmetros de fluorescência inicial (F_0), Fluorescência máxima (F_m) e a razão F_v/F_m (fluorescência variável/fluorescência máxima) foram medidos com o fluorômetro portátil modelo OS-30P (Opti-Sciences, USA). Os valores da fluorescência variável (F_v) ($F_v = F_m - F_0$) e da razão F_v/F_0 foram calculados a partir dos parâmetros medidos.

Antes da aplicação do pulso saturante de luz ($1100 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) para a determinação dos parâmetros de fluorescência, a área de folha a ser medida permaneceu no escuro por 15 minutos para abertura dos fotossistemas. As medições da fluorescência foram feitas em dois horários (6:00h e 13:00h)

imediatamente antes da coleta das folhas e nas mesmas folhas utilizadas para análise enzimática e de pigmentos.

4.4.2. Determinação dos pigmentos fotossintéticos: Clorofilas/Carotenóides

A determinação do conteúdo de pigmentos fotossintéticos e carotenóides foram feitos nas mesmas folhas nas quais foram avaliadas a fluorescência e a atividade das enzimas. As folhas foram coletadas às 6:00h, e às 13:00h. De cada folha, foram extraídos aleatoriamente três discos foliares (evitando-se a nervura central) de 0,95 cm² de área cada. Os discos foliares foram congelados em nitrogênio líquido, macerados e homogeneizados em acetona 80%. O macerado foi colocado em provetas de 10 mL onde o volume foi corrigido com o mesmo solvente utilizado na extração. Feito isto, a solução contendo os pigmentos foi centrifugada a 25°C, 4000 rpm por 3 min para separação das partículas grosseiras. O sobrenadante foi colocado em cubetas de quartzo para leitura espectrofotométrica em comprimento de onda de 480, 645 e 663 nm. A partir dos valores de absorbância, foram estimados os conteúdos de clorofila *a*, *b*, total e de carotenóides totais utilizando-se as equações abaixo (Hendry e Price, 1993).

Clorofila *a* (mg L⁻¹): **12,7 x A₆₆₃ – 2,69 x A₆₄₅**

Clorofila *b* (mg L⁻¹): **22,9 x A₆₄₅ – 4,68 x A₆₆₃**

Clorofila total: **Clorofila *a* + clorofila *b***

Carotenóides totais (µmol g⁻¹):

$$\frac{[(A_{480} + 0,114 \times A_{663} - 0,638 \times A_{645}) \times V \times 10^3]}{112,5 \times \text{unidade massa}}$$

112,5 x unidade massa

Onde:

A = Absorbância no comprimento de onda indicado

V = Volume do extrato (L)

As concentrações finais dos pigmentos foram expressas em µmol g⁻¹

4.4.3. Extração enzimática

O extrato enzimático bruto, para a determinação da atividade da SOD, CAT e APX foi obtido pela homogeneização de discos de folhas jovens e frescas em solução de extração constituída de EDTA 1 mM, DTT 3 mM, 4% de PVPP (p/v) em tampão de fosfato de potássio 0,1 M, pH 7,5 (Azevedo *et al*, 1998). As folhas foram coletadas às 6:00h e às 13:00h com o auxílio de um furador de rolhas de diâmetro conhecido e logo pesadas. Os discos foliares foram então macerados em nitrogênio líquido em cadinhos e homogeneizados em solução de extração, após este procedimento o homogenato foi filtrado em gaze para eliminação das partículas mais grosseiras e então centrifugado a 14.000 rpm, a 4°C por 25 min. O sobrenadante foi então separado do *pellet* e utilizado imediatamente para a quantificação das enzimas SOD, CAT, APX, e proteínas totais (Bradford, 1976). Todas as etapas necessárias ao processo foram executadas a 4°C.

4.4.4. Superóxido Dismutase

A atividade total da SOD foi determinada de acordo com o método espectrofotométrico, descrito por Giannopolitis e Ries (1977). Cada 3 mL do meio de reação continham tampão fosfato de potássio 50 mM (pH 7,8), metionina 13 mM, riboflavina 2 µM, nitroblue tetrazólio (NBT) 75 µM, EDTA 0,1 mM, e entre 5 até 20 µL de extrato de enzimas. A produção fotoquímica da formazana azul a partir de NBT foi monitorada pelo incremento da absorbância a 560 nm. A reação foi realizada em tubos de ensaio a 25°C, dentro de uma câmara de reação sob iluminação de uma lâmpada fluorescente de 15 W. Como controle, tubos com a mistura de reação foram mantidos no escuro. A reação teve início ligando-se a luz e após 15 min de iluminação, a reação foi paralisada, desligando-se a luz. Uma unidade de SOD foi definida como a quantidade de enzima que inibe a fotorredução de NBT em 50% (Beauchamp e Fridovich, 1971).

4.4.5. Catalase

A atividade da CAT foi determinada espectrofotometricamente segundo Azevedo *et al* (1998). A mistura de reação foi constituída de 2 mL de tampão fosfato de potássio 0,1M (pH 7,5) e 5 μ L de H₂O₂ (solução de 30%) preparada imediatamente antes do uso. A reação foi iniciada pela adição do extrato enzimático (5 a 50 μ L) e a atividade determinada seguindo-se a decomposição de H₂O₂ em 1 min através do decréscimo na absorbância a 240 nm a 25°C. Os resultados foram expressos em μ mol min⁻¹ mg⁻¹ proteína utilizando para os cálculos o coeficiente de extinção molar de 34,64 M⁻¹cm⁻¹ determinado para as nossas condições experimentais.

4.4.6. Ascorbato Peroxidase e Ascorbato Oxidase

A atividade da APX foi determinada de acordo com o método de Nakano e Asada (1981). Em 1,3 mL de tampão fosfato de potássio 80 mM (pH 7) foram adicionado 0,2 mL de ascorbato 5 mM, 0,2 mL de EDTA 1mM e 0,2 mL de H₂O₂ 1 mM. Os reagentes foram preparados separadamente e misturados diretamente na cubeta de quartzo no momento do ensaio. A reação foi iniciada com a adição do extrato enzimático (5 a 50 μ L) e a atividade foi determinada monitorando-se a degradação do ascorbato na absorbância de 290 nm durante o período de 1 min a 25°C. A atividade foi expressa em μ mol min⁻¹ mg⁻¹ proteína utilizando para os cálculos o coeficiente de extinção molar de 3051,4 M⁻¹cm⁻¹ determinado para nossas condições experimentais. A atividade da enzima Ascorbato Oxidase (AO; EC, 1.10.3.3) foi também monitorada para correção da oxidação do ascorbato na ausência de H₂O₂. Isto foi feito excluindo-se do meio de reação o H₂O₂.

4.4.7. Quantificação de proteínas

O conteúdo de proteínas das amostras foi determinado pelo método de Bradford (1976), utilizando albumina sérica bovina para construção da curva padrão.

4.5. Análise estatística

Os dados foram submetidos a análises de variância (ANOVA) e foram realizados testes de significação de Tukey. Diferenças foram consideradas significantes para $P \leq 0,05$ utilizando o programa Sigma Stat versão 3.1.(Systat Softwear Inc., USA). Os resultados foram expressos com médias \pm S.E. de cinco replicas independentes.

V. RESULTADOS

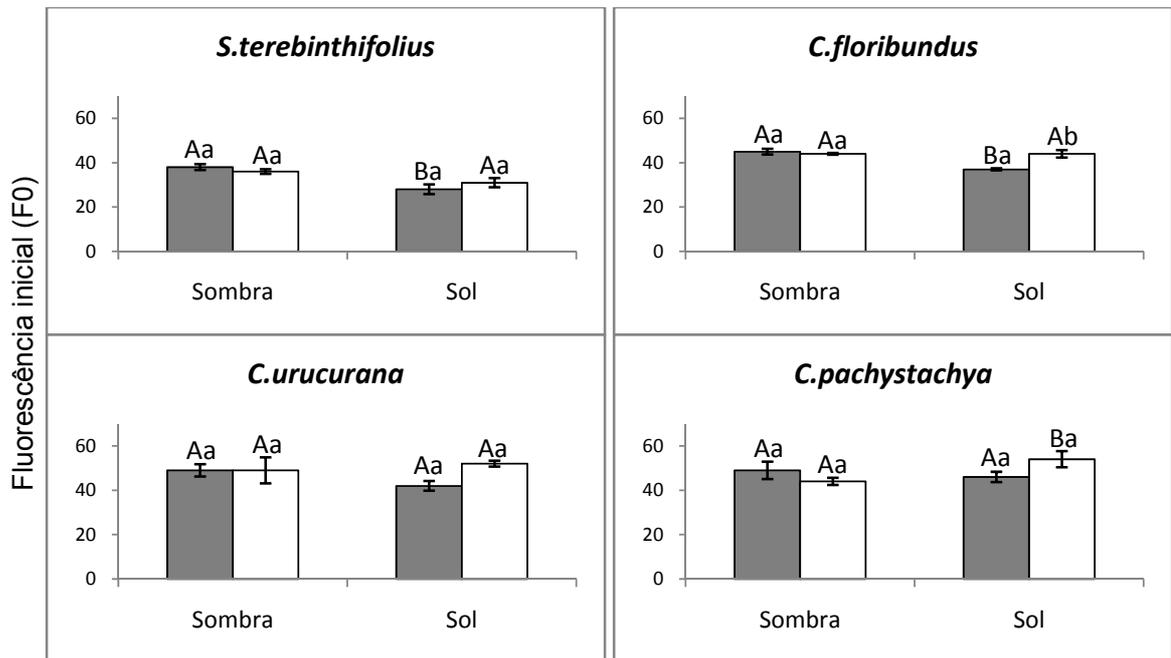
5.1. Fluorescência da clorofila

5.1.1. Valores de F_0

Os valores de F_0 medidas em dois horários (às 6:00 e às 13:00h) são apresentados na figura 4. Nas plantas crescidas na sombra (10% de FFFA) não foram encontradas diferenças em F_0 em função do horário de medição, em todas as espécies avaliadas, a exceção de *T. roseo-alba* que teve menor F_0 às 13:00h em comparação às 6:00h (Figura 4). Nas plantas crescidas sob pleno sol (100% FFFA), *C. floribundus* teve maior F_0 às 13:00h do que às 6:00h e *T. roseo-alba* teve menor valor de F_0 às 13:00h do que às 6:00h. As demais espécies não apresentaram diferença significativa de F_0 entre os horários analisados (Figura 4).

As espécies pioneiras *S. terebinthifolius* e *C. floribundus* e as espécies não pioneiras *H. courbaril* e *T. roseo-alba* apresentaram menor F_0 às 6:00h nas plantas sob condição de sol quando comparadas as plantas sob sombreamento para este horário. Na medição das 13:00h *C. pachystachya* teve maior F_0 e *C. legalis* teve menor F_0 nas plantas sob condição de sol comparadas com as plantas sob condição de sombra (Figura 4). Entre os grupos sucessionais, pioneiras e não pioneiras, não foram encontradas diferenças significantes de F_0 nos tratamentos analisados (Figura 7).

Pioneiras



Não Pioneiras

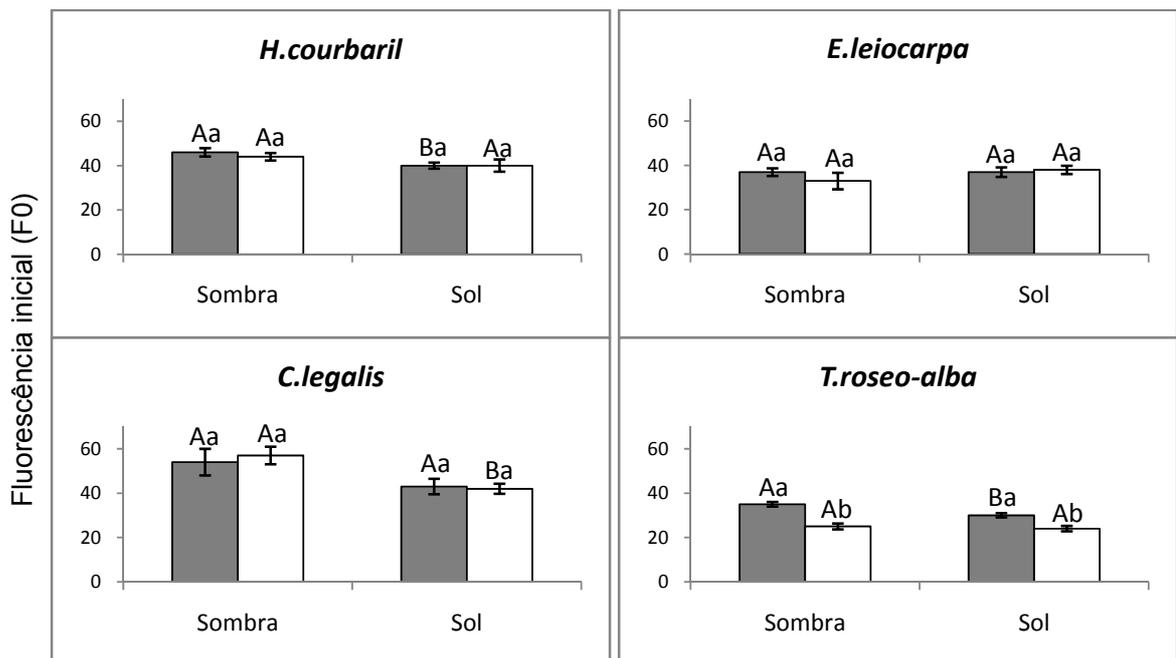


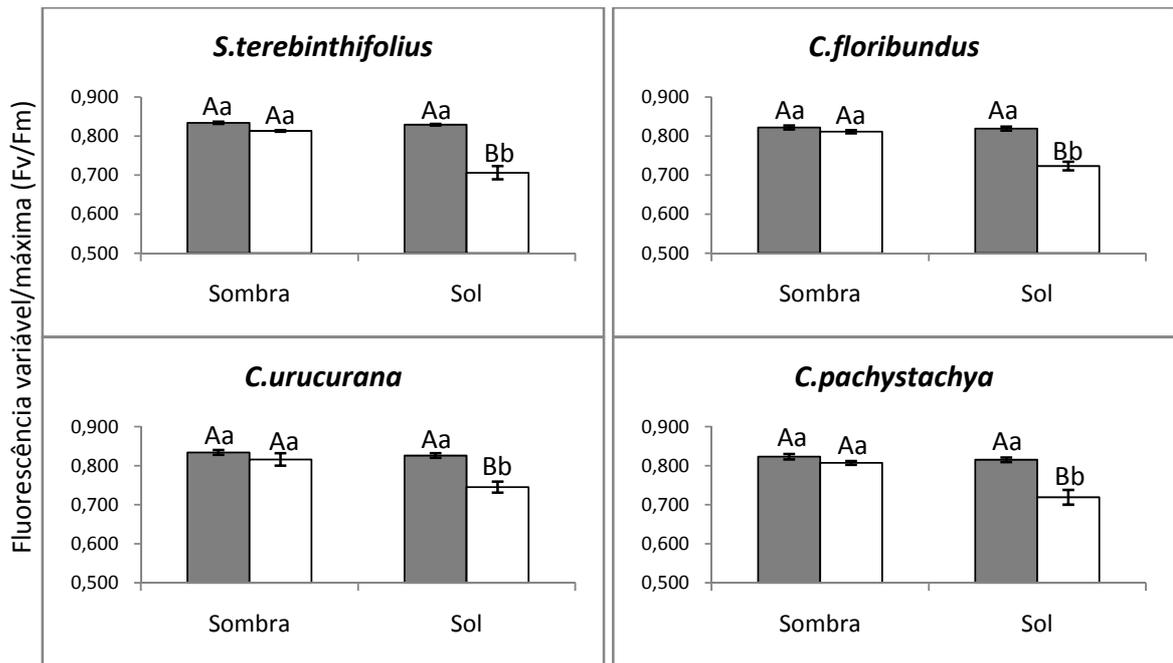
Figura 4. Fluorescência inicial (F_0) às 6:00h (■) e às 13:00h (□) em folhas de plantas de quatro espécies pioneiras e quatro espécies não pioneiras crescidas sob 10% de FFFA (sombra) e 100% de FFFA (Sol). Os dados representam médias \pm S.E. de cinco réplicas ($n=5$). Barras seguidas de diferentes letras maiúsculas são significantes para o mesmo horário (6:00h ou 13:00h) entre plantas de sombra e sol. Letras minúsculas diferentes são significantes para plantas crescidas na mesma condição de FFFA (sombra ou sol) entre os diferentes horários ($p \leq 0,05$. Resultados de *two way* ANOVA (horário x FFFA).

5.1.2. Razão Fv/Fm

A razão Fv/Fm é um indicador da eficiência fotoquímica máxima do fotossistema II, por tanto, uma redução deste parâmetro indica uma queda na eficiência do funcionamento do fotossistema II da fotossíntese, geralmente associada a altos níveis de radiação. Neste experimento, em todas as plantas pioneiras, na avaliação da Fv/Fm realizada cedo (6:00 horas), com baixo nível de radiação (em torno de $90 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) não foram encontradas diferenças entre as plantas crescidas na condição de sol ou sombra (Figura 5). No entanto, nas espécies não pioneiras, na avaliação realizada às 6:00h foram encontradas diferenças significativas da razão Fv/Fm entre plantas crescidas no sol e na sombra (Figura 5). Quando a avaliação de Fv/Fm foi realizada às 13:00h (com fluxo de fótons entorno de $1000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) foram determinadas diferenças significativas entre as plantas crescidas em condições de sol e de sombra, tanto em pioneiras, como em não pioneiras (Figura 5). O menor valor de Fv/Fm foi encontrado em *C. legalis* (espécie não pioneira) tanto as 6:00h quanto as 13:00h nas plantas mantidas em pleno sol (Tabela 4). Quando foram comparados os grupos sucessionais, às 6:00h, o grupo das espécies pioneiras não apresentou diferença em Fv/Fm entre as plantas mantidas sob sombra e as plantas mantidas sob pleno sol, já o grupo das espécies não pioneiras tiveram menor Fv/Fm nas plantas sob pleno sol do que nas plantas sob sombreamento (Figura 7).

Através da ANOVA foram determinados para a razão Fv/Fm, efeitos significativos da espécie, condição de luz durante o crescimento e da interação espécie x condição de luz, em ambos horários de avaliação (Tabela 4).

Pioneiras



Não Pioneiras

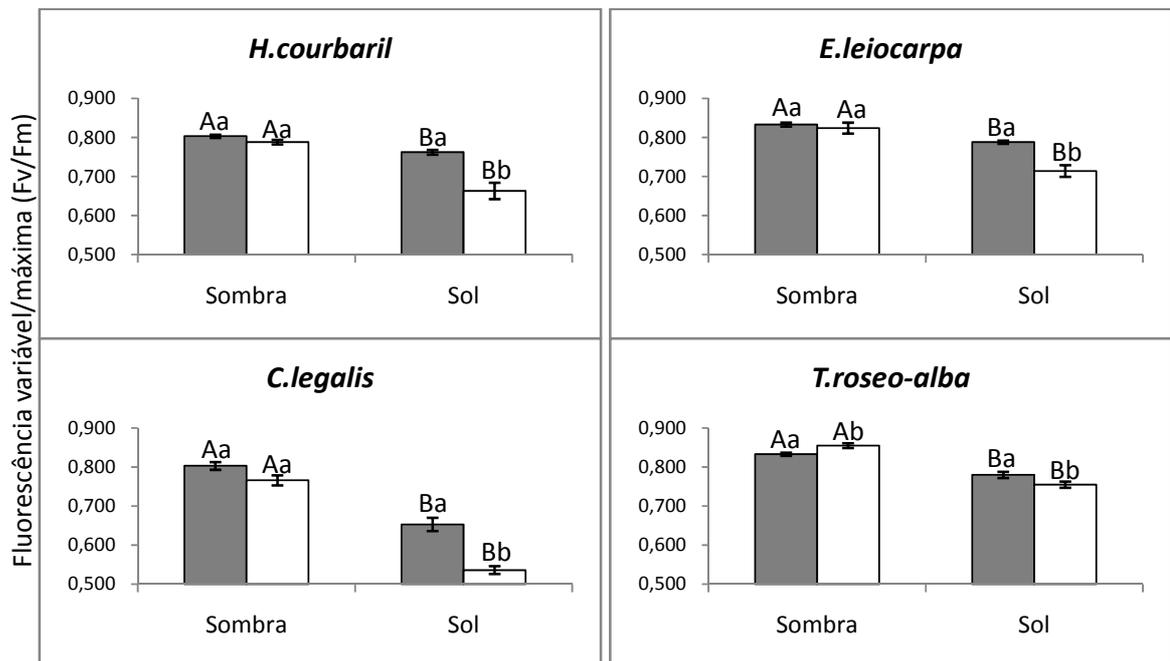


Figura 5. Razão entre fluorescência variável/fluorescência máxima (Fv/Fm) às 6:00h (■) e às 13:00h (□) em folhas de mudas de quatro espécies pioneiras e quatro espécies não pioneiras crescidas sob 10% FFFA (sombra) e 100% de FFFA (Sol). Dados representam médias \pm S.E. de cinco réplicas (n=5). Barras seguidas de diferentes letras maiúsculas são significantes para o mesmo horário (6:00h ou 13:00h) entre plantas de sombra e sol, letras minúsculas diferentes são significantes para plantas crescidas na mesma condição de FFFA (sombra ou sol) entre os diferentes horários para $p \leq 0,05$. Resultados de *two way* ANOVA (horário x FFFA).

Tabela 4: Fluorescência inicial (F_0), razão fluorescência variável/fluorescência máxima (F_v/F_m) e razão fluorescência variável/fluorescência inicial (F_v/F_0) em oito espécies arbóreas tropicais expostas a 10% (sombra) e 100% (sol) de FFFA. As medições foram feitas às 6:00h e às 13:00h.

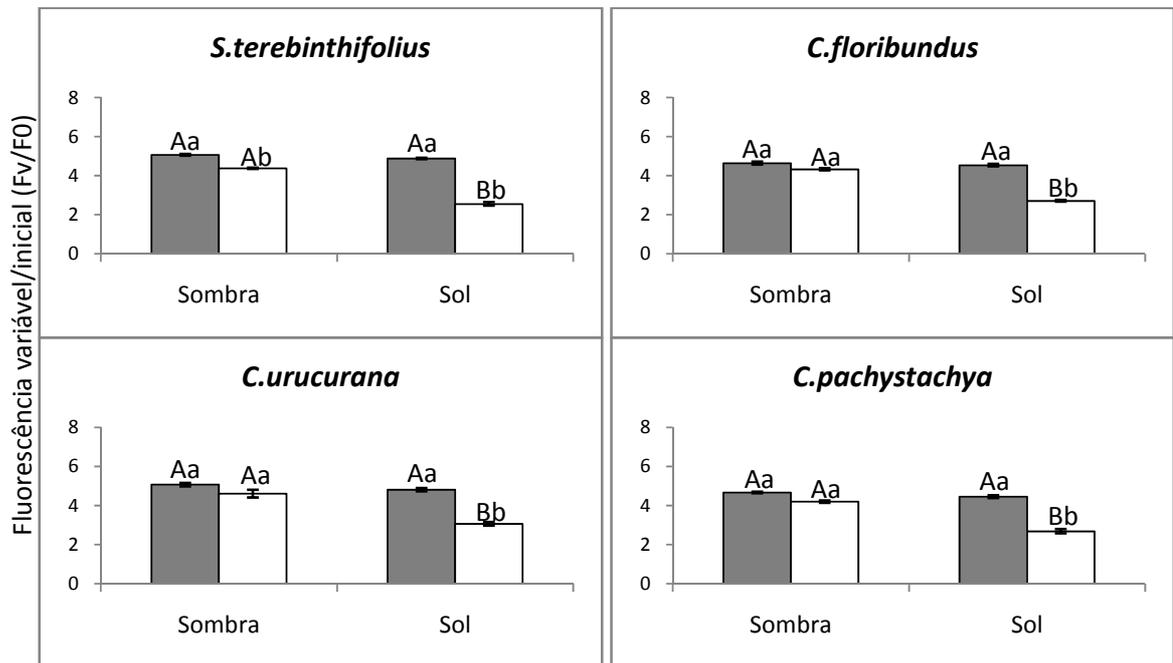
FFFA	Grupo Sucessional	Espécies	Parâmetros					
			F_0		F_v/F_m		F_v/F_0	
			6:00h	13:00h	6:00h	13:00h	6:00h	13:00h
10%	Pioneiras	<i>S. terebinthifolius</i>	38	36	0.834	0.813	5.1	4.4
		<i>C. floribundus</i>	45	44	0.822	0.811	4.6	4.3
		<i>C. urucurana</i>	49	49	0.834	0.816	5.1	4.6
		<i>C. pachystachya</i>	49	44	0.823	0.807	4.7	4.2
		Média	45.3 ± 2.6	43.3 ± 2.7	0.828 ± 0.003	0.812 ± 0.002	4.9 ± 0.1	4.4 ± 0.1
	Não Pioneiras	<i>H. courbaril</i>	46	44	0.803	0.788	4.1	4.3
		<i>E. leiocarpa</i>	37	33	0.833	0.824	5	4.8
		<i>C. legalis</i>	54	57	0.803	0.807	2	3.4
		<i>T. roseo-alba</i>	35	25	0.833	0.855	5	6
		Média	43 ± 4.4	39.8 ± 6.9	0.818 ± 0.009	0.819 ± 0.014	4.1 ± 0.7	4.7 ± 0.5
100%	Pioneiras	<i>S. terebinthifolius</i>	28	31	0.829	0.706	4.9	2.6
		<i>C. floribundus</i>	37	44	0.819	0.723	4.5	2.7
		<i>C. urucurana</i>	42	52	0.826	0.745	4.8	3.1
		<i>C. pachystachya</i>	46	54	0.815	0.719	4.5	2.7
		Média	38.3 ± 3.9	45.3 ± 5.2	0.822 ± 0.003	0.723 ± 0.008	4.7 ± 0.1	2.8 ± 0.1
	Não Pioneiras	<i>H. courbaril</i>	40	40	0.762	0.663	3.2	3.3
		<i>E. leiocarpa</i>	37	38	0.788	0.714	3.8	2.6
		<i>C. legalis</i>	43	42	0.653	0.536	2	1.2
		<i>T. roseo-alba</i>	30	24	0.780	0.755	3.6	3.2
		Média	37.5 ± 2.8	36 ± 4.1	0.746 ± 0.031	0.667 ± 0.048	3.7 ± 0.2	2.5 ± 0.5
	ANOVA	$F_E= 14.2^*$ $F_L= 27.2^*$ $F_{ExL}= 1.1$ NS	$F_E= 24.4$ NS $F_L= 0.5^*$ $F_{ExL}= 4.1^*$	$F_E= 50^*$ $F_L= 129.3^*$ $F_{ExL}= 25.6^*$	$F_E= 27.4^*$ $F_L= 331.6^*$ $F_{ExL}= 7.7^*$	$F_E= 32.8^*$ $F_L= 106.6^*$ $F_{ExL}= 11.5^*$	$F_E= 15.5^*$ $F_L= 268.2^*$ $F_{ExL}= 3$ NS	

As análises foram feitas sobre cinco réplicas, após 180 dias de exposição a dois níveis de FFFA contrastante. Os resultados são de uma análise de variância de dois fatores (ANOVA), com espécie (E) e luz (L) como fatores fixos e sua interação (ExL). Os dados são das médias ± erro padrão, *, $P \leq 0.05$; NS, não significativa.

5.1.3. Razão F_v/F_0

Os resultados da razão F_v/F_0 variaram de forma semelhante à razão F_v/F_m . Entre as espécies pioneiras esta razão foi menor às 13:00h do que às 6:00h nas plantas sob condição de pleno sol e nas plantas sob condição de sombra (Figura 6). Entre as espécies não pioneiras, nas plantas sob condição de sombra, *H.courbaril* e *E.leiocarpa* não apresentaram diferença desta razão entre os horários analisados, *C.legalis* teve menor F_v/F_0 às 13:00h do que às 6:00h e *T.roseo-alba* teve F_v/F_0 maior às 13:00h do que às 6:00h. Nas plantas sob condição de pleno sol *H.courbaril* e *T.roseo-alba* não apresentaram diferença de F_v/F_0 entre os horários analisados sendo que *E.leiocarpa* e *C.legalis* apresentaram menor valor desta razão às 13:00h do que às 6:00h (Figura 6). Às 6:00h nenhuma das espécies pioneiras apresentaram diferença significativa em F_v/F_0 entre as plantas crescidas sob sombreamento e as plantas crescidas sob pleno sol porém todas as espécies não pioneiras tiveram menor F_v/F_0 nas plantas desenvolvidas em pleno sol que as desenvolvidas sob sombreamento para este horário (6:00h). Às 13:00h todas as espécies, pioneiras e não pioneiras tiveram menor F_v/F_0 nas plantas mantidas sob pleno sol comparado com as mantidas em sombra (Figura 6). Ao comparar os grupos sucessionais, às 6:00h não houve diferença de F_v/F_0 entre plantas de sombra e plantas de sol tanto no grupo das pioneiras quanto no grupo das não pioneiras. As espécies não pioneiras tiveram menor F_v/F_0 do que as espécies pioneiras nas plantas sob pleno sol (Figura 7). Às 13:00h tanto o grupo das espécies pioneiras quanto o grupo das espécies não pioneiras tiveram menor F_v/F_0 (37% e 47% respectivamente) nas plantas mantidas em sol do que nas plantas mantidas em sombreamento (Tabela 4).

Pioneiras



Não Pioneiras

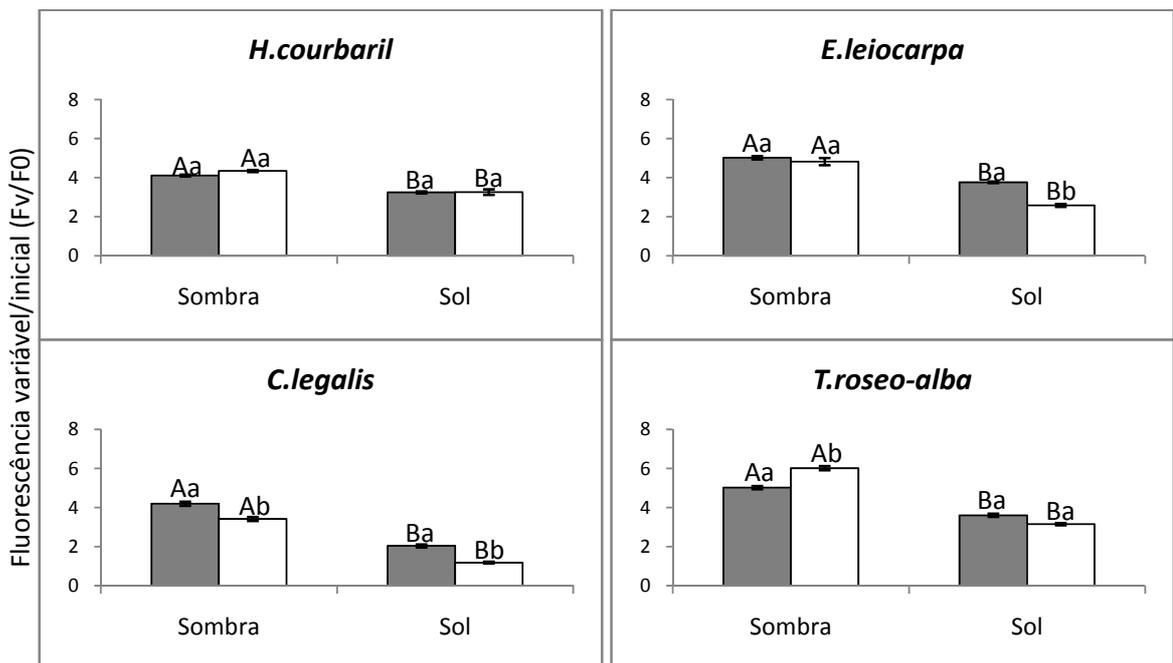


Figura 6. Razão entre fluorescência variável/fluorescência inicial (F_v/F_0) às 6:00h (■) e às 13:00h (□) em folhas de mudas de quatro espécies pioneiras e quatro espécies não pioneiras crescidas sob 10% FFFA (sombra) e 100% de FFFA (Sol). Dados representam médias \pm S.E. de cinco réplicas (n=5). Barras seguidas de diferentes letras maiúsculas são significantes para o mesmo horário (6:00h ou 13:00h) entre plantas de sombra e sol, letras minúsculas diferentes são significantes para plantas crescidas na mesma condição de FFFA (sombra ou sol) entre os diferentes horários para $p \leq 0,05$. Resultados de *two way* ANOVA (horário x FFFA).

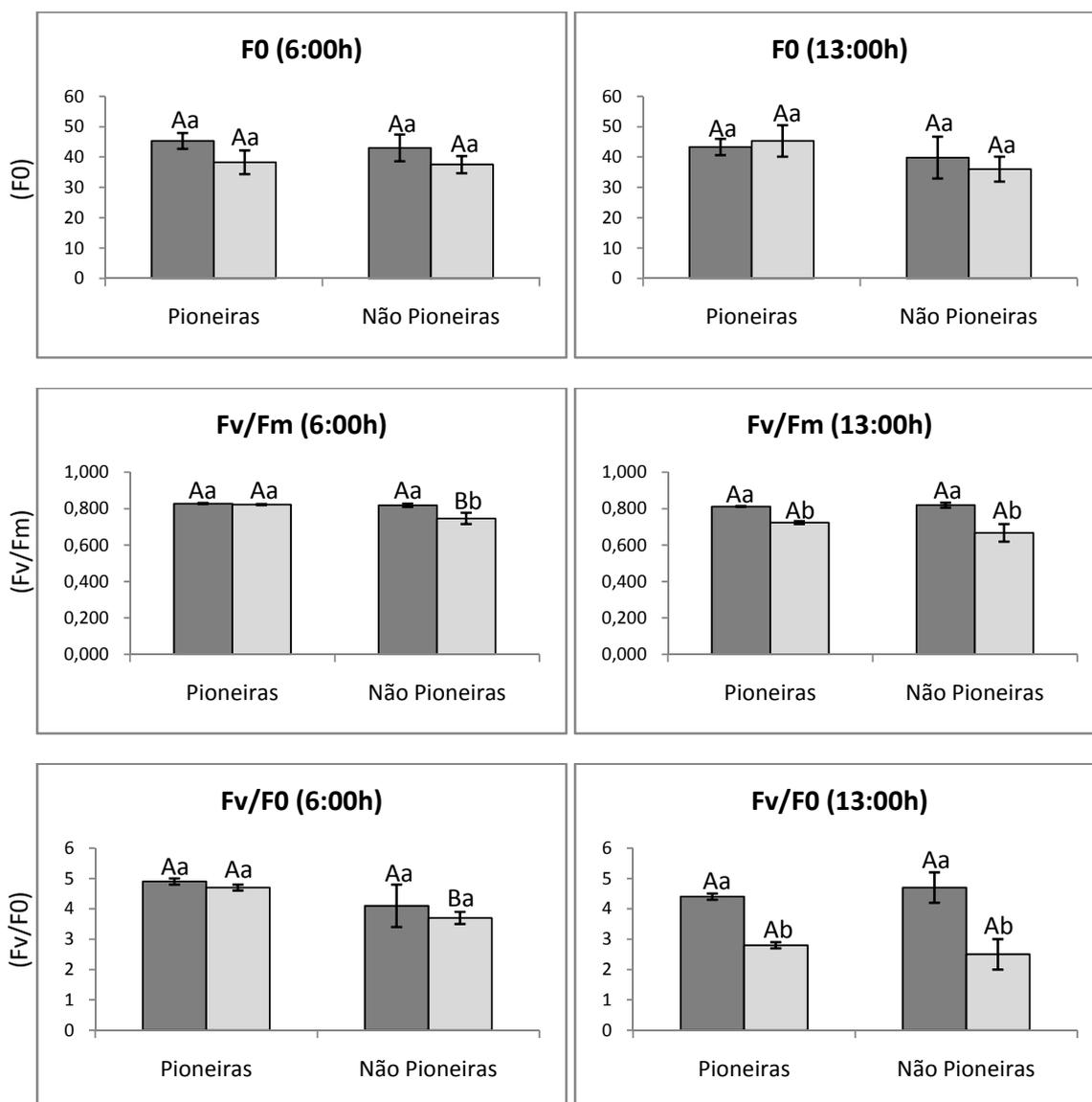


Figura 7: Fluorescência inicial (F_0), razão entre fluorescência variável/fluorescência máxima (F_v/F_m) e razão entre fluorescência variável/fluorescência inicial (F_v/F_0) em espécies pioneiras e espécies não pioneiras crescidas sob 10% (sombra) de FFFA (■) e sob 100% (pleno sol) de FFFA (□). Medições feitas às 6:00h e às 13:00h. Barras seguidas de diferentes letras maiúsculas indicam diferença significativa ($P \leq 0,05$) entre espécies pioneiras e não pioneiras crescidas sob a mesma condição de FFFA (10% ou 100%). Letras minúsculas diferentes indicam diferença significativa ($P \leq 0,05$) entre os tratamentos de FFFA (10% e 100%) no mesmo grupo sucessional (pioneiras ou não pioneiras). Dados representam médias \pm S.E. Resultados de *two way* ANOVA (Grupo sucessional x FFFA).

5.2. Pigmentos fotossintéticos

5.2.1. Clorofila total

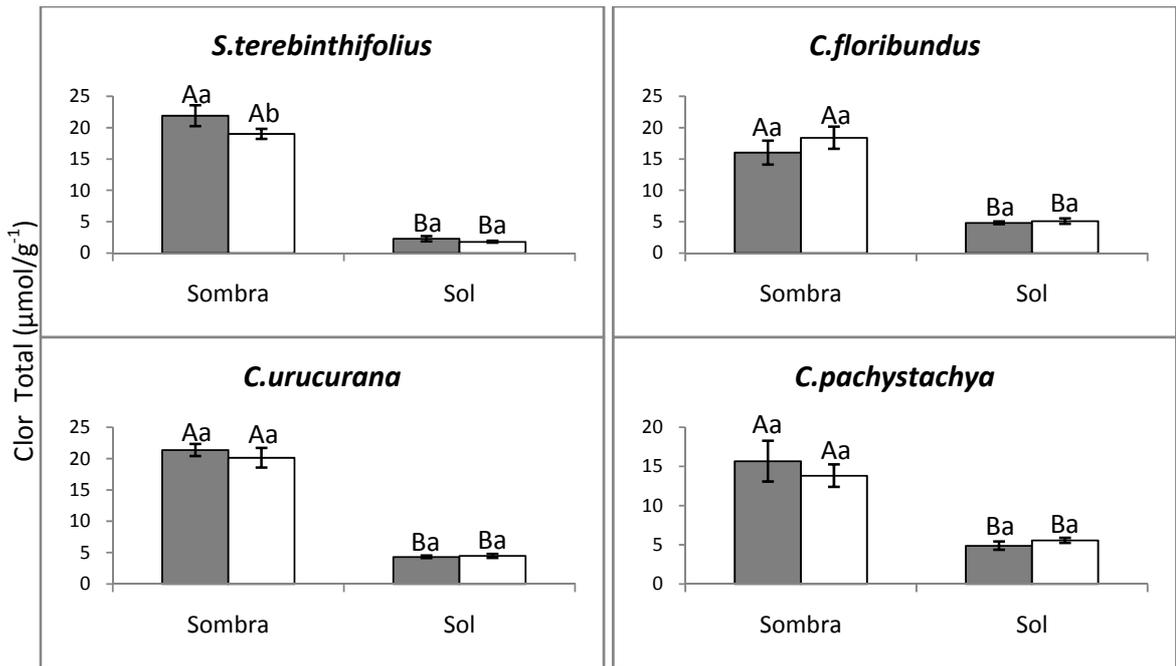
Foram extraídos os pigmentos fotossintéticos clorofila *a*, *b* e carotenóides das mesmas folhas em que foi medido a fluorescência e posteriormente quantificado a atividades das enzimas antioxidantes. O conteúdo de clorofila total foi maior nas plantas crescidas em sombra em todas as espécies estudadas (Figura 8). Não foi observada diferença significativa de clorofila total entre os horários analisados, tanto nas plantas crescidas na sombra quanto nas plantas crescidas em sol pleno, a exceção de *S.terebinthifolius* que teve menor conteúdo de clorofila total às 13:00h, nas plantas crescidas sob sombra (Figura 8).

Em condição de sombra, as espécies que apresentaram maiores valores de clorofila total foram *S.terebinthifolius* e *C.urucurana* e as espécies que apresentaram menores valores foram *H.courbaril* e *C.legalis*. Em condição de sol, *C.pachystachya* e *C.floribundus* foram as espécies que tiveram maior conteúdo de clorofila total e *S.terebinthifolius* e *T.roseo-alba* foram as espécies que apresentaram os menores valores destes pigmentos (Tabela 5).

Na medição das 6:00h, no grupo das espécies pioneiras encontramos que o conteúdo de clorofila total foi 79% menor nas plantas sob condição de sol que nas plantas sob condição de sombra e nas espécies não pioneiras essa diferença foi de 77%. Além disso, as espécies não pioneiras apresentaram 29% menos clorofila total do que as espécies pioneiras nas plantas sob condição de sombreamento (Tabela 5). Nas plantas mantidas sob pleno sol, não foi observado diferença significativa entre as espécies pioneiras e não pioneiras (Figura 11).

Na medição das 13:00h, as pioneiras apresentaram 76% e não pioneiras 73% menos clorofila total nas plantas sob condição de sol pleno do que nas plantas sob sombreamento. Para este horário (13:00h) as espécies não pioneiras tiveram 23% menos clorofila total do que as espécies pioneiras nas plantas sob condição de sol. Assim como na medição das 6:00h, não ocorreu diferença significativa entre o grupo das espécies pioneiras e não pioneiras nas plantas mantidas sob pleno sol (Figura 11).

Pioneiras



Não Pioneiras

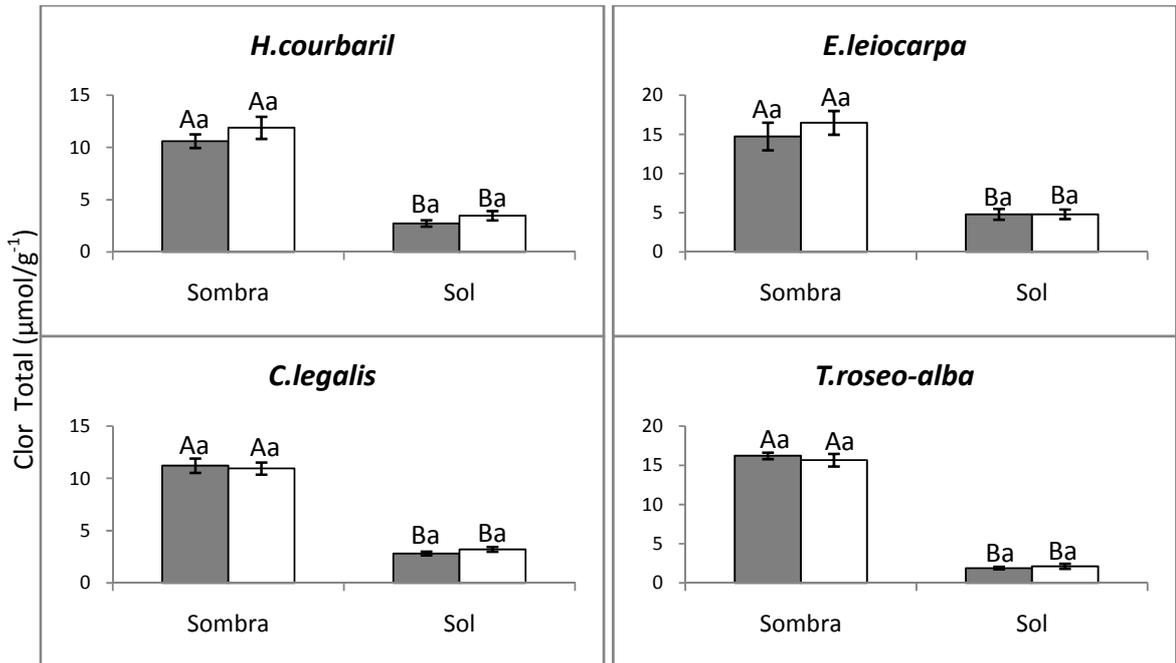


Figura 8. Clorofila Total (Clor Total) às 6:00h (■) e às 13:00h (□) em folhas de mudas de quatro espécies pioneiras e quatro espécies não pioneiras crescidas sob 10% de FFFA (sombra) e 100% de FFFA (Sol). Dados representam médias \pm S.E. de cinco réplicas (n=5). Barras seguidas de diferentes letras maiúsculas são significantes para o mesmo horário (6:00h ou 13:00h) entre plantas de sombra e sol, letras minúsculas diferentes são significantes para plantas crescidas na mesma condição de FFFA (sombra ou sol) entre os diferentes horários para $p \leq 0,05$. Resultados de *two way* ANOVA (horário x FFFA).

5.2.2. Razão Clorofila *a/b* /clorofila *b*

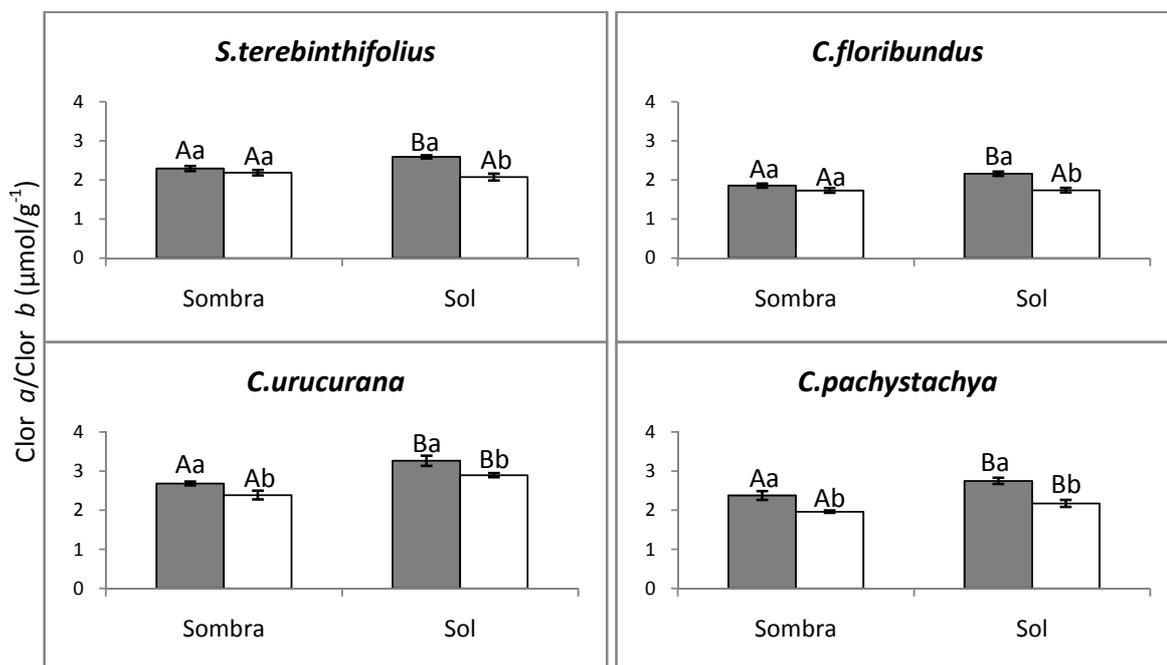
A razão entre clorofila *a/b* foi semelhante entre as espécies pioneiras e não pioneiras (tabela 5). Nas plantas crescidas sob sombra, *C.urucurana*, *C.pachystachya* e *H.courbaril* tiveram menor valor desta razão às 13:00h do que as 6:00h. As demais espécies não apresentaram diferença significativa entre estes dois horários. Nas plantas crescidas sob sol pleno apenas as espécies não pioneiras *E.leiocarpa* e *C.legalis* não apresentaram diferença da razão clorofila *a/b* entre os dois horários analisados. As demais espécies tiveram essa razão menor às 13:00h do que às 6:00h (Figura 9).

Todas as espécies pioneiras apresentaram maior razão de clorofila *a/b* nas plantas crescidas sob pleno sol do que as crescidas sob sombra às 6:00h, porém às 13:00h *S.terebinthifolius* e *C.floribundus* não apresentaram diferença entre os tratamentos de sombra e sol e *C.urucurana* e *C.pachystachya* tiveram maior valor de clorofila *a/b* nas plantas em condição de sol.

Entre as espécies não pioneiras *H.courbaril* não apresentou diferença entre os tratamentos de sombra e sol às 6:00h, *E.leiocarpa* teve essa razão maior nas plantas sob condição de sol e em *C.legalis* e *T.roseo-alba* essa razão foi menor na condição de sol do que na condição de sombra para este horário. Na medição das 13:00h, não foi observada diferença significativa entre as plantas crescidas em sombra e em sol. Porém, em *H.courbaril* e *T.roseo-alba* o conteúdo de clorofila *a/b* foi menor nas plantas crescidas sob pleno sol (Figura 9).

Não foi observada diferença significativa na razão clorofila *a/b* entre o grupo das espécies pioneiras e espécies não pioneiras nos tratamentos estudados (Figura 11).

Pioneiras



Não Pioneiras

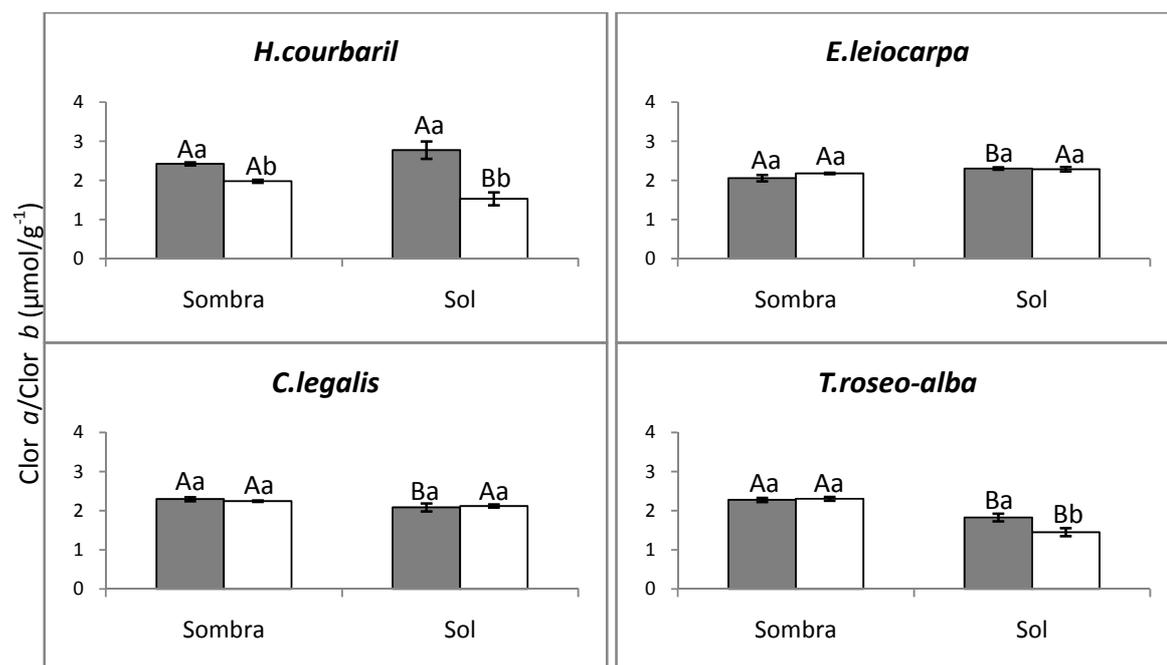


Figura 9. Razão entre clorofila a/clorofila b (Clor a/Clor b) às 6:00h (■) e às 13:00h (□) em folhas de mudas de quatro espécies pioneiras e quatro espécies não pioneiras crescidas sob 10% de FFFA (sombra) e 100% de FFFA (Sol). Dados representam médias \pm S.E. de cinco réplicas (n=5). Barras seguidas de diferentes letras maiúsculas são significantes para o mesmo horário (6:00h ou 13:00h) entre plantas de sombra e sol, letras minúsculas diferentes são significantes para plantas crescidas na mesma condição de FFFA (sombra ou sol) entre os diferentes horários para $p \leq 0,05$. Resultados de *two way* ANOVA (horário x FFFA).

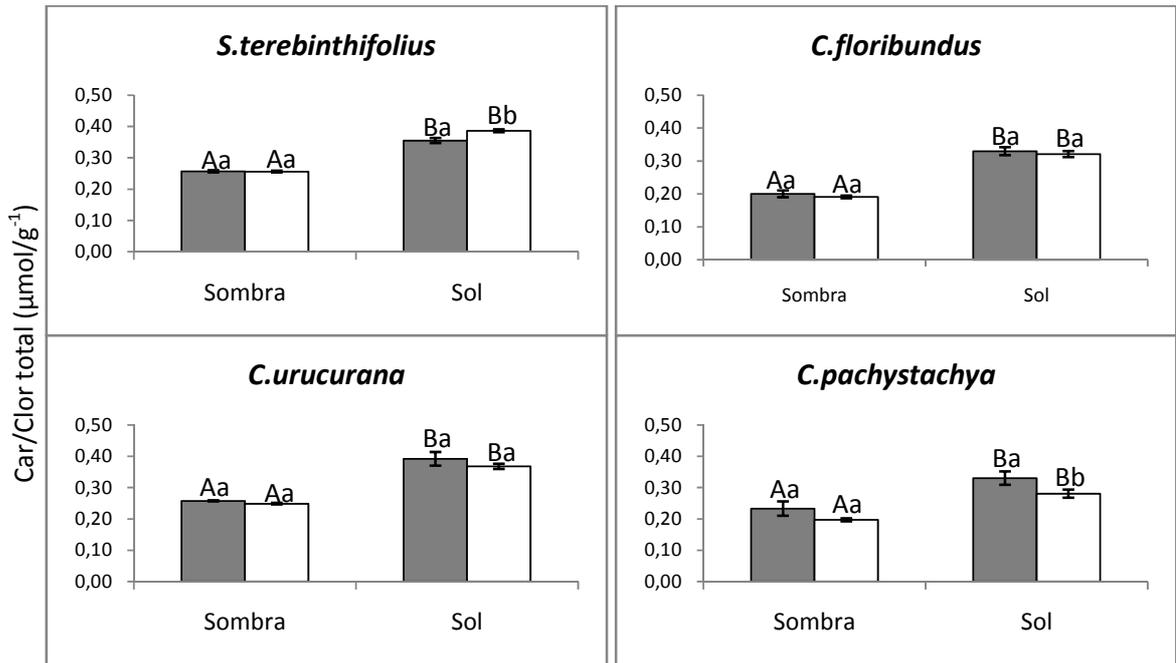
5.2.3. Razão carotenóides/clorofila total

A razão carotenóides/clorofila total (Car/Clor total) foi maior nas plantas crescidas sob pleno sol do que nas plantas crescidas sob sombra em todas as espécies estudadas, tanto às 6:00h quanto às 13:00h (Figura 10).

Não foi constatado diferença significativa de Car/Clor total entre a medição das 6:00h e das 13:00h em nenhuma das oito espécies nas plantas crescidas sob sombra. Nas plantas crescidas sob pleno sol, *S.terebinthifolius* foi a única espécie que teve maior Car/Clor total às 13:00h de que às 6:00h. *C.pachystachya*, *H.courbaril* e *C.legalis* apresentaram menor valor em Car/clor total às 13:00h que às 6:00h enquanto que *C.floribundus*, *C.urucurana*, *E.leiocarpa* e *T.roseo-alba* não apresentaram diferença entre os horários analisados nesta condição de crescimento (sol) (Figura10).

Na comparação entre os grupos sucessionais, a razão Car/Clor Total foi estatisticamente igual entre pioneiras e não pioneiras nas plantas sob condição de sombra, tanto na medição das 6:00h quanto na medição das 13:00h. Nas plantas crescidas sob sol pleno, as espécies não pioneiras tiveram maior Car/Clor Total (26%) do que as espécies pioneiras na medição das 6:00h. Na medição das 13:00h esse incremento foi de 18% porém a diferença entre pioneiras e não pioneiras não foi significativa (Figura 11). Às 6:00h, as espécies pioneiras tiveram 46%, e as espécies não pioneiras, 83% mais Car/Clor Total nas plantas sob pleno sol do que nas plantas sob sombra. Na medição das 13:00h às espécies pioneiras apresentaram 55% e as espécies não pioneiras 74% maior conteúdo de Car/Clor Total nas plantas sob condição de sol do que nas plantas sob condição de sombra (Tabela 5). Efeitos significativos da espécie, condição de luz e da interação espécie x condição de luz, foram determinados para todos os parâmetros de pigmentos fotossintéticos (tabela 5).

Pioneiras



Não Pioneiras

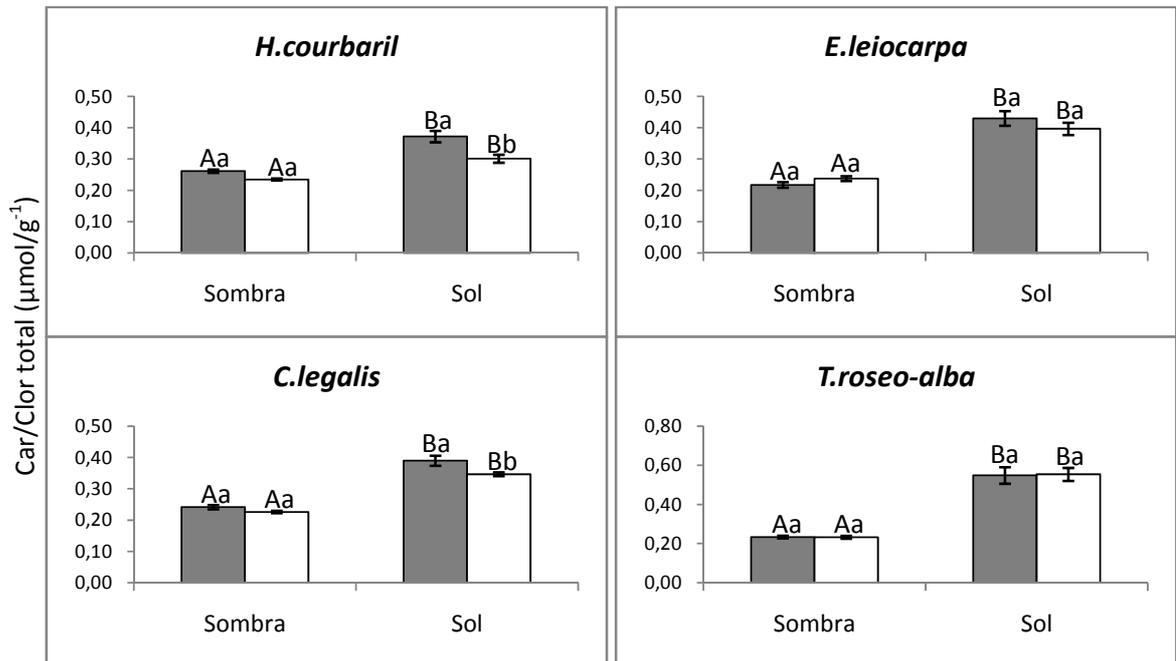


Figura 10. Razão entre Carotenóides/Clorofila Total (Car/Clor Total) às 6:00h (■) e às 13:00h (□) em folhas de mudas de quatro espécies pioneiras e quatro espécies não pioneiras crescidas sob 10% de FFFA (sombra) e 100% de FFFA (Sol). Dados representam médias ± S.E. de cinco réplicas (n=5). Barras seguidas de diferentes letras maiúsculas são significantes para o mesmo horário (6:00h ou 13:00h) entre plantas de sombra e sol, letras minúsculas diferentes são significantes para plantas crescidas na mesma condição de FFFA (sombra ou sol) entre os diferentes horários para p≤0,05. Resultados de two way ANOVA (horário x FFFA).

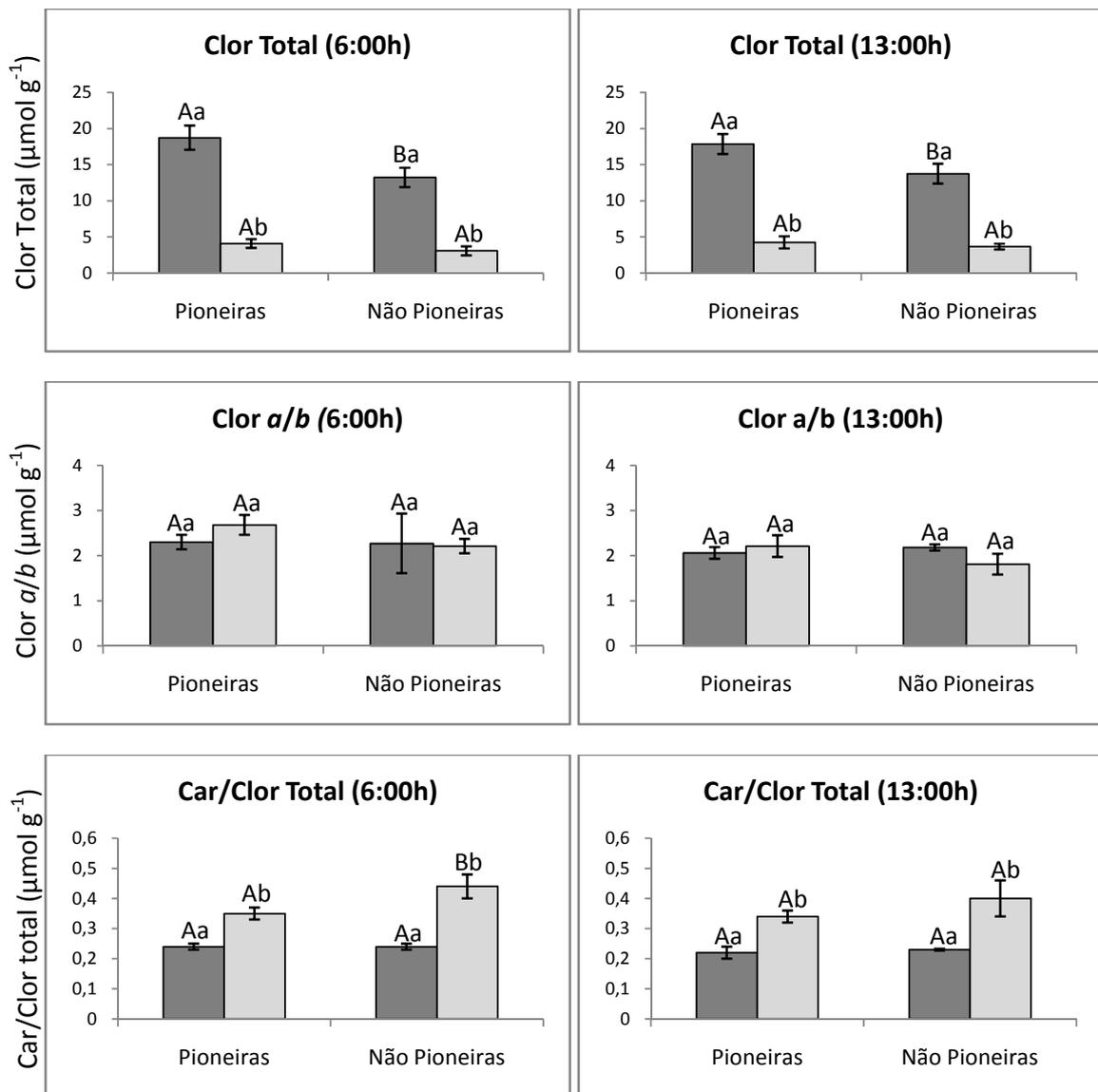


Figura 11: Clorofila total (Clor Total), razão entre clorofila *a*/clorofila *b* (Clor *a/b*) e razão entre carotenóides/clorofila total (Car/Clor total) em espécies pioneiras e não pioneiras crescidas sob 10% (sombra) de FFFA (■) e sob 100% (pleno sol) de FFFA (◻). Medições feitas às 6:00h e às 13:00h. Barras seguidas de diferentes letras maiúsculas indicam diferença significativa ($P \leq 0,05$) entre espécies pioneiras e não pioneiras crescidas sob a mesma condição de FFFA (10% ou 100%). Letras minúsculas diferentes indicam diferença significativa ($P \leq 0,05$) entre os tratamentos de FFFA (10% e 100%) no mesmo grupo sucessional (pioneiras ou não pioneiras). Dados representam médias \pm S.E. Resultados de *two way* ANOVA (Grupo sucessional x FFFA).

Tabela 5: Clorofila total (Clor Total), razão clorofila *a*/clorofila *b* (Clor *a*/Clor *b*) e razão carotenóides/clorofila total (Car/Clor Total) em oito espécies arbóreas tropicais expostas a 10% (sombra) e 100% (sol) de FFFA. As medições foram feitas às 6:00h e às 13:00h.

FFFA	Grupo Sucessional	Espécies	Parâmetros					
			Clor Total ($\mu\text{mol g}^{-1}$)		Clor <i>a</i> /Clor <i>b</i> ($\mu\text{mol g}^{-1}$)		Car/Clor Total ($\mu\text{mol g}^{-1}$)	
			6:00h	13:00h	6:00h	13:00h	6:00h	13:00h
10%	Pioneiras	<i>S.terebinthifolius</i>	21.9	19	2.3	2.2	0.26	0.26
		<i>C.floribundus</i>	16	18.4	1.9	1.7	0.2	0.19
		<i>C.urucurana</i>	21.4	20.1	2.7	2.4	0.26	0.25
		<i>C.pachystachya</i>	15.7	13.8	2.4	2	0.23	0.2
		Média	18.73 ± 1.68	17.84 ± 1.39	2.3 ± 0.16	2.06 ± 0.13	0.24 ± 0.01	0.22 ± 0.02
	Não Pioneiras	<i>H.courbaril</i>	10.7	11.9	2.4	2	0.26	0.24
		<i>E.leiocarpa</i>	14.7	16.5	2.1	2.2	0.22	0.24
		<i>C.legalis</i>	11.2	11	2.3	2.3	0.24	0.23
		<i>T.roseo-alba</i>	16.2	15.7	2.3	2.3	0.23	0.23
		Média	13.22 ± 1.34	13.74 ± 1.37	2.27 ± 0.66	2.18 ± 0.07	0.24 ± 0.01	0.23 ± 0.003
100%	Pioneiras	<i>S.terebinthifolius</i>	2.3	1.8	2.6	2.1	0.36	0.37
		<i>C.floribundus</i>	4.8	5.1	2.2	1.7	0.33	0.32
		<i>C.urucurana</i>	4.3	4.5	3.2	2.9	0.4	0.37
		<i>C.pachystachya</i>	4.9	5.6	2.7	2.2	0.33	0.28
		Média	4.07 ± 0.61	4.23 ± 0.84	2.68 ± 0.22	2.21 ± 0.24	0.35 ± 0.02	0.34 ± 0.02
	Não Pioneiras	<i>H.courbaril</i>	2.7	3.5	2.6	1.4	0.37	0.30
		<i>E.leiocarpa</i>	4.8	4.8	2.3	2.3	0.43	0.4
		<i>C.legalis</i>	2.8	3.2	2.1	2.1	0.39	0.35
		<i>T.roseo-alba</i>	1.9	3.1	1.8	1.4	0.55	0.55
		Média	3.06 ± 0.62	3.65 ± 0.39	2.21 ± 0.16	1.81 ± 0.23	0.44 ± 0.04	0.4 ± 0.06
ANOVA			$F_E = 10.8^*$ $F_L = 704.2^*$ $F_{ExL} = 10.1^*$	$F_E = 7.9^*$ $F_L = 664.1^*$ $F_{ExL} = 7.4^*$	$F_E = 27.9^*$ $F_L = 18.1^*$ $F_{ExL} = 7.5^*$	$F_E = 31.2^*$ $F_L = 5.5^*$ $F_{ExL} = 15.2^*$	$F_E = 9.8^*$ $F_L = 344.1^*$ $F_{ExL} = 9.8^*$	$F_E = 33.6^*$ $F_L = 572.9^*$ $F_{ExL} = 21.9^*$

As análises foram feitas sobre cinco réplicas, após 180 dias de exposição a dois níveis de FFFA contrastante. Os resultados são de uma análise de variância de dois fatores (ANOVA), com espécie (E) e luz (L) como fatores fixos e sua interação (ExL). Os dados são das médias ± erro padrão, *, $P \leq 0.05$; NS, não significativa.

5.3. Atividade das enzimas antioxidantes e proteína total

5.3.1. Atividade da Superóxido Dismutase (SOD)

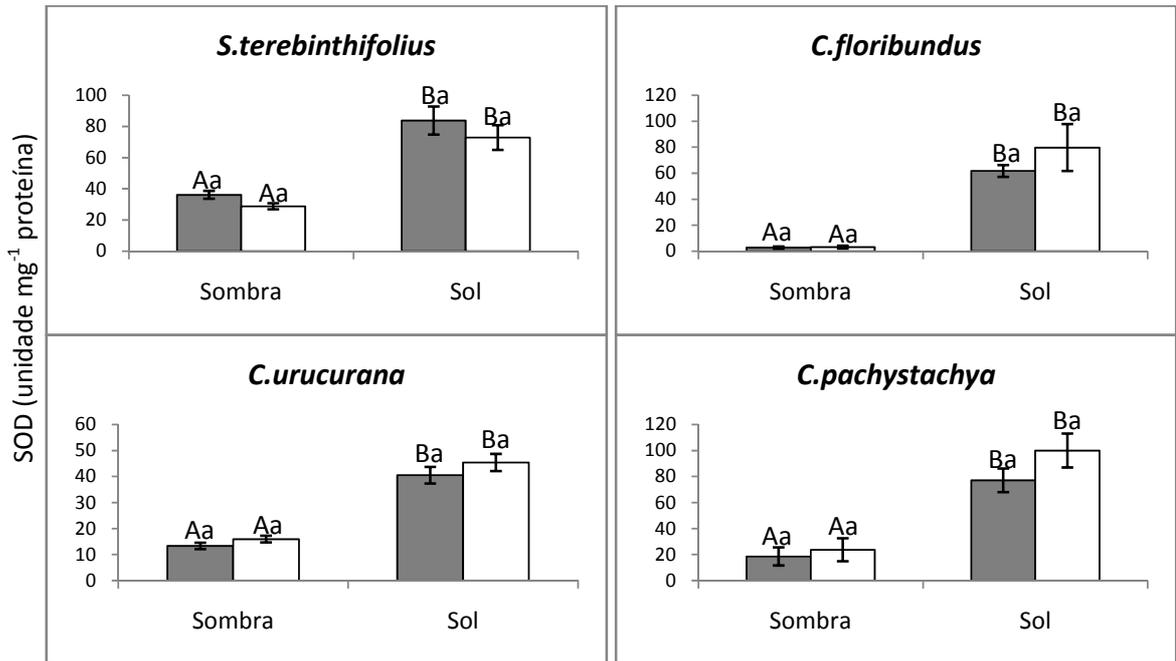
Como mostrado na Figura 12, as plantas crescidas sob pleno sol apresentaram maior atividade significativa de SOD comparadas com as plantas crescidas sob sombreamento em todas as espécies e nos dois horários analisados.

Entre as espécies pioneiras não foi observada diferença significativa na atividade de SOD entre os dois horários analisados tanto nas plantas crescidas sob pleno sol quanto nas crescidas sob sombra. Entre as espécies não pioneiras a atividade de SOD também não diferiu entre os horários em *H.courbaril* e *E.leiocarpa*, porém em *C.legalis* e *T.roseo-alba* a atividade de SOD foi menor às 13:00h do que às 6:00h nas plantas crescidas sob sombra. Nas plantas crescidas sob pleno sol não houve diferença da atividade desta enzima entre os horários analisados (Figura 12).

Os maiores valores de SOD nas plantas crescidas sob pleno sol foram encontrados em *S.terebinthifolius*, *C.floribundus* e *C.pachystachya*, (pioneiras) e os menores valores em *C.floribundus*. Nas plantas crescidas sob sombra maiores valores desta enzima foram encontrados em *S.terebinthifolius* (pioneira) e os menores valores em *E.leiocarpa* (não pioneira) (Tabela 6).

Ao comparar os grupos sucessionais foi observado que as espécies pioneiras apresentaram maior atividade de SOD (272%) nas plantas sob condição de sol do que nas plantas sob condição de sombra, enquanto que nas espécies não pioneiras esse incremento na atividade de SOD na condição de sol foi de 23% na medição das 6:00h. Na medição das 13:00h, com maior radiação solar, as espécies pioneiras tiveram 316% e as espécies não pioneiras 88% mais atividade de SOD nas plantas sob condição de pleno sol do que nas plantas sob sombreamento. Além disso, as espécies pioneiras apresentaram 64% às 6:00h e 111% às 13:00h mais atividade de SOD que as espécies não pioneiras, nas plantas sob condição de sol (Figura 16, Tabela 6).

Pioneiras



Não Pioneiras

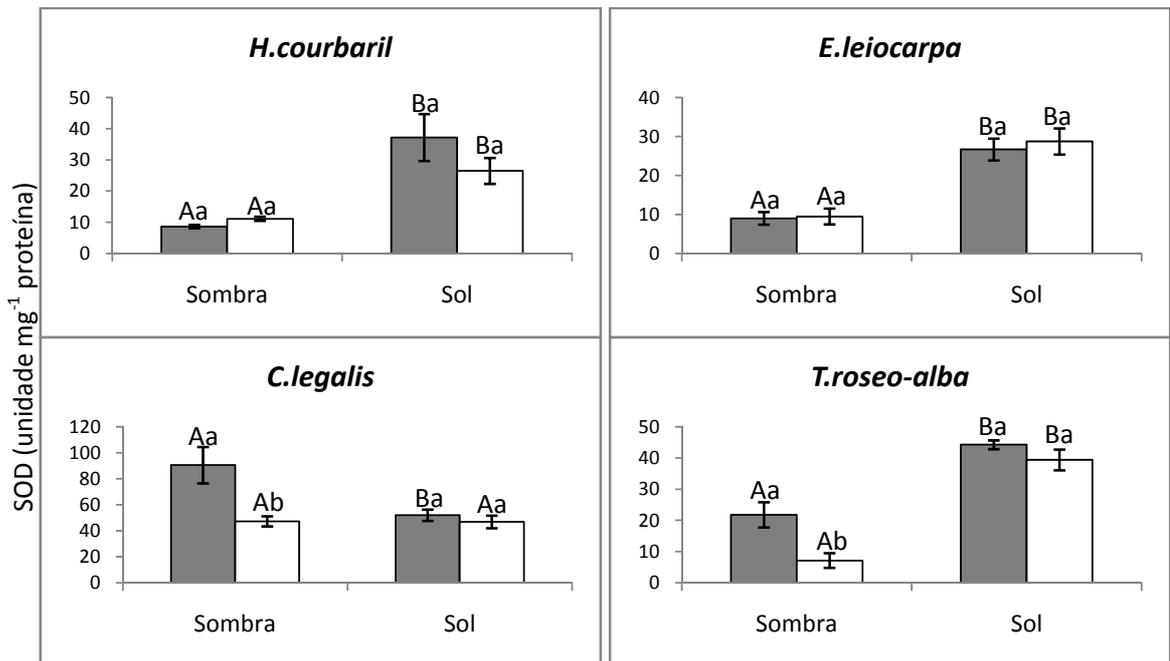


Figura 12: Atividade da superóxido dismutase (SOD) às 6:00h (■) e às 13:00h (□) em folhas de plantas de quatro espécies pioneiras e quatro espécies não pioneiras crescidas sob 10% de FFFA (sombra) e 100% de FFFA (Sol). Os dados representam médias \pm S.E. de cinco réplicas (n=5). Barras seguidas de diferentes letras maiúsculas são significantes para o mesmo horário (6:00h ou 13:00h) entre plantas de sombra e sol, letras minúsculas diferentes são significantes para plantas crescidas na mesma condição de FFFA (sombra ou sol) entre os diferentes horários (p \leq 0,05). Resultados de two way ANOVA (horário x FFFA).

5.3.2. Atividade da catalase (CAT)

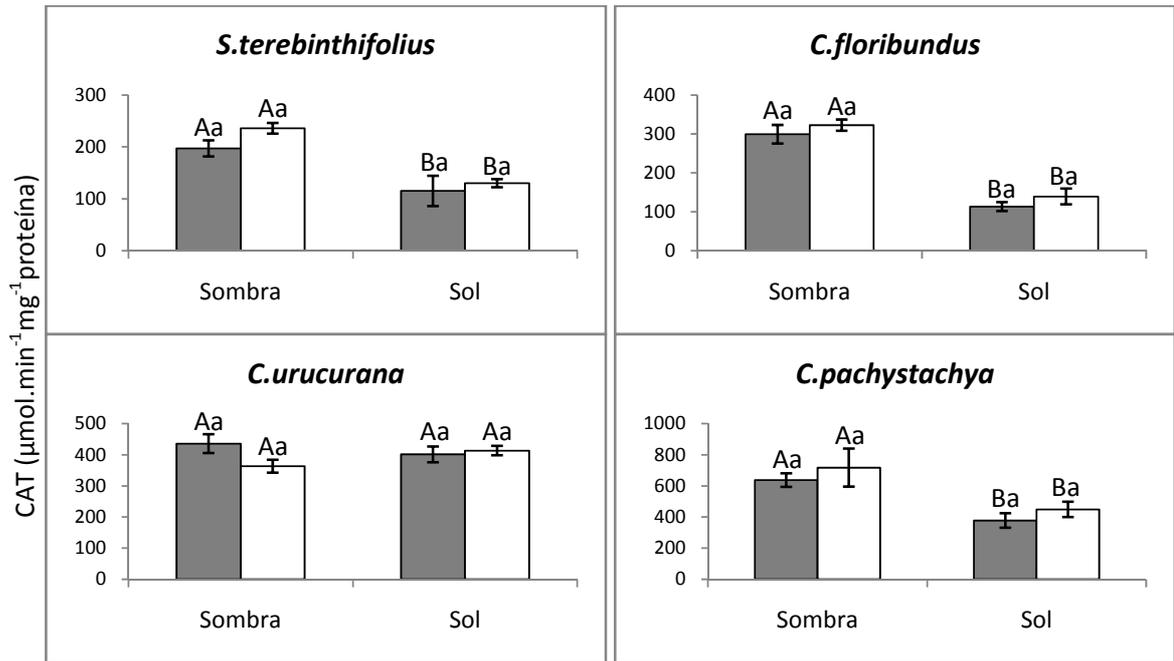
Maiores valores da atividade de CAT foram encontrados nas plantas crescidas sob sombreamento nas oito espécies analisadas (tabela 6). No entanto, esta diferença da atividade de CAT não foi significativa em todos os casos. Entre as espécies pioneiras a diferença de atividade desta enzima entre plantas mantidas sob pleno sol e sob sombreamento só não foi significativa em *C.urucurana*. Entre as espécies não pioneiras, *H.courbaril* e *E.leiocarpa* tiveram menor atividade significativa de CAT nas plantas sob pleno sol comparado com as plantas sob sombreamento às 13:00h. Em *C.legalis* essa diferença foi observada às 6:00h e, em *T.roseo-alba* nos dois horários analisados (Figura 13).

As espécies pioneiras não apresentaram diferença significativa entre os horários analisados, tanto nas plantas da condição de sombra, quanto nas plantas da condição de sol. Entre as espécies não pioneiras, nas plantas sob condição de sol, *H.courbaril* teve menor atividade de CAT às 13:00h do que às 6:00h. Sob condição de sombra, *E.leiocarpa* teve maior atividade de CAT às 13:00h do que às 6:00h. *C.legalis* teve menor atividade às 13:00h do que às 6:00h, nas plantas sob condição de sombra, e maior atividade desta enzima às 13:00h do que às 6:00h nas plantas mantidas em condição de sol. *T.roseo-alba* não apresentou diferença de CAT entre os horários analisados.

Nas plantas crescidas sob sombreamento, o menor valor de atividade de CAT foi encontrada em *S.terebintifolius* na medição das 6:00h e em *C.legalis* às 13:00h. O maior valor foi encontrado em *C.pachystachya* (espécie pioneira) tanto nas medições das 6:00h quanto das 13:00 (Tabela 6). Nas plantas crescidas sob pleno sol, *C.legalis* (não pioneira) também apresentou os menores valores de atividade de CAT às 6:00h e às 13:00h, porém os maiores valores foram encontrados em *C.urucurana* às 6:00h e em *C.pachystachya* às 13:00h, ambas espécies pioneiras. Como mostrado na figura 16, não foi constatado diferença significativa na atividade de CAT entre os grupos sucessionais entre as plantas sob sombreamento e sob pleno sol tanto às 6:00h quanto às 13:00h, porém, as espécies pioneiras apresentaram 42% e as espécies não pioneiras 39% menor atividade de CAT nas plantas sob pleno sol quando comparadas as plantas sob condição de sombra, na medição das 6:00h.

Às 13:00h, a diminuição da atividade de CAT nas plantas mantidas sob pleno sol comparadas as plantas sob sombreamento foi um pouco maior (45% no grupo das pioneiras e 48% no grupo das espécies não pioneiras). Apesar de não ter apresentado diferença significativa, o grupo das espécies pioneiras apresentaram maior atividade de CAT do que o grupo das espécies não pioneiras tanto nas plantas crescidas sob sombreamento quanto nas plantas crescidas sob pleno sol nos dois horários analisados. Nas plantas crescidas sob sombreamento, essa diferença foi de 73% às 6:00h e 62% às 13:00h. Nas plantas crescidas sob pleno sol a atividade de CAT foi 62% e 113% maior nas espécies pioneiras (às 6:00h e às 13:00h respectivamente) do que nas espécies não pioneiras (Tabela 6).

Pioneiras



Não Pioneiras

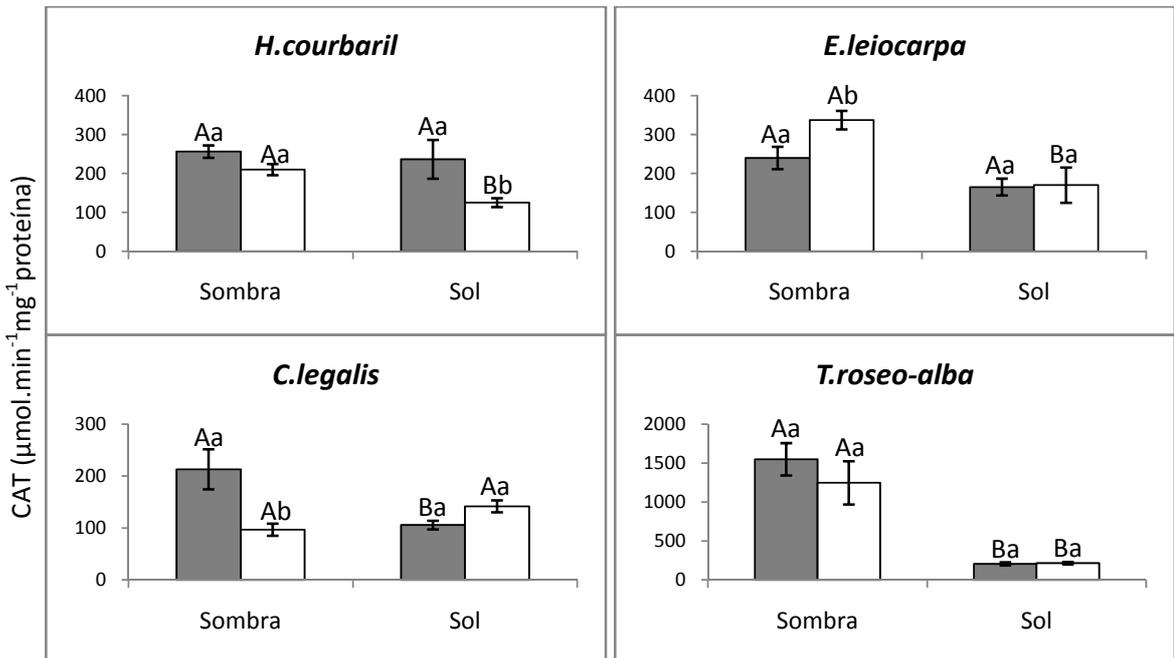


Figura 13. Atividade da Catalase (CAT) às 6:00h (■) e às 13:00h (□) em folhas de plantas de quatro espécies pioneiras e quatro espécies não pioneiras crescidas sob 10% de FFFA (sombra) e 100% de FFFA (Sol). Dados representam médias \pm S.E. de cinco réplicas (n=5). Barras seguidas de diferentes letras maiúsculas são significantes para o mesmo horário (6:00h ou 13:00h) entre plantas de sombra e sol, letras minúsculas diferentes são significantes para plantas crescidas na mesma condição de FFFA (sombra ou sol) entre os diferentes horários para $p \leq 0,05$. Resultados de two way ANOVA (horário x FFFA).

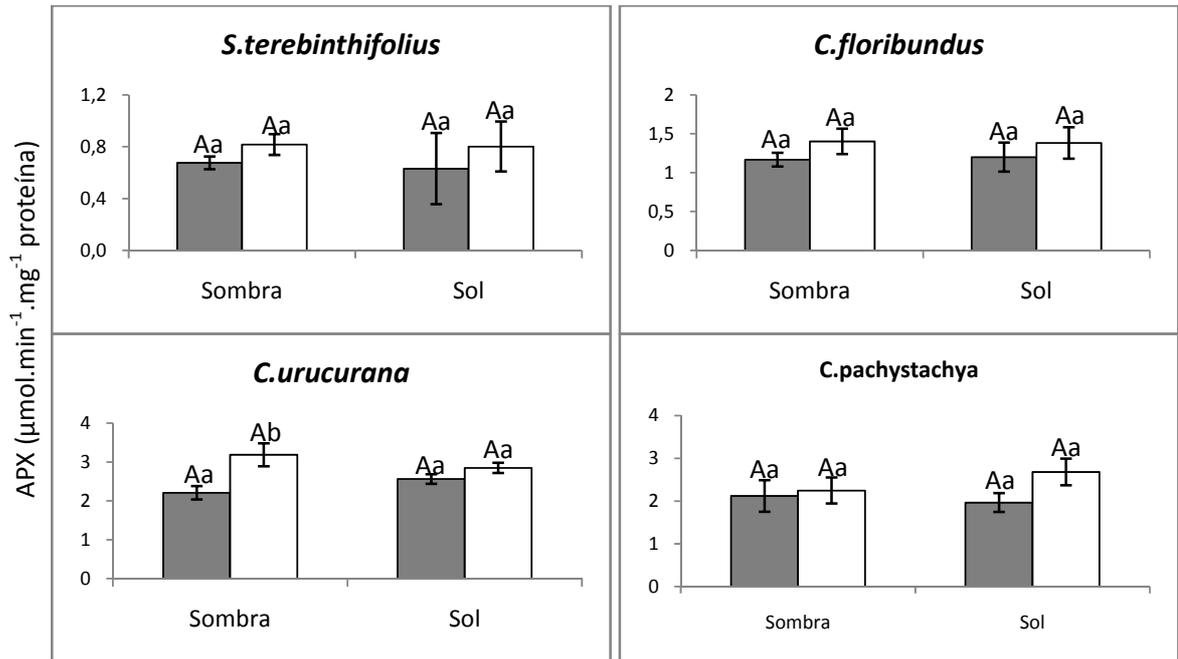
5.3.3. Ascorbato Peroxidase (APX)

As espécies pioneiras *S.terebinthifolius*, *C.floribundus* e *C.pachystachya* não apresentaram diferenças significantes de atividade de APX entre os horários analisados (6:00h e 13:00h), enquanto *C.urucurana* teve maior atividade desta enzima às 13:00h do que às 6:00h, nas plantas crescidas sob sombreamento. Entre as espécies não pioneiras, nas plantas crescidas sob condição de sombra, *H.courbaril*, *E.leiocarpa* e *T.roseo-alba* não apresentaram diferença na atividade de APX entre os horários analisados e *C.legalis* teve menor atividade desta enzima às 13:00h do que às 6:00h. Nas plantas crescidas sob pleno sol, *H.courbaril* e *E.leiocarpa* tiveram maior atividade desta enzima às 13:00h do que às 6:00h. *C.legalis* teve maior atividade de CAT às 6:00h do que às 13:00h e *T.roseo-alba* não apresentou diferença na atividade de APX entre esses dois horários (Figura 14). Apenas *E.leiocarpa* teve maior atividade de APX nas plantas sob pleno sol comparadas as plantas sob sombreamento tanto às 6:00h quanto às 13:00h (Figura 14).

A maior atividade de APX foi encontrada em *T.roseo-alba* às 6:00h e às 13:00h tanto nas plantas sob condição de sombra quanto nas plantas sob condição de sol. Os menores valores desta enzima foram em *S.terebinthifolius* às 6:00h e em *C.legalis* às 13:00h, tanto nas plantas sob sombra quanto nas plantas sob pleno sol (Tabela 6).

A atividade de APX não diferiu significativamente entre os grupos sucessionais (pioneiras e não pioneiras) tanto nas plantas sob condição de sombra quanto nas plantas sob condição de pleno sol nos dois horários analisados (Figura 16), porém as espécies não pioneiras apresentaram em média mais atividade de APX que as espécies pioneiras tanto nas plantas sob condição de sombra (89%) quanto nas plantas sob condição de sol (72%) (Tabela 6).

Pioneiras



Não Pioneiras

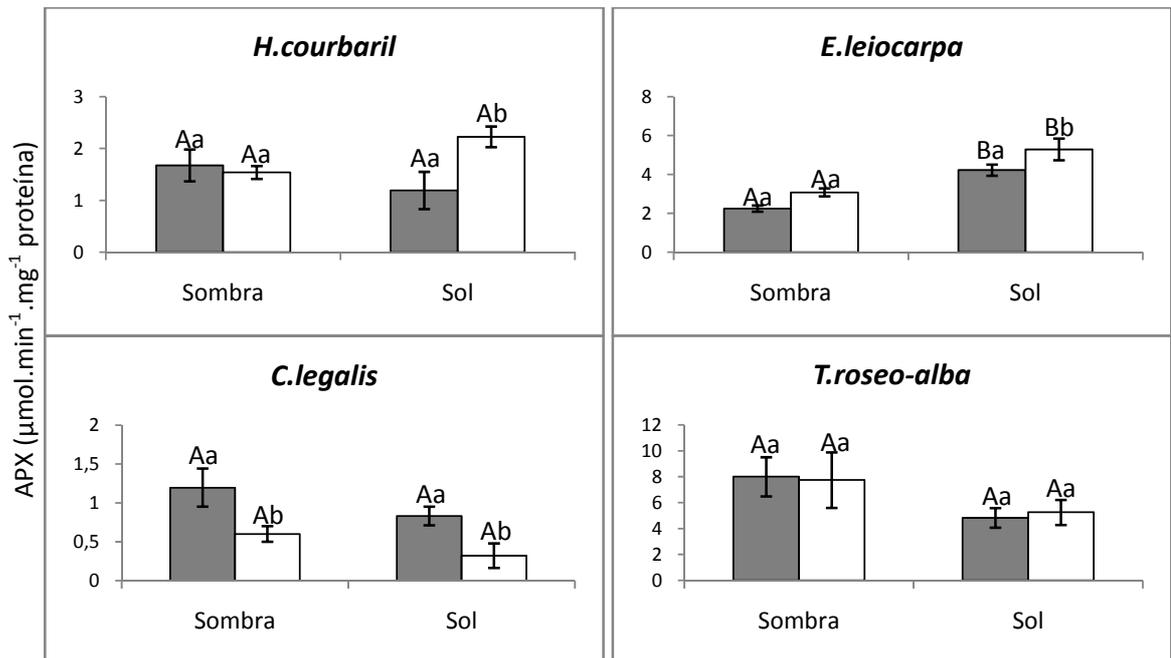


Figura 14. Ascorbato peroxidase (APX) às 6:00h (■) e às 13:00h (□) em folhas de mudas de quatro espécies pioneiras e quatro espécies não pioneiras crescidas sob 10% de FFFA (sombra) e 100% de FFFA (Sol). Dados representam médias \pm S.E. de cinco réplicas (n=5). Barras seguidas de diferentes letras maiúsculas são significantes para o mesmo horário (6:00h ou 13:00h) entre plantas de sombra e sol, letras minúsculas diferentes são significantes para plantas crescidas na mesma condição de FFFA (sombra ou sol) entre os diferentes horários para $p \leq 0,05$. Resultados de two way ANOVA (horário x FFFA).

5.3.4. Proteína total

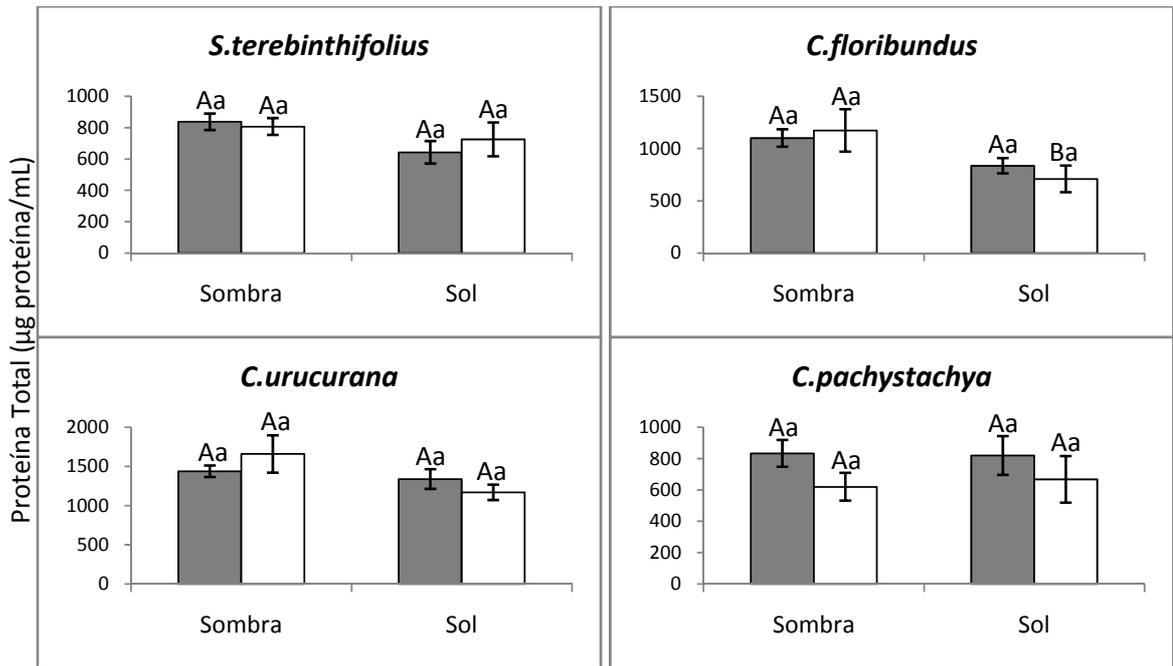
O conteúdo de proteína total ($\mu\text{g/mL}$) não diferiu entre os horários analisados (6:00h e 13:00h) em todas as espécies estudadas, tanto nas plantas crescidas sob condição de sombra quanto nas plantas mantidas sob pleno sol (Figura 15)

Entre as espécies pioneiras, *C.floribundus* teve menor conteúdo de proteínas nas plantas sob sol do que nas plantas sob sombra às 13:00h. Nas demais espécies deste grupo sucessional não foram observadas diferenças no conteúdo de proteínas. Entre as espécies não pioneiras, *C.legalis* e *T.roseo-alba* apresentaram maior conteúdo de proteína nas plantas sob pleno sol do que nas plantas sob sombreamento. As demais espécies não pioneiras *H.courbaril* e *E.leiocarpa* não apresentaram diferença no conteúdo de proteínas entre as plantas sob sol e sob sombreamento (Figura 15).

Os maiores valores de proteína total, nas plantas crescidas sob sombreamento foram encontrados em *C.urucurana* (espécie pioneira) e em *E.leiocarpa* (espécie não pioneira) e os menores valores foram vistos em *C.legalis* e *T.roseo-alba*, ambas espécies não pioneiras. Nas plantas crescidas sob pleno sol, *C.urucurana* e *E.leiocarpa* também tiveram valores de conteúdo de proteínas maiores que as demais espécies, porém menores valores foram encontrados em *H.courbaril* e *C.legalis* (Tabela 6).

Não foi observada diferença significativa no conteúdo de proteínas entre os grupos sucessionais (pioneiras e não pioneiras) e entre plantas sob pleno sol e sob sombreamento (Figura 16).

Pioneiras



Não Pioneiras

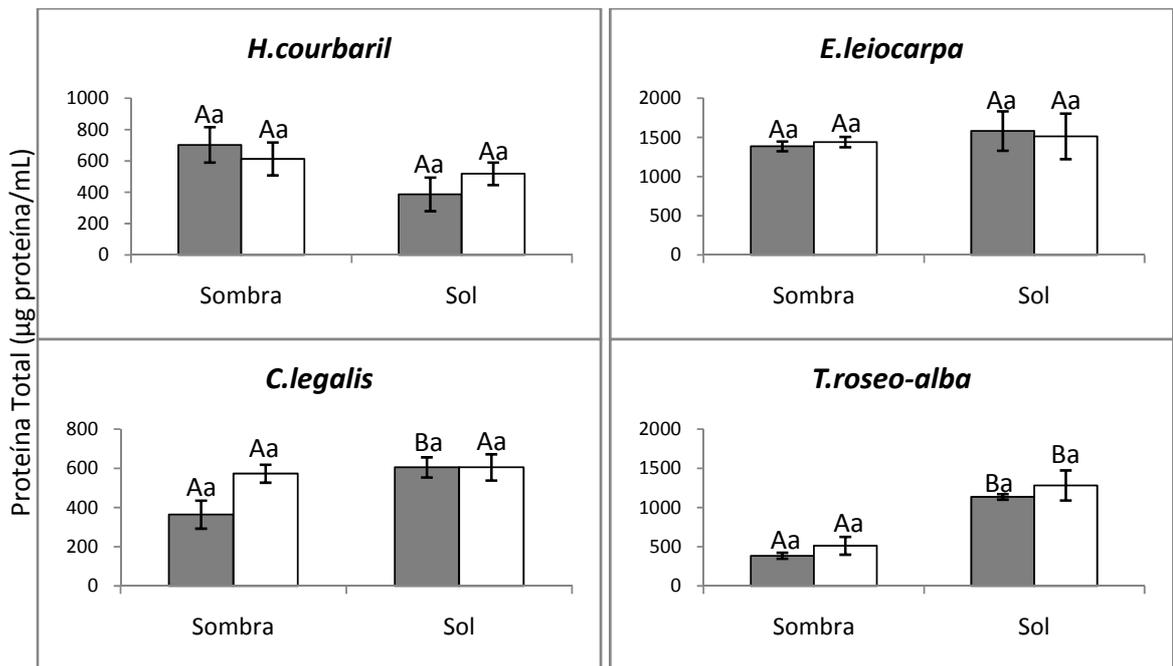


Figura 15. Proteína Total às 6:00h (■) e às 13:00h (□) em folhas de mudas de quatro espécies pioneiras e quatro espécies não pioneiras crescidas sob 10% de FFFA (sombra) e 100% de FFFA (Sol). Dados representam médias ± S.E. de cinco réplicas (n=5). Barras seguidas de diferentes letras maiúsculas são significantes para o mesmo horário (6:00h ou 13:00h) entre plantas de sombra e sol, letras minúsculas diferentes são significantes para plantas crescidas na mesma condição de FFFA (sombra ou sol) entre os diferentes horários para $p \leq 0,05$. Resultados de *two way* ANOVA (horário x FFFA).

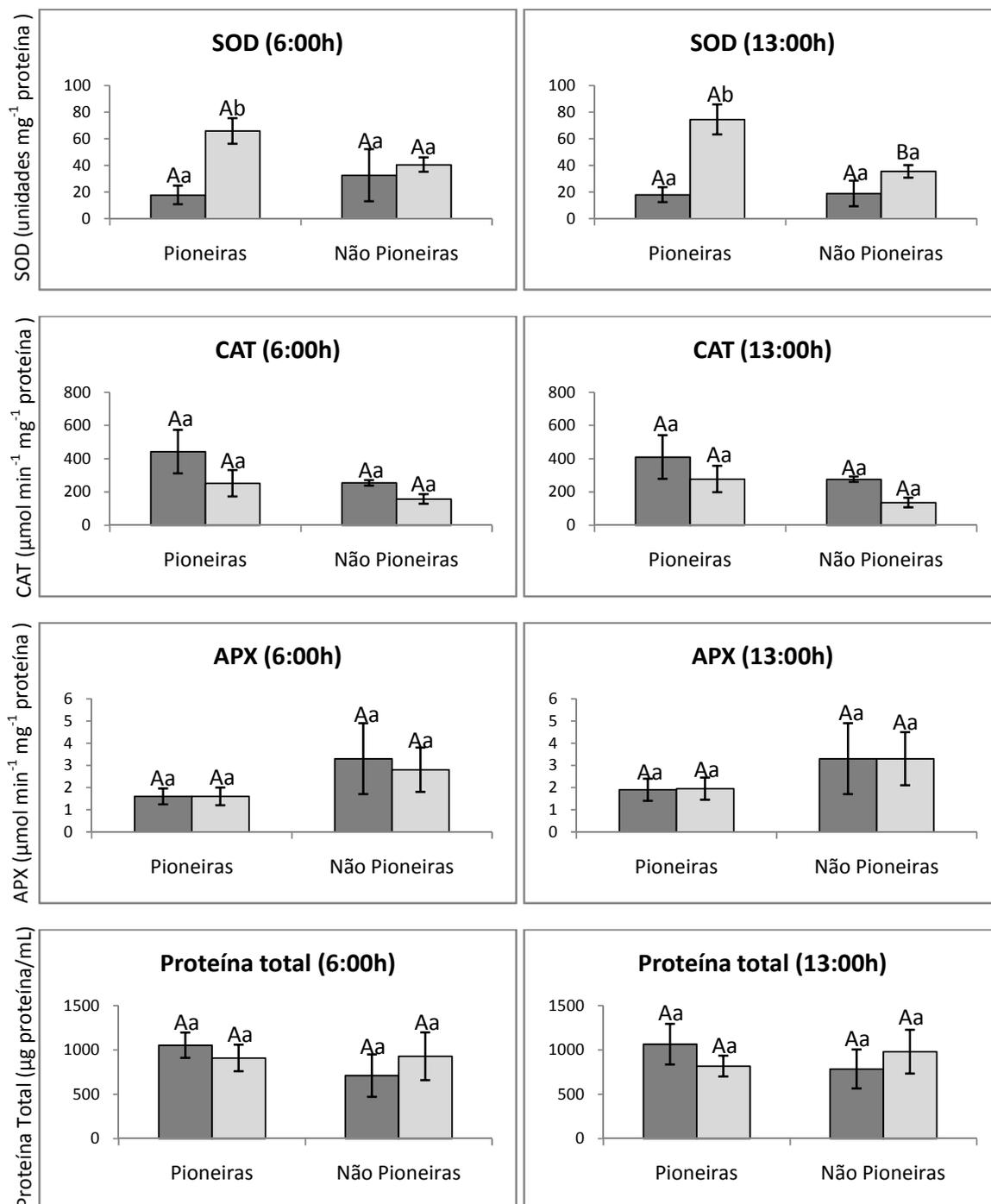


Figura 16: Atividade da superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT), ascorbato peroxidase (APX) e proteína total em espécies pioneiras e espécies não pioneiras crescidas sob 10% (sombra) de FFFA (■) e sob 100% (pleno sol) de FFFA (□). Medições feitas às 6:00h e às 13:00h. Barras seguidas de diferentes letras maiúsculas indicam diferença significativa ($P \leq 0,05$) entre espécies pioneiras e não pioneiras crescidas sob a mesma condição de FFFA (10% ou 100%). Letras minúsculas diferentes indicam diferença significativa ($P \leq 0,05$) entre os tratamentos de FFFA (10% e 100%) no mesmo grupo sucessional (pioneiras ou não pioneiras). Dados representam médias \pm S.E. Resultados de *two way* ANOVA (Grupo sucessional x FFFA).

Tabela 6: Atividade de Superóxido Dismutase (SOD), Catalase (CAT), Ascorbato Peroxidase (APX) e proteína total em oito espécies arbóreas tropicais exposta a 10% (sombra) e 100% (pleno sol) de fluxo de FFFA. As medições foram feitas às 6:00h e às 13:00h.

FFFA	Grupo Sucessional	Espécies	Parâmetros							
			SOD (unidade mg ⁻¹ proteína ⁻¹)		CAT (µmol min ⁻¹ mg proteína ⁻¹)		APX (µmol min ⁻¹ mg proteína ⁻¹)		Proteína total (µg proteína/mL)	
			6:00h	13:00h	6:00h	13:00h	6:00h	13:00h	6:00h	13:00h
10%	Pioneiras	<i>S.terebinthifolius</i>	36.1	28.8	196.8	235.9	0.7	0.8	837.0	807.0
		<i>C.floribundus</i>	2.7	3.1	299.2	322.7	1.2	1.4	1100.7	1173.1
		<i>C.urucurana</i>	13.3	15.9	435.7	363.1	2.2	3.2	1438.3	1658.0
		<i>C.pachystachya</i>	18.5	23.6	812.7	717.3	2.1	2.3	833.4	620.0
		Média	17.7 ± 7.0	17.9 ± 5.6	436.1 ± 134.7	409.8 ± 105.9	1.6 ± 0.36	1.9 ± 0.5	1052.4 ± 143.1	1064.5 ± 228.8
	Não Pioneiras	<i>H.courbaril</i>	8.6	11.1	256.2	210.0	1.7	1.5	702.8	613.2
		<i>E.leiocarpa</i>	9.0	9.5	239.9	337.3	2.2	3.1	1386.8	1441.2
		<i>C.legalis</i>	90.5	47.3	213.3	141.8	1.2	0.6	364.0	572.9
		<i>T.roseo-alba</i>	21.8	7.1	299.2	322.7	8.0	7.8	384.8	512.1
		Média	32.5 ± 19.6	18.8 ± 9.6	252.2 ± 18	253 ± 46.7	3.3 ± 1.6	3.3 ± 1.6	709.6 ± 238.7	784.9 ± 219.8
100%	Pioneiras	<i>S.terebinthifolius</i>	83.7	72.8	115.1	130.2	0.6	0.8	642.3	725.0
		<i>C.floribundus</i>	61.7	79.7	113.1	139.2	1.2	1.4	835.4	709.0
		<i>C.urucurana</i>	40.5	45.4	401.3	413.4	2.6	2.9	1338.8	1168.5
		<i>C.pachystachya</i>	77.1	100	377.6	448.3	2.0	2.7	819.1	667.1
		Média	65.8 ± 9.6	74.5 ± 11.3	251.6 ± 79.6	282.8 ± 85.8	1.6 ± 0.4	1.95 ± 0.5	908.9 ± 149.8	817.4 ± 117.7
	Não Pioneiras	<i>H.courbaril</i>	37.2	26.5	236.4	125.1	1.2	2.2	386.9	517.9
		<i>E.leiocarpa</i>	26.7	28.7	165.2	170.1	4.2	5.3	1582.0	1514.1
		<i>C.legalis</i>	52.0	46.8	105.7	96.7	0.8	0.3	604.9	605.2
		<i>T.roseo-alba</i>	44.3	39.4	113.1	139.2	4.8	5.3	1136.4	1282.3
		Média	40.05 ± 5.4	35.4 ± 4.7	155.1 ± 30.2	132.8 ± 15.3	2.8 ± 1.0	3.3 ± 1.2	927.6 ± 269	979.9 ± 246.8
ANOVA			F _E = 20.6*	F _E = 11.1*	F _E = 35.4*	F _E = 15.5*	F _E = 30.7*	F _E = 19.9*	F _E = 26.2*	F _E = 12.4*
			F _L = 89.5*	F _L = 115.6*	F _L = 79.1*	F _L = 34.0*	F _L = 1.0 ns	F _L = 0.005 ns	F _L = 0.5 ns	F _L = 0.1 ns
			F _{ExL} = 14.1*	F _{ExL} = 8.4*	F _{ExL} = 28.0*	F _{ExL} = 9.2*	F _{ExL} = 4.5*	F _{ExL} = 2.1 ns	F _{ExL} = 6.1*	F _{ExL} = 3.7*

As análises foram feitas sobre cinco réplicas, após 180 dias de exposição a dois níveis de FFFA contrastante. Os resultados são de uma análise de variância de dois fatores (ANOVA), com espécie (E) e luz (L) como fatores fixos e sua interação (ExL). Os dados são das médias ± erro padrão, *, P≤0.05; NS, não significante, ND, não determinado.

VI. DISCUSSÃO

Neste experimento, o impacto do alto nível de radiação (alto fluxo de fótons fotossinteticamente ativos, FFFA) sobre a performance das plantas diferiu significativamente entre as espécies, com maiores efeitos, particularmente, sobre as espécies de sucessão tardia (espécies não pioneiras). As análises da atividade das enzimas antioxidantes, pigmentos fotossintéticos e fluorescência da clorofila *a* nas folhas supriu evidências de que as espécies pioneiras, as quais são mais tolerantes a alta radiação luminosa, foram menos sensíveis às diferenças nas condições de crescimento do que as espécies sucessionais tardias, espécies mais tolerantes à sombra. As folhas das espécies pioneiras mantiveram a sua eficiência fotoquímica máxima do fotossistema II em níveis relativamente altos (F_v/F_m acima 0,72), enquanto as folhas de espécies sucessionais tardias mostraram decréscimos (F_v/F_m abaixo de 0,67) em 100% de FFFA (Figura 5). Krause *et al* (2001) também encontrou que o declínio em F_v/F_m sobre alta luz solar foi muito mais acentuado em espécies sucessionais tardias do que em pioneiras.

O parâmetro F_v/F_m foi usado para estimar os efeitos do FFFA sobre a integridade do fotossistema II (PSII). A fotoinibição dinâmica, por inativação do PSII, funciona como um mecanismo de defesa, pois o aumento da dissipação não fotoquímica da energia em um momento em que a afluência de CO_2 é diminuída (devido ao fechamento estomático, nas horas de maior radiação e temperatura), pode evitar a formação de espécies reativas de oxigênio (ROS) e dano foto-oxidativo. Portanto, a inativação do PSII é uma estratégia eficiente, pois o fluxo de elétrons se interrompe em um momento em que as condições ambientais não são favoráveis para a assimilação do carbono (Critchley, 1998).

Pelos valores da razão F_v/F_m , estes resultados mostram que nenhuma das quatro espécies pioneiras sofreu fotoinibição. O declínio da eficiência quântica máxima do PSII (F_v/F_m), observado no período das 13:00h foi mais acentuado nas plantas que cresceram na condição de sol do que nas plantas que cresceram na condição de sombra, tanto nas espécies pioneiras quanto nas espécies não pioneiras, porém, esses valores não foram menores que 0,7 nas espécies pioneiras. Em contraste, entre as espécies não pioneiras, *H.courbaril* teve valores abaixo de 0,7 nas plantas sob condição de sol às 13:00h e *C.legalis* teve valores de F_v/F_m

abaixo de 0,7, logo às 6:00h e este diminuiu mais ainda às 13:00h nas plantas mantidas sob pleno sol (Tabela 4), mostrando assim grande vulnerabilidade desta espécie quando colocada sob alta luminosidade. As demais espécies não pioneiras *E.leiocarpa* e *T.roseo-alba* não apresentaram indícios de fotoinibição. Os baixos valores da razão F_v/F_m por exposição contínua à alta radiação, como ocorreu na espécie não pioneira *C.legalis*, nas plantas crescidas sob condição de sol, pode ser uma evidência de fotoinibição irreversível ou crônica severa, onde não há recuperação total da eficiência fotoquímica máxima do PSII durante a noite (Krause *et al.*, 1995). Nesta situação, os PSII avariados ou sem a proteína D1, são convertidos em PSII permanentemente danificados (Critchley, 1998). Assim, a fotoinibição irreversível crônica é um problema muito mais sério para as plantas do que a fotoinibição reversível dinâmica apenas, uma vez que os complexos do PSII danificados permanentemente não voltam a participar da fotossíntese (Hideg e Murata, 1997). No entanto, esses fotossistemas danificados podem contribuir com a dissipação termal de energia (Krause *et al.*, 1995). Uma planta cronicamente fotoinibida pode crescer, porém em taxa menor, como verificado por Öquist *et al.*, (1992).

Os níveis relativos de Clorofila *a* e Clorofila *b*, assim como as razões de Clorofila *a*/Clorofila *b* e Carotenoides/Clorofila Total tem diferenças essenciais entre folhas adaptadas à sombra e ao sol (Lichtenthaler *et al.*, 2007). Em todas as espécies estudadas, as plantas mantidas sob condição de sombra apresentaram maiores valores no conteúdo de clorofila total do que as plantas mantidas sob sol (Figura 8). Esses resultados corroboram os resultados encontrados por Moreira (2003) que utilizou o mesmo método de quantificação destes pigmentos e seis espécies do projeto de reflorestamento da USP-Ribeirão Preto, sendo três espécies em comum com este trabalho (*C.urucurana*, *C.pachystachya* e *E.leiocarpa*).

Gonçalves *et al.* (2001) também encontraram maiores concentrações de clorofilas *a*, *b* e total (por unidade de massa fresca) em folhas sob condição de sombra em duas espécies tropicais de estágios sucessionais diferentes: *Swietenia macrophylla* (pioneira) e *Dipteryx odorata* (climáxica, não pioneira). Segundo Tan *et al.* (2000) há um grande interesse nos estudos das clorofilas e suas reações de degradação, pois estas são sintetizadas e degradadas (fotooxidação) sob alta irradiação. Segundo Boardman (1977), a taxa de degradação das clorofilas sob alta irradiância ultrapassa a taxa de síntese, por isso, uma concentração menor de

clorofila é observada nestas condições. Devido a este fato, folhas sob condição de sombra em comparação com folhas sob condição de sol tendem a mostrar maiores concentrações de clorofilas por unidade de peso de folha. Pearcy e Yang (1998) afirmam que esta diferença ocorre principalmente porque há uma maior produção de clorofila sob condições de sombra. Em relação à dinâmica adaptativa-modulativa das plantas a diferentes condições luminosas, acredita-se que ocorra um balanço entre estes dois processos. Além disso, a quantidade maior de clorofila presente nas plantas sob sombreamento é considerada um ajuste fisiológico que aumenta a eficiência da captura de luz (Gonçalves *et al.*, 2001; Kitao *et al.*, 2000).

Tanto na condição de sombra quanto na condição de sol, as espécies pioneiras apresentaram maiores valores de conteúdo de clorofila total (Tabela 5), porém essa diferença só foi significativa nas plantas sob condição de sombra (Figura 8). As espécies não-pioneiras podem ter apresentado menor valor de clorofila total na sombra do que as espécies pioneiras por já serem adaptadas para crescerem em ambientes sombreados e não necessitarem de grandes quantidades de luz para seu desenvolvimento. Enquanto que as espécies pioneiras necessitam de grande quantidade de luz para seu desenvolvimento que seria suprida pelo aumento da concentração destes pigmentos fotossintéticos em um ambiente com baixa radiação.

Ambas as clorofilas *a* e *b* são componentes das membranas dos cloroplastos e ocorrem na razão clorofila *a/b* de aproximadamente 3 para 1 (Lichtenthaler *et al.*, 1981). Os valores da relação clorofila *a/b* foram maiores sob condição de sol em todas as espécies pioneiras às 6:00h e às 13:00h nas pioneiras *C.urucurana* e *C.pachystachya*. Pearcy e Yang (1998) afirmam que a aclimação a sombra resulta em decréscimo da relação clorofila *a/b* por haver maior investimento na produção de complexo antena (LHCII) do PSII (alta concentração de clorofila *b*), em detrimento de produção do centro de reação do mesmo (onde predomina clorofila *a*). Logo, entre as espécies não pioneiras, esta razão variou em plantas crescidas sob sombra e pleno sol e entre os horários analisados. Segundo Engel e Poggiani (1991), devido à menor proteção do aparelho fotossintético a relação clorofila *a/b* tende a diminuir, em folhas de sol, devido a maior facilidade de degradação por alta radiação da clorofila *a* quando comparada com a clorofila *b*.

Neste experimento, os valores da razão clorofila *a/b* ficaram entre 1,7 (*C.floribundus*, às 13:00h) e 2,7 (*C.urucurana*, às 6:00h) nas plantas crescidas sob sombreamento. Nas plantas crescidas sob pleno sol essa razão ficou entre 1,4

(*H.courbaril* e *T.roseo-alba*, às 13:00h) e 3,2 (*C.urucurana*, às 6:00h), (Tabela 5). Lichtenthaler *et al* (2007) determinaram, sobre alta radiação, valores da razão clorofila *a/b* entre 2,2 a 2,7 em pioneiras e entre 1,8 a 2,2, em plantas de sucessão tardia (não pioneiras). Neste trabalho também foram encontrados maiores valores da razão clorofila *a/b* nas espécies pioneiras em comparação às espécies não pioneiras crescidas sob condição de pleno sol. Segundo Demming-Adams (1998) e Lichtenthaler (1987), folhas de plantas expostas à alta radiação solar possuem cloroplastos do tipo sol com valores maiores da razão clorofila *a/b* e da razão carotenóides/clorofila total, do que cloroplastos de folhas de sombra e folhas de plantas expostas à baixa luz solar. Ao mesmo tempo, folhas de sombra e cloroplastos do tipo sombra exibem a pilha de grana do tilacóide maior e mais largo e fundamentalmente investe no pigmento antena (Lichtenthaler *et al* 1982). Como consequência da resposta de adaptação de seus cloroplastos para alta irradiância, espécies pioneiras com cloroplastos do tipo sol possuem taxa fotossintética consideravelmente maior por unidade de área da folha do que espécies sucessionais tardias, como observado em um trabalho prévio com espécies semelhantes às utilizadas no presente trabalho (Nogueira *et al.*, 2004).

Propõe-se que um dos papéis dos carotenóides em tecidos fotossintéticos seja dissipar clorofilas na forma *tripleto* antes que elas reajam com o oxigênio para formar espécies altamente tóxicas como o oxigênio singleto (1O_2) (Cogdell e Frank 1987). Gonçalves *et a.l.*, (2001) enfatizaram que um aumento nos níveis de carotenóides é um mecanismo essencial para aclimatação de *Mahogany* (espécie pioneira) para ambiente ensolarado, que previne injúria fotooxidativa dos pigmentos dos cloroplastos. Quando foi analisada a razão carotenóides/clorofila total foram obtidos maiores valores desta razão nas plantas sob condição de sol em todas as espécies analisadas, além disso, maiores valores em média foram encontrados nas espécies não pioneiras sob condição de sol pleno (Tabela 5). A clorofila tende a ser fotooxidada em altas radiações luminosas e carotenóides podem prevenir esta fotooxidação. A razão carotenóides/clorofila total pode ser usada como um indicador potencial de dano fotooxidativo causado por alta irradiação (Hendry e Grime, 1993). Talvez as espécies não pioneiras tenham maior capacidade de produção destes pigmentos protetores ajudando também na captação de luz e, portanto no seu desenvolvimento mesmo em ambientes com a taxa de sombreamento usada em este experimento. Os maiores níveis da razão carotenóides/clorofila total em plantas

expostas à alta luz solar é principalmente causado pelo incremento da concentração de carotenóides e do ciclo das xantofilas (Demming-Adams, 1998).

O sistema antioxidante é fundamentalmente importante para proteger o aparato fotossintético da destruição foto-oxidativa (Polle, 1997). Plantas expostas a estresse foto-oxidativo geralmente respondem com proteção antioxidativa aumentada (Foyer *et al.*, 1994). Atividade de SOD tem sido correlacionada com condições ambientais adversas como seca, geada e injúria patogênica, entre outras (Monk *et al.*, 1989). Um trabalho prévio do grupo (Nogueira *et al.*, 2004) mostrou que espécie pioneira de floresta tropical tem taxas de fotossíntese muito maiores do que espécies de sucessão tardia, tolerantes a sombra (Kitajima, 1994; Pooter 1999). Esta característica fisiológica que se considera como dissipação fotoquímica, deve diminuir a fração da excessiva luz durante exposição à alta irradiância. Além disso, como altas taxas de fotossíntese são associadas com alta transpiração, menor temperatura foliar pode ter contribuído para reduzir fotoinibição nas plantas pioneiras. Desde que a utilização da energia fotossintética em espécies sucessionais tardias é menor do que em espécies pioneiras, foi assumido que maior proteção antioxidante pode ser necessária para compensar maior estresse oxidativo mediado pela luz. No entanto, uma comparação entre folhas de espécies pioneiras e não pioneiras indicou maior atividade das enzimas antioxidantes em pioneiras do que em sucessionais tardias sobre ambientes similares de luz (Hansen *et al.*, 2002). A maior atividade de SOD encontrada nas plantas pioneiras indica um potencial superior para tolerância a danos fotooxidativos nestas plantas do que em espécies não pioneiras. Folhas aclimatadas à alta intensidade de luz mostraram maior atividade de SOD do que folhas aclimatadas à sombra (Polle, 1997, Hansen *et al.*, 2002; Garcia-Plazaola *et al.*, 1999).

No presente estudo, aumento na atividade de SOD foi observado em todas as espécies que cresceram sob pleno sol, condição esta que pode levar ao estresse oxidativo. Além disso, as espécies pioneiras apresentaram 87% mais atividade de SOD que as espécies não pioneiras nas plantas mantidas sob pleno sol. A única espécie que não apresentou maior atividade de SOD nas plantas mantidas sob pleno sol foi a não pioneira *C.legalis*, porém os valores de atividade de SOD nesta espécie foram próximos ou até maiores que as demais espécies não pioneiras nas plantas sob condição de sol. Outro resultado importante foi que as espécies pioneiras apresentaram incremento de 294% na atividade de SOD, comparando as

plantas sob sombra com as plantas sob pleno sol, enquanto que esse incremento nas espécies não pioneiras foi de 47% ou seja, 6 vezes menor do que nas espécies pioneiras. Alguma perturbação na atividade fotossintética pode causar a formação de espécies reativas de oxigênio. Assim, evitar a formação ou sua rápida remoção pode constituir um sistema de defesa metabólico. Vários autores têm relatado aumentos nas atividades de enzimas antioxidantes em resposta às condições de estresse como geada, radiação UV, senescência e alta radiação luminosa (Krizek *et al.*, 1993; Massacci *et al.*, 1995; Mishra *et al.*, 1995; Wise e Naylor, 1987). Além disto, espécies pioneiras de florestas tropicais são bem conhecidas por ter capacidade muito maior de assimilação fotossintética do que espécies tolerantes sombra (Kitajima, 1994; Poorter, 1999).

Não ocorreu diferença significativa da atividade da SOD entre os dois horários analisados (6:00h e 13:00h) em todas as espécies pioneiras e em *H.courbaril* e *E.leiocarpa* (não pioneiras). As outras espécies não pioneiras (*C.legalis* e *T.roseoalba*) tiveram menor atividade de SOD às 13:00h do que às 6:00h nas plantas sob condição de sombra. A atividade de SOD nas plantas crescidas sob pleno sol já se encontrou alta às 6:00h da manhã. Tem sido observado que plantas respondem subitamente a condições de exposição de alta luz com aumentos na atividade de SOD e/ou níveis mRNA (Perl-Trevis e Galun, 1991; Tsang *et al.*, 1991; Karpinski *et al.*, 1993; Mishra *et al.*, 1995). Estes aumentos são provavelmente necessários para compensar o aumento do estresse oxidativo porque a maquinaria fotossintética não foi ainda aclimatada para aumento da irradiância. Em folhas de laranjeira desenvolvidas sob luz, Schwang *et al.*, (1996) observaram que a atividade de SOD não foi afetada pela mudança de luz, sugerindo então que folhas aclimatadas ao sol desta espécie arbórea não foram expostas a maior produção do radical superóxido intrínseco comparados com folhas aclimatadas à sombra. Talvez, as folhas das espécies aqui estudadas, tanto as crescidas sob pleno sol quanto as crescidas sob sombreamento estejam aclimatadas, por isso não foi observado diferença de atividade enzimática entre os horários analisados.

Uma vez que a ação da SOD resulta na formação de H_2O_2 , ela está também intimamente ligada com a atividade da CAT e peroxidases, mantendo, portanto a interação com estas, outras enzimas e antioxidantes, para garantir um balanço altamente otimizado, de forma a reduzir o risco de danos oxidativos. O H_2O_2 produzido pela SOD é degradado pela CAT principalmente nos peroxissomos

(Scandalios 1990, Azevedo *et al.*, 1998). Segundo Foyer *et al.*, (1994), a CAT está ausente no cloroplasto e a degradação do H₂O₂ nos cloroplastos é feita pela APX associada à membrana do tilacóide.

A APX e a CAT pertencem a duas diferentes classes de enzimas de dissipação do H₂O₂ devido as suas diferentes afinidades, com a APX tendo o Km na gama µM e a CAT na gama mM. Portanto enquanto a APX seria responsável pela modulação refinada das ROS para sinalização, a CAT seria responsável pela remoção do excesso de ROS gerado durante o estresse (Mittler, 2002), entretanto, deve-se considerar o papel da APX no combate ao estresse oxidativo gerado em compartimentos que não possuem a CAT, como os cloroplastos. O H₂O₂ produzido pela SOD é degradado pela CAT principalmente nos peroxissomos (Scandalios, 1990, Azevedo *et al.*, 1998).

A atividade de CAT apresentou declínio sobre tratamento de alta luz solar em ambas as espécies pioneiras e não pioneiras. A enzima CAT é sensível a luz *in vitro* e sofre de fotoinativação com subsequente degradação assim como em folhas intactas (Feierabend e Engel, 1986). Fotoinativação do PSII e da catalase representam sintomas gerais de sensibilidade à luz e fotodano cedo nas folhas. Também foi postulado que a inativação de CAT pode também ser mediada por eventos fotooxidativos iniciados através de absorção de luz pela clorofila nos cloroplastos (Feierabend e Kemmerich, 1983). A demonstração da inativação de CAT na presença de cloroplastos isolados irradiados com luz vermelha em um simplificado sistema de modelo *in vitro* supriu evidencia clara que CAT pode ser inativada por ROS liberadas dos cloroplastos. Uma comparação dos efeitos dos inibidores, doadores, ou aceptores para locais específicos do transporte de elétrons fotossintéticos indicou que uma superredução do PSII e plastoquinona representa a maior origem de formação de O₂^{•-} e algum radical não identificado que apareceu para mediar a inativação da CAT fora dos cloroplastos (Shang e Feierabend, 1999). Para manter um nível constante de CAT sob luz, esta perda deve ser continuamente compensada por uma adequada re-síntese concomitante da enzima. No entanto, quando a degradação sob luz excede à capacidade para reparar ou quando a re-síntese é prejudicada por condições de estresse como baixas temperaturas (Feierabend *et al.*, 1992) ou seca (Zhang e Kirkham, 1994), uma perda aparente de CAT é observada (Hertwig *et al.*, 1992). A fotoinativação da CAT geralmente é paralela a ocorrência de fotoinibição do PSII, como indicado pelo declínio em Fv

(Feirabend *et al.*, 1992). Estudos diurnos com *Fagus sylvatica* revelaram que mudanças de curto tempo em sistemas antioxidantes foliares mostraram maior correlação com a temperatura do que a com luz, apontando também para temperatura como um importante fator modulador dos antioxidantes (Peltzer e Polle 2001). Efeitos da luz e temperatura sobre sistemas antioxidantes foram elucidados em experimentos com *F. sylvatica* jovens sob diferentes temperaturas (10 e 35°C) (Peltzer *et al.*, 2002). Atividades de SOD, APX, e glutathione redutase diminuíram significativamente por altas temperaturas em luz e escuro, enquanto defesas não enzimáticas aumentaram (Peltzer *et al.*, 2002). No presente trabalho a temperatura diária variou de 17°C (6:00h) até 38°C (13:00h) sob condições de plena luz solar, mas em geral, a atividade de SOD aumentou em espécies pioneiras e diminuiu em não pioneiras em alta temperatura. Sob baixa irradiância (10% FFFA) onde a temperatura variou de 15°C a 32°C somente nas espécies sucessionais tardias *C.legalis* e *T.roseo-alba* foram observadas marcadas reduções na atividade de SOD por alta temperatura. Por causa do aquecimento global, durante o presente século, as temperaturas provavelmente aumentarão de 3-5°C (IPCC, 2007). Neste cenário, as respostas ecofisiológicas das espécies de árvores de vida longa serão essenciais para a aclimação e sobrevivência de florestas tropicais.

A atividade da CAT seguiu um padrão entre as espécies pioneiras e foi significativamente maior nas plantas crescidas sob sombreamento (Figura 13), com exceção de *C.urucurana* que não apresentou diferença alguma entre os tratamentos. A CAT não é uma enzima resistente. Ela é susceptível para fotoinativação e degradação (Feierabend e Engel, 1986; Feierabend *et al.*, 1992; Streb *et al.*, 1993). O decréscimo da atividade da CAT pode indicar inativação da enzima. Sob irradiação, a inativação da CAT ocorre permanentemente e é mediada através da absorção da luz pela enzima que esta grudada no grupo heme (Feierabend e kemmerich, 1983; Feierabend e Engel, 1986). Entre as espécies pioneiras, *C.urucurana* e *C.pachystachya* apresentaram atividade de CAT mais alta que *S.terebinthifolius* e *C.floribundus* (Tabela 6). Entre as espécies não pioneiras aqui estudadas *C.legalis* foi a que apresentou menor atividade de CAT e *T.roseo-alba* apresentou atividade altíssima nas plantas crescidas sob sombra em relação às demais espécies. Assim como em SOD, a atividade de CAT não foi influenciada pelo horário (6:00h ou 13:00h) nas espécies pioneiras. Entre as pioneiras cada espécie se comportou de maneira diferente. Feierabend *et al.*, 1992 tem também

demonstrado que sobre condição de estresse, a inativação de CAT está ligada ao acúmulo de H_2O_2 . Em mudas de árvore *Norway spruce*, expostas ao sol, apresentaram menor atividade de CAT do que mudas na sombra e quando mudas de sombra foram transferidas para sol houve diminuição na atividade de CAT (Schittenhelm *et al.*, 1994).

No presente experimento foi observado que a atividade de APX não teve flutuações pronunciadas dependente de luz em ambas as espécies pioneiras e não pioneiras. Em *F. sylvatica* mudanças na atividade de APX e glutathione redutase (GR, EC 1.6.2) dependente de luz não foram observadas (Peltzer e Polle, 2001). A enzima APX dissipa H_2O_2 em cloroplastos (onde não contem catalase). Isoenzimas de APX são expressas por mecanismos regulatórios em resposta a vários estresses ambientais ou celulares, e tem um papel co-operativo para proteger cada organela e minimizar injúria tecidual (Lorkovič *et al.*, 2000). Segundo Pastori e Trippi (1992) a atividade de APX geralmente aumenta juntamente com a atividade de outras enzimas antioxidantes como a CAT, SOD e GR em resposta a vários fatores de estresse ambientais, sugerindo que os componentes de sistemas dissipadores de ROS são co-regulados. A fotorrespiração foi identificada como a principal origem de H_2O_2 em tabaco exposto a alta intensidade de luz. Como CAT pode ser sensível à luz e sofre fotoinativação, com sua subsequente degradação, pode ocorrer que o H_2O_2 escape de ser destruído e se mova para o citosol (Feierabend *et al.*, 1992; Hertwig *et al.*, 1992). Em adição para o acúmulo de H_2O_2 , Karpinski *et al.*, (1999) sugeriu que mudanças redox em transporte de elétrons através da quinona B ou plastoquinona em cloroplasto podem ser essenciais para indução de cAPX sobre alta intensidade de luz. No presente trabalho a atividade da enzima APX foi semelhante entre as espécies pioneiras e não foi observada diferença significativa entre os tratamentos. Assim como ocorreu com a CAT, as maiores atividades de APX foram encontrados em *C.urucurana* e *C.pachystachya* do que em *S.terebinthifolius* e *C.floribundus* (tabela 6). Entre as oito espécies estudadas *E.leiocarpa* e *T.roseo-alba* (não pioneiras) apresentaram os maiores valores de atividade de APX, sendo que *E.leiocarpa* teve maior atividade significativa nas plantas expostas a pleno sol em comparação as plantas de sombra e também a atividade de APX foi maior às 13:00h nesta condição (sol). Mais uma vez, *C.legalis* apresentou a mais baixa atividade de APX na medição das 13:00h. Miyake e Asada (1996), relatam que uma das propriedades características das isoformas de chlAPX

è a inativação rápida quando o nível de ascorbato é muito baixo para a operação do ciclo catalítico das isoenzimas de APX. Tem sido sugerido que o nível de ascorbato em cloroplastos afeta a estabilidade das isoformas chlAPX sobre condições estresse oxidativo. Isoenzimas de APX (assim como chlAPX) podem ser inativadas por estresse foto-oxidativo em folhas de espinafre (Mano *et al.*, 2001). Nesta espécie, a atividade de isoenzimas de chlAPX diminuiu com a intensidade de aumentos de luminosidade. Com respeito ao fato de que a transcrição e o nível de proteínas destas isoformas não são alteradas (Yoshimura *et al.*, 2000), Zhang *et al.*, (1997) determinaram que o nível de transcrição de APX dos peroxissomos em *Arabidopsis* aumentou levemente em resposta ao frio, luz UV, e ao tratamento com H₂O₂

As espécies pioneiras parecem se comportar de maneira mais uniforme em relação à atividade destas enzimas do que as espécies não pioneiras. Isto talvez aconteça porque as espécies não pioneiras estudadas aqui devem pertencer a estádios sucessionais diferentes entre si, enquanto que entre as espécies pioneiras isto parece ser mais uniforme.

VII. CONCLUSÕES

- ▶ As espécies pioneiras apresentaram maior eficiência fotoquímica máxima do PSII (Fv/Fm) do que as espécies não pioneiras, principalmente nas plantas crescidas sob pleno sol (alto fluxo de fótons fotossinteticamente ativos, FFFA)
- ▶ Todas as espécies tiveram declínio significativo na razão Fv/Fm sob condição de luz que pode induzir o estresse oxidativo (plantas sob pleno sol, às 13:00h) porém as espécies pioneiras foram mais tolerantes ao estresse luminoso do que as espécies não pioneiras. A espécie mais afetada por esse estresse foi *C.legalis* (não pioneira).
- ▶ Todas as espécies tiveram maior conteúdo de clorofila total nas plantas crescidas sob condição de sombra do que nas plantas crescidas sob pleno sol. O grupo das espécies pioneiras apresentou maiores valores médios de clorofila total do que o grupo das espécies não pioneiras e essa diferença foi significativa nas plantas sob condição de sombreamento.
- ▶ As espécies pioneiras apresentaram maiores valores médios da razão clorofila *a/b* nas plantas mantidas sob pleno sol do que nas plantas mantidas sob sombreamento. O oposto foi observado entre as espécies não pioneiras. Os maiores valores desta razão foram encontrados em *C.urucurana* (espécie pioneira) e os menores valores em *T.roseo-alba* (espécie não pioneira).
- ▶ Todas as espécies tiveram maiores valores significativos da razão carotenóides/clorofila total nas plantas mantidas sob alto FFFA (pleno sol) comparadas as plantas crescidas sob baixo FFFA (sombreamento). Maiores valores médios dessa razão foram encontrados entre as espécies não pioneiras nas plantas sob pleno sol.
- ▶ A atividade da enzima superóxido dismutase (SOD) foi significativamente maior em todas as espécies, a exceção de *C.legalis* (espécie não pioneira) nas plantas sob a condição de alta luminosidade (pleno sol) do que nas plantas sob condição de

baixo FFFA. Além disso, às 13:00 sob 100% de FFFA, condição que leva ao provável estresse oxidativo, as espécies pioneiras apresentaram 110% mais atividade de SOD do que as espécies não pioneiras.

► A atividade da enzima catalase (CAT) foi em média menor nas plantas mantidas sob alto FFFA do que nas plantas mantidas sob baixo FFFA. As espécies pioneiras também apresentaram maiores valores médios da atividade desta enzima do que as espécies não pioneiras, por volta de 67% nas plantas mantidas sob sombreamento e 86% nas plantas sob pleno sol.

► Nas espécies pioneiras, apesar de não significativa, as plantas mantidas sob pleno sol tiveram maiores valores de atividade da enzima ascorbato peroxidase (APX) do que as plantas mantidas em sombreamento. Entre as espécies não pioneiras, cada espécie manifestou atividade de APX diferentemente entre os tratamentos (luminosidade e horário). Ao contrário da catalase, as espécies não pioneiras tiveram maior atividade de APX do que as espécies pioneiras, tanto nas plantas sob condição de sombra (89%) quanto nas plantas sob condição de sol (72%).

Em resumo os resultados demonstraram uma melhor performance de espécies pioneiras sobre alto FFFA quando comparado com espécies sucessionais tardias, manifestada pela baixa sensibilidade a fotoinibição e maior atividade de SOD. Além do aumento na atividade da SOD, o padrão de aclimação consistiu da manutenção da eficiência fotoquímica máxima do PSII e atividade de CAT.

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alscher, R.G., Erturk, N., Heath, L.S.** (2002) Role of superoxide dismutase (SODs) in controlling oxidative stress in plants. *Journal of Experimental Botany* 53, 1331–1341.
- APGII** (2003) An update of Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APGII. *Botanical Journal of Linnean Society* 141, 399-436.
- Aro E-M., Virgin I., Andersson B.** (1993) Photoinhibition of photosystem II. Inactivation, protein damage and turnover. *Biochimica et Biophysica Acta* 1143, 113-134.
- Asada K.** (1992) Ascorbate peroxidase – a hydrogen peroxide-scavenging enzyme in plants. *Physiologia Plantarum* 85, 235-241.
- Azevedo R.A., Alas R.M., Smith R.J, Lea P.J.** (1998) Response of antioxidant enzymes to transfer from elevated carbon dioxide to air and ozone fumigation in leaves and roots of wild-type and catalase-deficient mutant of barley. *Physiologia Plantarum* 104, 280-292.
- Barber J.** (1992) The isolated Photosystem II reaction center reveals details of the molecular process of photoinhibition. *Photosynthetica* 27, 63-80.
- Bartley G.E., Scolnik P.A.** (1995) Plant carotenoids: pigments for photoprotection, visual attraction and human health. *Plant Cell* 7, 1027-1038.
- Baum J.A., Scandalios J.G.** (1979) Developmental expression and intracellular localization of superoxide dismutases in maize. *Differentiation* 13, 133-140.
- Beauchamp C.O., Fridovich I.** (1971) Superoxide dismutase. Improved assays and an assay applicable to acrylamide gel. *Analytical Biochemistry* 44, 276-287.

- Benson E.E.** (1990) Free Radical Damage in Stored Plant Germplasm, International Board for Plant Genetic Resources. pp. 128.
- Boardman N.K.** (1977) Comparative photosynthesis of sun and shade plants. *Annual Review of Plant Physiology* 28, 355-377.
- Bordo D., Djinovic K., Bolognesi M.** (1994). Conserved patterns in the Cu, Zn superoxide dismutase family. *Journal of Molecular Biology* 238, 366-386.
- Bowler C., Van Camp W., Van Montagu M., Inzé D.** (1994) Superoxide dismutases in plants. *Critical Reviews in Plant Science* 13, 199-218.
- Bradford M.M.** (1976) A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry* 72, 248-254.
- Bray E.A., Bailey-Serres J., Weretilnyk E.** (2000) Response to abiotic stresses. In "Biochemistry and Biology of Plants" (Buchanam B., Gruissem W., Jones R., eds.),. American Society of Plant Physiologists. pp.1158-1203.
- Breusegem F.V., Vranová E., Dat J.F., Inzé D.** (2001) The role of active oxygen species in plant signal transduction. *Plant Science* 161, 405-414
- Bukhov N.G., Kopecky J., Pfundel E.E., Klughammer C., Heber U.** (2001) A few molecules of zeaxanthin per reaction center of photosystem II of a polkilohydric moss. *Planta* 212, 739-748.
- Choudhury N.K., Behera R.K.** (2001) Photoinhibition of photosynthesis: Role of carotenoids in photoprotection of chloroplast constituents. *Photosynthetica* 39, 481-488.
- Cogdell R.J., Frank H.A.** (1987) How carotenoids function in photosynthetic bacteria. *Biochimica et Biophysica Acta* 895, 63-79.

- Critchley C. (1998) Photoinhibition.** *In*: "Photosynthesis: A Comprehensive Treatise". Cambridge. pp. 264-272
- De Las Rivas J., Telfer A., Barber J. (1993)** Two coupled β -carotene molecules protect P680 from photodamage in isolated Photosystem II reaction centres. *Biochimica et Biophysica Acta* 1142, 155-164.
- Demmig-Adams B., Adams W.W. (1992)** Photoprotection and others responses of plants to high light stress. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 43, 599-626.
- Demmig-Adans B. (1990)** Carotenoids and photoprotection in plants: A role for xanthophylls zeaxanthin. *Biochimica et Biophysica Acta* 1142, 155-164.
- Demming-Adams B. (1998)** Survey of thermal energy dissipation and pigment composition in sun and shade leaves. *Plant and Cell Physiology* 39, 474-482.
- Elstner E.F. (1991).** Mechanisms of oxygen activation in different compartments of plants cells. *In* "Active oxygen/oxidative stress and plant metabolism" (Pell E. J., Steffen K. L. eds), Rockville. pp 13-25.
- Engel V.L., Poggiani F. (1991)** Estudo de clorofila nas folhas e seu espectro de absorção de luz em função do sombreamento em mudas de quatro espécies florestais nativas. *Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal* 3, 39-45.
- Feierabend J., Engel S. (1986)** Photoinactivation of catalase *in vitro* and in leaves. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 251, 567-576.
- Feierabend J., Kemmerich P. (1983)** Mode of interference of chlorosis-inducing herbicides with peroxisomal enzyme activities. *Physiologia Plantarum* 57, 346-351.

- Feierabend J., Schaan C., Hertwig B.** (1992) Photoinactivation of catalase occurs under both high-and low-temperature stress conditions and accompanies photoinhibition of photosystem II. *Plant Physiology* 100, 1554–1561.
- Foote C. S., Denny R.W., Weaver L., Chang Y., Peters J.** (1970) “Quenching of singlet Oxygen” *Annals of the New York Academy of Sciences* 171, 139-148.
- Foyer C.H., Descourvières P., Kunert K.J.** (1994) Protection against oxygen radicals: an important defense mechanism studied in transgenic plants. *Plant, Cell and Environment* 17, 507-523.
- Franco A.C., Lüttge U.** (2002) Midday depression in savanna trees: coordinated adjustments in photochemical efficiency, photorespiration, CO₂ assimilation and water use efficiency. *Oecologia* 131, 356-365.
- Fridovich I.** (1986) Superoxide dismutases. *Advances in Enzymology and Related Areas of Molecular Biology* 58, 61-97.
- Frugoli J. A., Zongh H.H., Nuccio M.L., Mccourt P., Mcpeek M.A., Thomas T.L., Mcclung C.R.** (1996) Catalase is encoded by a multigene family in *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. *Plant Physiology* 112, 327-336.
- García-Plazaola J.I., Artetxe U., Duñabeitia M.K., Becerril J.M.** (1999) Role of photoprotective systems of hola-oak (*Quercus ilex*) in the adaptation to winter conditions. *The Journal of Plant Physiology* 155, 625– 630.
- Giannopolitis C.N., Ries S.K.** (1977) Superoxide dismutases in higher-plants. *Plant Physiology* 59, 309-314.
- Gonçalves C.J.F., Marengo A.R., Vieira G.** (2001) Concentration of photosynthetic pigments and chlorophyll fluorescence of Mahogany and Tonka bean under two light environments. *Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal* 13, 149-157.

- Grudziński W., Matula M., Sielewiesiuk J., Kernen P., Krupa Z., Gruszecki W.I.** (2001) Effect of 13-*cis* violaxanthin on organization of light harvesting complex II in monomolecular layers. *Biochimica et Biophysica Acta* 1503, 291-302.
- Hagar H., Ueda N., Shah S.V.** (1996) Role of reactive oxygen metabolites in DNA damage and cell death in chemical hypoxic injury to LLC-PK1 cells. *American Journal of Physiology* 271, 209-215.
- Hansen U., Fiedler B., Rank B.** (2002) Variation of pigment composition and antioxidative systems along the canopy light gradient in a mixed beech/oak forest: a comparative study on deciduous tree species differing in shade tolerance. *Trees* 16, 354–364.
- Havir E.A., McHale N.A.** (1987) Biochemical and developmental characterization of multiple forms of catalase in tobacco leaves. *Plant Physiology* 84, 450-455.
- Hendry G.A.F., Price A.H.** (1993) Stress indications: chlorophylls and carotenoids. In: "Methods in Comparative Plant Ecology" (Hendry G.A.F., Price A.H. eds.) London, Chapman & Hall. pp. 148-152.
- Hertwig B., Streb P., Feierabend J.** (1992) Light dependency of catalase synthesis and degradation in leaves and the influence of interfering stress conditions. *Plant Physiology* 100, 1547–1553.
- Hideg É., Murata N.** (1997) The irreversible photoinhibition of the photosystem II complex in leaves of *Vicia faba* under strong light. *Plant Science*. 130, 151–158.
- IPCC** (2007) Climate Change 2007: Mitigation of Climate Change. Working Group III contribution to the Intergovernmental Panel on Climate Change. Fourth Assessment Report, Geneva.

- Ishikawa T., Yoshimura K., Sakai K., Tamoi M., Takeda T., Shigeoka S.** (1998) Molecular characterization and physiological role of a glyoxysome-bound ascorbate peroxidase from spinach. *Plant and Cell Physiology* 39, 23-34.
- Jiménez A., Hernández J.A., Del Río L.A., Sevilla F.** (1997) Evidence for the presence of the ascorbate-glutathione cycle in mitochondria and peroxisomes of pea leaves. *Plant Physiology* 114, 275-284.
- Karpinki S., Reynolds H., Karpinska B., Wingsle G., Creissen G., Mullineaux P.** (1999) Systemic signaling and acclimation in response to excess excitation energy in Arabidopsis. *Science* 284, 654–657.
- Karpinski S., Wingsle G., Karpinska B., Hällgren J-E.** (1993) Molecular responses to photo-oxidative stress in *Pinus sylvestris* (L.). *Plant Physiology* 103, 1385–1391.
- Kitajima K.** (1994) Relative importance of photosynthetic traits and allocation patterns as correlates of seedling shade tolerance of 13 tropical trees. *Oecologia* 98, 419–428.
- Kitao M., Lei T.T., Koike T., Tobita H., Maruyama Y., Matsumoto Y., Ang L.H.** (2000) Temperature response and photoinhibition investigated by chlorophyll fluorescence measurements for four distinct species of dipterocarp trees. *Physiologia Plantarum* 109, 284-290
- Knox J.P., Dodge A.D.** (1985) Singlet oxygen and plants. *Phytochemistry* 24, 889-896.
- Krause G.H., Koroleva O.Y., Dalling W., Winter K.** (2001) Acclimation of tropical tree seedlings to excessive light in simulated tree-fall gaps. *Plant, Cell and Environment* 24, 1345-1352.
- Krause G.H., Virgo A., Winter K** (1995) High susceptibility to photoinhibition of young leaves of tropical forests trees. *Planta* 197, 583-591.

- Krause G.H., Weis E.** (1991) Chlorophyll fluorescence and photosynthesis: The basics. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 42, 313-349.
- Krause G.H., Winter K.** (1996) Photoinhibition of photosynthesis in plants growing in natural tropical forests gaps. A chlorophyll fluorescence study. *Botanical Acta* 109, 456-462.
- Krizek D.T., Kramer G.F., Upadhyaya A., Mirecki R.M.** (1993) UV-B response of cucumber seedlings grown under metal halide and high pressure sodium/deluxe lamps. *Physiologia Plantarum* 88, 350-358.
- Kubo A., Saji H., Tanaka K., Kondo N.** (1995) Expression of Arabidopsis cytosolic ascorbate peroxidase gene in response to ozone or sulfur dioxide. *Plant Molecular Biology* 29 479-489.
- Larcher W.** (2000) *Ecofisiologia Vegetal*. São Carlos: RiMa, pp.531.
- Larson R.A.** (1988) The antioxidants of higher plants. *Phytochemistry* 27, 969-978.
- León A.M., Palma J. M., Corpas F.J., Gomez M., Romero-Puertas M.C., Chatterjee D., Mateos R.M., Del Rio L.A., Sandalio L.M.** (2002) Antioxidative enzymes in cultivars of peppers plants with different sensitivity to cadmium. *Plant Physiology and Biochemistry* 40, 813-820.
- Leonardis S.D., Dipierro N., Dipierro S.** (2000) Purification and characterization of an ascorbate peroxidase from potato tuber mitochondria. *Plant Physiology and Biochemistry* 38, 773-779.
- Lichtenhaler H.K., Ac. A., Marek M., Kalina J., Urban O.** (2007) Differences in pigment composition, photosynthetic rates and chlorophyll fluorescence images of sun and shade leaves of four tree species. *Plant Physiology and Biochemistry* 45, 577-588.

- Lichtenhaler H.K., Buschmann C., Doll M., Fietz H.J., Bach T., Kozeil U., Meider D., Rahmsdorf U.** (1981) Photosynthetic activity chloroplast ultrstructure leaf characteristics of high-light and low light plants and of sun and shade leaves. *Photosynthesis Research* 2, 115-141.
- Lichtenhaler H.K., Kuhn G., Prenzel U., Meier D.** (1982) Chlorophyll-protein levels and stacking degree of thylakoids in radish chloroplasts from high-light, low-light and bentazon-treated leaves. *Physiologia Plantarum* 56, 183-188.
- Lichtenthaler H.K.** (1987) Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. *Methods in Enzymology* 148, 350–382.
- Lorenzi H.** (2002) Árvores Brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil. Nova Odessa, Editora Platarum pp. 368.
- Lorković Z.J. Kirk D.A.W., Lambermon M.H.L., Filipowicz W.** (2000) Pre-mRNA splicing in higher plants. *Trends in Plant Science* 5, 160–167.
- Mallick N. Mohn F.H.** (2000) Reactive oxygen species: response of algal cells. *Journal of Plant Physiology* 157, 183-193
- Mano J., Ohno C., Domae Y., Asada K.** (2001) Chloroplastic ascorbate peroxidase is the primary target of methylviologen-induced photooxidative stress in spinach leaves: its relevance to monodehydroascorbate radical detected with in vivo ESR. *Biochimica et Biophysica Acta* 1504, 275-286.
- Massacci A. Iannelli M.A., Pietrini F. Loreto F.** (1995) The effect of growth at low temperature on photosynthetic characteristics and mechanisms of photoprotection of maize leaves. *Journal of Experimental Botany*. 46, 119–127.
- Matés J.M.** (2000) Effects of antioxidant enzymes in the molecular control of reactive oxygen species toxicology. *Toxicology* 133, 83-104

- McCord J.M., Fridovich I.** (1969) Superoxide dismutase: an enzymic function for erythrocyte hemoglobin (hemocuprein). *Journal of Biological Chemistry* 244, 6049-6055.
- Mishra N.P., Fatma T., Singhal G.S.** (1995) Development of antioxidative defense system of wheat seedlings in response to high light. *Physiologia Plantarum* 95, 77–82.
- Mittler R.** (2002) Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. *Trends in Plant Science* 7, 405-410.
- Miyake C., Asada K.** (1992) Thylakoid-bound ascorbate peroxidase in spinach chloroplasts and photoreduction of its primary oxidation product monodehydroascorbate radicals in thylakoids. *Plant and Cell Physiology* 33, 541-553.
- Miyake C., Asada K.** (1996) Inactivation mechanism of ascorbate peroxidase at low concentrations of ascorbate; hydrogen peroxide decomposes compound I of ascorbate peroxidase. *Plant and Cell Physiology* 4, 423-430.
- Miyake C., Cao W-H., Asada K.** (1993) Purification and molecular properties of thylakoid-bound ascorbate peroxidase in spinach chloroplasts. *Plant and Cell Physiology* 34, 881-889
- Monk L.S., Fagerstedt K.V., Crawford R.M.M.** (1989) Oxygen toxicity and superoxide dismutase as an antioxidant in physiological stress. *Physiologia Plantarum* 76, 456–459.
- Moreira R.M.** (2003) Caracterização da tolerância a fotoinibição induzida de seis espécies de plantas lenhosas jovens de mata mesófila semidecidual. Monografia, Faculdade de Filosofia Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, pp. 42.

- Nakano Y., Asada K.** (1981) Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate specific peroxidase in spinach chloroplasts. *Plant and Cell Physiology* 22, 867-880.
- Neill S.J., Desikan R., Clarke A., Hurst R.D., Hancock J.T.** (2002) Hydrogen peroxide and nitric oxide as signaling molecules in plants. *Journal of Experimental Botany* 53, 1237-1247.
- Noctor G., Foyer C.H.** (1998) Ascorbate and glutathione: Keeping active oxygen under control. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 49, 249–279.
- Nogueira A., Martinez C.A., Ferreira L.L., Prado C.H.B.A.** (2004) Photosynthesis and water use efficiency in twenty tropical tree species of differing succession status in a Brazilian reforestation. *Photosynthetica* 42, 351–356.
- Öquist G., Hurry V.M., Öquist M.G., Huner N.P.A. Z** (1992) Differential resistance of frost-hardened and non-hardened winter rye to photoinhibition of photosynthesis is due to an increased capacity of frost-hardened rye to keep Q_A oxidized under similar irradiance and temperature. *Photosynthetica* 27, 231–235.
- Pastori G.M., Trippi V.S.** (1992) Oxidative stress induces high rate of glutathione reductase synthesis in a drought-resistant maize strain. *Plant and Cell Physiology* 33, 957–961.
- Pearcy R.W., Yang W.** (1998) The functional morphology of light capture and carbon gain in Redwood forest understorey plant *Adenocaulon bicolor* (Hook.). *Functional Ecology* 12, 543-552.
- Peltzer D., Dreyer E., Polle A.** (2002) Differential temperature dependencies of antioxidative enzymes in two contrasting species: *Fagus sylvatica* and *Coleus blumei*. *Plant Physiology and Biochemistry* 40, 141-150.

- Peltzer D., Polle A.** (2001) Diurnal fluctuations of antioxidative systems in leaves of field-grown beech trees (*Fagus sylvatica*): Response to light and temperature. *Physiologia Plantarum* 111, 158– 164.
- Perl-Treves R. Galun E.** (1991) The tomato Cu, Zn superoxide dismutase genes are developmentally regulated and respond to light and stress. *Plant Molecular Biology* 17, 745–760.
- Polle A.** (1997) Defense against photooxidative damage in plants. In “Oxidative Stress and Molecular Biology of Antioxidants Defenses” (Scandalios J.G. ed.) Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY, pp 623-666.
- Poorter L.** (1999) Growth response of 15 rain-forest tree species to a light gradient: the relative importance of morphological and physiological traits. *Functional Ecology* 13, 396–410.
- Powles S.B.** (1984) Photoinhibition of photosynthesis induced by visible light. *Annual Review of Plant Physiology* 35, 15-44.
- Rodrigues R.R.** (1995) A sucessão florestal. In “Ecologia e Preservação de uma Floresta Tropical Urbana” (Morellato, L.P.C., Leitão-Filho H.F. eds.), Campinas, Editora da Unicamp. pp.30-35.
- Sandmann G., Scheer H.** (1998) Chloroplast pigments: chlorophylls and carotenoids. In “Photosynthesis: A Comparative Treatise” (Raghavendra A. S. ed.), Cambridge University Press. pp. 44-57
- Scandalios J.G.** (1990) Response of plant antioxidant defense genes to environmental stress. *Advances in Genetics* 28, 1-41.
- Scandalios J.G.** (1993) Oxygen stress and superoxide dismutases. *Plant Physiology* 101, 7-12.

- Schittenhelm J., Toder S., Fath S., Westphal S., Wagner E.** (1994) Photoinactivation of catalase in needles of *Norway spruce*. *Physiologia Plantarum* 90, 600–606.
- Schwang P., Kimball B.A., Idso S.B., Hendrix D.L., Polle A.** (1996) Antioxidants in sun and shade leaves of sour orange trees (*Citrus aurantium*) after long-term acclimation to elevated CO₂. *Journal of Experimental Botany* 47, 1941–1950.
- Shang W., Feierabend J.** (1999) Dependence of catalase photoinactivation in rye leaves on light intensity and quality and characterization of a chloroplast-mediated inactivation in red light. *Photosynthesis Research* 59, 201-213.
- Slater T.F.** (1984) Review Article. Free-radical mechanisms in tissue injury. *Biochemical Journal* 222, 1-15.
- Smirnoff N.** (1993) The role of active oxygen in the response of plants to water deficit and desiccation. *New Phytologist* 125, 27-58.
- Streb P., Michael-Knauf A., Feierabend J.** (1993) Preferential photoinactivation of catalase and photoinhibition of photosystem II are common early symptoms under various osmotic and chemical stress conditions. *Physiologia Plantarum* 88, 590–598.
- Taiz L. e Zeiger E.** (2004) Fisiologia do estresse. In “Fisiologia Vegetal” (Taiz L. e Zeiger E. eds.) Artmed. pp.613-643.
- Tan Y., Jiang J.H., Wu H.L., Cui H., Yu R.Q.** (2000) Resolution of kinetic system of simultaneous degradation of chlorophyll *a* and *b* by Parafac. *Analytica Chimica Acta* 412, 195-202.
- Telfer A., Dhimi S., Bishop S.M., Phillips D., Barber J.** (1994) β -carotene quenches singlet oxygen formed by isolated photosystem II reaction centers. *Biochemistry* 33, 14469-14474.

- Torggler B.F.** (2003) Cursos diurnos da fluorescência da clorofila *a* em seis espécies lenhosas crescidas em duas condições de luminosidade. Monografia, Faculdade de Filosofia Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, pp. 46.
- Tsang E.W.T., Bowler C., Hérouart D., van Camp W., Villaroel R., Genetello C., van Montagu M., Inzé D.** (1991) Differential regulation of superoxide dismutases in plants exposed to environmental stress. *The Plant Cell* 3, 783–792.
- Varanda E. Pinto J.M.R., Oliveira C., Del’Arco D.J., Ramos L.C.G., Barbieri J.L., Oliveira H., Silva G.A.P.** (1998) Implantação da floresta do *campus* em Ribeirão Preto. Projeto da Prefeitura do campus administrativo de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, pp. 31.
- Willekens h., Inzé D., Van Montagu M., Van Camp W.** (1995) Catalases in plants. *Molecular Breeding* 1, 207-228.
- Wise R.R., Naylor A.W.** (1987) Chilling-enhanced photooxidation: evidence for the role of singlet oxygen and superoxide in the breakdown of pigments and endogenous antioxidants. *Plant Physiology* 83, 278–282.
- Zhang J., Kirkham M.B.** (1994) Drought-stress-induced changes in activities of superoxide dismutase, catalase, and peroxidase in wheat species. *Plant and Cell Physiology* 35, 785–791.
- Zhang H., Wang J., Nickel U., Allen R.D., Goodman H.M.** (1997) Cloning and expression of an *Arabidopsis* gene encoding a putative peroxisomal ascorbate peroxidase. *Plant Molecular Biology* 34, 967-971.
- Yoshimura K., Yabuta Y., Ishikawa T., Shigeoka S.** (2000) Expression of spinach ascorbate peroxidase isoenzymes in response to oxidative stresses. *Plant Physiology* 123, 223-234.

Capítulo II

Resposta antioxidante em espécies arbóreas jovens pioneiras e não pioneiras crescidas sob duas condições contrastantes de luminosidade e submetidas a deficiência hídrica no solo.

RESUMO

A água é fundamental no metabolismo das plantas e uma redução na sua disponibilidade no solo pode afetar o crescimento, o desenvolvimento e a produtividade das plantas. Em projetos de reflorestamento, as mudas transplantadas para áreas de restauração ficam expostas a vários estresses ambientais e o estresse hídrico nas plantas ocorre quando a perda de água por transpiração excede à absorção. A principal mudança adaptativa temporária que previne maior perda de água pelas plantas é o fechamento dos estômatos das folhas, porém, com isso, a afluência de CO₂ ao mesmo tempo também diminui, resultando na redução da taxa fotossintética. Em virtude da diminuição do ciclo de Calvin, um excesso de energia fotoquímica não é dissipado. Sob condições de alta luminosidade, essa situação possibilita a formação de grande quantidade de espécies reativas de oxigênio (ROS) dentro do cloroplasto. Portanto, as plantas submetidas ao estresse hídrico sofrem maior exposição às ROS e acumulação destas. Quando o acúmulo de ROS sobre estas condições excede a capacidade de remoção pelo sistema antioxidante, os efeitos dos danos oxidativos aumentam, incluindo diminuição na atividade fotossintética, peroxidação de lipídeos da membrana, destruição de pigmentos e inativação de enzimas. Porém, as células das plantas normalmente são protegidas contra este tipo de efeito por um complexo sistema antioxidante enzimático e não enzimático. Para avaliar os efeitos do estresse hídrico sobre a atividade das enzimas antioxidantes superóxido dimutase (SOD), catalase (CAT) e ascorbato peroxidase (APX), o conteúdo dos pigmentos fotossintéticos clorofilas e carotenóides e a eficiência quântica máxima do fotossistema II (Fv/Fm) em espécies pioneiras e não pioneiras, plantas jovens de oito espécies arbóreas nativas de Mata Mesófila Semidecidual, quatro pioneiras *Cecropia pachystachya* Trecul, *Croton urucurana* Baill, *Croton floribundus* Spreng e *Schinus terebinthifolius* Raddi e quatro não pioneiras, *Cariniana legalis* (Mart.) Kuntze, *Tabebuia roseo-alba* (Mart.) Kuntze, *Esenbeckia leiocarpa* Engl e *Hymenaea courbaril* L. var. *stilbocarpa* (Hayne) Y.T. Lee & Langenh foram plantadas em duas condições contrastantes de luminosidade (10% e 100% de radiação solar). Após 90 dias do plantio suspendeu-se a rega até o solo atingir umidade equivalente a 50% da capacidade de campo (CC₅₀), momento em que se realizaram as análises bioquímicas e fisiológicas. Os resultados obtidos

neste trabalho mostram que a deficiência hídrica aplicada às plantas não foi severo o suficiente para provocar diminuição no conteúdo relativo de água das folhas, assim como provocar fotoinibição. A única espécie que apresentou fotoinibição foi *C.legalis* sob condição de pleno sol. Os conteúdos dos pigmentos fotossintéticos (clorofila *a* + clorofila *b*), a razão clorofila *a/b* e a razão carotenóides/clorofila também não sofreram influencia do déficit hídrico do solo na maioria das espécies. A atividade de SOD sob déficit hídrico do solo foi mais influenciada nas plantas sob pleno sol e nas espécies não pioneira sendo esta em média maior nas plantas sob CC₅₀ do que em solo com umidade em 100% da capacidade de campo (CC₁₀₀). A atividade de CAT e da APX foi significativamente maior em CC₅₀ do que em CC₁₀₀, apenas em *T.roseoalba* sob sombreamento. Possivelmente, sob essa condição de estado hídrico do solo, o grupo das espécies não pioneiras iniciou a resposta antioxidante evidenciada pela maior atividade de SOD e APX observadas nas plantas sob CC₅₀ do que no CC₁₀₀ em plantas sob crescidas em pleno sol.

I. INTRODUÇÃO

No campo, as plantas são expostas com frequência a situações ambientais extremas ou estresses ambientais como alta ou baixa temperatura, deficiência ou excesso de água, alta ou baixa radiação, excesso ou deficiência de nutrientes, entre outros, que podem agir simultaneamente afetando o seu crescimento e produtividade. Larcher, (2004) define estresse como um desvio significativo das condições ótimas para a vida e que induz mudanças e respostas em todos os níveis funcionais do organismo, as quais são reversíveis a princípio, mas podem se tornar permanentes. Mesmo se uma condição de estresse é somente temporária, a vitalidade da planta torna-se cada vez menor conforme a duração do estresse. Estresse contém ambos os elementos destrutivos e construtivos e é a seleção de fatores assim que age como uma força dirigindo para resistência aperfeiçoada e evolução adaptativa (Youdanov *et al.*, 2000)

A água é fundamental no metabolismo das plantas e uma redução na sua disponibilidade no solo pode afetar severamente o crescimento. Nas plantas, o estresse hídrico ocorre quando a perda de água por transpiração excede à absorção. A presença de reservas de água dentro dos vacúolos das células ou no xilema possibilita à planta suportar severas faltas de água, por determinado tempo, mas obviamente uma perda de água superior à absorção não pode ser tolerada indefinidamente (Sutcliffe, 1980). As plantas podem responder de várias maneiras para se defender contra o déficit hídrico, por exemplo: inibição da expansão foliar, maior crescimento das raízes em profundidade em busca de solo úmido, fechamento estomático, entre outros (Taiz e Zeiger, 2004). A água é um dos fatores ambientais determinantes da diversidade produtiva dos vegetais, podendo comprometer as funções vitais ou estimular reações adaptativas que capacitem as plantas a sobreviverem por períodos longos de estresse hídrico (Chaves e Pereira, 1992). O déficit de água nos tecidos, causado pela excessiva demanda evaporativa ou pelo limitado suprimento de água no solo afetam todos os aspectos do crescimento e desenvolvimento dos vegetais (Krieg, 1993). Devido à limitada reserva de água nas folhas e do potencial de transpiração, a regulação da abertura estomática, para restringir os danos nos tecidos, como resultado da desidratação, é de grande importância para a planta (Ferreira, 1997). Mesmo um estresse hídrico moderado é

suficiente para desencadear a síntese de ácido abscísico (ABA), a partir dos carotenóides na raiz. Esse ácido é em seguida transportado como um “sinal da raiz” para diferentes partes da planta, onde induz uma variedade de efeitos. Nas folhas o ABA induz o fechamento estomático (Larcher, 2004).

A principal mudança adaptativa temporária que previne maior perda de água pelas plantas é o fechamento dos estômatos das folhas, porém, com isso, a afluência de CO₂ ao mesmo tempo também diminui, resultando na redução da taxa fotossintética (Lawlor e Uprety, 1993). Em virtude da diminuição do ciclo de Calvin, um excesso de energia fotoquímica não é dissipado. Sob condições de alta luminosidade, essa situação possibilita a formação de grande quantidade de espécies reativas de oxigênio (ROS) dentro do cloroplasto (Steffen, 1991). Este desequilíbrio entre o transporte de elétrons e as taxas de fixação de CO₂ pode resultar em produção de ROS (O₂^{•-}, H₂O₂, OH[•] e ¹O₂). Assim, o metabolismo do cloroplasto sobre condição de estresse hídrico favorece a formação de ROS os quais podem causar danos irreversíveis nas células (Baisak *et al.*, 1994). Portanto, as plantas submetidas ao estresse hídrico sofrem maior exposição às ROS e acumulação destas. Smith e Huston (1989) propuseram que a resposta de plantas para os efeitos combinados de irradiância e água é caracterizado por um “dilema” entre tolerância à seca e tolerância à sombra. Aparentemente as plantas tornam-se menos tolerantes à seca quando crescem sob baixos níveis de luz.

Quando o acúmulo de ROS sobre estas condições excede a capacidade de remoção pelo sistema antioxidante, os efeitos dos danos oxidativos aumentam, incluindo peroxidação de lipídeos da membrana, destruição de pigmentos e inativação de enzimas fotossintéticas (Smirnoff, 1993). Há evidências de que os efeitos do estresse hídrico sobre o fotossistema II (PSII) podem ser mediados pela produção e acumulação de ROS (Smirnoff, 1993; Lawlor, 1995), levando a extensos danos às membranas, desencadeando processos de peroxidação de lipídios, com perda de eletrólitos pela célula (Alonso *et al.*, 1997; Queiroz *et al.*, 1998) e queda na atividade fotossintética (Smirnoff, 1993). Porém, as células das plantas normalmente são protegidas contra este tipo de efeito por um complexo sistema antioxidante discutido anteriormente no Capítulo I. Em diferentes espécies, a tolerância ao estresse hídrico tem sido associada a um incremento na atividade de enzimas e substâncias não-enzimáticas de defesa contra as ROS (Zhang e Kirkham, 1994).

O efeito do estresse hídrico sobre a planta como um todo, é geralmente percebido por uma diminuição na fotossíntese e no crescimento, e é associado com alterações no metabolismo de carbono (C) e nitrogênio (N). O efeito negativo deste tipo de estresse sobre as folhas a nível molecular pode ser em parte por consequência de danos oxidativos em moléculas importantes como resultado do desequilíbrio entre produção de ROS e defesas antioxidantes (Foyer *et al*, 1994).

Martinez *et al.* (2001), determinaram aumento significativo na atividade total de SOD e FeSOD (50% da atividade total) em folhas da batata *Solanum curtilobum* que são resistentes a geadas, quando estas foram expostas ao estresse hídrico induzido por polietileno glicol. Nas folhas de batata *Solanum tuberosum*, que são sensíveis a geadas, a atividade desta enzima não mudou com a indução do estresse. Quando as plantas foram expostas ao estresse oxidativo mediado por methyl-viologen, as folhas de *Solanum curtilobum* apresentaram atividade da FeSOD 350% mais alta do que as folhas de *Solanum tuberosum*. Estes resultados sugerem que a enzima SOD pode proteger o fotossistema II dos radicais superóxidos que são formados em situações de estresse e hídrico e oxidativo.

As plantas estão freqüentemente sujeitas a períodos de déficit hídrico atmosférico e do solo durante seu ciclo de vida. É provável que no futuro, decorrente das mudanças climáticas, aumente a freqüência de problemas de deficiência hídrica, mesmo em locais onde nos dias de hoje estejam fora das regiões áridas e semi-áridas (Chaves *et al.*, 2002). Portanto, torna-se necessário determinar como as plantas poderiam responder a estes problemas ambientais. Nesta pesquisa foram analisadas as respostas bioquímicas e fisiológicas em plantas jovens de oito espécies arbóreas de mata mesófila semidecidual, crescidas em condições de sol (100% de FFFA) e de sombra (10% de FFFA), submetidas a um período de deficiência hídrica do solo até atingir 50% da capacidade de campo.

II. OBJETIVOS

Determinar as atividades das enzimas dissipadoras de radicais livres (SOD, APX e CAT), o conteúdo dos pigmentos fotossintéticos (clorofilas e carotenóides) e a fluorescência da clorofila *a* em oito espécies arbóreas em estágio inicial de desenvolvimento, sendo quatro espécies pioneiras e quatro espécies não pioneiras de Mata Mesófila Semidecidual crescidas sob duas condições contrastantes de luz solar 10% de FFFA (sombra) e 100% de FFFA (pleno sol) e submetidas a deficiência hídrica do solo.

III. HIPÓTESE

A hipótese proposta para este trabalho é que as espécies pioneiras são mais tolerantes à combinação da deficiência hídrica e alta radiação que as espécies não pioneiras, evidenciados pela maior atividade das enzimas antioxidantes SOD, CAT e APX e maior razão carotenóides/clorofilas, que as predispõe para uma maior tolerância a a estresse ambiental.

IV. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Material vegetal

Neste trabalho foram utilizadas quatro espécies pioneiras (*Cecropia pachystachya* Trécul, *Croton floribundus* Spreng, *Croton urucurana* Baill., *Schinus terebinthifolius* Raddi) e quatro espécies não pioneiras (*Cariniana legalis*(Mart.) Kuntze., *Esenbeckia leiocarpa* Engl., *Hymenaea courbaril* L. var. *stilbocarpa* (Hayme) Y.T.Lee & Langenh. e *Tabebuia roseo-alba*(Ridl.) Sand.) características de Mata Mesófila Estacional Semidecidual. Algumas mudas foram doadas pelo Viveiro de Mudas da Prefeitura do *Campus* USP-RP e outras adquiridas do Viveiro Verde - Tambaú (Tambaú, SP). As características das espécies estudadas foram mostradas no capítulo I desta Tese.

4.2. Condições de crescimento

Foram plantadas vinte mudas (15-25 cm) de cada espécie em vasos plásticos (capacidade de 16 litros) contendo 25 kg de solo. O solo utilizado foi proveniente da área de Reflorestamento do *campus* da USP-Ribeirão Preto. Antes do plantio o solo foi adubado com 1g da fórmula N-P-K (4-14-8) para cada kg de solo. Dez vasos de cada espécie foram mantidos em condições de crescimento sob 100% de fluxo de fótons fotossinteticamente ativos (FFFA) (sol pleno), enquanto que outros dez vasos foram mantidos sob 10% de FFFA (sombreamento) proporcionada pela combinação do *sombrite* (50%) e *isulfilme* (35%) como descrito no capítulo I. O solo foi mantido com umidade em aproximadamente 100% da capacidade de campo (CC₁₀₀) por aproximadamente 90 dias. Após este período, metade das plantas (controles) foram mantidas em CC₁₀₀ e a outra metade foi submetida a deficiência hídrica por suspensão da rega até que umidade do solo alcance 50% da capacidade de campo (CC₅₀), momento em que as avaliações foram realizadas. A umidade do solo foi monitorada com o medidor de umidade modelo HH2 com sensor de umidade modelo Theta Probe ML2x (Delta T Devices, UK). O experimento foi instalado no Viveiro do Setor de Botânica, Departamento de Biologia, Faculdade de Filosofia, Ciências e

Letras de Ribeirão Preto-USP. As características químicas do solo são apresentadas na tabela 1.

Tabela 1: Características químicas do solo antes e após adubação com N-P-K (4-14-8). (Fonte: Empresa Ribersolo)

Características químicas do solo		
Elementos	Solo não adubado	Solo adubado
Cálcio (mmolc/dm ³)	21	23
CTC ** (mmolc/dm ³)	52	57
Fósforo (mg/dm ³)	18	92
H+AL ***	27	20
Magnésio (mmolc/dm ³)	3	11
MO* (g/dm ³)	16	16
pH em CaCl ₂ (g/dm ³)	5.5	5.9
Potássio (mmolc/dm ³)	0.8	4

* Matéria Orgânica, ** Capacidade de Troca Catiônica, *** Acidez Potencial

4.3. Condições micro-meteorológicas

Ao mesmo tempo em que foi avaliada a fluorescência e coletadas as folhas para análise enzimática e de pigmentos foram monitoradas as condições micro-meteorológicas como, umidade relativa do ar e temperatura ambiente com um higrotermômetro, e radiação ambiente (FFFA - Fluxo de fótons fotossinteticamente ativos) com um sensor quântico LI-190, conectado a um medidor de radiação modelo LI-250A (LI-COR, NE, USA).

Tabela 2: Condições ambientais na sombra (10% FFFA) e no sol (100% FFFA), durante o período de avaliação (6:00h)

Hora do Dia	Parâmetro ambiental	Sombra	Sol
6:00h	Densidade do fluxo de fótons ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	4.1	12.7
	Temperatura (°C)	14.5	13.7
	Umidade Relativa (%)	73	87

4.4. Avaliações

Foram avaliadas as respostas bioquímicas e fisiológicas das plantas sob duas condições de luminosidade, 10% de FFFA (sombreamento) e 100% de FFFA (pleno sol) e sob duas condições hídricas do solo, 100% da capacidade de campo (CC_{100}) e 50% da capacidade de campo (CC_{50}). Foram realizadas medições de conteúdo relativo de água (CRA), da concentração dos pigmentos fotossintéticos: clorofilas e carotenóides, parâmetros da fluorescência da clorofila, e atividade enzimática da Catalase (CAT, EC 1.11.1.6), Ascorbato peroxidase (APX, EC 1.11.1.11) e Superóxido dismutase (SOD, EC 1.15.1.1).

4.4.1. Fluorescência da clorofila

Os parâmetros de fluorescência inicial (F_0), Fluorescência máxima (F_m) e a razão F_v/F_m (fluorescência variável/fluorescência máxima) foram medidos com o fluorômetro portátil modelo OS-30P (Opti-Sciences, USA). Os valores da fluorescência variável (F_v) ($F_v = F_m - F_0$) e da razão F_v/F_0 foram calculados a partir dos parâmetros medidos.

Antes da aplicação do pulso saturante de luz ($1100 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) para a determinação dos parâmetros de fluorescência, a área de folha a ser medida permaneceu no escuro por 15 minutos para abertura dos fotossistemas. As medições da fluorescência foram feitas às 6:00h, imediatamente antes da coleta das folhas e nas mesmas folhas utilizadas para análise enzimática e de pigmentos.

4.4.2. Conteúdo Relativo de água (CRA)

O conteúdo relativo de água foi calculado usando a seguinte equação:

$$\text{CRA} = \frac{\text{PF} - \text{PS}}{\text{PST} - \text{PS}} \times 100$$

Onde:

CRA= Conteúdo relativo de água

PF= Peso fresco

PS= Peso seco

PST= Peso saturado

Para a determinação do CRA foram retirados três discos foliares (1 cm²) por folha, evitando-se as nervuras e as partes basais e apicais das folhas. Estes discos foram pesados para obtenção do peso fresco (PF) e a seguir colocados em tubos eppendorf de 2,0 mL contendo água de-ionizada. Estas amostras foram mantidas por 4 horas a 4°C para permitir a hidratação do tecido. Após esse período, as amostras foram retiradas e cuidadosamente enxutas com papel toalha para a retirada do excesso de água e novamente pesadas para obtenção do peso saturado (PST). Para a obtenção do peso seco (PS), as amostras foram colocadas a secar em estufa a 70°C pelo período de 48 horas (González e González-Vilar, 2001).

4.4.3. Determinação dos pigmentos fotossintéticos: Clorofilas/Carotenóides

A determinação do conteúdo dos pigmentos fotossintéticos clorofilas e carotenóides foram realizados segundo Hendry e Price, (1993) conforme descrito no item 4.4.2 do capítulo I. Foram utilizadas folhas jovens e completamente desenvolvidas coletadas às 6:00h.

4.4.4. Extração enzimática

O extrato enzimático bruto, para a determinação da atividade da SOD, CAT e APX foi preparado segundo Azevedo *et al.*, (1998) como descrito no item 4.4.3 do capítulo 1. Foram utilizadas folhas jovens, completamente desenvolvidas coletadas às 6:00h.

4.4.5. Superóxido Dismutase (SOD; EC 1.15.1.1)

A atividade total da SOD foi determinada pelo método espectrofotométrico proposto por Giannopolitis e Ries (1977) conforme descrito no item 4.4.4 do capítulo I.

4.4.6. Catalase (CAT; EC 1.11.1.11)

A atividade da CAT foi determinada espectrofotometricamente seguindo o protocolo de Azevedo *et al.* (1998) como descrito no item 4.4.5. do capítulo I.

4.4.7. Ascorbato Peroxidase (APX; EC 1.11.1.11)

A atividade da APX foi determinada de acordo com o método de Nakano e Asada (1981) conforme descrito no item 4.4.6 do capítulo I.

4.4.8. Quantificação de proteínas

O conteúdo de proteínas das amostras foi determinado pelo método de Bradford (1976), utilizando albumina sérica bovina para construção da curva padrão.

4.4.9. Análise estatística

Os dados foram submetidos a análises de variância (ANOVA) e teste de significação de Tukey. Diferenças foram consideradas significantes para $P \leq 0,05$ utilizando o programa Sigma Stat versão 3.1.(Systat Software Inc.,USA). Os resultados foram expressos com médias \pm S.E. de cinco réplicas independentes.

V. RESULTADOS

5.1. Umidade do solo

Logo de iniciada a suspensão de rega no tratamento com deficiência hídrica, a umidade do solo foi monitorada diariamente até atingir 50% da capacidade de campo (CC_{50}). O tempo em dias necessário para alcançar esse valor diferiu entre as espécies e em função da condição de crescimento conforme mostrado na tabela 3. Nas plantas crescidas sob condição de sombreamento houve mais demora do solo em atingir CC_{50} do que nas plantas crescidas sob pleno sol (Tabela 3).

Tabela 3. Número de dias necessários para o solo atingir 50% da capacidade de campo (CC_{50}) após a suspensão da rega nas espécies pioneiras e não pioneiras crescidas sob 10% de FFFA e 100% de FFFA

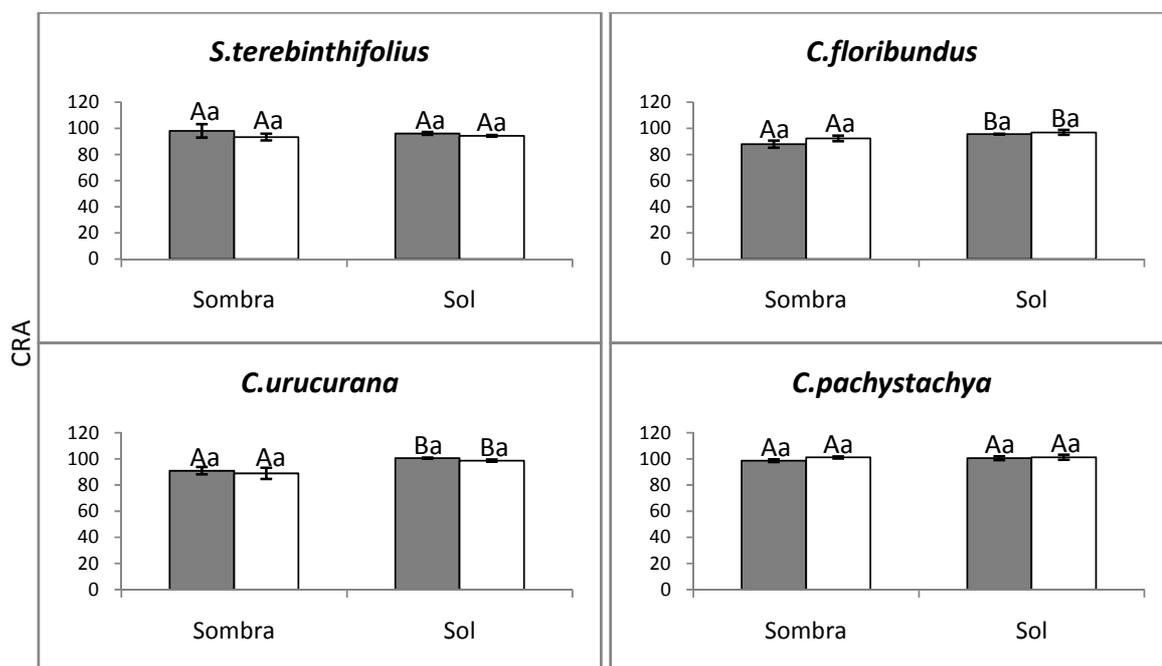
Grupo	Espécies	Número de dias até o solo atingir CC_{50}	
		10% FFFA	100% FFFA
sucessional			
Pioneiras	<i>S.terebinthifolius</i>	12	3
	<i>C.floribundus</i>	11	4
	<i>C.urucurana</i>	20	5
	<i>C.pachystachya</i>	14	8
Não Pioneiras	<i>H.courbaril</i>	14	9
	<i>E.leiocarpa</i>	11	6
	<i>C.legalis</i>	16	4
	<i>T.roseo-alba</i>	13	3
Média		13,8	5,2

5.2. Conteúdo relativo de água (CRA)

O conteúdo relativo de água (CRA) não diferiu, em nenhuma das espécies, entre as plantas controle (CC_{100}) e as plantas sob deficiência hídrica do solo (CC_{50}) (Figura 1). Em geral, os valores de CRA nas folhas não foram menores do que 82% nas plantas sob CC_{50} (Tabela 4). As espécies pioneiras *C.urucurana* e

C.pachystachya tiveram maiores valores significativos de CRA nas plantas sob pleno sol em comparação às plantas sob sombreamento, mas essa diferença talvez esteja mais relacionada com o fator luminosidade do que com o status hídrico do solo já que esse aumento se deu tanto nas plantas sob CC₁₀₀ quanto nas plantas sob CC₅₀ (Figura 1). Entre os grupos sucessionais as espécies pioneiras apresentaram maior CRA que as espécies não pioneiras (8%), mas essa diferença não foi significativa nas plantas sob condição de sombreamento. Nas plantas sob pleno sol, o grupo das espécies pioneiras apresentou valor 10% maior do CRA do que o grupo das espécies não pioneiras, sendo essa diferença significativa (Figura 5).

Espécies Pioneiras



Espécies Não Pioneiras

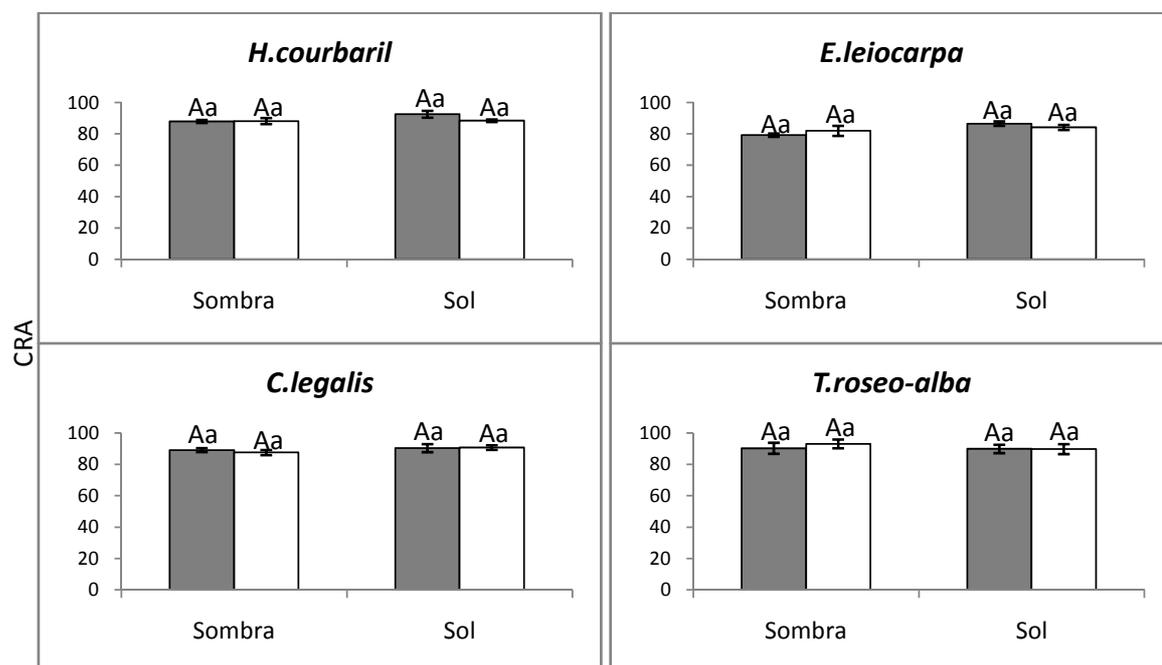


Figura 1. Conteúdo relativo de água (CRA) em folhas de mudas de quatro espécies pioneiras e quatro espécies não pioneiras de plantas sob umidade de solo em 100% da capacidade de campo, CC₁₀₀ (■) e 50% da capacidade de campo, CC₅₀ (□) crescidas sob 10% de fluxo de fótons fotossinteticamente ativos, FFFA (sombra) e 100% de FFFA (Sol). Dados representam as médias ± S.E. (n=5). Barras seguidas de diferentes letras maiúsculas são significantes para a mesma condição de umidade do solo entre plantas de sombra e sol. Letras minúsculas diferentes são significantes para plantas crescidas na mesma condição de luminosidade, entre plantas sob CC₁₀₀ e CC₅₀ (p≤0,05).

5.3. Fluorescência da clorofila

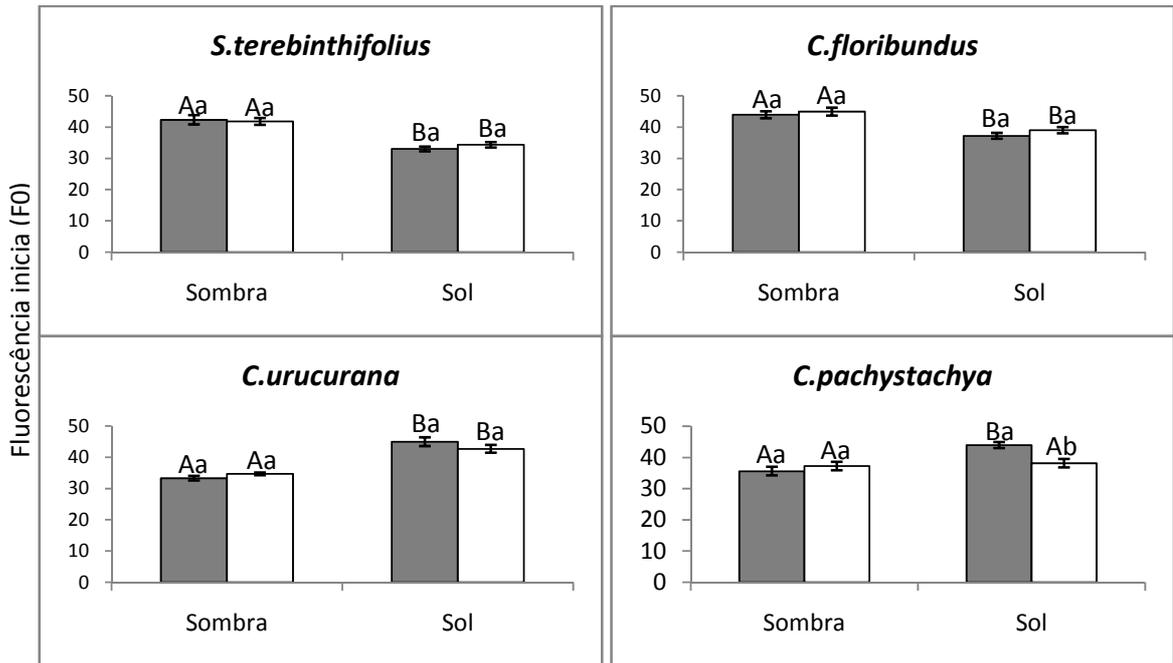
5.3.1. Valores da fluorescência inicial (F_0)

Em todas as espécies, a exceção de *C.pachystachya*, na qual houve uma queda da fluorescência inicial (F_0) sob CC_{50} em comparação a CC_{100} , a F_0 não foi afetada pelo tratamento hídrico (Figura 2). Independente da condição hídrica, nas espécies pioneiras *S. terebinthifolius* e *C. floribundus* foram observadas reduções significativas de F_0 nas plantas crescidas em pleno sol, comparadas às plantas crescidas na sombra (Figura 2). Entre grupos sucessionais (pioneiras e não pioneiras) não foram observadas diferenças significativas em F_0 (Figura 5).

5.3.2. Razão F_v/F_m

Entre as espécies pioneiras, apenas em *C.pachystachya* foi observada queda da razão F_v/F_m nas plantas CC_{50} em comparação às plantas em CC_{100} , sob condição de sol pleno (Figura 3). Entre as espécies não pioneiras, independente da condição hídrica, observou-se uma queda da razão F_v/F_m nas plantas crescidas em pleno sol, comparadas com as plantas da sombra. No entanto, *H.courbaril* e *E.leiocarpa* mostraram maior F_v/F_m em CC_{50} e, *C.legalis* mostrou menor F_v/F_m em CC_{50} do que em CC_{100} , (Figura 3). Todas as diferenças foram observadas em plantas sob pleno sol.

Espécies Pioneiras



Espécies Não Pioneiras

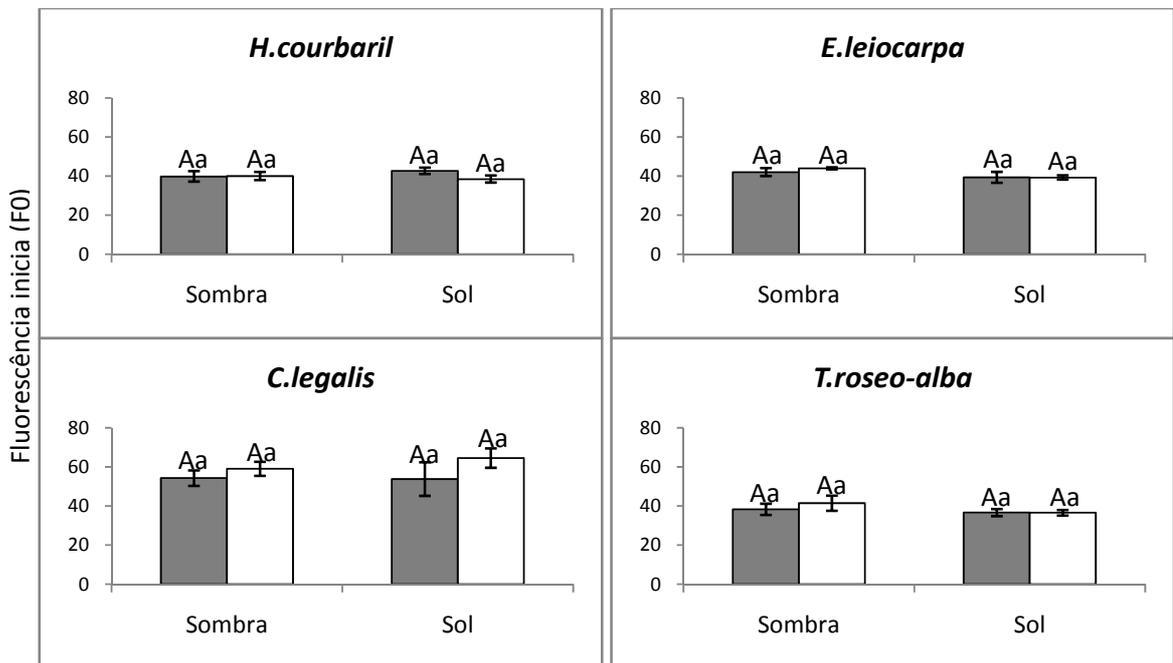
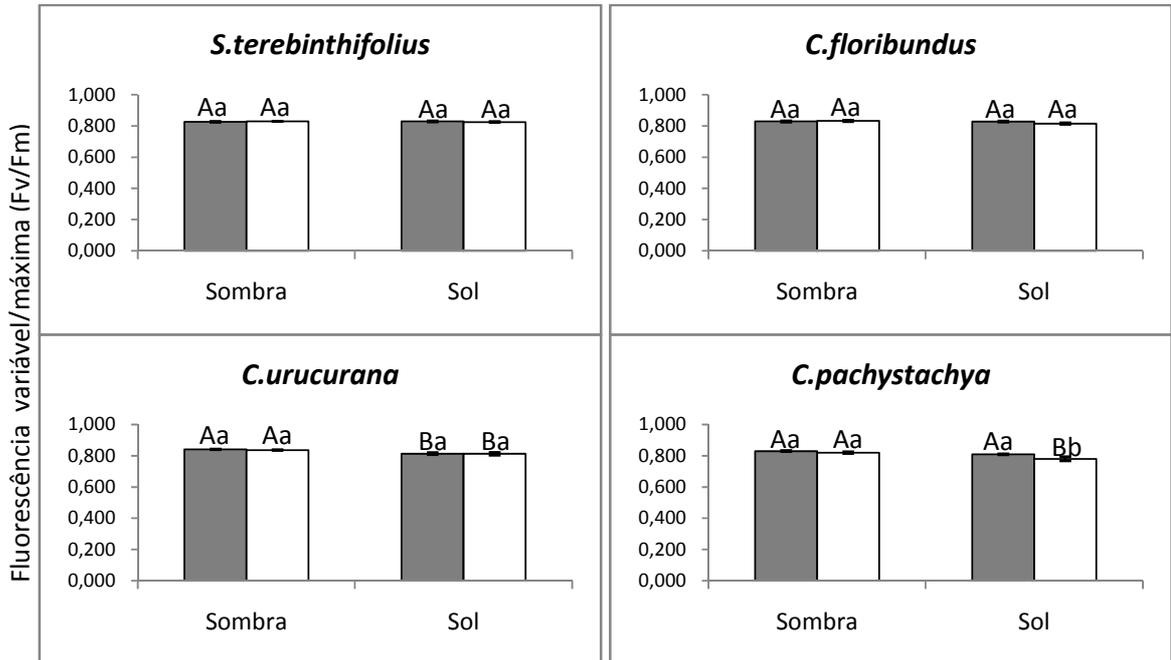


Figura 2. Fluorescência inicial (F_0) em folhas de mudas de quatro espécies pioneiras e quatro espécies não pioneiras sob umidade de solo em 100% da capacidade de campo, CC_{100} (■) e 50% da capacidade de campo, CC_{50} (□) crescidas sob 10% de fluxo de fótons fotossinteticamente ativos, FFFA (sombra) e 100% de FFFA (Sol). Dados representam as médias \pm S.E. ($n=5$). Barras seguidas de diferentes letras maiúsculas são significantes para a mesma condição de umidade do solo entre plantas de sombra e sol. Letras minúsculas diferentes são significantes para plantas crescidas na mesma condição de luminosidade, entre plantas sob CC_{100} e CC_{50} ($p \leq 0,05$).

Espécies Pioneiras



Espécies Não Pioneiras

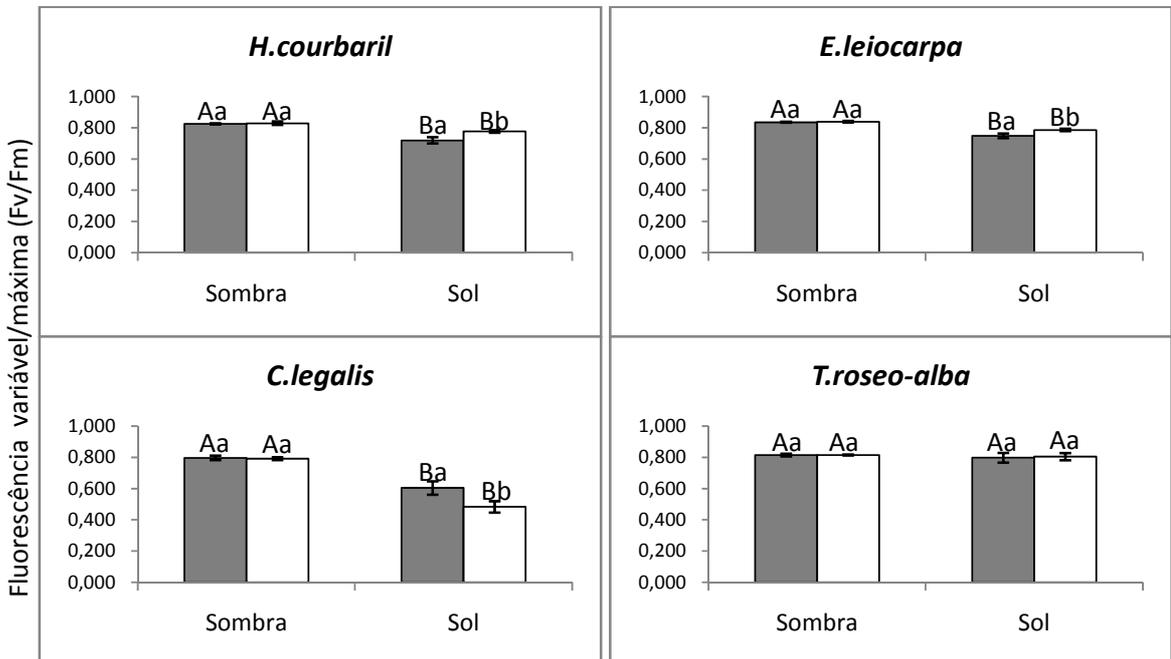


Figura 3. Razão Fv/Fm em folhas de mudas de quatro espécies pioneiras e quatro espécies não pioneiras sob umidade de solo em 100% da capacidade de campo, CC₁₀₀ (■) e 50% da capacidade de campo, CC₅₀ (□) crescidas sob 10% de fluxo de fótons fotossinteticamente ativos, FFFA (sombra) e 100% de FFFA (Sol). Dados representam as médias ± S.E. (n=5). Barras seguidas de diferentes letras maiúsculas são significantes para a mesma condição de umidade do solo entre plantas de sombra e sol. Letras minúsculas diferentes são significantes para plantas crescidas na mesma condição de luminosidade, entre plantas sob CC₁₀₀ e CC₅₀ (p≤0,05).

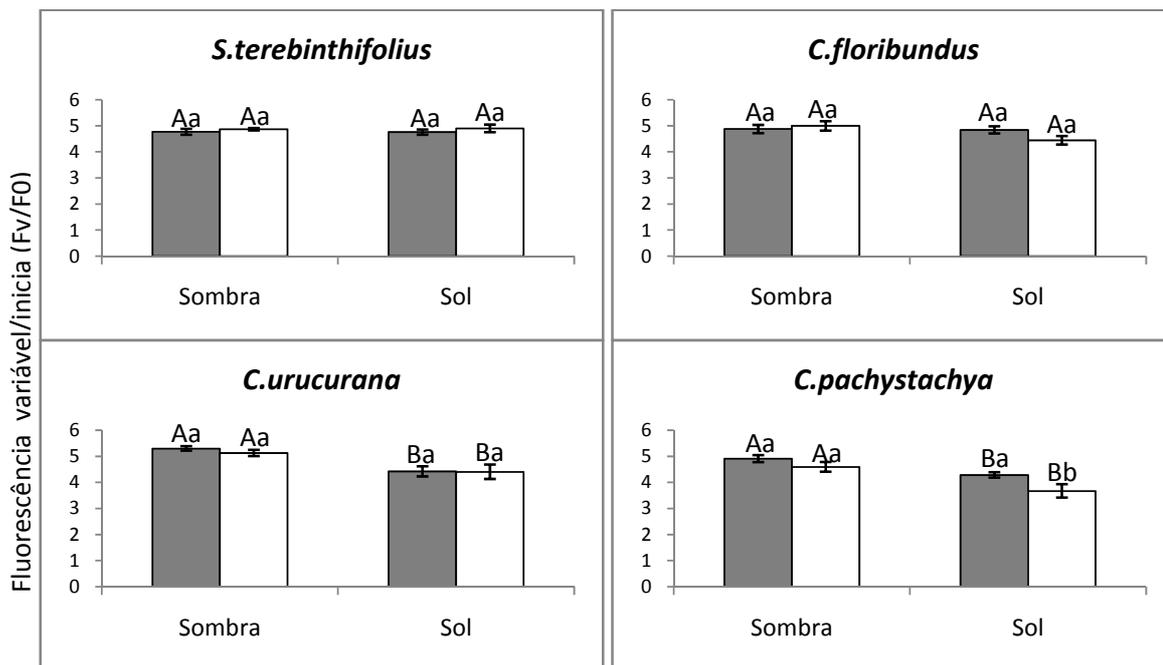
5.3.3. Razão Fv/F₀

Nas espécies pioneiras, somente em *C.pachystachya* foram observadas diferenças na razão Fv/F₀ em decorrência do tratamento de deficiência hídrica no solo (Figura 4). Entre as espécies não pioneiras, assim como ocorreu com a razão Fv/F_m, maiores valores de Fv/F₀ foram observados em plantas sob CC₅₀ do que CC₁₀₀ nas espécies *H.courbaril* e *E.leiocarpa*, nas plantas sob condição de sol.

Independente do tratamento hídrico, a exceção de *T. roseo-alba*, em todas as espécies não pioneiras a razão Fv/F₀ das plantas crescidas na condição de pleno sol foi menor do que nas plantas crescidas na condição de sombra (Figura 4).

Comparando as espécies pioneiras e não pioneiras, por grupos successionais pode-se observar que a razão Fv/F₀ das pioneiras foi maior do que nas não pioneiras (Figura 5).

Pioneiras



Não Pioneiras

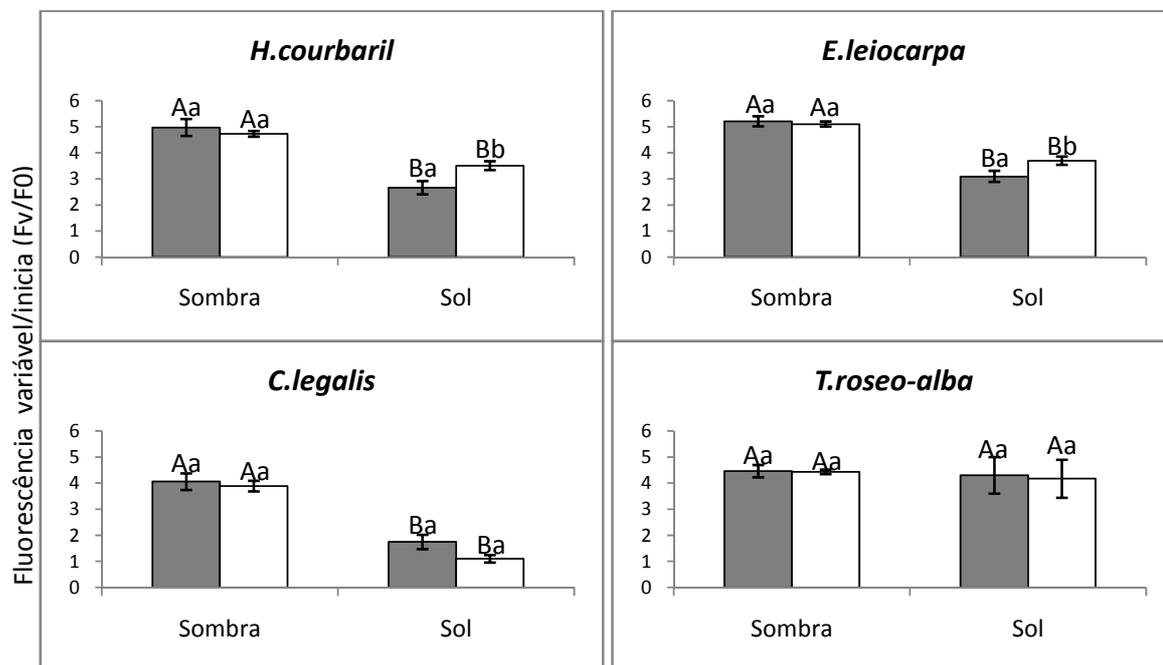


Figura 4: Razão F_v/F_0 em folhas de mudas de quatro espécies pioneiras e quatro espécies não pioneiras sob umidade de solo em 100% da capacidade de campo, CC₁₀₀ (■) e 50% da capacidade de campo, CC₅₀ (□) crescidas sob 10% de fluxo de fótons fotossinteticamente ativos, FFFA (sombra) e 100% de FFFA (Sol). Dados representam as médias \pm S.E. (n=5). Barras seguidas de diferentes letras maiúsculas são significantes para a mesma condição de umidade do solo entre plantas de sombra e sol. Letras minúsculas diferentes são significantes para plantas crescidas na mesma condição de luminosidade, entre plantas sob CC₁₀₀ e CC₅₀ ($p \leq 0,05$).

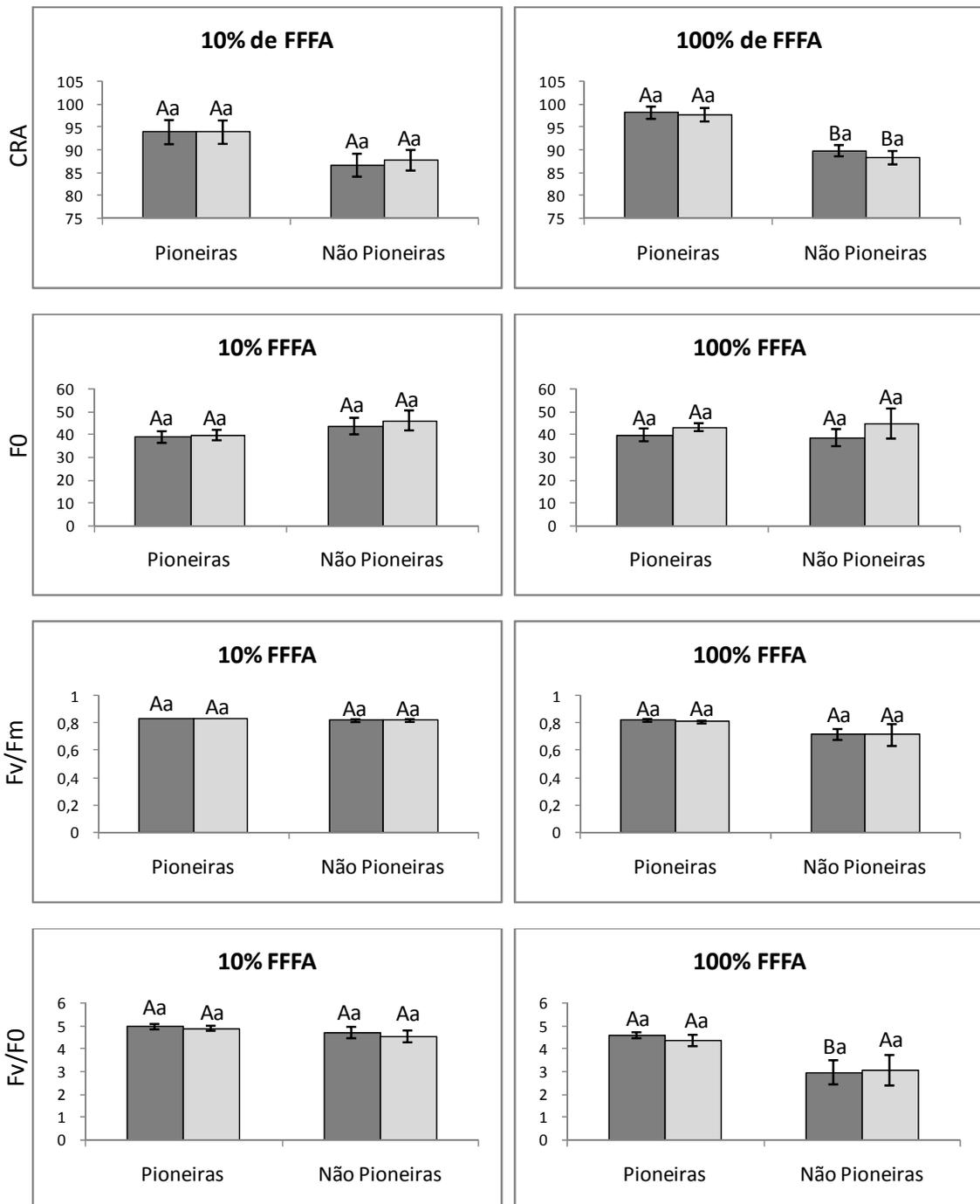


Figura 5: Conteúdo relativo de água (CRA) fluorescência inicial (F₀), razão entre fluorescência variável/fluorescência máxima (F_v/F_m) e razão entre fluorescência variável/fluorescência inicial (F_v/F₀) em plantas de quatro espécies pioneiras e quatro espécies não pioneiras sob umidade de solo em 100% da capacidade de campo, CC₁₀₀ (■) e 50% da capacidade de campo, CC₅₀ (□) crescidas sob 10% de fluxo de fótons fotossinteticamente ativos, FFA (sombra) e 100% de FFA (Sol). Dados representam as médias ± S.E. (n=5). Barras seguidas de diferentes letras maiúsculas são significantes para a mesma condição de umidade do solo entre plantas de sombra e sol. Letras minúsculas diferentes são significantes para plantas crescidas na mesma condição de luminosidade, entre plantas sob CC₁₀₀ e CC₅₀ (p≤0,05).

Tabela 4: Conteúdo relativo de água (CRA), fluorescência inicial (F_0), razão fluorescência variável/fluorescência máxima (Fv/Fm) e razão fluorescência variável/fluorescência inicial (Fv/ F_0) em mudas de oito espécies arbóreas tropicais exposta à 10% (sombra) e 100% (sol) de fluxo de fótons fotossinteticamente ativos (FFFA). As medições foram feitas em plantas sob umidade do solo em 100% de capacidade de campo (CC_{100}) e em plantas com 50% de capacidade de campo (CC_{50}).

FFFA	Grupo Sucessional	Espécies	Parâmetros							
			CRA		F_0		Fv/Fm		Fv/ F_0	
			CC_{100}	CC_{50}	CC_{100}	CC_{50}	CC_{100}	CC_{50}	CC_{100}	CC_{50}
10%	Pioneiras	<i>S. terebinthifolius</i>	98.1	93.3	42.3	41.8	0.826	0.829	4.8	4.9
		<i>C. floribundus</i>	87.9	92.3	43.9	44.9	0.829	0.832	4.9	5
		<i>C. urucurana</i>	91	88.9	33.3	34.7	0.841	0.836	5.3	5.1
		<i>C. pachystachya</i>	98.6	101.1	35.6	37.2	0.830	0.820	4.9	4.6
		Média	93.9±2.7	93.9±2.6	38.8±2.6	39.7±2.3	0.832±0.0	0.829±0.0	5±0.1	4.9±0.1
	Não Pioneiras	<i>H. courbaril</i>	87.9	88.2	39.8	40	0.824	0.829	5	4.7
		<i>E. leiocarpa</i>	79.2	82	42	43.9	0.835	0.838	5.2	5.1
		<i>C. legalis</i>	89.1	87.6	54.3	59.1	0.797	0.792	4.1	3.9
		<i>T. roseo-alba</i>	90.3	93.1	38.3	41.4	0.815	0.815	4.5	4.4
		Média	86.6±2.5	87.7±2.3	43.6±3.7	46.1±4.4	0.818±0.01	0.819±0.01	4.7±0.3	4.5±0.3
100%	Pioneiras	<i>S. terebinthifolius</i>	96.1	94.2	33	34.3	0.829	0.825	4.8	4.9
		<i>C. floribundus</i>	95.6	96.9	37.2	39	0.828	0.815	4.8	4.4
		<i>C. urucurana</i>	100.5	98.7	44.9	42.7	0.813	0.812	4.4	4.4
		<i>C. pachystachya</i>	100.5	101.2	43.9	38.1	0.809	0.780	4.3	3.7
		Média	98.2±1.4	97.8±1.5	39.8±2.8	38.5±1.7	0.820±0.01	0.808±0.01	4.6±0.1	4.4±0.3
	Não Pioneiras	<i>H. courbaril</i>	92.5	88.4	42.7	38.5	0.719	0.780	2.7	3.5
		<i>E. leiocarpa</i>	86.5	84.1	39.3	39.3	0.748	0.785	3.1	3.4
		<i>C. legalis</i>	90.4	90.8	53.8	64.5	0.604	0.483	1.8	1.1
		<i>T. roseo-alba</i>	89.9	89.8	36.7	36.6	0.797	0.805	4.3	4.2
		Média	89.8±1.2	88.3±1.5	43.1±3.8	44.7±6.6	0.717±0.04	0.713±0.08	3±0.5	3.04±0.7
ANOVA			$F_E= 11.8^*$	$F_E= 13.1^*$	$F_E= 6.6^*$	$F_E= 31.9^*$	$F_E= 18.2^*$	$F_E= 53.1^*$	$F_E= 26.4^*$	$F_E= 45.1^*$
			$F_L= 11.2^*$	$F_L= 4.2^*$	$F_L= 0.028$ ns	$F_L= 1.5$ ns	$F_L= 55.6^*$	$F_L= 99.7^*$	$F_L= 23.5^*$	$F_L= 21.6^*$
			$F_{ExL}= 1.8$ ns	$F_{ExL}= 1.5$ ns	$F_{ExL}= 3.04^*$	$F_{ExL}= 3.8^*$	$F_{ExL}= 10.8^*$	$F_{ExL}= 33.4^*$	$F_{ExL}= 45.1^*$	$F_{ExL}= 47.4^*$

As análises foram feitas sobre cinco réplicas, após 90 dias de exposição à dois níveis de FFFA contrastante. Os resultados são de uma análise de variância de dois fatores (ANOVA), com espécie (E) e luz (L) como fatores fixos e sua interação (ExL). Os dados são das médias ± erro padrão, *, $P \leq 0.05$; NS, não significativa.

5.4. Pigmentos fotossintéticos

5.4.1. Clorofila total

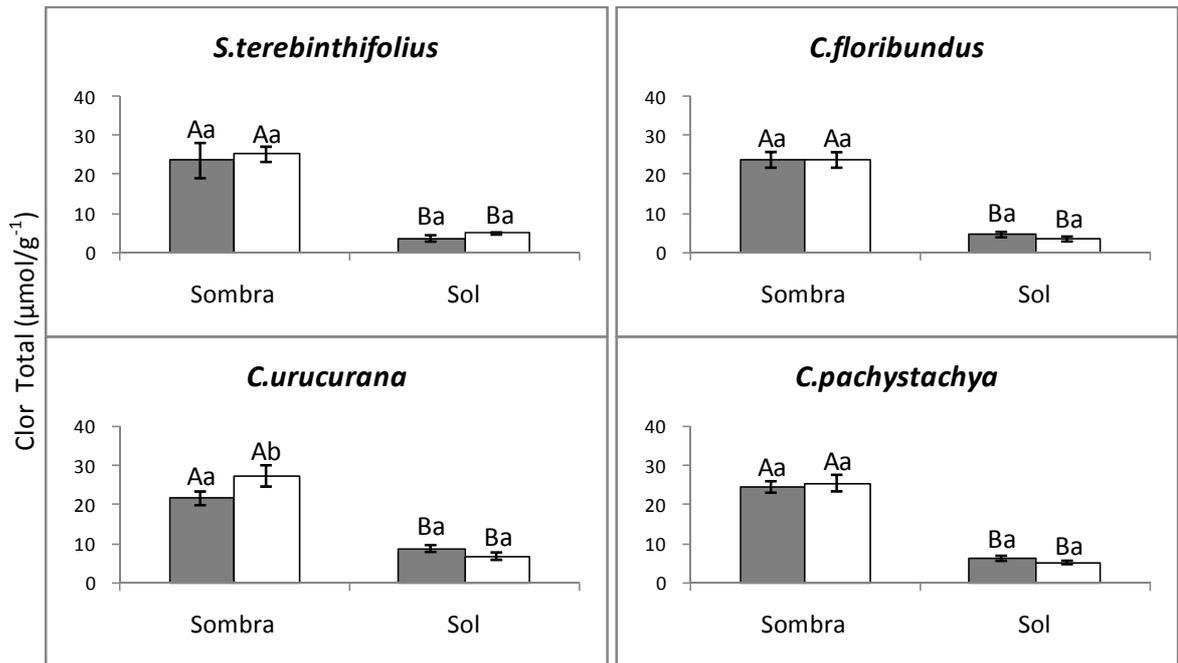
Por efeito do tratamento hídrico, em nenhuma das espécies avaliadas, foram observadas alterações na concentração da clorofila total (Figura 6). No entanto, independente do tratamento hídrico, em todas as espécies, a concentração de clorofila total foi maior nas plantas crescendo na condição de sombra, quando comparadas com as plantas crescendo na condição de pleno sol (Figura 6). Entre grupos sucessionais, as espécies pioneiras tiveram maior conteúdo de clorofila total que as espécies não pioneiras nas plantas sob sombreamento (Figura 9).

5.4.2. Razão clorofila *a*/clorofila *b*

A razão clorofila *a*/clorofila *b* foi significativamente menor em CC₅₀ do que CC₁₀₀ em *S.terebinthifolius* (pioneira) e *C.legalis* (não pioneira), nas plantas crescendo sob condição de pleno sol. As demais espécies não apresentaram diferenças significativas na razão Fv/Fm em decorrência da deficiência hídrica (Figura 7).

Independente da condição hídrica, tanto nas espécies pioneiras, bem como nas espécies não pioneiras, a razão clorofila *a*/clorofila *b* foi maior na condição de sol quando comparada às plantas que cresceram na sombra (Figura 7).

Espécies Pioneiras



Espécies Não Pioneiras

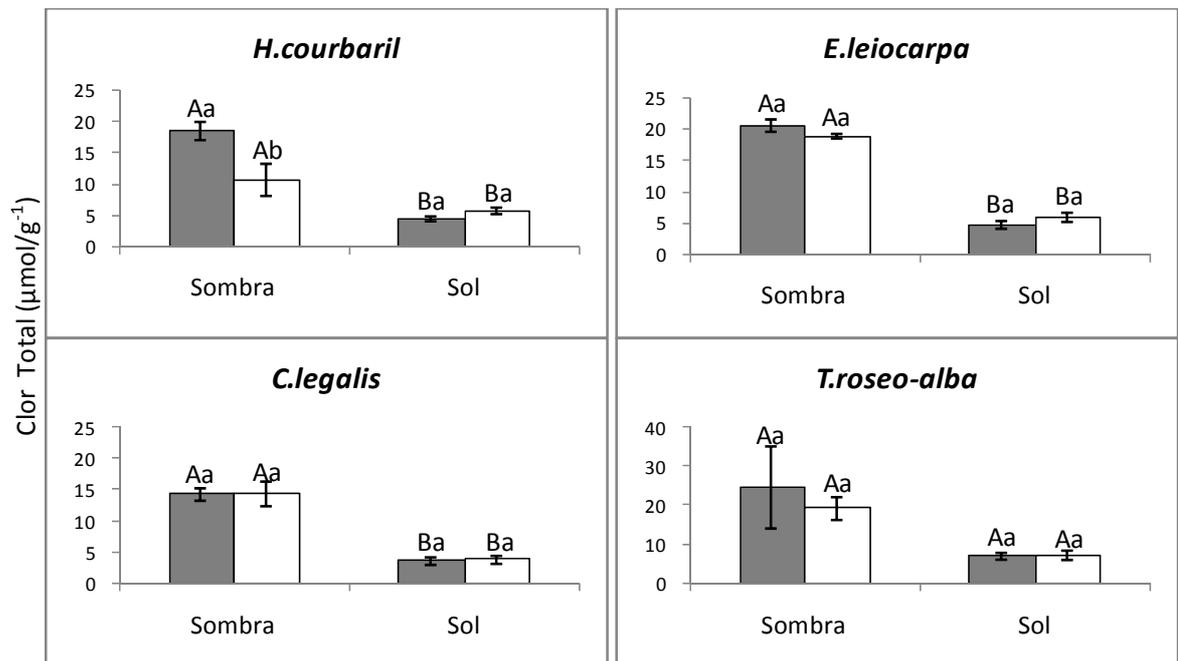
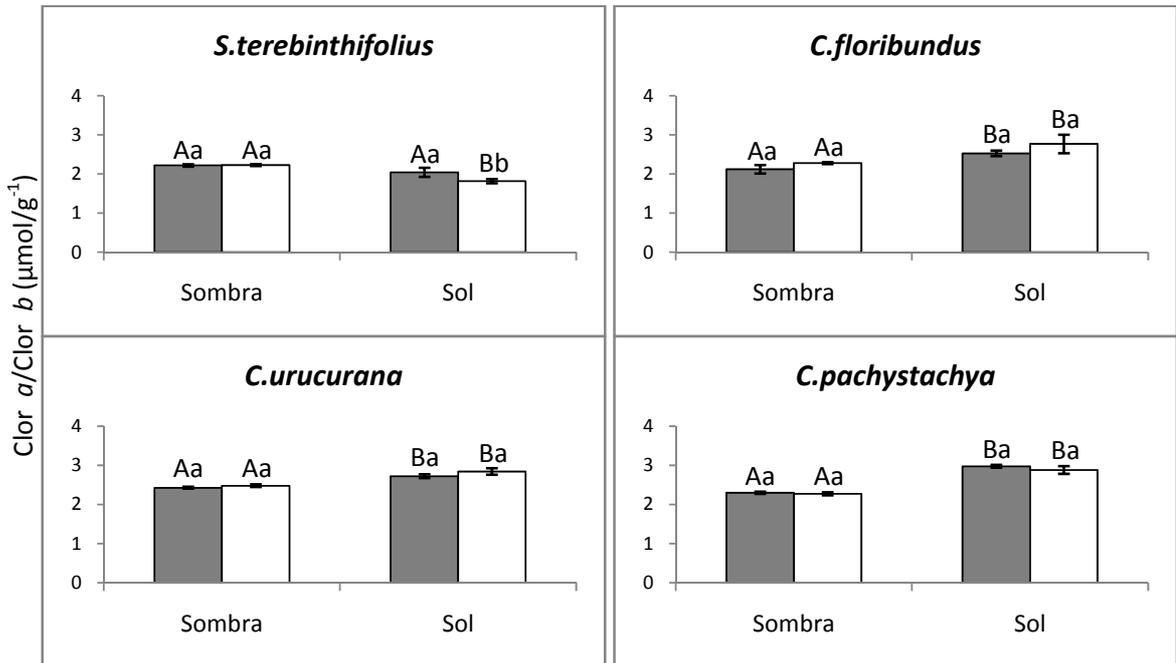


Figura 6. Concentração de Clorofila total em plantas de quatro espécies pioneiras e quatro espécies não pioneiras sob umidade de solo em 100% da capacidade de campo, CC₁₀₀ (■) e 50% da capacidade de campo, CC₅₀ (□) crescidas sob 10% de fluxo de fótons fotossinteticamente ativos, FFFA (sombra) e 100% de FFFA (Sol). Dados representam as médias ± S.E. (n=5). Barras seguidas de diferentes letras maiúsculas são significantes para a mesma condição de umidade do solo entre plantas de sombra e sol. Letras minúsculas diferentes são significantes para plantas crescidas na mesma condição de luminosidade, entre plantas sob CC₁₀₀ e CC₅₀ (p≤0,05).

Espécies Pioneiras



Espécies Não Pioneiras

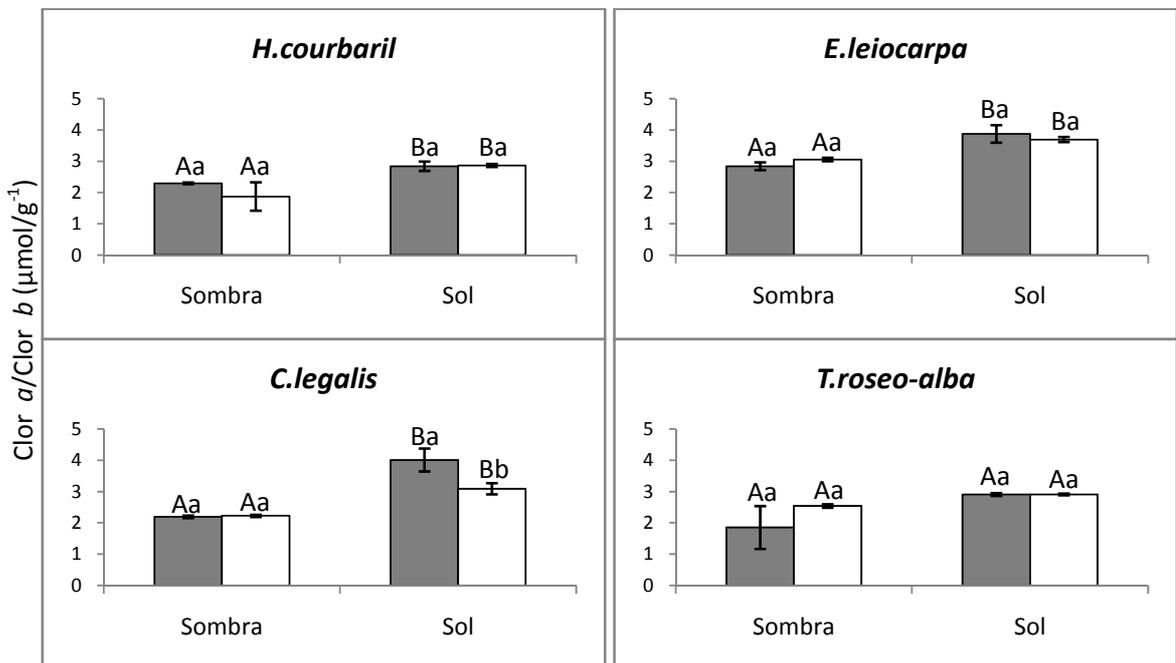
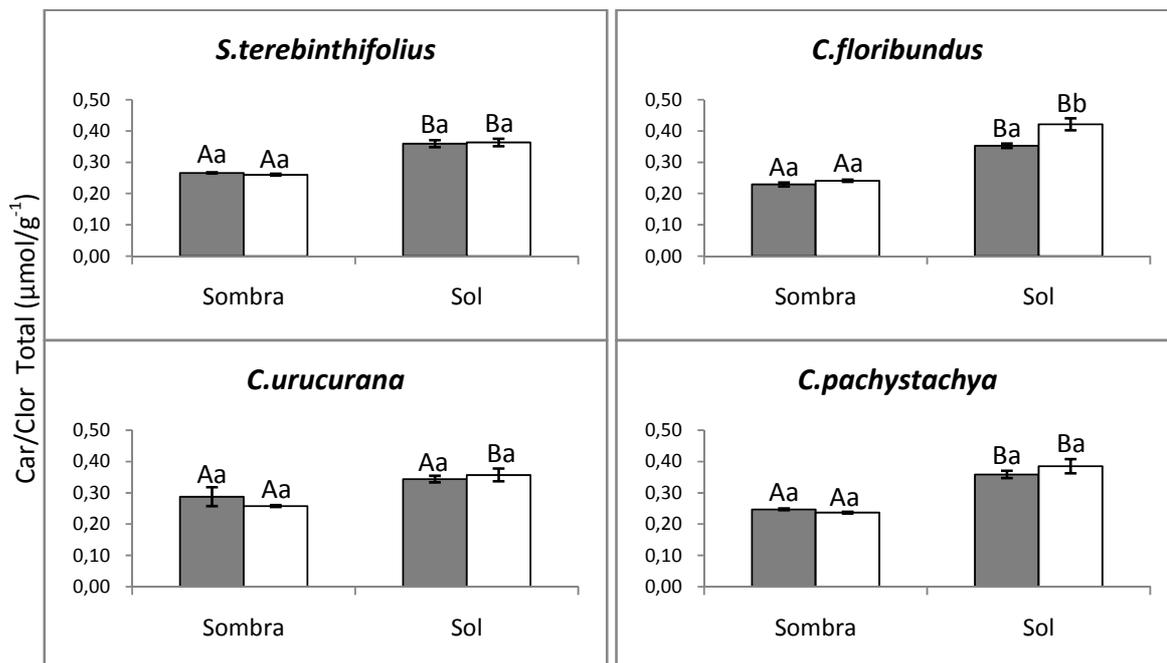


Figura 7. Razão clorofila *a*/clorofila *b* (Clor *a*/Clor *b*) em plantas de quatro espécies pioneiras e quatro espécies não pioneiras sob umidade de solo em 100% da capacidade de campo, CC₁₀₀ (■) e 50% da capacidade de campo, CC₅₀ (□) crescidas sob 10% de fluxo de fótons fotossinteticamente ativos, FFFA (sombra) e 100% de FFFA (Sol). Dados representam as médias \pm S.E. (n=5). Barras seguidas de diferentes letras maiúsculas são significantes para a mesma condição de umidade do solo entre plantas de sombra e sol. Letras minúsculas diferentes são significantes para plantas crescidas na mesma condição de luminosidade, entre plantas sob CC₁₀₀ e CC₅₀ ($p \leq 0,05$).

5.4.3. Razão carotenóides/clorofila total

A razão Car/Clor total foi significativamente maior em CC₅₀ do que CC₁₀₀ em *C.floribundus* (pioneira) e significativamente menor em CC₅₀ do que CC₁₀₀ em *E.leiocarpa* (não pioneira), ambas em plantas sob pleno sol. As demais espécies não apresentaram diferenças significantes da razão Car/Clor total entre CC₁₀₀ e CC₅₀, tanto nas plantas crescidas sob sombreamento quanto crescidas em pleno sol (Figura 8). Entre grupos sucessionais, pioneiras e não pioneiras, não foram observadas diferenças significativas na razão carotenóides/clorofila total (Figura 9).

Espécies Pioneiras



Espécies Não Pioneiras

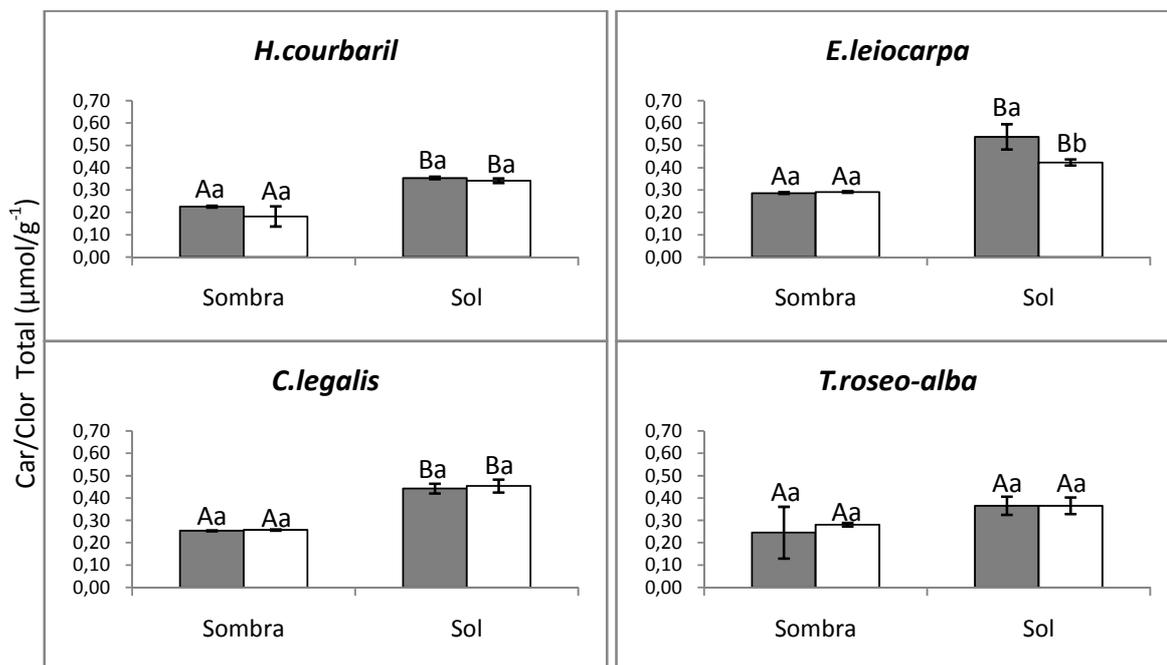


Figura 8. Razão entre carotenóides/clorofila total (Car/Clor Total) em plantas de quatro espécies pioneiras e quatro espécies não pioneiras sob umidade de solo em 100% da capacidade de campo, CC₁₀₀ (■) e 50% da capacidade de campo, CC₅₀ (□) crescidas sob 10% de fluxo de fótons fotossinteticamente ativos, FFFA (sombra) e 100% de FFFA (Sol). Dados representam as médias \pm S.E. (n=5). Barras seguidas de diferentes letras maiúsculas são significantes para a mesma condição de umidade do solo entre plantas de sombra e sol. Letras minúsculas diferentes são significantes para plantas crescidas na mesma condição de luminosidade, entre plantas sob CC₁₀₀ e CC₅₀ ($p \leq 0,05$).

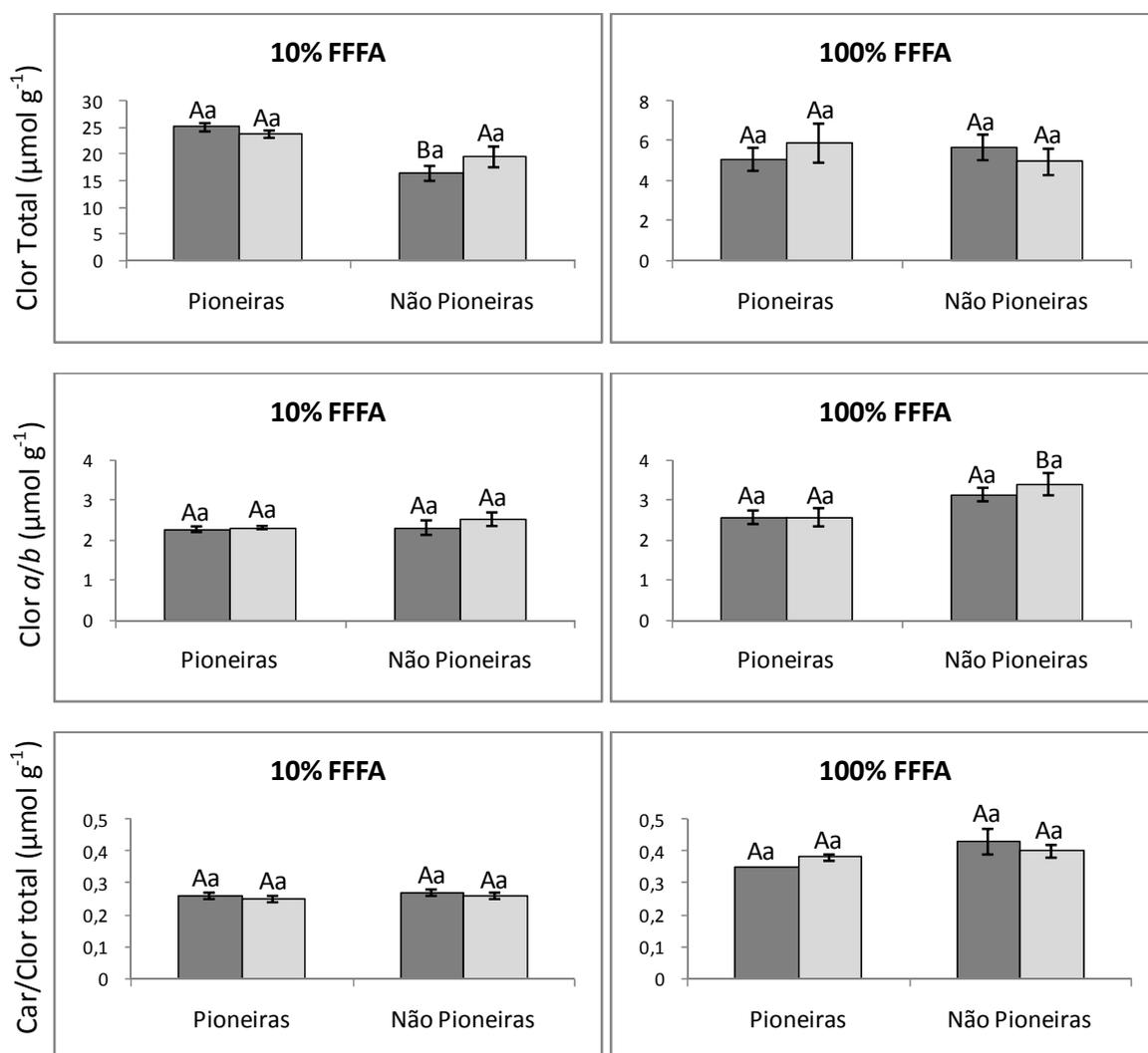


Figura 9: Clorofila total (Clor Total), razão entre clorofila *a*/clorofila *b* (Clor *a/b*) e razão entre carotenóides/clorofila total (Car/Clor Total) em plantas de quatro espécies pioneiras e quatro espécies não pioneiras sob umidade de solo em 100% da capacidade de campo, CC₁₀₀ (■) e 50% da capacidade de campo, CC₅₀ (□) crescidas sob 10% de fluxo de fótons fotossinteticamente ativos, FFFA (sombra) e 100% de FFFA (Sol). Dados representam as médias \pm S.E. (n=5). Barras seguidas de diferentes letras maiúsculas são significantes para a mesma condição de umidade do solo entre plantas de sombra e sol. Letras minúsculas diferentes são significantes para plantas crescidas na mesma condição de luminosidade, entre plantas sob CC₁₀₀ e CC₅₀ ($p \leq 0,05$).

Tabela 5: Concentrações de clorofila total (Clor Total), razão clorofila a/clorofila b (Clor a/Clor b) e razão carotenóides/clorofila total (Car/Clor total) em oito espécies arbóreas tropicais expostas à 10% (sombra) e 100% (pleno sol) de fluxo de fótons fotossinteticamente ativos (FFFA). As medições foram feitas em plantas com umidade do solo em 100% de capacidade de campo (CC₁₀₀) e em plantas com 50% de capacidade de campo (CC₅₀).

FFFA	Grupo Sucessional	Espécies	Parâmetros					
			Clor Total ($\mu\text{mol g}^{-1}$)		Clor a/Clor b ($\mu\text{mol g}^{-1}$)		Car/Clor Total ($\mu\text{mol g}^{-1}$)	
			CC ₁₀₀	CC ₅₀	CC ₁₀₀	CC ₅₀	CC ₁₀₀	CC ₅₀
10%	Pioneiras	<i>S. terebinthifolius</i>	23.6	25.3	2.2	2.2	0.27	0.26
		<i>C. floribundus</i>	263.8	23.8	2.2	2.3	0.23	0.24
		<i>C. urucurana</i>	27.3	21.6	2.5	2.4	0.29	0.26
		<i>C. pachystachya</i>	25.5	24.5	2.3	2.3	0.25	0.24
		Média	25.1±7.8	23.8±0.7	2.3±0.1	2.3±0.04	0.26±0.01	0.25±0.01
	Não Pioneiras	<i>H. courbaril</i>	13	18.5	2.3	2.3	0.23	0.23
		<i>E. leiocarpa</i>	18.9	20.6	2.8	3.1	0.29	0.29
		<i>C. legalis</i>	14.4	14.3	2.2	2.2	0.26	0.25
		<i>T. roseo-alba</i>	19.3	24.7	1.9	2.5	0.28	0.25
		Média	16.4±1.4	19.5±1.9	2.3±0.2	2.5±0.2	0.27±0.01	0.26±0.01
100%	Pioneiras	<i>S. terebinthifolius</i>	3.7	5	2	1.8	0.36	0.36
		<i>C. floribundus</i>	4.6	3.6	2.5	2.8	0.35	0.42
		<i>C. urucurana</i>	6.8	8.7	2.8	2.7	0.34	0.36
		<i>C. pachystachya</i>	5.2	6.2	2.9	3	0.36	0.38
		Média	5.1±0.6	5.9±0.1	2.6±0.2	2.6±0.2	0.35±0.00	0.38±0.01
	Não Pioneiras	<i>H. courbaril</i>	5.7	4.4	2.9	2.8	0.35	0.34
		<i>E. leiocarpa</i>	5.9	4.7	3.7	3.9	0.54	0.42
		<i>C. legalis</i>	3.8	3.6	3.1	4	0.44	0.45
		<i>T. roseo-alba</i>	7.3	7.1	2.9	2.9	0.37	0.37
		Média	5.7±0.6	5±0.67	3.1±0.2	3.4±0.3	0.43±0.04	0.40±0.02
ANOVA			F _E = 2.2 ns	F _E = 7.8*	F _E = 11.4*	F _E = 31.9*	F _E = 5.1*	F _E = 6*
			F _L = 202.7*	F _L = 438.2*	F _L = 63.3*	F _L = 81.6*	F _L = 103.2*	F _L = 313*
			F _{ExL} = 1.3 ns	F _{ExL} = 7*	F _{ExL} = 6.1*	F _{ExL} = 8.4*	F _{ExL} = 2.8*	F _{ExL} = 3.6*

As análises foram feitas sobre cinco réplicas, após 90 dias de exposição à dois níveis de FFFA contrastante. Os resultados são de uma análise de variância de dois fatores (ANOVA), com espécie (E) e luz (L) como fatores fixos e sua interação (ExL). Os dados são das médias ± erro padrão, *, P≤0.05; NS, não significativa.

5.5. Atividade das enzimas antioxidantes e proteína total

5.5.1. Superóxido dismutase (SOD)

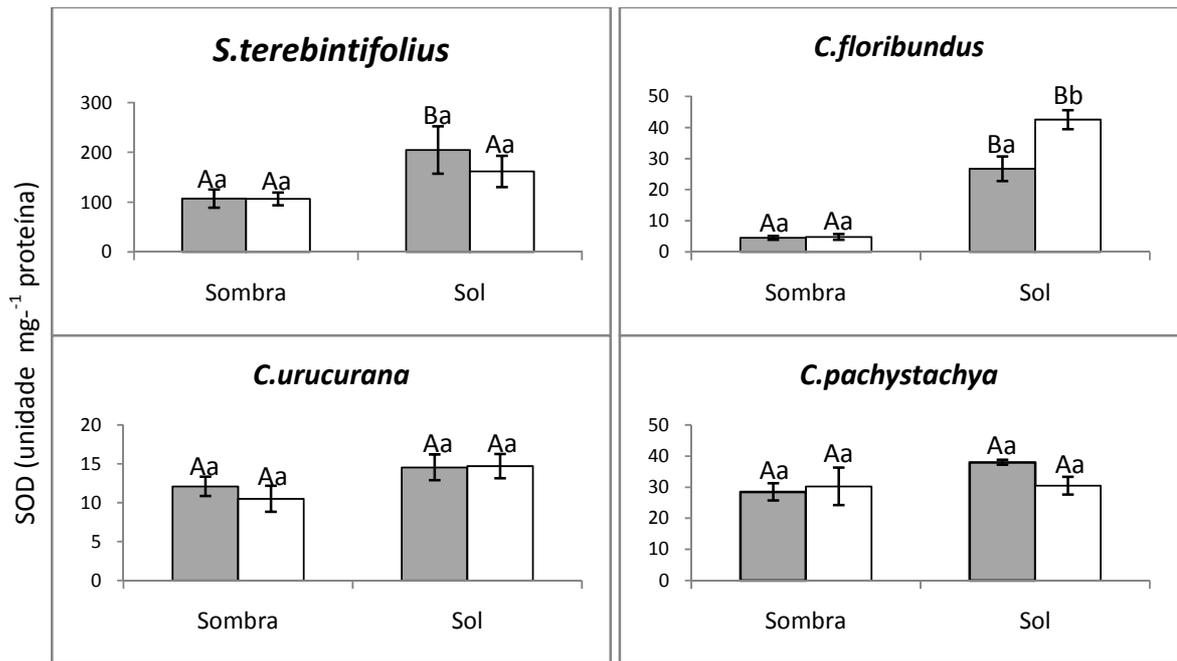
A atividade da SOD não foi influenciada pelo status hídrico do solo na maioria das espécies. Entre as espécies pioneiras apenas *C.floribundus* teve maior atividade significativa de SOD nas plantas em CC₅₀ do que nas plantas em CC₁₀₀ sob condição de pleno sol (Figura 10). Entre as espécies não pioneiras, *C.legalis* teve maior atividade significativa de SOD em CC₅₀ do que em CC₁₀₀ nas plantas sob condição de sombreamento e *E.leiocarpa* teve menor atividade da SOD em CC₅₀ que CC₁₀₀ sob condição de pleno sol. Nas plantas sob condição de sol, *H.courbaril*, *C.legalis* e *T.roseo-alba* tiveram maiores valores médios nas plantas CC₅₀ do que CC₁₀₀, porém essa diferença não foi significativa.

Analisando a atividade de SOD nos grupos sucessionais, as espécies não pioneiras apresentaram em média maior atividade desta enzima nas plantas sob CC₅₀ do que nas plantas sob CC₁₀₀ tanto nas plantas crescidas sob sombreamento (incremento de 60%) quanto nas plantas mantidas sob pleno sol (incremento de 27%) (Figura 14, Tabela 6). No grupo das espécies pioneiras essa diferença foi insignificante nas plantas sob sombreamento, e nas plantas sob pleno sol teve uma diminuição de 12% em CC₅₀ comparado com CC₁₀₀.

5.5.2. Catalase (CAT)

A única espécie que apresentou diferença significativa na atividade de CAT entre as plantas controle (CC₁₀₀) e as plantas sob déficit hídrico do solo (CC₅₀) foi *C.legalis* que teve maior atividade em CC₅₀ do que em CC₁₀₀ nas plantas sob condição de sombreamento (Figura 11). Na sombra, o grupo das pioneiras apresentou 9% e as espécies não pioneiras 55% mais atividade da CAT em CC₅₀ do que em CC₁₀₀. Nas plantas sob pleno sol, menores valores médios da atividade de CAT foram encontrados nas plantas sob déficit hídrico (Tabela 6), porém essas diferenças não foram estatisticamente significativas (Figura 14).

Espécies Pioneiras



Espécies Não Pioneiras

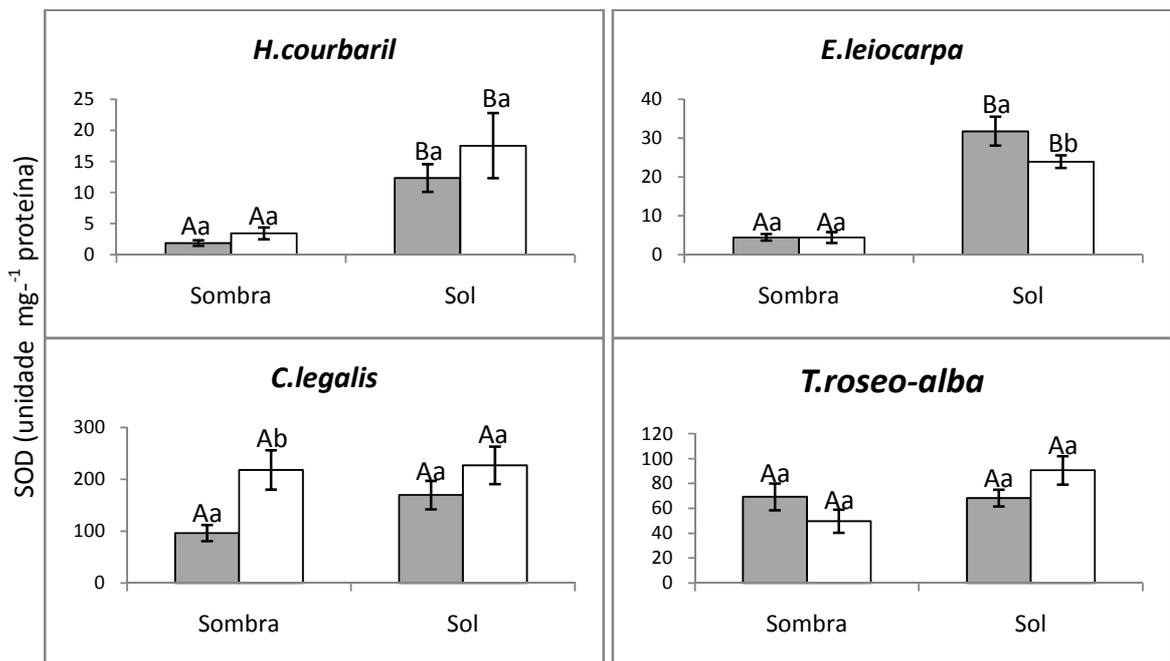
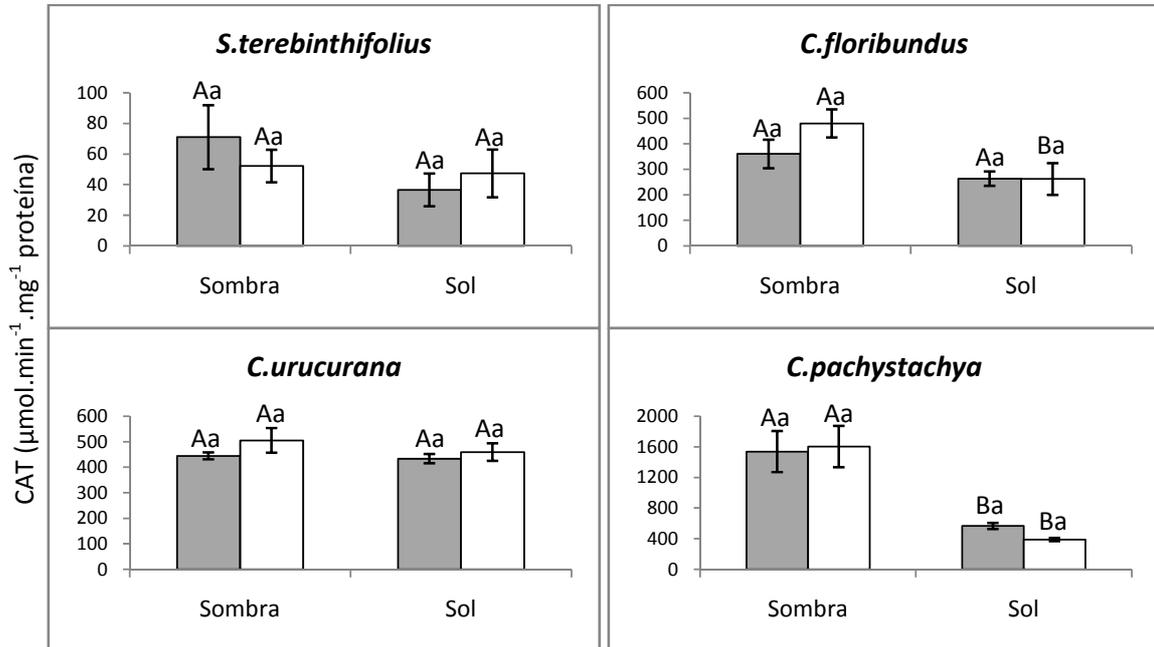


Figura 10. Atividade de superóxido dismutase (SOD) em plantas de quatro espécies pioneiras e quatro espécies não pioneiras sob umidade de solo em 100% da capacidade de campo, CC₁₀₀ (■) e 50% da capacidade de campo, CC₅₀ (□) crescidas sob 10% de fluxo de fótons fotossinteticamente ativos, FFFA (sombra) e 100% de FFFA (Sol). Dados representam as médias ± S.E. (n=5). Barras seguidas de diferentes letras maiúsculas são significantes para a mesma condição de umidade do solo entre plantas de sombra e sol. Letras minúsculas diferentes são significantes para plantas crescidas na mesma condição de luminosidade, entre plantas sob CC₁₀₀ e CC₅₀ (p≤0,05).

Espécies Pioneiras



Espécies Não Pioneiras

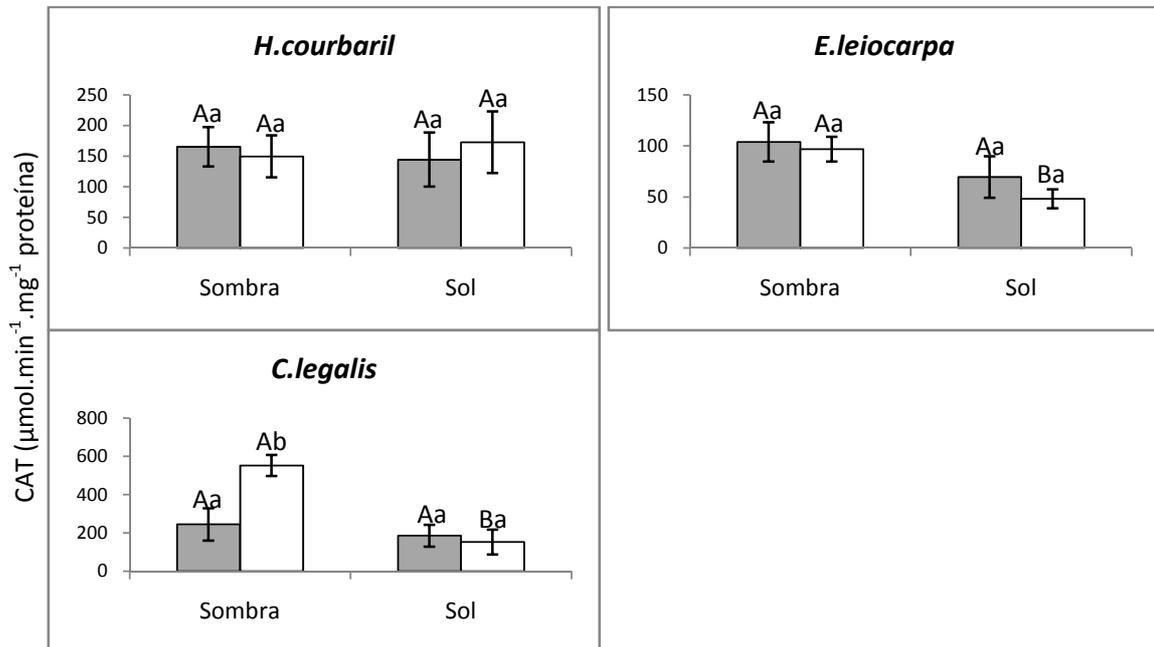


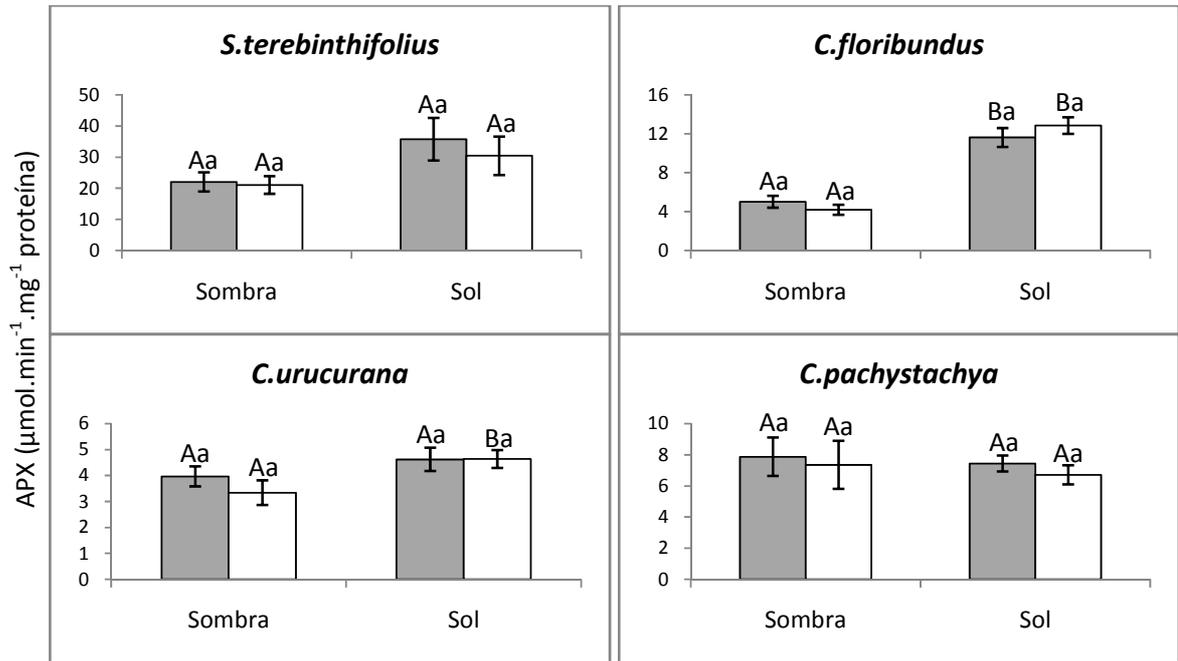
Figura 11. Atividade de catalase (CAT) em plantas de quatro espécies pioneiras e três espécies não pioneiras sob umidade de solo em 100% da capacidade de campo, CC₁₀₀ (■) e 50% da capacidade de campo, CC₅₀ (□) crescidas sob 10% de fluxo de fótons fotossinteticamente ativos, FFFA (sombra) e 100% de FFFA (Sol). Dados representam as médias ± S.E. (n=5). Barras seguidas de diferentes letras maiúsculas são significantes para a mesma condição de umidade do solo entre plantas de sombra e sol. Letras minúsculas diferentes são significantes para plantas crescidas na mesma condição de luminosidade, entre plantas sob CC₁₀₀ e CC₅₀ (p≤0,05).

5.5.3. Ascorbato peroxidase (APX)

Assim como ocorreu com a atividade de CAT, a atividade de APX só foi significativamente maior em *C.legalis* sob CC₅₀ do que CC₁₀₀ nas plantas crescidas sob sombreamento. As demais espécies não apresentaram diferença significativa na atividade de APX entre as plantas sob solo em CC₁₀₀ e CC₅₀, tanto nas plantas mantidas sob sombreamento quanto nas plantas mantidas sob pelo sol (Figura 12).

Tanto sob condição de sombreamento quanto sob pleno sol o grupo das espécies pioneiras e o grupo das espécies não pioneiras não apresentaram diferença significativa entre as plantas sob CC₁₀₀ e CC₅₀ (Figura 14). A atividade de APX foi significativamente maior em CC₅₀ no grupo das espécies não pioneiras do que no grupo das espécies pioneiras sob condição de sombreamento (Figura 14). Em média, no grupo das espécies não pioneiras, a atividade de APX foi 12% e 26% maior nas plantas sob CC₅₀ do que CC₁₀₀ nas plantas sob sombreamento e sob pleno sol respectivamente (Tabela 6).

Espécies Pioneiras



Espécies Não Pioneiras

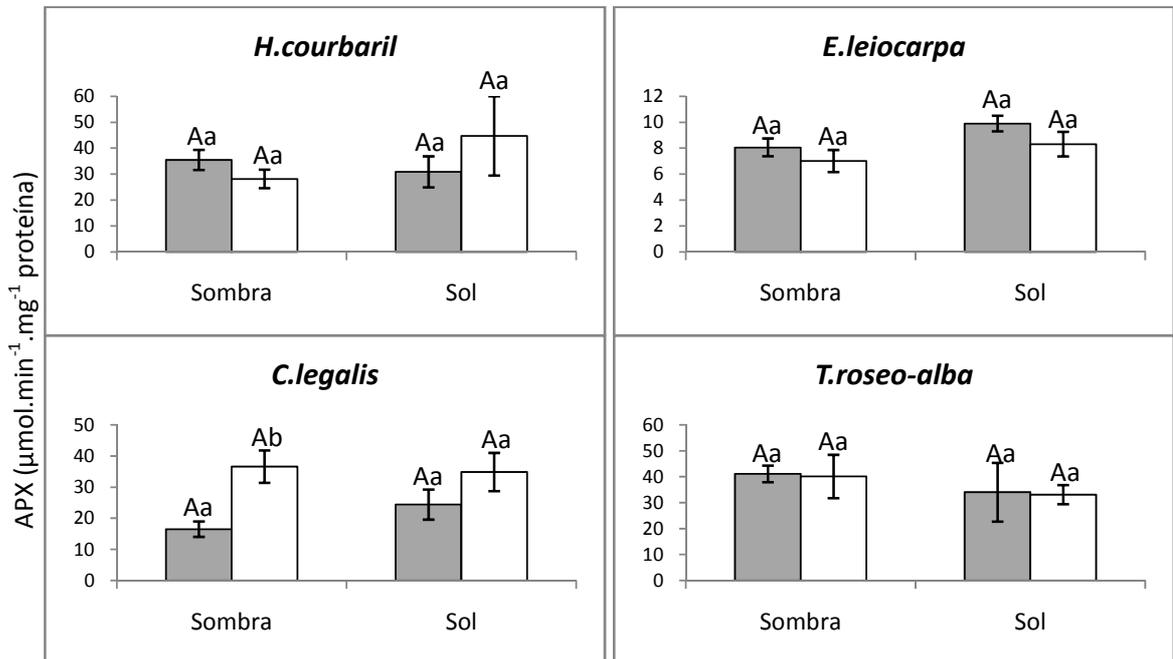


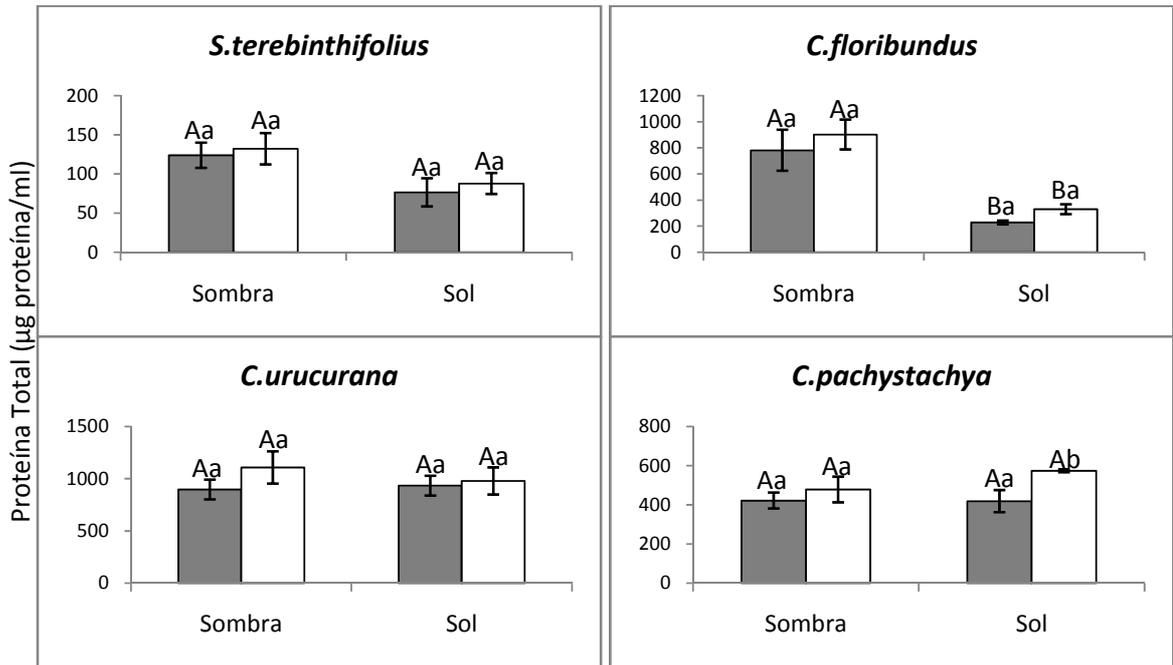
Figura 12. Atividade de ascorbato peroxidase (APX) em plantas de quatro espécies pioneiras e quatro espécies não pioneiras sob umidade de solo em 100% da capacidade de campo, CC₁₀₀ (■) e 50% da capacidade de campo, CC₅₀ (□) crescidas sob 10% de fluxo de fótons fotossinteticamente ativos, FFFA (sombra) e 100% de FFFA (Sol). Dados representam as médias ± S.E. (n=5). Barras seguidas de diferentes letras maiúsculas são significantes para a mesma condição de umidade do solo entre plantas de sombra e sol. Letras minúsculas diferentes são significantes para plantas crescidas na mesma condição de luminosidade, entre plantas sob CC₁₀₀ e CC₅₀ (p≤0,05).

5.5.4. Proteína total

O conteúdo de proteína total não diferiu na maioria das espécies entre as plantas sob CC₁₀₀ e CC₅₀. Entre as espécies pioneiras, *C.pachystachya* teve maior quantidade de proteína total em CC₅₀ do que em CC₁₀₀ nas plantas sob condição de sol pleno. Entre as espécies não pioneiras *C.legalis* apresentou menor conteúdo de proteína total em CC₅₀ do que em CC₁₀₀ nas plantas sob condição de sombreamento (Figura13). As demais espécies não apresentaram diferença significativa entre o controle (CC₁₀₀) e o déficit hídrico (CC₅₀).

Não foi observada diferença estatística entre pioneiras e não pioneiras, entre as plantas em CC₁₀₀ e CC₅₀, tanto nas plantas sob sombreamento quanto nas plantas sob pleno sol (Figura 14). Porém no grupo das espécies pioneiras as plantas sob CC₅₀ apresentaram 18% (sombreamento) e 6% (pleno sol) maior conteúdo de proteína total do que as plantas sob CC₁₀₀ (Tabela 6).

Espécies Pioneiras



Espécies Não Pioneiras

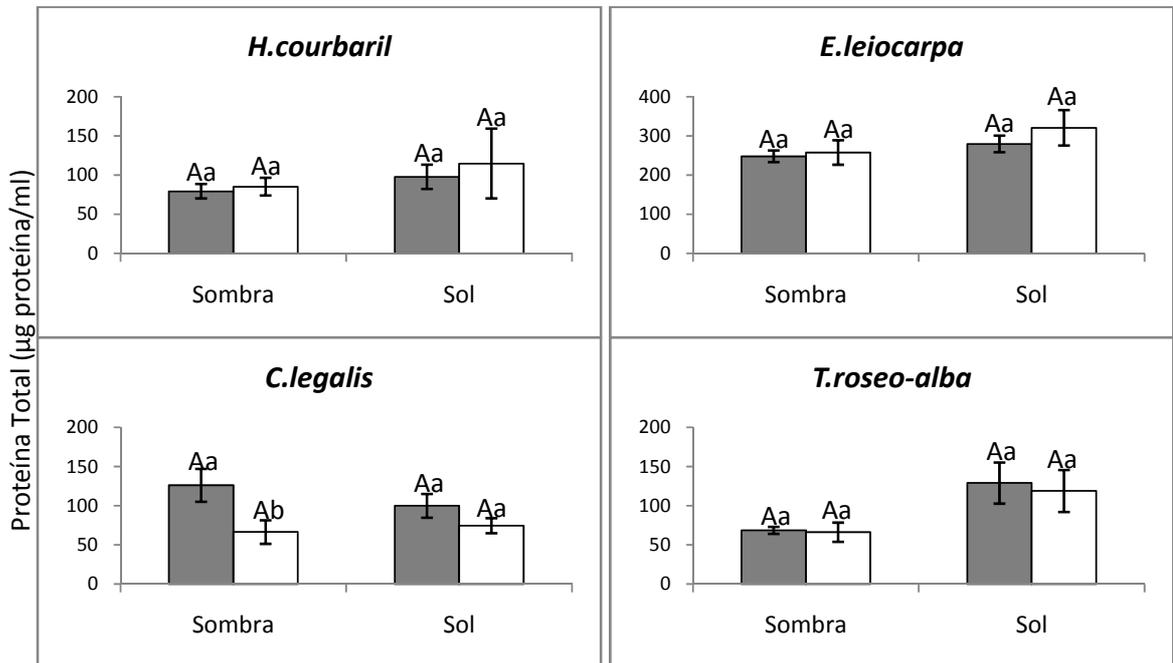


Figura 13. Proteína total em plantas de quatro espécies pioneiras e quatro espécies não pioneiras sob umidade de solo em 100% da capacidade de campo, CC₁₀₀ (■) e 50% da capacidade de campo, CC₅₀ (□) crescidas sob 10% de fluxo de fótons fotossinteticamente ativos, FFFA (sombra) e 100% de FFFA (Sol). Dados representam as médias \pm S.E. (n=5). Barras seguidas de diferentes letras maiúsculas são significantes para a mesma condição de umidade do solo entre plantas de sombra e sol. Letras minúsculas diferentes são significantes para plantas crescidas na mesma condição de luminosidade, entre plantas sob CC₁₀₀ e CC₅₀ (p \leq 0,05).

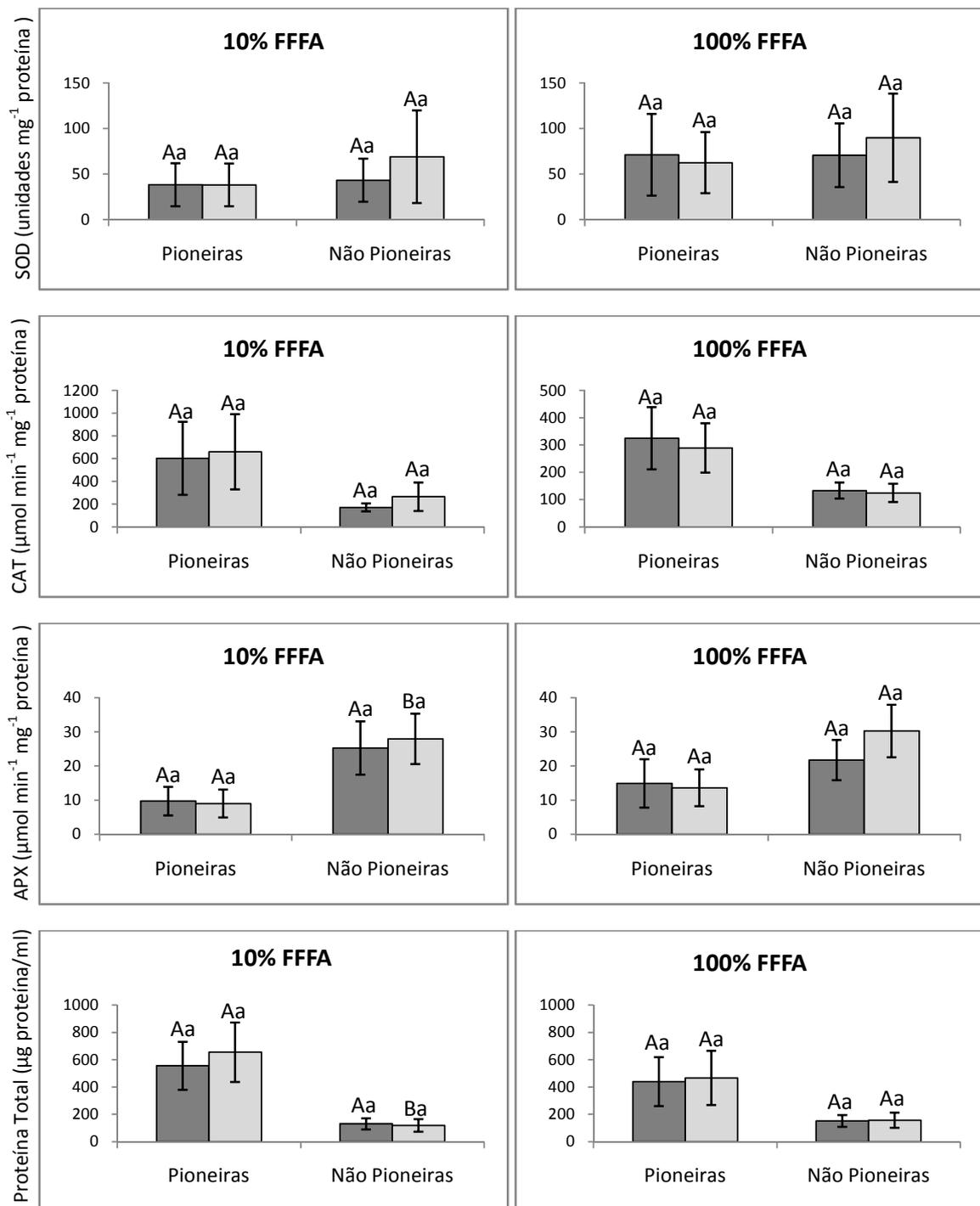


Figura 14: Superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT), ascorbato peroxidase (APX) e proteína total em plantas de quatro espécies pioneiras e quatro espécies não pioneiras sob umidade de solo em 100% da capacidade de campo, CC₁₀₀ (■) e 50% da capacidade de campo, CC₅₀ (□) crescidas sob 10% de fluxo de fótons fotossinteticamente ativos, FFFA (sombra) e 100% de FFFA (Sol). Dados representam as médias ± S.E. (n=5). Barras seguidas de diferentes letras maiúsculas são significantes para a mesma condição de umidade do solo entre plantas de sombra e sol. Letras minúsculas diferentes são significantes para plantas crescidas na mesma condição de luminosidade, entre plantas sob CC₁₀₀ e CC₅₀ (p≤0,05).

Tabela 6: Atividade de Superóxido Dismutase (SOD), Catalase (CAT), Ascorbato Peroxidase (APX) e proteína total em oito espécies arbóreas tropicais exposta à 10% (sombra) e 100% (pleno sol) de fluxo de fótons fotossinteticamente ativos (FFFA). As medições foram feitas em plantas sob umidade do solo em 100% de capacidade de campo (CC₁₀₀) e em plantas com 50% de capacidade de campo (CC₅₀).

FFFA	Grupo Sucessional	Espécies	Parâmetros							
			SOD (unidade mg ⁻¹ proteína ⁻¹)		CAT (µmol min ⁻¹ mg proteína ⁻¹)		APX (µmol min ⁻¹ mg proteína ⁻¹)		Proteína total (µg proteína/ml)	
			CC ₁₀₀	CC ₅₀	CC ₁₀₀	CC ₅₀	CC ₁₀₀	CC ₅₀	CC ₁₀₀	CC ₅₀
10%	Pioneiras	<i>S.terebinthifolius</i>	107.3	106.5	71	52.2	22	21.1	123.9	132.2
		<i>C.floribundus</i>	4.6	4.8	360.2	480	5	4.2	781.6	902.3
		<i>C.urucurana</i>	12.1	10.5	444.1	504.8	3.9	3.3	895.7	1107
		<i>C.pachystachya</i>	28.5	30.2	1536.4	1601.9	7.9	7.4	421.6	477.9
		Média	38.1±23.6	38±23.5	602.9±321.3	659.7±330.8	9.7±4.2	9±4.1	555.7±17.8	654.9±218
	Não Pioneiras	<i>H.courbaril</i>	1.9	3.4	165.2	144.2	35.4	28.1	79.3	85.2
		<i>E.leiocarpa</i>	4.5	4.4	103.9	96.8	8.1	7	247.7	257.4
		<i>C.legalis</i>	96.6	218.2	244.5	552.8	16.5	36.6	126.1	66.4
		<i>T.roseo-alba</i>	69.3	49.7	ND	ND	41.1	40.1	68.6	66.2
		Média	43.1±23.7	68.9±50.9	171.2±35.2	264.6±125.4	25.3±7.8	28±.4	130.4.8±41	118.8±46.4
100%	Pioneiras	<i>S.terebinthifolius</i>	204.9	161.8	36.6	47.3	35.8	30.4	76.6	87.9
		<i>C.floribundus</i>	26.7	42.5	263.5	262.1	11.6	12.8	330.5	228.4
		<i>C.urucurana</i>	14.6	14.7	433.4	459.1	4.6	4.6	932.7	977.5
		<i>C.pachystachya</i>	38	30.5	565	387.4	7.4	6.7	418.6	573.5
		Média	71.1±44.9	62.4±33.6	324.6±114.1	289±90.3	14.9±7.1	13.6±5.9	439.6±179.6	466.8±198.5
	Não Pioneiras	<i>H.courbaril</i>	12.3	17.5	144.2	172.6	30.9	44.7	97.7	114.7
		<i>E.leiocarpa</i>	31.8	23.9	69.4	48.1	9.9	8.3	279.3	320.5
		<i>C.legalis</i>	169.7	227	185.4	152.5	24.4	34.9	99.9	74.6
		<i>T.roseo-alba</i>	68.3	90.6	ND	ND	34	33.1	129	118.8
		Média	70.5±35	89.8±48.6	133±29.4	124.4±33.4	24.1±5.4	30.25±7.7	151.5±43.2	157.2±55.4
ANOVA			F _E = 27.5*	F _E = 42.7*	F _E = 31.1*	F _E = 30*	F _E = 24.8*	F _E = 15.7*	F _E = 53*	F _E = 50.4*
			F _L = 13.6*	F _L = 6.9*	F _L =15.5*	F _L = 34.7*	F _L = 1.6 ns	F _L = 1.7 ns	F _L = 2.6 ns	F _L = 4.6*
			F _{EXL} = 2.5*	F _{EXL} = 0.7 ns	F _{EXL} =9.9*	F _{EXL} = 13.6*	F _{EXL} = 1.7 ns	F _{EXL} = 1.7 ns	F _{EXL} = 4.2*	F _{EXL} = 6.9*

As análises foram feitas sobre cinco réplicas, após 90 dias de exposição à dois níveis de FFFA contrastante. Os resultados são de uma análise de variância de dois fatores (ANOVA), com espécie (E) e luz (L) como fatores fixos e sua interação (ExL). Os dados são das médias ± erro padrão, *, P≤0.05; NS, não significante, ND, não determinado.

VI. DISCUSSÃO

O principal resultado do presente estudo foi que os sistemas antioxidantes de defesa enzimáticos e não enzimáticos aqui analisados e a eficiência fotossintética máxima (F_v/F_m) nas folhas de oito espécies arbóreas avaliadas não foram afetadas significativamente pelo tratamento de deficiência hídrica aplicado, decréscimo da umidade do solo até atingir 50% da capacidade de campo (CC_{50}). O tempo necessário para as mudas atingirem a CC_{50} diferiu para cada espécie e para o ambiente em que se encontravam (sombra ou sol). As mudas mantidas sob sombreamento levaram um tempo maior para atingirem a CC_{50} do que as plantas sob condição de pleno sol. Em média, na condição de sombra, a CC_{50} do solo foi atingida em aproximadamente 13 dias, entanto que na condição de pleno sol, este nível de umidade foi atingido em aproximadamente 5 dias. De fato, a maior taxa de evaporação do solo e de transpiração das plantas crescendo em pleno sol, quando comparadas às plantas crescendo na sombra, podem explicar esse menor tempo para atingir CC_{50} no ambiente ensolarado.

Segundo Taiz e Zeigler (2004) a deficiência hídrica em plantas ocorre quando o conteúdo de água de um tecido ou célula está abaixo do conteúdo de água mais alto exibido no estado de maior hidratação. Neste trabalho, o conteúdo de água do solo que representava 50% da capacidade de campo do solo (CC_{50}) não foi suficiente para diminuir o conteúdo relativo de água (CRA) das folhas das plantas, dado que o CRA das plantas sob CC_{50} foi muito próximo das plantas controle (100% da capacidade de campo, CC_{100}). Por tanto o estado hídrico que representa 50% da capacidade de campo pode ser considerado como uma deficiência hídrica leve que não representa uma situação que comprometa significativamente a fisiologia das espécies estudadas. Em hortaliças e em diversos cultivos anuais, o conteúdo de água que representa 50% da capacidade de campo induz estresse hídrico que compromete a fisiologia, crescimento e produtividade das plantas (Fisher e Hagan, 1965).

Os parâmetros de F_0 , F_v/F_m e F_v/F_0 também não foram severamente afetados pelo déficit hídrico de CC_{50} nas oito espécies aqui estudadas. Segundo Cornic (1994) e Giardi *et al.*, (1996) o aparato fotossintético das plantas é muito resistente à seca independente se o déficit hídrico limita a fotossíntese através do

fechamento estomático (Cornic, 1994) ou através dos efeitos não estomáticos (Gunasekera e Berkowitz, 1993). No trabalho de Yin *et al.*, (2005), com *Populus kangdingensis* a razão Fv/Fm só diminuiu com o aumento do estresse hídrico de capacidade de campo 50% para capacidade de campo 25% sendo o PSII mais danificado em CC₂₅ do que em CC₅₀. Em árvores adultas de *Quercus petraea* foi observado diminuição em Fv/Fm ao meio dia, com total recuperação a noite. O estresse hídrico amplificou essa redução ao meio dia o que provavelmente revelou uma dissipação do excesso de energia na forma de calor via carotenóides. Esse mecanismo pareceu ser eficaz já que não foi detectado dano fotoinibitório do PSII nas plantas controles e estressadas (Epron *et al.*, 1992).

Das oito espécies aqui estudadas apenas a espécie não pioneira *C.legalis* apresentou fotoinibição nas plantas mantidas sob pleno sol. Além disso, os valores de Fv/Fm diminuíram mais ainda nas plantas sob CC₅₀ (0,483) em relação as plantas sob CC₁₀₀ (0,604). Em nenhuma das demais espécies foi detectada fotoinibição, lembrando que as medições foram realizadas às 6:00h. Possivelmente num horário de maior FFFA poderia ter sido evidenciado diferenças maiores em Fv/Fm entre as plantas sob CC₁₀₀ e CC₅₀. A única espécie pioneira que apresentou diminuição em Fv/Fm sob CC₅₀ em relação as plantas sob CC₁₀₀ foi *C.pachystachya* nas plantas sob condição de pleno sol, porém a média ficou em 0,780, indicando que não ocorreu fotoinibição. Resultado similar foi encontrado também em aroeira do sertão (*Myracrodruon urundeuva*), onde a irrigação foi suspensa por 14 dias. Nessas plantas o CRA chegou a 60% mas não foi observado alteração no rendimento quântico potencial do fotossistema II (Fv/Fm) (Queiroz *et al.*, 2002) Os autores sugerem que isso deve ter acontecido por conta da baixa radiação em que as plantas ficaram expostas durante o estresse hídrico já que em outros trabalhos realizados sob condições de radiação bem mais altas foi mostrado a ocorrência de fotoinibição, como relatado por Eickmeier *et al.*, (1993) o qual trabalhou com *Selaginella lepidophylla* sob intensidade de luz de 2000 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$. Esses autores observaram que quando a dessecação ocorreu sob baixa intensidade luminosa não ocorreu fotoinibição até valores de cerca de 40% de CRA. Casper *et al.*, (1993) sugerem que sob condições de desidratação, mesmo baixos níveis de luz (50 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$) podem tornar-se excessivos em consequência da inibição da fixação do CO₂. Nesta situação a fotoproteção relacionada com o ciclo das zeaxantinas é desencadeada, minimizando os danos da fotoinibição.

Assim como o ocorrido com os parâmetros da fluorescência, o conteúdo dos pigmentos fotossintéticos (clorofila *a* + clorofila *b*), a razão clorofila *a/b* e a razão carotenóides/clorofila total não foram influenciadas pelo déficit hídrico do solo (CC₅₀) na maioria das espécies, tanto nas plantas crescidas sob sombreamento quanto nas plantas crescidas sob pleno sol. A razão clorofila *a/b* foi significativamente menor sob CC₅₀ do que CC₁₀₀ apenas em *S.terebinthifolius* e *C.legalis*, nas plantas sob pleno sol. Como não foi verificada diferença na maioria das espécies, ao compararmos os pigmentos por grupos sucessionais (pioneiras e não pioneiras) também não encontramos diferenças significativas entre as plantas sob CC₁₀₀ e CC₅₀ tanto no grupo das espécies pioneiras quanto no grupo das espécies não pioneiras em ambas as condições luminosas de crescimento. Segundo Siefermann-Harms (1987) os carotenóides exibem uma função fotoprotetora através da dissipação da clorofila *tripleto* e do oxigênio singlete. No presente estudo, a razão carotenóides/clorofila total foi na maioria das espécies maior nas plantas sob condição de pleno sol do que nas plantas sob sombreamento. Porém, efeitos do déficit hídrico de 50% do solo sobre a razão carotenóides/clorofila total foram apenas observados em *C.floribundus* (espécie pioneira) onde maiores valores foram encontrados nas plantas em CC₅₀ do que em CC₁₀₀, e em *E.leiocarpa* (não pioneira) onde maiores valores de carotenóides/clorofila total foram observados em plantas sob CC₁₀₀, ambas em plantas sob condição de pleno sol. Demming-Adams *et al.*, (1996) relata que o *pool* total de pigmentos do ciclo das xantofilas estão envolvidos no ajustamento da dissipação protetora do excesso de energia de excitação a curto tempo. Talvez maiores valores de carotenóides/clorofila total fossem encontrados nas plantas sob CC₅₀ do que CC₁₀₀ num horário com maior FFFA.

Segundo Foyer *et al.*, (1994) sob condições normais, as plantas geralmente estão bem adaptadas para minimizar os danos devido à inevitável formação de ROS na fotossíntese, porém a seca intensifica a formação de radicais livres nas plantas por limitar o *pool* de NADP⁺ disponível para receber elétrons do fotossistema I. Dessa maneira, aumenta a probabilidade de transferência de energia de excitação para O₂, levando à produção de O^{2•-}. O balanço entre a formação e detoxificação de ROS é crítico para sobrevivência da célula durante períodos de estresse hídrico. Nos tecidos hidratados, a produção de radicais livres normalmente é regulada através do sistema antioxidante. Possivelmente o estresse hídrico altera o equilíbrio entre a

produção de radicais livres e as reações de defesa favorecendo a produção dos radicais livres (Zhang e Kirkham 1994)

Neste trabalho, não foram observadas grandes variações nas atividades das enzimas antioxidantes, SOD, CAT e APX relacionadas ao status hídrico do solo (CC₁₀₀ e CC₅₀) na maioria das espécies. Entre as espécies pioneiras apenas *C.floribundus* apresentou maior atividade significativa de SOD em CC₅₀ do que CC₁₀₀ nas plantas sob pleno sol. As espécies *S.terebinthifolius* e *C.pachystachya* tiveram menores valores médios desta enzima sob CC₅₀ do que sob CC₁₀₀, também em plantas sob condição de pleno sol. Segundo Zhang e Kirkham (1994), que trabalharam com espécies de trigo (*Triticum*) aumentos nas atividades de SOD e CAT na fase inicial do estresse hídrico podem estar relacionados com o fato que, parecido com outros processos metabólicos primários, a resposta das plantas ao déficit hídrico com frequência está ligado ao grau de estresse ao qual ela experimentou. Esses autores também afirmam que a diminuição nas atividades de SOD e CAT pode ser vistas como enfraquecimento nos mecanismos de dissipação de ROS das plantas. As duas enzimas não seriam mais hábeis para opor-se eficientemente a aumentada produção de ROS sob seca. Entre as espécies não pioneiras, nas plantas sob condição de pleno sol, *E.leiocarpa* teve menor atividade significativa de SOD sob CC₅₀ do que sob CC₁₀₀, porém *H.courbaril*, *C.legalis* e *T.roseo-alba* apresentaram maiores valores médios em CC₅₀ do que CC₁₀₀. O efeito do déficit hídrico sobre as plantas sob condição de sombra só foi observado em *C.legalis* que teve maior atividade de SOD sob CC₅₀ do que sob CC₁₀₀. O déficit hídrico do solo equivalente a 50% e 25% da capacidade de campo afetou muitos processos bioquímicos e fisiológicos em *Populus kangdingensis* incluindo aumento na atividade de SOD (Yin *et al.*, 2005). Apesar de não ter sido estatisticamente significativa, as espécies não pioneiras apresentaram em média aumento de 60% (sombreamento) e 27% (pleno sol) na atividade de SOD sob CC₅₀ do que CC₁₀₀.

A única espécie que apresentou diferença significativa na atividade de CAT e APX entre as plantas controle (CC₁₀₀) e as plantas sob déficit hídrico (CC₅₀) foi *C.legalis* com maior atividade em CC₅₀ do que CC₁₀₀ nas plantas sob sombreamento. Nas plantas sob pleno sol essa mesma espécie teve também em média maior atividade de APX em CC₅₀ do que em CC₁₀₀. Alguns autores relatam que como a CAT está localizada nos peroxissomos, ela não mostra respostas marcantes para déficit hídrico (Gamble e Burke, 1984, Buckland *et al.*, 1991). Muitas

pesquisas relacionadas com estresse hídrico são realizadas em plantas cultiváveis, mas pesquisas em espécies arbóreas são mais raras. Em *Pisum sativum* (ervilha), a suspensão da rega induziu reduções significantes de 15% em APX e CAT e 30% em SOD (Gorgocena *et al.*, 1995). Em pesquisas com *Triticum aestivum*, Baisak *et al.* (1994) determinaram que entre as enzimas responsáveis pela dissipação de ROS, a atividade de SOD aumentou claramente dependendo do grau do estresse hídrico indicando que as folhas tem capacidade realçada para dissipar $O_2^{\bullet-}$ durante o estresse hídrico. Mas, nessa situação, a formação de H_2O_2 , que é o produto da reação de SOD normalmente aumenta. A atividade de CAT foi suprimida nestas plantas durante estresse hídrico indicando capacidade reduzida das folhas em decompor H_2O_2 . A atividade de APX se manteve num nível alto para baixos níveis de estresse hídrico, mas no estresse hídrico severo a atividade diminuiu.

O estresse hídrico imposto neste trabalho parece ter sido leve para as espécies estudadas, principalmente pelo fato de não ter ocorrido diminuição no CRA das folhas sob a condição de deficiência hídrica do solo (CC_{50}). Possivelmente sob essa condição hídrica, o grupo das espécies não pioneiras iniciaram a resposta antioxidante evidenciada pela maior porcentagem de atividade de SOD e APX observadas nas plantas sob CC_{50} do que nas plantas controle sob condição de sol. Como no grupo das espécies pioneiras não foi observado variações nos parâmetros analisados, será importante avaliar as suas respostas antioxidantes em outros níveis mais moderados ou severos de estresse hídrico para se chegar a uma conclusão mais clara de como essas espécies reagem ao déficit hídrico.

VII. CONCLUSÕES

- ▶ O conteúdo relativo de água (CRA) não foi alterado nas folhas das oito espécies estudadas com imposição do déficit hídrico do solo que representa 50% da capacidade de campo (CC₅₀), quando comparadas com as plantas controles que foram mantidas em 100% de capacidade de campo (CC₁₀₀), tanto nas plantas sob sombreamento quanto nas plantas sob pleno sol.
- ▶ Os resultados obtidos neste trabalho mostram que a deficiência hídrica de CC₅₀ aplicado não foi severa o suficiente para induzir fotoinibição, sugerindo que não ocorreram danos no complexo coletor de luz do fotossistema II na maioria das espécies estudadas. A única espécie que apresentou fotoinibição aparente foi *C.legalis* (não pioneira) sob condição de pleno sol.
- ▶ O conteúdo de clorofila total, a razão clorofila *a*/clorofila *b* e a razão carotenóides/clorofila total não diferiram entre as plantas sob CC₁₀₀ e CC₅₀ no grupo das espécies pioneiras e no grupo das espécies não pioneiras, tanto nas plantas sob sombreamento quanto nas plantas sob pleno sol
- ▶ A atividade da SOD não foi afetada pelo déficit hídrico do solo de 50% na maioria das espécies, tanto nas plantas sob sombreamento quanto sob pleno sol. As espécies *T.roseo-alba* e *C.floribundus* tiveram maior atividade desta enzima em CC₅₀ nas plantas sob sombreamento e pleno sol respectivamente. Enquanto que *E.leiocarpa* teve menor atividade da SOD em CC₅₀ em plantas sob pleno sol.
- ▶ Os grupos sucessionais (pioneiras e não pioneiras) não apresentaram diferença significativa na atividade de SOD entre os tratamentos hídricos do solo (CC₁₀₀ e CC₅₀).
- ▶ As atividades das enzimas CAT e APX foram estatisticamente iguais entre as plantas em CC₁₀₀ e CC₅₀, exceto em *C.legalis* que apresentou maior atividade destas enzimas em CC₅₀ nas plantas sob sombreamento, Entretanto, nos grupos sucessionais (pioneiras e não pioneiras) não ocorreu diferença na atividade destas enzimas entre as plantas em CC₅₀ e CC₁₀₀.

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alonso A., Queiroz C.S., Magalhães A.C.** (1997) Chilling stress leads to increased cell membrane rigidity in roots of coffee (*Coffea arabica* L.) seedlings. *Biochimica et Biophysica Acta* 1323, 75-84.
- Azevedo R.A., Alas R.M., Smith R.J, Lea P.J.** (1998) Response of antioxidant enzymes to transfer from elevated carbon dioxide to air and ozone fumigation in leaves and roots of wild-type and catalase-deficient mutant of barley. *Physiologia Plantarum* 104, 280-292.
- Baisak R., Rana D., Acharya P.B.B., Kar M.** (1994) Alterations in the activities of active oxygen scavenging enzymes of wheat leaves subjected to water stress. *Plant and Cell Physiology* 35, 489-495.
- Bradford M.M.** (1976) A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry* 72, 248-254.
- Buckland S.M., Price A.H., Hendry G.A.F.** (1991) The role of ascorbate in drought-treated *Cochlearia atlantica* Poved. And *Armeria maritima* (Mill.) Willd. *New Phytologist* 119, 155-160.
- Casper C., Eickmeier W.G., Osmond C.B.** (1993) Changes of fluorescence and xanthophyll pigments during de-hydration in the resurrection plant *Selaginella lepidophylla* in low and medium light intensities. *Oecologia* 94, 528-533.
- Chaves M., Pereira J.** (1992) Water stress, CO₂, and climate change. *Journal of Experimental Botany* 43, 1131-1139.
- Chaves M.M., Pereira J.S., Maroco J., Rodrigues M.L., Ricardo C.P.P., Osório M.L., Carvalho I., Faria T., Pinheiro C.** (2002) How Plants Cope with Water

Stress in the Field? Photosynthesis and Growth. *Annals of Botany* 89, 907-916

Cornic G. (1994) Drought stress and high light effects on leaf photosynthesis. *In*: "Photoinhibition of Photosynthesis". From Molecular Mechanisms To the Field. (Baker NR and Bowyer JR, eds) Bios Scientific Publishers, Oxford, UK. pp 297–313.

Demmig-Adams B. Adams W.W. (1996) Xanthophyll cycle and light stress in nature: Uniform response to excess direct sunlight among higher plant species. *Planta* 198, 460–470

Eickmeier W.G., Casper C., Osmond C.B. (1993) Chlorophyll fluorescence in the resurrection plant *Selaginella lepidophylla* (Hook. & Grev.) spring during high-light and desiccation stress, and evidence for zeaxanthin-associated photoprotection. *Planta* 189, 30-38.

Epron D., Dreyer E., Breda N. (1992) Photosynthesis of oak trees (*Quercus petraea* (Matt) Liebl.) during drought stress under field conditions: diurnal course of net CO₂ assimilation and photo-chemical efficiency of photosystem II. *Plant Cell and Environment* 15, 809–820.

Ferreira V.M. (1997) Aspectos de crescimento, nutrição e relações hídricas em dois genótipos de milho (*Zea mays* L.) em função da disponibilidade de água no solo. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Lavras, Lavras.

Fischer R.; Hagan R. (1965) Plant Water Relations, Irrigation Management and Crop Yield. *Experimental Agriculture* 1,161-177.

Foyer C. H., Descourvières P., Kunert K.J. (1994) Protection against oxygen radicals: an important defense mechanism studied in transgenic plants. *Plant Cell and Environment* 17, 507-523.

- Giannopolitis C.N., Ries S.K.** (1977) Superoxide dismutases in higher-plants. *Plant Physiology* 59, 309-314.
- Gamble P.E., Burk J.J.** (1984) Effect of Water Stress on the Chloroplast Antioxidant System. I. Alterations in Glutathione Reductase Activity. *Plant Physiology* 76, 615-621.
- Giardi M.T., Cona A. Geiken B., Kucera T., Masojidek J., Mattoo A.K.** (1996) Long term drought stress induces structural and functional reorganization of Photosystem II. *Planta* 199, 118–125
- Gogorcena Y., Iturbe- Ormaetxe I., Escuredo P.R., Becana M.** (1995) Antioxidant defenses against activated oxygen in peã nodules subjected to water stress. *Plant Physiology*, 108 753-759
- González L., González-Vilar M.** (2001) Determination of relative water content. *In*: “Handbook of Plant Ecophysiology Techniques”. Kluwer Academic Publishers, pp.207-212.
- Gunasekera D. Berkowitz G.A.** (1993) Use of transgenic plants with ribulose -1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase antisense DNA to evaluate the rate limitation of photosynthesis under water stress. *Plant Physiology* 103, 629–635
- Hendry G.A.F., Price A.H.** (1993) Stress indications: chlorophylls and carotenoids. *In*: “Methods in Comparative Plant Ecology” (Hendry G. A. F., Price A. H. eds.) London, Chapman & Hall. pp. 148-152.
- Krieg D.R.** (1993) Stress tolerance mechanisms in above ground organs. *In*: “Proceedings of the Workshop on Adaptation of Plants to Soil Stress” Intsormil, Nebraska. pp. 65-79.
- Larcher W.** (2004) *Ecofisiologia Vegetal*. São Carlos, RiMa, pp.531

- Lawlor D. W., Uprety D. C.** (1993) Effects of water stress on photosynthesis of crops and the biochemical mechanism. *In*: "Photosynthesis-Photoreactions to the Plant Productivity" (Abrol Y. P., Mohanty P. Govindjee, eds), Oxford and IBH Publishing Co. Pvt. Ltd. pp. 419-449.
- Lawlor D.W.** (1995) The effects of water deficit on photosynthesis. *In*: "Environmental and plantmetabolism-flexibility and acclimation" (Smirnoff N., ed) Bios Scientific Publisher, Oxford. pp.129-160.
- Martinez C. A., Loureiro M. E., Oliva M. A., Maestri M.** (2001) Differential responses of superoxide dismutase in freezing resistant *Solanum curtilobum* and freezing sensitive *Solanum tuberosum* subjected to oxidative and water stress. *Plant Science* 160, 505-515.
- Nakano Y., Asada K.** (1981) Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate specific peroxidase in spinach chloroplasts. *Plant and Cell Physiology* 22, 867-880.
- Queiroz C.G.S., Alonso A., Mares-Guia M.L., Magalhães A.C.** (1998) Chilling-induced changes in membrane fluidity and antioxidant enzyme activities in roots of (*Coffea arabica* L.) seedlings. *Biologia Plantarum* 41,403-413.
- Queiroz C.G.S., Garcia Q.S., Braz J.P.L.** (2002) Atividade fotossintética e peroxidação de lipídios de membrana em plantas de aroeira-do-sertão sob estresse hídrico e após reidratação. *Brazilian Journal of Plant Physiology* 14, 59-63.
- Siefermann-Harms D.** (1987) The light-harvesting and protective functions of carotenoids in photosynthetic membranes. *Physiologia Plantarum* 69, 561-568.
- Smirnoff N.** (1993) The role of active oxygen in the response of plants to water deficit and desiccation. *New Phytologist* 125, 27-58.

- Smith T.M., Huston M.A.**, (1989) A theory of the spatial and temporal dynamics of plant communities. *Vegetatio* 83, 19-69
- Steffen K. L.** (1991) Avoidance of photooxidative stress: Balancing energy flux within the chloroplast. *In: "Active Oxygen/Oxidative Stress and Plant Metabolism"* (Pell E., Steffen K. L. eds), Rockville. pp 119-130.
- Sutcliffe J.F.** (1980) As plantas e a água. *In: "Temas de Biologia"*. (Sutcliffe J. F. ed.) Editora Pedagógica e Universitária Ltda e Editora da Universidade de São Paulo. pp. 126.
- Taiz L. e Zeiger E.** (2004) Fisiologia do estresse. *In: "Fisiologia Vegetal"* (Taiz L. e Zeiger E. eds.) Artmed. pp.613-643.
- Yin C., Peng Y., Zang R., Zhu Y., Li C.** (2005) Adaptive responses of *Populus Kangdingensis* to drought stress. *Physiologia Plantarum* 123, 445-451.
- Yordanov I., Velikova V., Tsonev T.** (2000) Plant responses to drought, acclimation, and stress tolerance. *Photosynthetica* 38, 171-186.
- Zhang J., Kirkham M.B.** (1994) Drought-stress-induced changes in activities of superoxide dismutase, catalase, and peroxidases in wheat species. *Plant and Cell Physiology* 35, 785-791.

Capítulo III

Avaliação do crescimento e partição de biomassa em oito espécies arbóreas de Mata Mesófila Semidecidual crescidas sob duas condições contrastantes de radiação

RESUMO

As espécies sucessionais tardias ou clímax (não pioneiras) são tolerantes à sombra porque são hábeis para se estabelecerem e sobreviver sob o dossel da floresta, enquanto que as espécies sucessionais iniciais (pioneiras) podem se estabelecer em ambientes com altos níveis de luz solar. A capacidade fotossintética de uma planta pode ser severamente reduzida quando exposta a radiação que excede ao requerido para saturar a fotossíntese e a fotorrespiração por causar fotoinibição. Nos projetos de reflorestamento, dado que as mudas são plantadas em ambientes sob alta radiação, a predisposição a sofrer estresse luminoso é muito alta. O propósito deste trabalho foi realizar um estudo comparativo das respostas de crescimento de oito espécies arbóreas sendo quatro pioneiras (*Cecropia pachystachya*, *Croton urucurana*, *Croton floribundus* e *Schinus terebinthifolius*) e quatro não pioneiras (*Hymenaea courbaril*, *Esenbeckia leiocarpa*, *Cariniana legalis* e *Tabebuia roseo-alba*) submetidas a duas condições contrastante de crescimento, 10 % de FFFA (sombra) e 100% de FFFA (pleno sol). Foram avaliados os parâmetros de incremento em altura, diâmetro do caule, número de folhas, área foliar específica, massa seca e partição de biomassa em plantas de 130 dias. As espécies pioneiras apresentaram maiores incrementos dos parâmetros de crescimento aqui estudados nas plantas sob condição de pleno sol do que nas plantas sob sombreamento. Além disso, esses parâmetros foram também maiores nesse grupo sucessional quando comparados com o grupo das espécies não pioneiras. A área foliar específica foi maior nas plantas sob condição de sombreamento do que sob pleno sol. No geral, as espécies sob pleno sol alocaram maior biomassa, respectivamente para raiz, caule e folhas (exceção para *H.courbaril* e *E.leiocarpa*). Sob sombreamento a alocação de biomassa para os diferentes órgãos das plantas foi diferente para cada espécie. As espécies não pioneiras *E.leiocarpa* e *C.legalis* tiveram, no geral, menor desenvolvimento do que *H.courbaril* e *T.roseo-alba*. Estes resultados evidenciam a boa performance de crescimento e ganho de biomassa das espécies pioneiras aqui estudadas sob ambiente de alta radiação solar em comparação às espécies não pioneiras.

I. INTRODUÇÃO

A maior atividade do homem sobre os ecossistemas é a remoção da vegetação nativa. Entre as razões para a remoção das florestas está o seu próprio valor intrínseco como fonte de matéria prima, principalmente para indústria de móveis e construção civil (Mamede *et al.*, 2007). Na situação atual, estudos para a atenuação dos danos causados ao ambiente tornam-se fundamentais. O manejo adequado das áreas degradadas pode acelerar o processo de regeneração, permitir a sucessão florestal e evitar a perda de biodiversidade (Vieira e Gandolfi, 2006). A restauração de ambientes degradados deve seguir o princípio de que as espécies nativas locais são as que têm maior probabilidade de se desenvolver plenamente, mantendo suas características de reprodução e de regeneração natural (Cullen, *et al.*, 2006).

Em condições naturais as espécies pioneiras aparecem inicialmente, as quais irão alterar as condições físicas do ambiente possibilitando assim o aparecimento das espécies secundárias e estas fazem o mesmo permitindo o surgimento das espécies climácicas (Barbosa *et al.*, 2006). O crescimento das plantas pode refletir a habilidade de adaptação das espécies às condições de radiação do ambiente em que elas estão se desenvolvendo (Almeida *et al.*, 2005; Rêgo e Possamai, 2004).

Segundo Evans e Poorter (2001) a aclimatação sofrida pelas plantas devido às diferentes condições de luz ocorre em diferentes níveis: 1) mudança na fração de biomassa investida nas folhas, caules e raízes; 2) modulação da área foliar por unidade de biomassa investida nas folhas e 3) mudança no investimento relativo de nitrogênio entre os componentes fotossintéticos. No primeiro caso, a fração de biomassa alocada para as folhas diminui com o incremento na radiação, enquanto ocorre um aumento na alocação para as raízes (Poorter e Nagel, 2000). Essa mudança pode suprir a maior demanda por nutrientes requeridos por um maior crescimento em alta luz (Evans e Poorter, 2001). No segundo caso, as plantas que crescem em alta radiação possuem folhas com baixa área foliar específica (AFE), que é a relação da área foliar com sua massa seca correspondente (Beadle, 1993), tendo, portanto, espessura maior. No último caso, em nível celular, o nitrogênio é re-allocated entre as várias formas envolvidas na fotossíntese. Todas estas mudanças otimizam a fotossíntese nas diferentes condições de crescimento. A diminuição da

área foliar em ambientes mais iluminados acarreta uma menor exposição de material foliar a eventuais danos causados pelo excesso de luz (Claussen, 1996).

Aspectos da anatomia da folha são importantes para a tolerância à sombra, porque eles afetam fortemente o ganho de carbono, a perda de água e a dureza da folha (Hanba *et al.*, 2002). A regulação do desvio do carbono fixado em várias rotas metabólicas é denominada alocação, enquanto a distribuição diferencial dos fotossintatos na planta é chamada de partição (Taiz e Zeiger, 2004). A partição da biomassa para os diferentes órgãos da planta depende da espécie, da ontogenia e do ambiente no qual a planta vive (Poorter e Nargel, 2000) Quando a conversão de energia radiante em carboidratos é altamente eficiente, têm-se alta taxa de crescimento e acúmulo de biomassa. A eficiência do crescimento está relacionada à habilidade de adaptação das plantas às condições de intensidade luminosa do ambiente (Atroch *et al.*, 2001). Postula-se que espécies características de estágios finais de sucessão apresentam um crescimento mais lento em relação às dos estágios iniciais (Bazzaz, 1979). Para plantas tolerantes a sombra a manutenção do sistema de produção de fotoassimilados é mais importante do que o investimento em rápido crescimento. Espécies de crescimento lento possuem uma taxa metabólica mais baixa (Rêgo e Possamai, 2004).

As maiores alturas alcançadas por plantas mantidas em condições sombreadas é considerada uma resposta morfogênica típica associada às espécies arbóreas mais exigentes por luz que procuram superar a altura das plantas que as sombreiam (Poorter, 1999; Smith e Whitelam, 1990). O sucesso na adaptação de uma espécie a ambientes com baixa ou alta radiação está associado à eficiência na partição dos fotoassimilados para diferentes partes da planta e na capacidade de ajustar as variáveis morfofisiológicas no sentido de maximizar a aquisição dos recursos primários. Portanto, quando a biomassa é distribuída mais para as raízes que para órgãos fotossintetizantes, é permitida uma maior absorção de água e nutrientes, estratégia esta que garante maior capacidade para suportar as maiores taxas de fotossíntese e transpiração que ocorrem nestes ambientes. Indivíduos de uma espécie com sistemas radiculares mais extensos têm uma maior capacidade de aclimação quando comparados com aqueles com sistemas radiculares menores (Claussen, 1996).

As espécies pioneiras de florestas tropicais normalmente apresentam maior capacidade fotossintética que espécies tolerantes a sombreamento (Krause *et al.*,

2001; Nogueira *et al.*, 2004). Porém, a capacidade fotossintética de uma planta pode ser severamente reduzida quando exposta a radiação que excede ao requerido para saturar a fotossíntese e a fotorrespiração (Critchley, 1998). Esse fenômeno denominado fotoinibição, é um estresse luminoso (Powles, 1984), que pode danificar o aparelho fotossintético, porque é seguido de destruição de proteínas, degradação de pigmentos e incremento da peroxidação de lipídeos devido à formação de Espécies Reativas de Oxigênio (ROS) (Choudhuru e Behera, 2001).

Nos projetos de reflorestamento, dado que as mudas são plantadas em ambientes sob alta radiação, a predisposição a sofrer estresse luminoso é muito alta. No Brasil, apesar de sua grande relevância, a sensibilidade ou tolerância a fotoinibição das espécies da sucessão vegetal, pioneiras e não pioneiras é praticamente desconhecida. O potencial de aclimação das espécies a diferentes condições luminosas deve ser considerado em programas de recuperação de ambientes degradados por aumentar as chances de sobrevivência das mudas.

O propósito deste trabalho foi realizar um estudo comparativo das respostas de crescimento de oito espécies arbóreas sendo quatro pioneiras e quatro não pioneiras submetidas a duas condições contrastantes de crescimento, 10% de FFFA (sombreamento) e 100% de FFFA (pleno sol). Isso permitirá uma melhor caracterização sucessional das plantas e poderá contribuir no manejo das plantas em projetos de recomposição florestal.

II. HIPÓTESE

A hipótese proposta para este trabalho é que as espécies pioneiras apresentam, quando comparadas com as espécies não pioneiras, maior taxa de crescimento e acúmulo de biomassa sob condições de alta radiação.

III. OBJETIVO

Determinar os efeitos de duas condições contrastante de luminosidade, 10% de FFFA (sombra) e 100% de FFFA (pleno sol) sobre o crescimento em oito espécies arbóreas em estágio inicial de desenvolvimento, sendo quatro espécies pioneiras e quatro espécies não pioneiras de Mata Mesófila Semidecidual.

IV. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Material vegetal

Foram selecionadas, em função de suas características de grupo sucessional, oito espécies arbóreas, sendo quatro pioneiras (*Cecropia pachystachya*, *Croton urucurana*, *Croton floribundus* e *Schinus terebinthifolius*) e quatro não pioneiras (*Hymenaea courbaril*, *Esenbeckia leiocarpa*, *Cariniana legalis* e *Tabebuia roseo-alba*). Estas mesmas espécies tem sido utilizadas no projeto de recomposição florestal do *Campus* da Universidade de São Paulo em Ribeirão Preto, e são provenientes de Matas Mesófilas Semidecíduais (Lorenzi, 2002). As mudas foram doadas pelo Viveiro de Mudas da Prefeitura do *campus* USP-RP ou obtidas do Viveiro Verde -Tambaú (Tambaú, SP). As características das espécies estudadas são mostradas na tabela 1 e a descrição do material vegetal no item 4.1.1 referentes ao capítulo I desta Tese.

4.2. Condições de crescimento

Foram plantadas dez mudas (15-25 cm) de cada espécie em vasos plásticos (capacidade de 16 litros) contendo 25 kg de solo. O solo utilizado foi proveniente da área de Reflorestamento do *campus* da USP-Ribeirão Preto e a ele foi adicionado 1g de adubo N-P-K (4-14-8) para cada kg de solo, conforme utilizado no plantio de mudas no projeto de reflorestamento da USP-Ribeirão Preto. Cinco vasos de cada espécie foram mantidos em condições de crescimento sob 100% de fluxo de fótons fotossinteticamente ativos (FFFA) (sol pleno), enquanto que outros dez vasos foram mantidos sob 10% de FFFA (sombreamento) proporcionada por *sombrite* (50%) mais *isulfilme* (35%). A umidade do solo foi mantida a 100% da capacidade de campo sendo monitorada com o medidor de umidade modelo HH2 com sensor de umidade modelo Theta Probe ML2x (Delta T Devices, UK). O experimento foi instalado no viveiro do Setor de Botânica, Departamento de Biologia, Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto-USP. As características químicas do solo são apresentadas na tabela 1.

Tabela 1: Características químicas do solo antes e após adubação com N-P-K (4-14-8). (Fonte: Empresa Ribersolo)

Características químicas do solo		
Elementos	Solo não adubado	Solo adubado
Cálcio (mmolc/dm ³)	21	23
CTC ** (mmolc/dm ³)	52	57
Fósforo (mg/dm ³)	18	92
H+AL ***	27	20
Magnésio (mmolc/dm ³)	3	11
MO* (g/dm ³)	16	16
pH em CaCl ₂ (g/dm ³)	5.5	5.9
Potássio (mmolc/dm ³)	0.8	4

* Matéria Orgânica, ** Capacidade de Troca Catiônica, *** Acidez Potencial

4.3. Medições Morfológicas de crescimento

As medições morfológicas e de crescimento foram feitas quinzenalmente durante o período de 130 dias após o plantio. Foram avaliados o número de folhas, o diâmetro do caule e a altura das plantas. O diâmetro do caule à altura do solo foi medido com paquímetro digital e a altura (comprimento do caule) das plantas foi medida com fita métrica desde a base do caule ao nível do solo até a base da gema apical.

4.4. Área foliar específica (AFE)

A área foliar específica de cada planta foi calculada através da relação entre a área de 15 discos foliares e sua massa correspondente (Beadle, 1993).

$$AFE = \text{Área foliar/Massa seca (m}^2 \text{ kg}^{-1}\text{)}.$$

4.5. Massa seca e partição de biomassa

Após 130 dias do plantio, cinco plantas de cada espécie de cada tratamento (sombreamento e pleno sol) foram utilizadas para análise da massa seca. As

diferentes partes das plantas, separadas em raiz, caule, pecíolo e lâmina foliar, passaram por um período de 72 horas em estufa a 72°C. Após esse período as partes foram pesadas separadamente para o cálculo da partição de biomassa. A massa seca total de cada espécie foi calculada pela somatória das massas de raízes + caules + pecíolos + limbos. A razão massa seca raiz/ parte aérea foi calculada pela divisão da massa seca das raízes pela massa seca da parte aérea (caule + pecíolos +limbos).

4.6. Análise estatística

Os dados foram submetidos a análises de variância (ANOVA) e teste de significação de Tukey. Diferenças foram consideradas significantes para $P \leq 0,05$ utilizando o programa Sigma Stat versão 3.1.(Systat Softwear Inc.,USA). Os resultados foram expressos com médias \pm S.E. de cinco replicas independentes.

V. RESULTADOS

5.1. Crescimento em altura, diâmetro do caule, número de folhas e área foliar específica

5.1.1. Incremento na altura

Após 130 dias do plantio ocorreu maior incremento na altura (cm) nas plantas sob condição de pleno sol do que nas plantas sob sombreamento nas espécies pioneiras (Figura 1) e nas espécies não pioneiras (Figura 2), porém essa diferença nem sempre foi estaticamente significativa. Entre as espécies pioneiras, sob condição de pleno sol, o maior incremento em altura foi observado em *C.urucurana* (55,8 cm) e o menor em *C.pachystachya* (28,3 cm). Sob condição de sombreamento, *S.terebinthifolius* apresentou o maior incremento em altura e *C.floribundus* o menor (Tabela 2).

Entre as espécies não pioneiras *E.leiocarpa* teve menor incremento em altura tanto sob sombreamento (0,9 cm) quanto em pleno sol (1,9 cm) quando comparada com as demais espécies deste grupo (Figura 2). A espécie que teve maior incremento em altura sob condição de pleno sol foi *H.courbaril* (14,1 cm), sendo esta a única espécie que apresentou diferença significativa do incremento em altura entre as plantas sob sombreamento e sob pleno sol neste grupo sucessional (Figura 2). Sob condição de sombreamento, *C.legalis* teve o maior valor de incremento em altura do que as demais espécies não pioneiras.

Como mostrado na Figura 9, o incremento em altura foi significativamente maior nas espécies pioneiras do que nas espécies não pioneiras, tanto sob condição de sombreamento quanto sob pleno sol. O grupo das espécies pioneiras teve 109 % mais incremento em altura no sol do que sob sombreamento, sendo essa diferença significativa. No grupo das espécies não pioneiras essa diferença foi de 88% porém não foi significativa (Tabela 2). Além disso, o grupo das espécies pioneiras teve 419% e 477% mais incremento em altura do que o grupo das espécies não pioneiras sob condição de sombreamento e pleno sol, respectivamente.

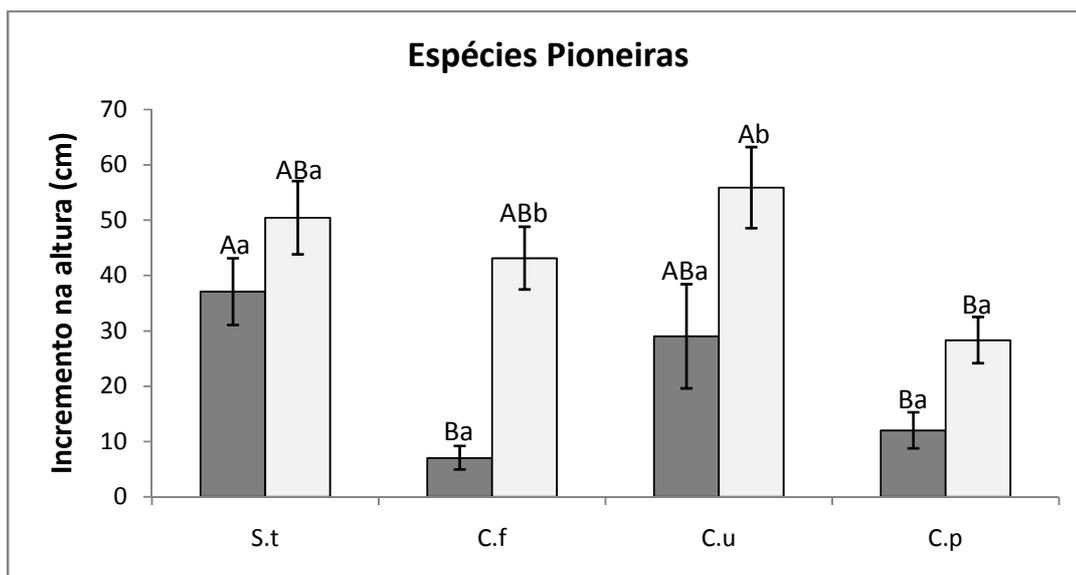


Figura 1: Incremento na altura nas espécies pioneiras *S.terebinthifolius* (S.t), *C.floribundus* (C.f), *C.urucurana* (C.u) e *C.pachystachya* (C.p) crescidas sob 10% de FFFA (sombra) (■) e 100% de FFFA (sol) (■), após 130 dias do plantio. Letras maiúsculas diferentes representam diferenças significativas ($p \leq 0,05$) entre as espécies para a mesma condição de FFFA (10% ou 100%). Letras minúsculas diferentes representam diferença significativa ($p \leq 0,05$) entre os tratamentos de FFFA (10% e 100%) para cada espécie. Dados representam médias \pm S.E., $n=5$.

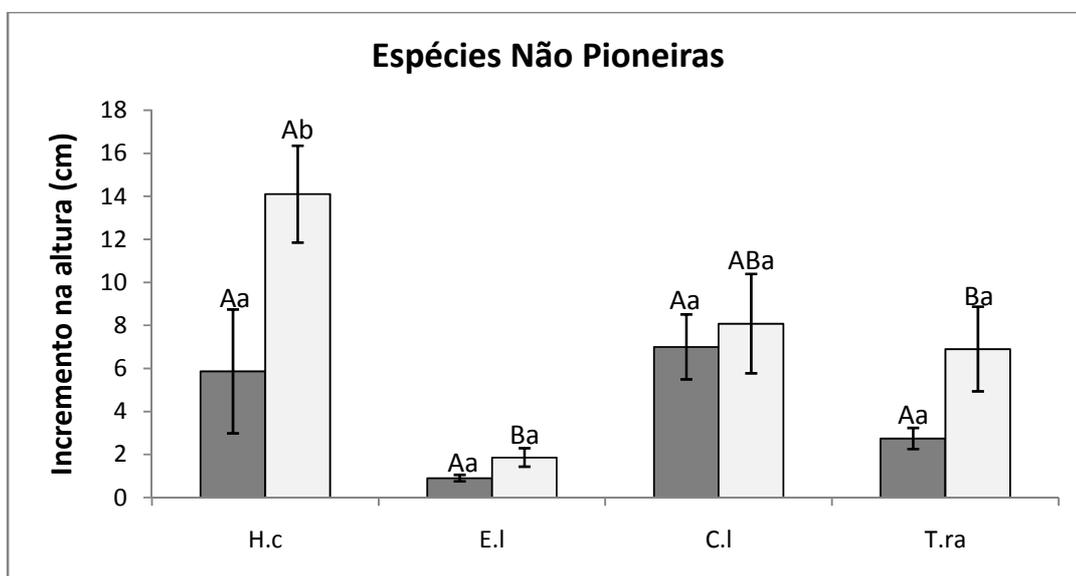


Figura 2: Incremento na altura nas espécies não pioneiras *H.courbaril* (H.c), *E.leiocarpa* (E.l), *C.legalis* (C.l) e *T.roseo-alba* (T.ra) crescidas sob 10% de FFFA (sombra) (■) e 100% de FFFA (sol) (■), após 130 dias do plantio. Letras maiúsculas diferentes representam diferenças significativas ($p \leq 0,05$) entre as espécies para a mesma condição de FFFA (10% ou 100%). Letras minúsculas diferentes representam diferença significativa ($p \leq 0,05$) entre os tratamentos de FFFA (10% e 100%) para cada espécie. Dados representam médias \pm S.E., $n=5$.

5.1.2. Incremento no diâmetro do caule

O incremento no diâmetro do caule (mm) a altura do solo foi significativamente maior nas plantas sob condição de pleno sol do que nas plantas sob sombreamento, tanto nas espécies pioneiras (Figura 3) quanto nas espécies não pioneiras (Figura 4). Nas espécies pioneiras, sob condição de sombra, não foi observado diferença estatística no diâmetro do caule entre as espécies, porém *S.terebinthifolius* foi a espécie que teve menor valor de incremento no diâmetro do caule (0,4 mm) e *C.urucurana* o maior valor (3,5 mm). Nestas espécies (pioneiras), sob condição de pleno sol, *C.floribundus* apresentou menor valor significativo de incremento do diâmetro do caule do que as demais espécies (Figura 3).

O incremento no diâmetro do caule a altura do solo também não diferiu estatisticamente entre as espécies não pioneiras sob condição de sombreamento (Figura 4) sendo que *E.leiocarpa* teve o menor e *T.roseo-alba* o maior valor de incremento do diâmetro do caule nesta condição. Sob condição de pleno sol, o incremento no diâmetro do caule foi estatisticamente diferente entre as espécies. O maior incremento foi encontrado em *H.courbaril* e o menor em *E.leiocarpa* (Figura 4, Tabela2).

Assim como o ocorrido com a altura, o incremento no diâmetro do caule foi significativamente maior sob condição de pleno sol do que sob sombreamento no grupo das espécies pioneiras (484%), no grupo das espécies não pioneiras essa diferença também ocorreu (360%), mas não foi significante (Figura 9). Sob sombreamento, o grupo das espécies pioneiras teve 280% mais incremento no diâmetro do caule do que o grupo das espécies não pioneiras, porém essa diferença não foi significante. Sob condição de pleno sol, a diferença entre o grupo das pioneiras e das não pioneiras foi muito maior (385%), sendo essa diferença significante (Figura 9, Tabela 2).

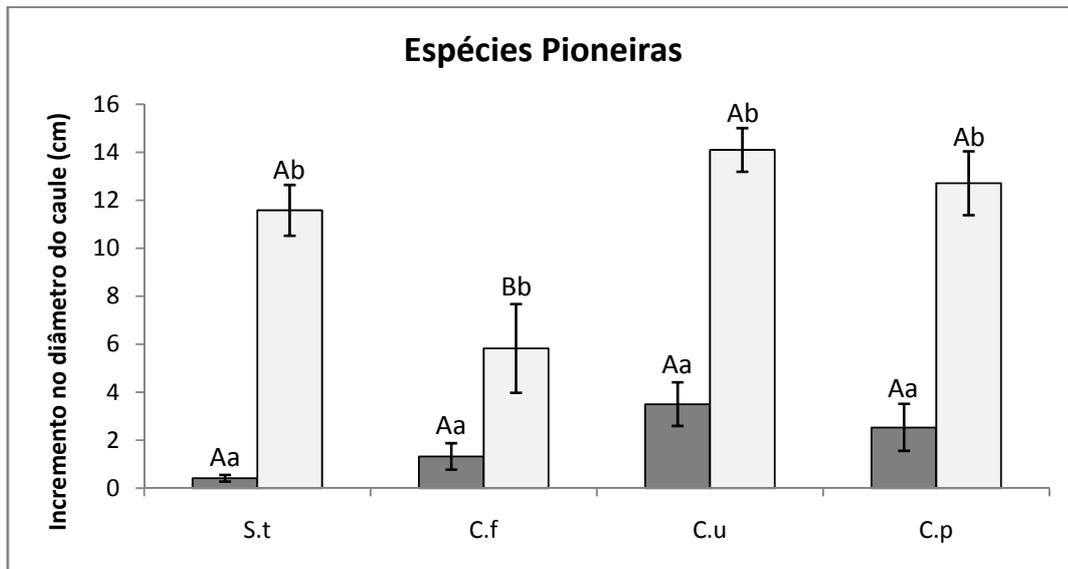


Figura 3: Incremento no diâmetro do caule das espécies pioneiras *S.terebinthifolius* (S.t), *C.floribundus* (C.f), *C.urucurana* (C.u) e *C.pachystachya* (C.p) crescidas sob 10% de FFFA (sombra) (■) e 100% de FFFA (sol) (□), após 130 dias do plantio. Letras maiúsculas diferentes representam diferenças significativas ($p \leq 0,05$) entre as espécies para a mesma condição de FFFA (10% ou 100%). Letras minúsculas diferentes representam diferença significativa ($p \leq 0,05$) entre os tratamentos de FFFA (10% e 100%) para cada espécie. Dados representam médias \pm S.E., $n=5$.

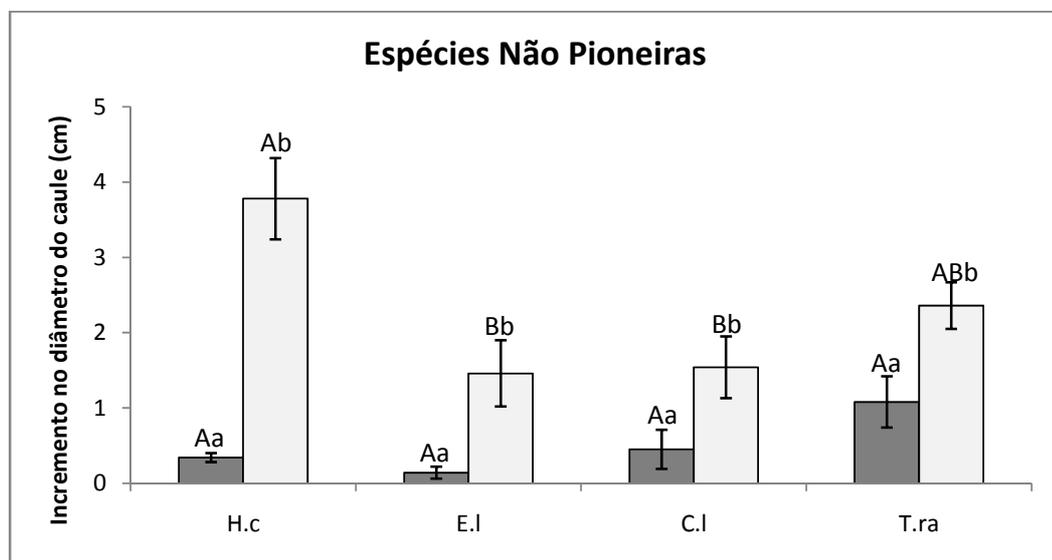


Figura 4: Incremento no diâmetro do caule das espécies não pioneiras *H.courbaril* (H.c), *E.leiocarpa* (E.l), *C.legalis* (C.l) e *T.roseo-alba* (T.ra) crescidas sob 10% de FFFA (sombra) (■) e 100% de FFFA (sol) (□), após 130 dias do plantio. Letras maiúsculas diferentes representam diferenças significativas ($p \leq 0,05$) entre as espécies para a mesma condição de FFFA (10% ou 100%). Letras minúsculas diferentes representam diferença significativa ($p \leq 0,05$) entre os tratamentos de FFFA (10% e 100%) para cada espécie. Dados representam médias \pm SE, $n=5$.

5.1.3. Incremento no número de folhas

Em relação ao incremento no número de folhas, todas as espécies pioneiras apresentaram maior valor significativo nas plantas sob condição de sol pleno do que nas plantas sob sombreamento (Figura 5). Nas espécies não pioneiras, apenas *C.legalis* teve maior incremento significativo no número de folhas sob condição de pleno sol do que sob sombreamento (Figura 6).

Sob condição de sombreamento, não foi observado diferença estatística no incremento do número de folhas entre as espécies pioneiras (Figura 5) e entre as espécies não pioneiras (Figura 6). Sob condição de pleno sol, *S. terebinthifolius* teve maior incremento no número de folhas do que as demais espécies pioneiras (Figura 5). Entre as espécies não pioneiras, *C.legalis* apresentou maior incremento no número de folhas comparado as outras espécies não pioneiras (Figura 6).

Tanto no grupo das espécies pioneiras quanto no grupo das espécies não pioneiras, a diferença no incremento do número de folhas entre as plantas sob condição de sombreamento e pleno sol não foi significativa (Figura 9). Essa diferença foi em média de 483% no grupo das espécies pioneiras e de 569% no grupo das espécies não pioneiras, com maior quantidade de folhas nas plantas sob condição de pleno sol (Tabela 2).

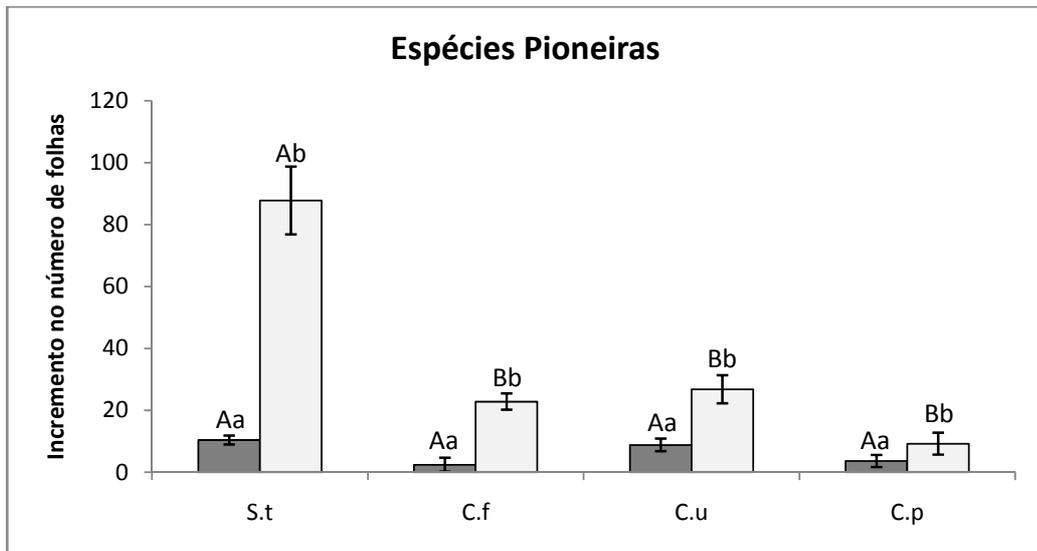


Figura 5: Incremento no número de folhas nas espécies pioneiras *S.terebinthifolius* (S.t), *C.floribundus* (C.f), *C.urucurana* (C.u) e *C.pachystachya* (C.p) crescidas sob 10% de FFFA (sombra) (■) e 100% de FFFA (sol) (□), após 130 dias do plantio. Letras maiúsculas diferentes representam diferenças significativas ($p \leq 0,05$) entre as espécies para a mesma condição de FFFA (10% ou 100%). Letras minúsculas diferentes representam diferença significativa ($p \leq 0,05$) entre os tratamentos de FFFA (10% e 100%) para cada espécie. Dados representam médias \pm S.E., $n=5$.

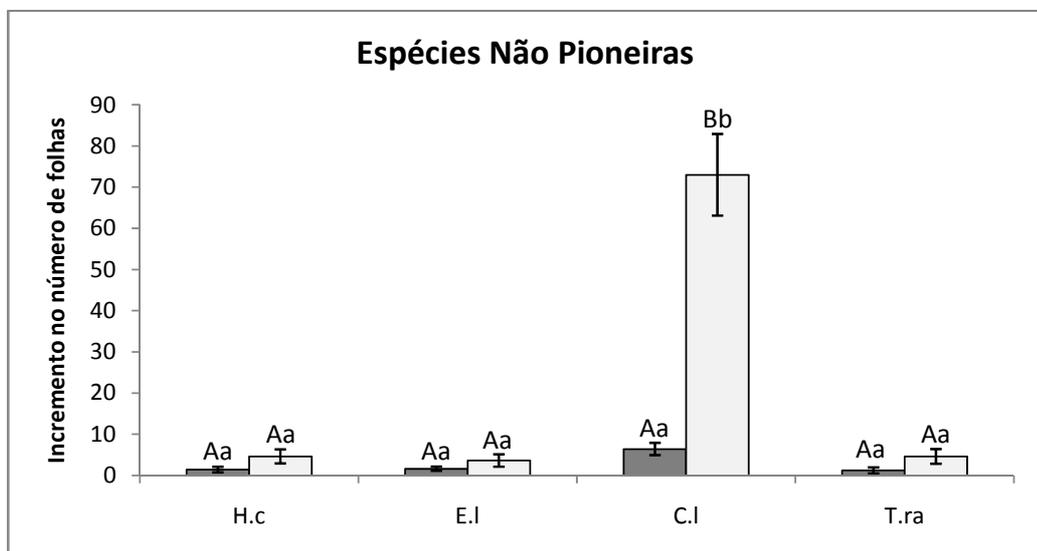


Figura 6: Incremento no número de folhas de *H.courbaril* (H.c), *E.leiocarpa* (E.l), *C.legalis* (C.l) e *T.roseo-alba* (T.ra) crescidas sob 10% de FFFA (sombra) (■) e 100% de FFFA (sol) (□), após 130 dias do plantio. Letras maiúsculas diferentes representam diferenças significativas ($p \leq 0,05$) entre as espécies para a mesma condição de FFFA (10% ou 100%). Letras minúsculas diferentes representam diferença significativa ($p \leq 0,05$) entre os tratamentos de FFFA (10% e 100%) para cada espécie. Dados representam médias \pm S.E., $n=5$.

5.1.4. Área foliar específica (AFE)

A área foliar específica foi estatisticamente maior em todas as espécies (exceto *H.courbaril*) nas plantas sob condição de sombreamento do que sob condição de pleno sol (inversamente proporcional à intensidade luminosa) (Figuras 7 e 8). Sob condição de sombreamento ocorreu diferença na AFE entre as espécies pioneiras sendo que *C.urucurana* foi a espécie que apresentou maior valor (Tabela 2). Sob condição de pleno sol, menores valores de AFE foram encontrados em *S.terebinthifolius*. Foi observada diferença estatística entre as espécies não pioneiras sob condição de sombreamento. A espécie *H.courbaril* teve menores valores de AFE e *T.roseo-alba* teve maior AFE do que as demais espécies (Figura 8) Nas plantas sob condição de pleno sol não ocorreu diferença significativa entre as espécies não pioneiras (Figura 8).

Tanto o grupo das espécies pioneiras quanto o grupo das espécies não pioneiras, apresentaram diferença significativa de AFE entre as plantas mantidas sob sombreamento e as plantas sob pleno sol, sendo que menores valores foram encontrados nas plantas sob pleno sol (Figura 9). Essa diferença foi de 71% no grupo das pioneiras e 53 % no grupo das não pioneiras (Tabela 2); Além disso, sob condição de sombreamento, o grupo das espécies pioneiras teve maior AFE que o grupo das espécies não pioneiras e essa diferença foi significativa (Figura 9).

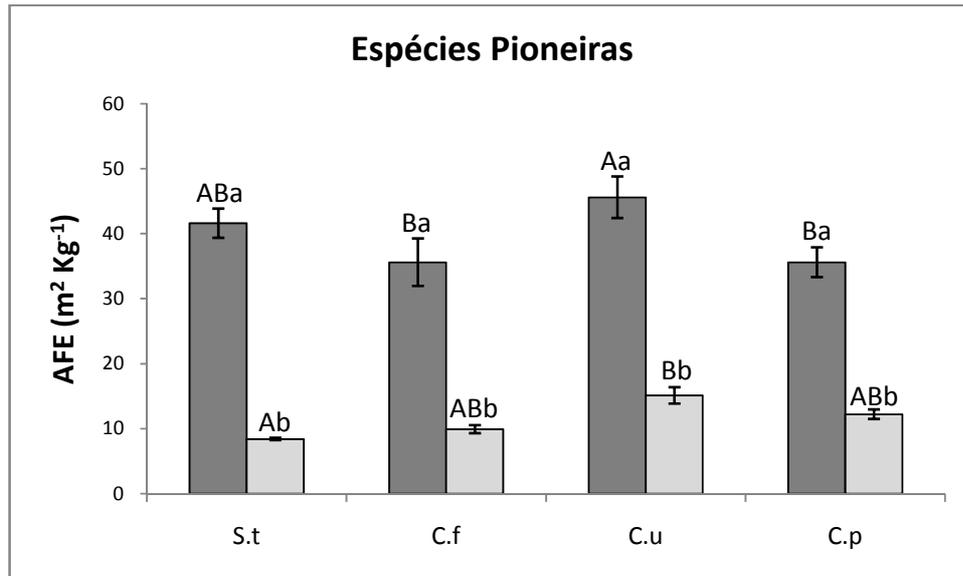


Figura 7: Área foliar específica (AFE) das espécies pioneiras *S.terebinthifolius* (S.t), *C.floribundus* (C.f), *C.urucurana* (C.u) e *C.pachystachya* (C.p) crescidas sob 10% de FFFA (sombra) (■) e 100% de FFFA (sol) (■), após 130 dias do plantio. Letras maiúsculas diferentes representam diferenças significativas ($p \leq 0,05$) entre as espécies para a mesma condição de FFFA (10% ou 100%). Letras minúsculas diferentes representam diferença significativa ($p \leq 0,05$) entre os tratamentos de FFFA (10% e 100%) para cada espécie. Dados representam médias \pm S.E., $n=5$.

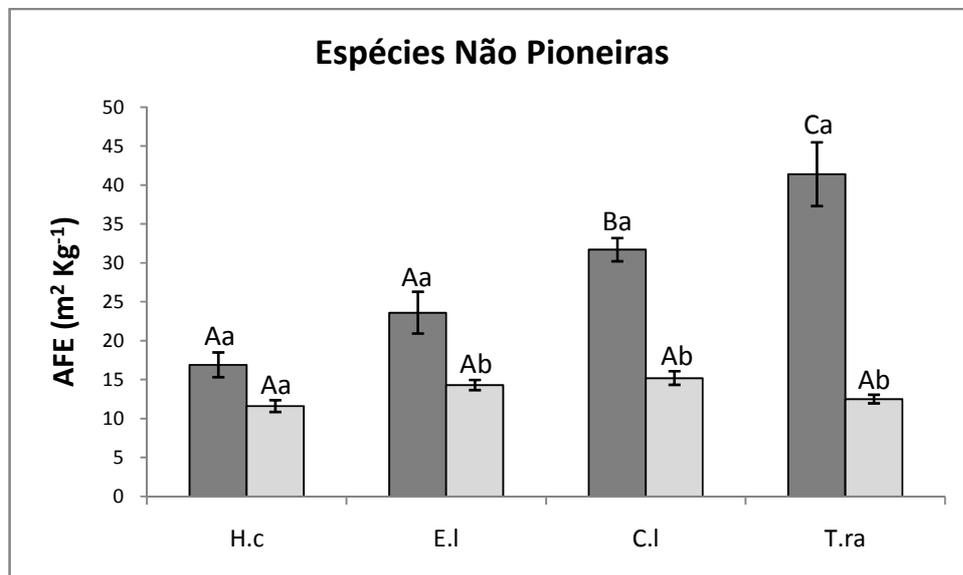


Figura 8: Área foliar específica (AFE) das espécies não pioneiras *H.courbaril* (H.c), *E.leiocarpa* (E.l), *C.legalis* (C.l) e *T.roseo-alba* (terá) crescidas sob 10% de FFFA (sombra) (■) e 100% de FFFA (sol) (■), após 130 dias do plantio. Letras maiúsculas diferentes representam diferenças significativas ($p \leq 0,05$) entre as espécies para a mesma condição de FFFA (10% ou 100%). Letras minúsculas diferentes representam diferença significativa ($p \leq 0,05$) entre os tratamentos de FFFA (10% e 100%) para cada espécie. Dados representam médias \pm S.E., $n=5$.

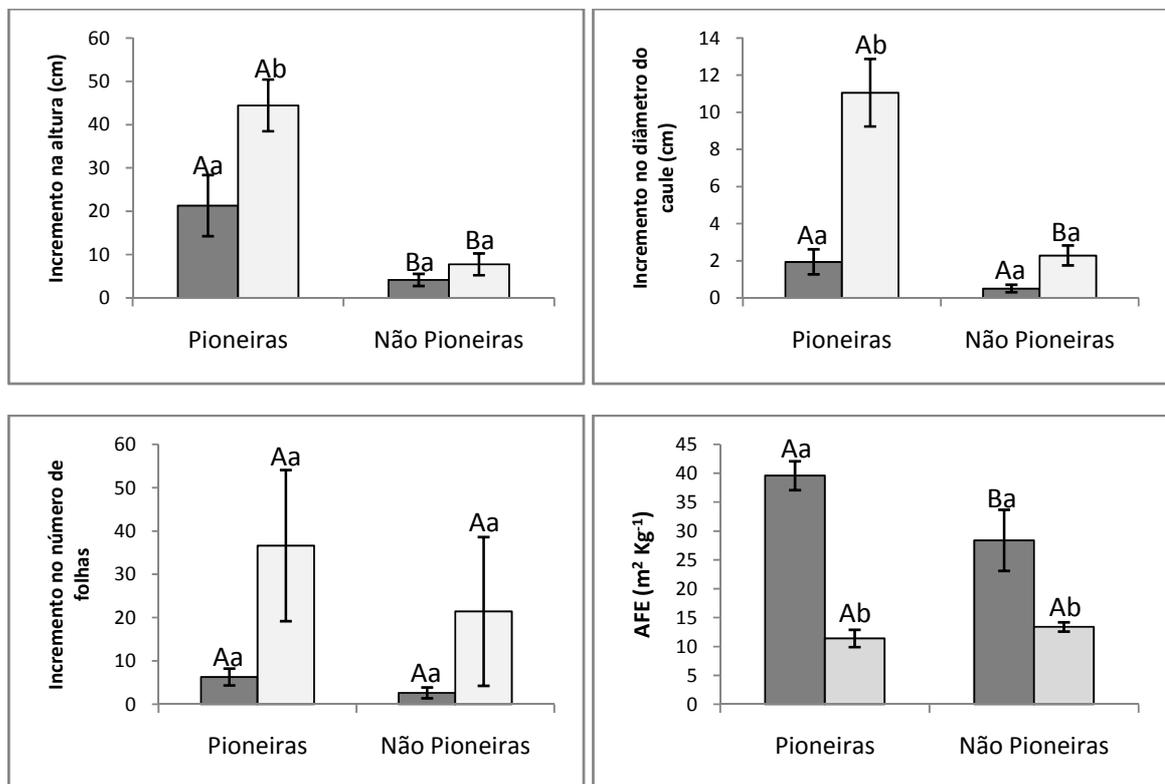


Figura 9: Incremento na altura (cm), incremento no diâmetro do caule (mm), incremento no número de folhas e área foliar específica de quatro espécies pioneiras (*S.terebinthifolius*, *C.floribundus*, *C.urucurana* e *C.pachystachya*) e quatro espécies não pioneiras (*H.courbaril*, *E.leiocarpa*, *C.legalis* e *T.roseo-alba*) após 130 dias do plantio, crescidas sob 10% de FFFA (sombra) (■) e 100% de FFFA (sol) (□). Letras maiúsculas diferentes representam diferenças significativas ($p \leq 0,05$) entre os grupos sucessionais (pioneiras e não pioneiras) para a mesma condição de FFFA (10% ou 100%). Letras minúsculas diferentes representam diferença significativa ($p \leq 0,05$) entre os tratamentos de FFFA (10% e 100%) para cada grupo sucessionais. Dados representam médias \pm S.E. ($n=5$).

Tabela 2: Incremento da altura (cm), incremento do diâmetro do caule na altura do solo (mm), incremento no número de folhas e área foliar específica ($m^2 Kg^{-1}$) após 130 dias do plantio em oito espécies arbóreas tropicais expostas a 10% (sombra) e 100% (pleno sol) de fluxo de fótons fotossinteticamente ativos (FFFA).

FFFA	Grupo sucessional	Espécies	Parâmetros de crescimento			
			Altura (cm)	Caule (mm)	Folhas	AFE ($m^2 kg^{-1}$)
10%	Pioneiras	<i>S.terebinthifolius</i>	37.1	0.4	10.4	41.6
		<i>C.floribundus</i>	7.1	1.3	2.4	35.6
		<i>C.urucurana</i>	29.5	3.5	8.8	45.6
		<i>C.pachystachya</i>	12.2	2.5	3.6	35.6
		Média	21.3±7.1	1.9±0.7	6.3±2	39.6±2.5
	Não Pioneiras	<i>H.courbaril</i>	5.9	0.3	1.4	16.9
		<i>E.leiocarpa</i>	0.9	0.1	1.6	23.6
		<i>C.legalis</i>	7	0.5	6.4	31.7
		<i>T.roseo-alba</i>	2.7	1.1	1.2	41.4
		Média	4.1±1.4	0.5±0.2	2.7±1.25	28.4±5.3
100%	Pioneiras	<i>S.terebinthifolius</i>	50.4	11.6	87.8	8.4
		<i>C.floribundus</i>	43.1	5.8	22.8	9.9
		<i>C.urucurana</i>	55.8	14.1	26.8	15.1
		<i>C.pachystachya</i>	28.3	12.7	9.2	12.2
		Média	44.4±6	11.1±1.8	36.7±17.5	11.4±1.5
	Não Pioneiras	<i>H.courbaril</i>	14.1	3.9	4.6	11.6
		<i>E.leiocarpa</i>	1.9	1.5	3.6	14.3
		<i>C.legalis</i>	8.1	1.5	73	15.2
		<i>T.roseo-alba</i>	6.9	2.4	4.6	12.5
		Média	7.7±2.5	2.3±0.5	21.45±17.18	13.4±0.8
ANOVA			$F_E=28.3^*$	$F_E=31^*$	$F_E=36.5^*$	$F_E=2$ NS
			$F_L=36.2^*$	$F_L=185.9^*$	$F_L=135.5^*$	$F_L=8.4^*$
			$F_{EXL}=4.1^*$	$F_{EXL}=15.8^*$	$F_{EXL}=25.6^*$	$F_{EXL}=NS$

As análises foram feitas sobre cinco réplicas, após 130 dias de exposição a dois níveis de FFFA contrastante. Os resultados são de uma análise de variância de dois fatores (ANOVA), com espécie (E) e luz (L) como fatores fixos e sua interação (ExL). Os dados são das médias ± erro padrão, *, $P<0.05$; NS, não significante.

5.2. Massa seca

5.2.1. Massa seca total (MST)

A massa seca total (caule + raiz + pecíolo + limbo) foi significativamente maior em todas as espécies (exceto *E.leiocarpa*) nas plantas sob condição de pleno sol do que nas plantas sob sombreamento (Figuras 10 e 11). Não foi observada diferença significativa de MST entre as espécies pioneiras sob condição de sombreamento, sob condição de pleno sol *S.terebinthifolius* teve a maior MST (106,12 g) e *C.pachystachya* a menor (63,02 g) (Figura 10, Tabela 3).

Entre as espécies não pioneiras, diferenças na MST foram encontradas tanto nas plantas sob condição de sombreamento quanto na condição de pleno sol (Figura 11). Os menores valores de MST tanto nas plantas sob sombreamento quanto nas plantas sob pleno sol foram observados em *E.leiocarpa*. A espécie *T.roseo-alba* apresentou maiores valores de MST nas plantas sob as duas condições de crescimento (sombra e sol) (Tabela 3).

5.2.2. Massa seca de raízes (MSR)

A massa seca das raízes foi significativamente maior sob condição de pleno sol do que sob condição de sombreamento em todas as espécies pioneiras (Figura 12). Nas espécies não pioneiras apenas *E.leiocarpa* não apresentou diferença estatística de MSR nas plantas entre sombreamento e pleno sol (Figura 13).

Não foi constatada diferença estatística de MSR entre as espécies pioneiras, tanto nas plantas sob sombreamento quanto nas plantas sob pleno sol (Figura 12), porém sob condição de pleno sol, *S.terebinthifolius* teve valores médios mais altos que as demais espécies (Tabela 3).

Entre as espécies não pioneiras, *T.roseo-alba* teve maiores valores significativos de MSR do que as demais espécies nas plantas sob sombreamento e sob pleno sol (Figura 13). Os menores valores médios de MSR foram observados em *E.leiocarpa* (Tabela 3).

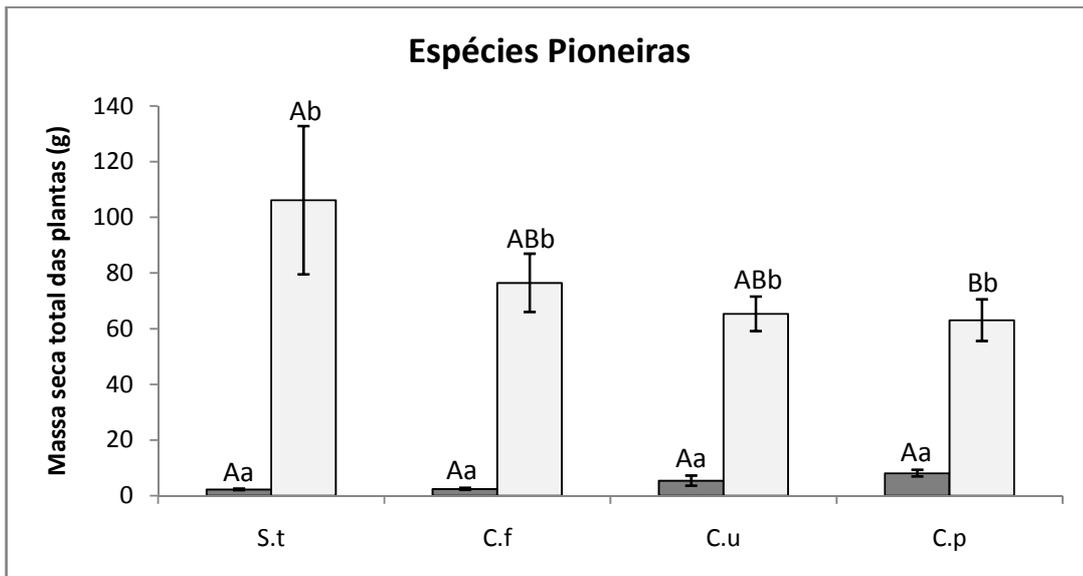


Figura 10: Massa seca total em plantas pioneiras *S.terebinthifolius* (S.t), *C.floribundus* (C.f), *C.urucurana* (C.u) e *C.pachystachya* (C.p) crescidas sob 10% de FFFA (sombra) (■) e 100% de FFFA (sol) (■), após 130 dias do plantio. Letras maiúsculas diferentes representam diferenças significativas ($p \leq 0,05$) entre as espécies para a mesma condição de FFFA (10% ou 100%). Letras minúsculas diferentes representam diferença significativa ($p \leq 0,05$) entre os tratamentos de FFFA (10% e 100%) para cada espécie. Dados representam médias \pm S.E., $n=5$.

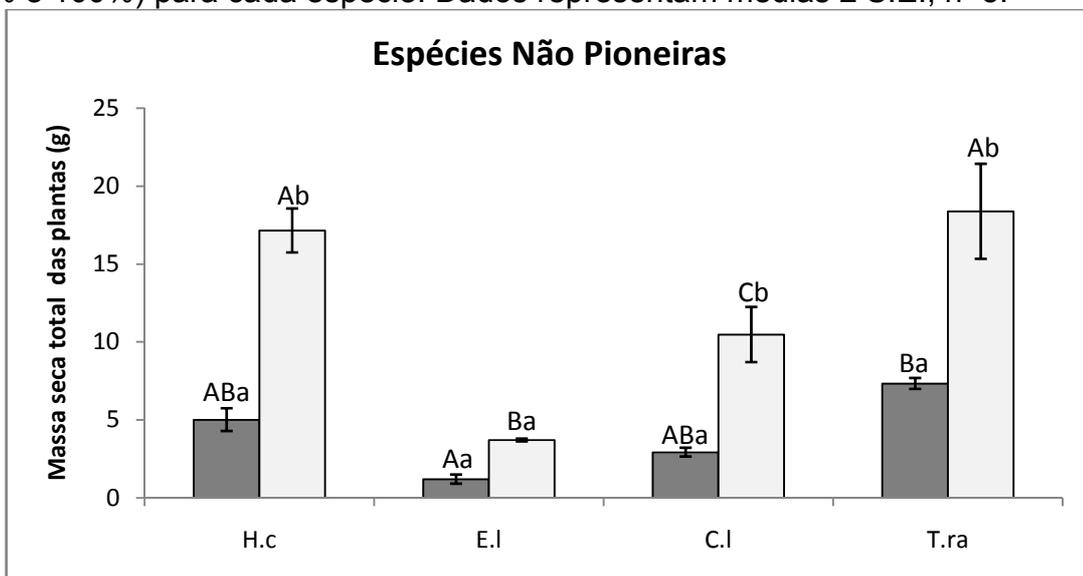


Figura 11: Massa seca total em plantas não pioneiras *H.courbaril* (H.c), *E.leiocarpa* (E.l), *C.legalis* (C.l) e *T.roseo-alba* (T.ra) crescidas sob 10% de FFFA (sombra) (■) e 100% de FFFA (sol) (■), após 130 dias do plantio. Letras maiúsculas diferentes representam diferenças significativas ($p \leq 0,05$) entre as espécies para a mesma condição de FFFA (10% ou 100%). Letras minúsculas diferentes representam diferença significativa ($p \leq 0,05$) entre os tratamentos de FFFA (10% e 100%) para cada espécie. Dados representam médias \pm S.E., $n=5$.

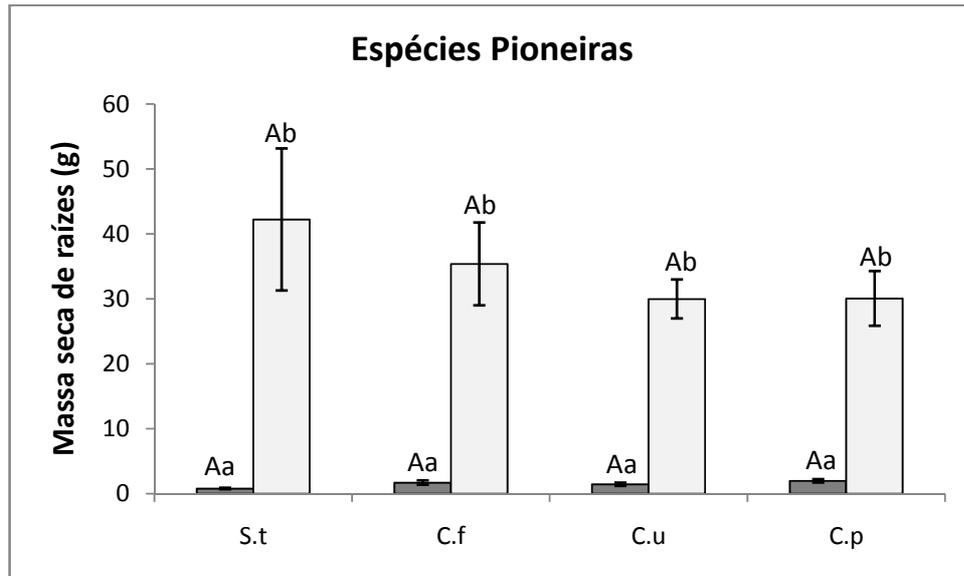


Figura 12: Massa seca de raízes em plantas pioneiras *S.terebinthifolius* (S.t), *C.floribundus* (C.f), *C.urucurana* (C.u) e *C.pachystachya* (C.p) crescidas sob 10% de FFFA (sombra) (■) e 100% de FFFA (sol) (■), após 130 dias do plantio. Letras maiúsculas diferentes representam diferenças significativas ($p \leq 0,05$) entre as espécies para a mesma condição de FFFA (10% ou 100%). Letras minúsculas diferentes representam diferença significativa ($p \leq 0,05$) entre os tratamentos de FFFA (10% e 100%) para cada espécie. Dados representam médias \pm S.E., $n=5$.

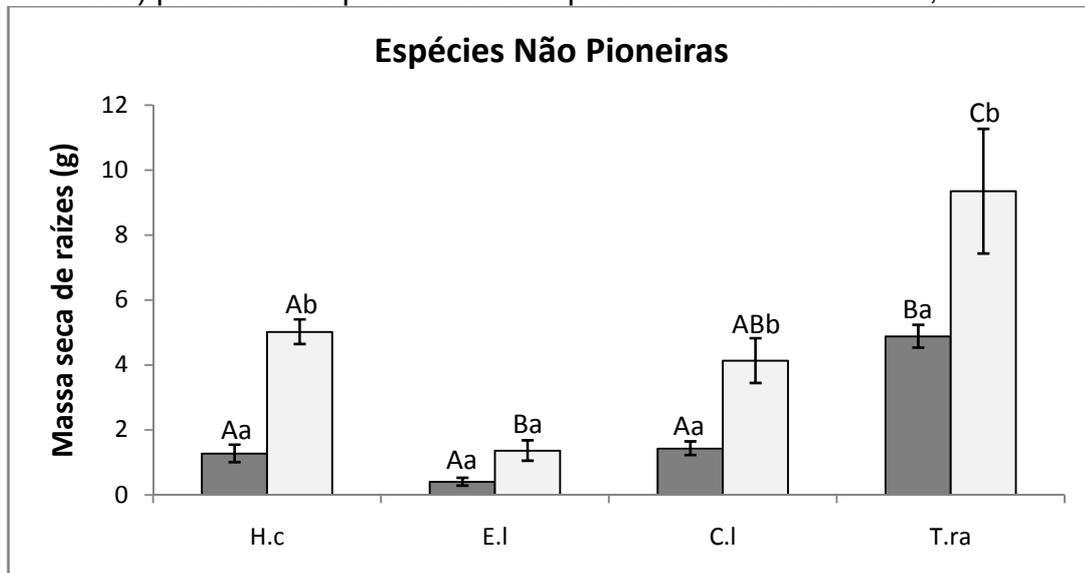


Figura 13: Massa seca de raízes em plantas não pioneiras *H.courbaril* (H.c), *E.leiocarpa* (E.l), *C.legalis* (C.l) e *T.roseo-alba* (T.ra) crescidas sob 10% de FFFA (sombra) (■) e 100% de FFFA (sol) (■), após 130 dias do plantio. Letras maiúsculas diferentes representam diferenças significativas ($p \leq 0,05$) entre as espécies para a mesma condição de FFFA (10% ou 100%). Letras minúsculas diferentes representam diferença significativa ($p \leq 0,05$) entre os tratamentos de FFFA (10% e 100%) para cada espécie. Dados representam médias \pm S.E., $n=5$.

5.2.3. Massa seca de caule (MSC)

A massa seca do caule foi estatisticamente maior em todas as espécies pioneiras (exceto em *C.pachystachya*) nas plantas sob condição de pleno sol do que nas plantas sob sombreamento. A espécie *C.pachystachya* também apresentou maior valor de MSC nas plantas sob condição de pleno sol do que nas plantas sob sombreamento, porém essa diferença não foi significativa (Figura 14). A espécie pioneira *S.terebinthifolius* apresentou maior valor de MSC que as demais espécies pioneiras, nas plantas sob condição de pleno sol. Nas plantas sob sombreamento a MSC não diferiu significativamente entre as espécies (Figura 14, Tabela 3).

Nas espécies não pioneiras, *E.leiocarpa* foi a única espécie que não teve diferença significativa na MSC entre as plantas sob sombreamento e sob pleno sol (Figura 15). Sob condição de pleno sol, *H.courbaril* teve MSC estatisticamente maior e *E.leiocarpa* estatisticamente menor que as demais espécies não pioneiras. Sob condição de sombreamento a MSC foi menor em *E.leiocarpa* e maior em *T.roseo-alba* (Figura 15, Tabela 3).

5.2.4. Massa seca de pecíolos (MSP)

Todas as espécies pioneiras tiveram maior valor significativo de MSP nas plantas crescidas sob pleno sol do que nas plantas sob sombreamento (Figura 16) sendo que nas espécies não pioneiras essa diferença foi encontrada apenas em *T.roseo-alba* (Figura 17).

As espécies pioneiras não diferiram entre si quanto a MSP, tanto nas plantas sob pleno sol quanto nas plantas sob sombreamento (Figura 16). Sob condição de pleno sol, entre as espécies não pioneiras, *T.roseo-alba* apresentou maior valor significativo de MSP do que as demais espécies. Sob condição de sombreamento, não foi observado diferença de MSP entre essas espécies (Figura 17).

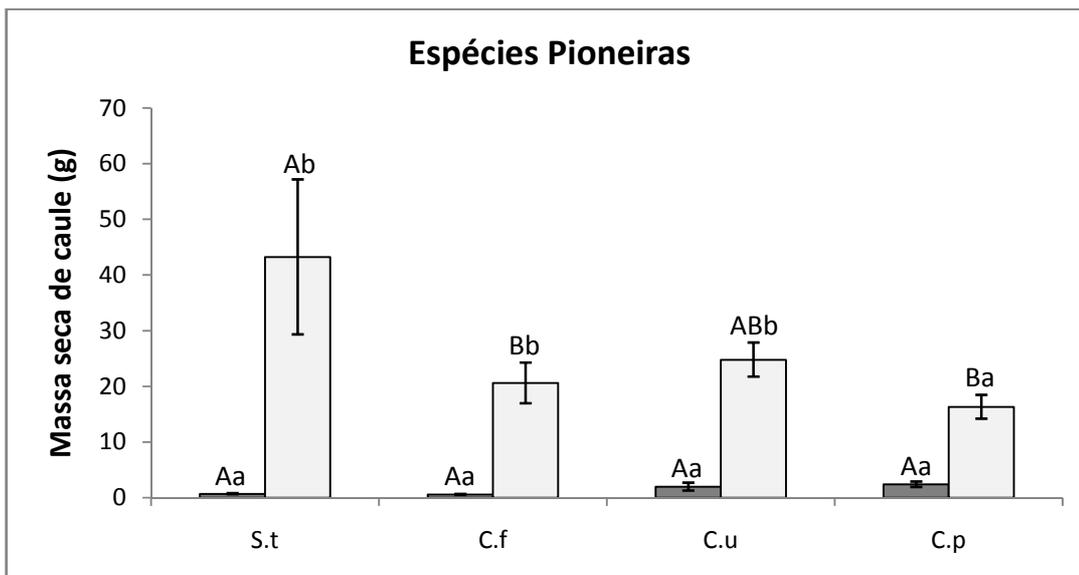


Figura 14: Massa seca de caules em plantas pioneiras *S.terebinthifolius* (S.t), *C.floribundus* (C.f), *C.urucurana* (C.u) e *C.pachystachya* (C.p) crescidas sob 10% de FFFA (sombra) (■) e 100% de FFFA (sol) (□), após 130 dias do plantio. Letras maiúsculas diferentes representam diferenças significativas ($p \leq 0,05$) entre as espécies para a mesma condição de FFFA (10% ou 100%). Letras minúsculas diferentes representam diferença significativa ($p \leq 0,05$) entre os tratamentos de FFFA (10% e 100%) para cada espécie. Dados representam médias \pm S.E., $n=5$.

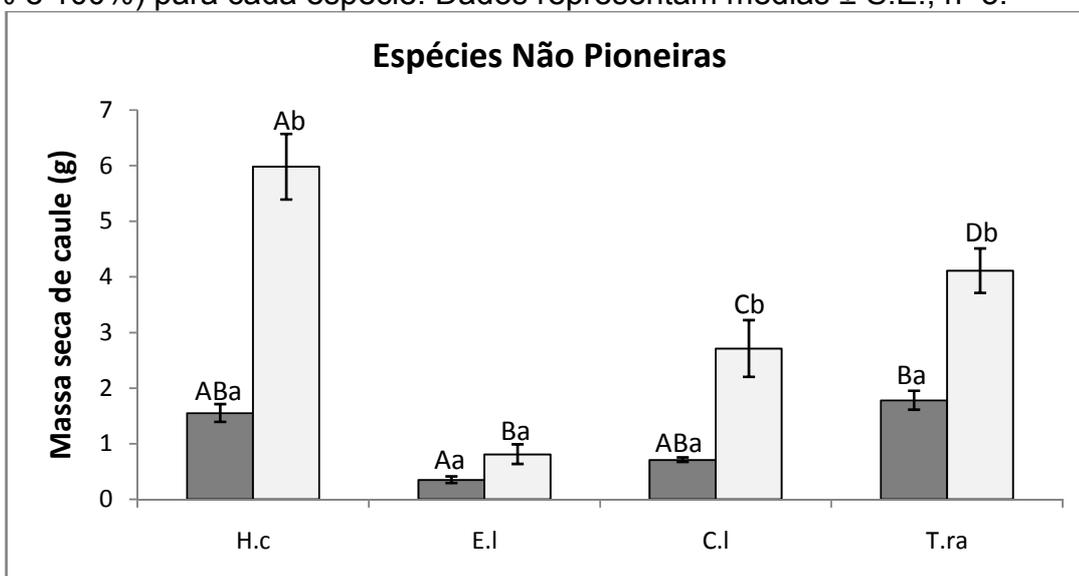


Figura 15: Massa seca de caules em plantas não pioneiras *H.courbaril* (H.c), *E.leiocarpa* (E.l), *C.legalis* (C.l) e *T.roseo-alba* (T.ra) crescidas sob 10% de FFFA (sombra) (■) e 100% de FFFA (sol) (□), após 130 dias do plantio. Letras maiúsculas diferentes representam diferenças significativas ($p \leq 0,05$) entre as espécies para a mesma condição de FFFA (10% ou 100%). Letras minúsculas diferentes representam diferença significativa ($p \leq 0,05$) entre os tratamentos de FFFA (10% e 100%) para cada espécie. Dados representam médias \pm S.E., $n=5$.

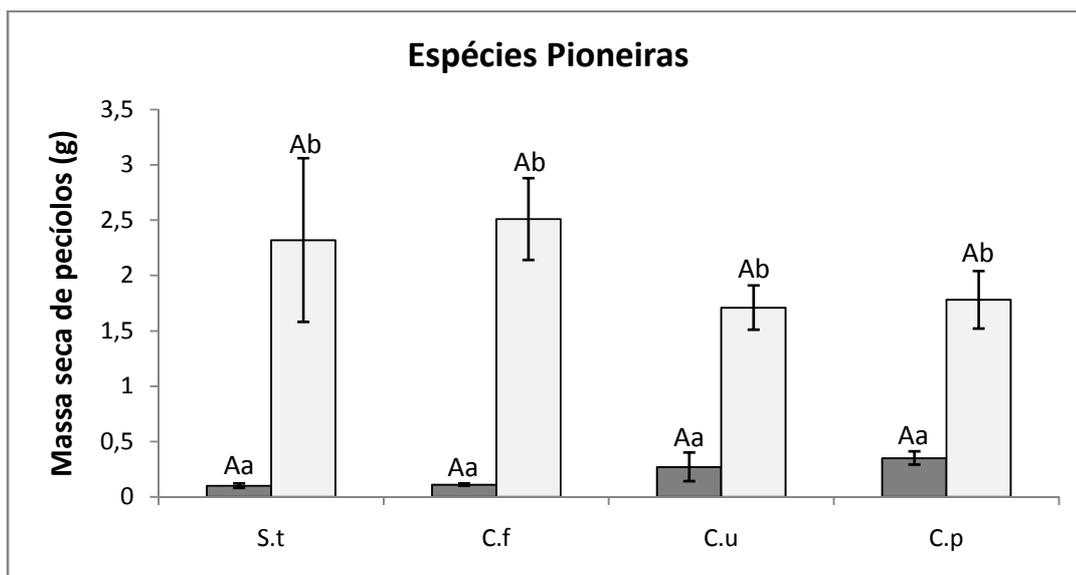


Figura 16: Massa seca de pecíolos em plantas pioneiras *S.terebinthifolius* (S.t), *C.floribundus* (C.f), *C.urucurana* (C.u) e *C.pachystachya* (C.p) crescidas sob 10% de FFFA (sombra) (■) e 100% de FFFA (sol) (□), após 130 dias do plantio. Letras maiúsculas diferentes representam diferenças significativas ($p \leq 0,05$) entre as espécies para a mesma condição de FFFA (10% ou 100%). Letras minúsculas diferentes representam diferença significativa ($p \leq 0,05$) entre os tratamentos de FFFA (10% e 100%) para cada espécie. Dados representam médias \pm S.E., $n=5$.

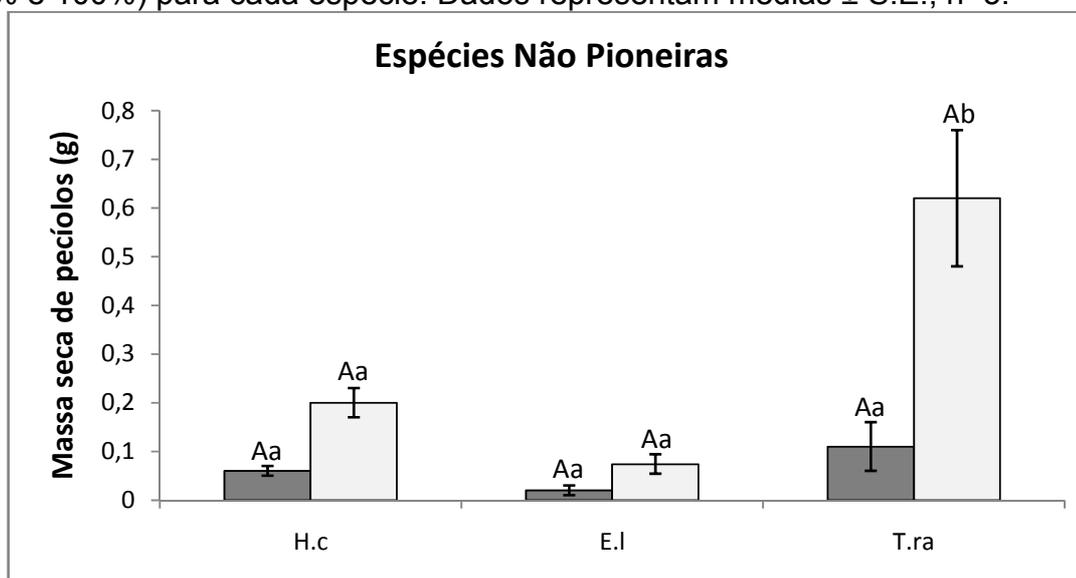


Figura 17: Massa seca de pecíolos em plantas não pioneiras *H.courbaril* (H.c), *E.leiocarpa* (E.l), *C.legalis* (C.l) e *T.roseo-alba* (T.ra) crescidas sob 10% de FFFA (sombra) (■) e 100% de FFFA (sol) (□), após 130 dias do plantio. Letras maiúsculas diferentes representam diferenças significativas ($p \leq 0,05$) entre as espécies para a mesma condição de FFFA (10% ou 100%). Letras minúsculas diferentes representam diferença significativa ($p \leq 0,05$) entre os tratamentos de FFFA (10% e 100%) para cada espécie. Dados representam médias \pm S.E., $n=5$.

5.2.5. Massa seca do limbo (MSL)

As quatro espécies pioneiras aqui estudadas tiveram maior massa seca do limbo (MSL) significativa nas plantas sob condição de pleno sol do que nas plantas sob sombreamento (Figura 18). Nas espécies não pioneiras apenas *E.leiocarpa* não apresentou diferença estatística na MSL entre plantas crescidas sob sombreamento e sob pleno sol (Figura 19).

A MSL diferiu significativamente entre as espécies pioneiras sob condição de pleno sol sendo que menores valores foram encontrados em *C.urucurana*. Sob condição de sombreamento a MSL não diferiu entre as espécies (Figura 18, Tabela 3).

Sob condição de sombreamento não foi observado diferença significativa na MSL entre as espécies não pioneiras, porém nas espécies sob condição de pleno sol, diferença entre as espécies foi observada e maiores valores médios foram vistos em *H.courbaril* e menores valores em *E.leiocarpa* (Figura 19, Tabela 3).

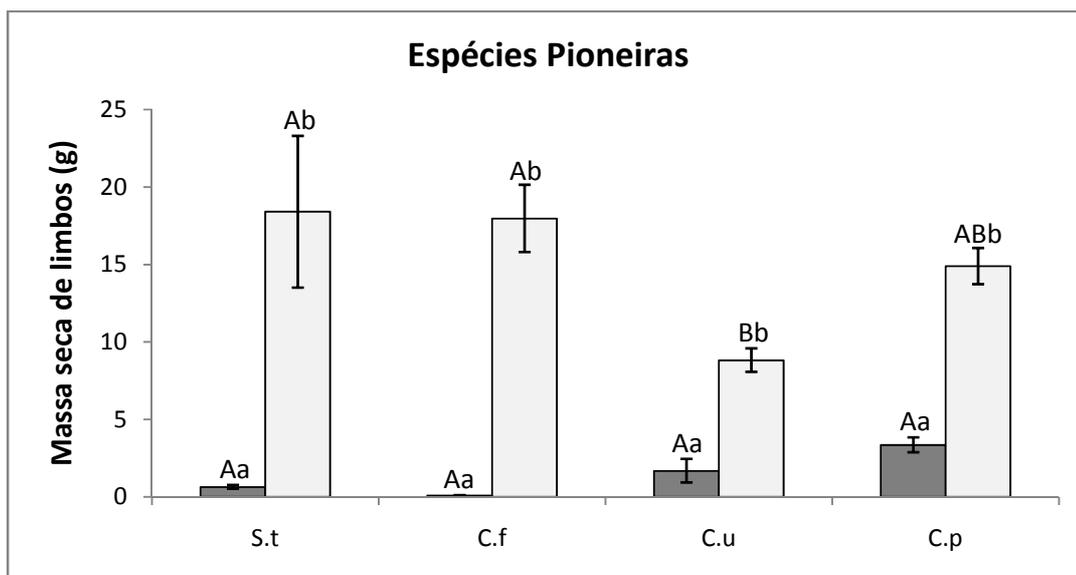


Figura 18: Massa seca de limbos em plantas pioneiras *S.terebinthifolius* (S.t), *C.floribundus* (C.f), *C.urucurana* (C.u) e *C.pachystachya* (C.p) crescidas sob 10% de FFFA (sombra) (■) e 100% de FFFA (sol) (□), após 130 dias do plantio. Letras maiúsculas diferentes representam diferenças significativas ($p \leq 0,05$) entre as espécies para a mesma condição de FFFA (10% ou 100%). Letras minúsculas diferentes representam diferença significativa ($p \leq 0,05$) entre os tratamentos de FFFA (10% e 100%) para cada espécie. Dados representam médias \pm S.E., N=5.

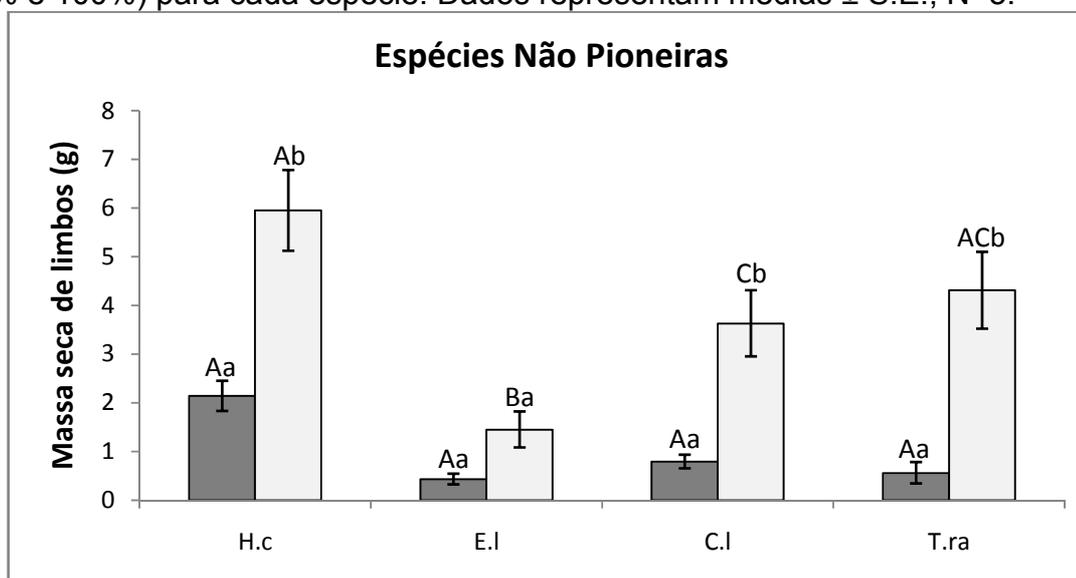


Figura 19: Massa seca de limbos em plantas não pioneiras *H.courbaril* (H.c), *E.leiocarpa* (E.l), *C.legalis* (C.l) e *T.roseo-alba* (T.ra) crescidas sob 10% de FFFA (sombra) (■) e 100% de FFFA (sol) (□), após 130 dias do plantio. Letras maiúsculas diferentes representam diferenças significativas ($p \leq 0,05$) entre as espécies para a mesma condição de FFFA (10% ou 100%). Letras minúsculas diferentes representam diferença significativa ($p \leq 0,05$) entre os tratamentos de FFFA (10% e 100%) para cada espécie. Dados representam médias \pm S.E., N=5.

5.2.6. Massa seca raiz/parte aérea (MSR/MSA)

A MSR/MSA foi estatisticamente maior nas plantas sob condição de sombra do que sob condição de sol apenas em *C.floribundus*, entre as espécies pioneiras (Figura 20). As demais espécies pioneiras tiveram valores desta razão maior nas plantas sob condição de pleno sol, quando comparadas com as plantas sob sombreamento, porém essa diferença não foi significativa (Figura 20, Tabela 3).

As espécies não pioneiras *H.courbaril* e *E.leiocarpa* tiveram maiores valores médios de MSR/MSA nas plantas sob condição de sol do que nas plantas sob condição de sombreamento, porém essas diferenças não foram significantes. As demais espécies não pioneiras, *C.legalis* e *T.roseo-alba* apresentaram maior MSR/MSA significativa em plantas sob sombreamento do que sob pleno sol (Figura 21).

Não foi observada diferença significativa em MSR/MSA entre as espécies pioneiras crescidas sob condição de sombreamento. Sob condição de pleno sol, *C.floribundus* teve maior valor significativo de MSR/MSA do que as demais espécies (Figura 20, Tabela 3).

Ocorreu diferença significativa da razão MSR/MSA entre as espécies não pioneiras tanto nas plantas mantidas sob sombreamento como nas plantas sob pleno sol (Figura 21). Menores valores médios foram encontrados em *H.courbaril* e *E.leiocarpa* e maiores valores em *C.legalis* e *T.roseo-alba*, tanto nas plantas sob sombreamento, quanto nas plantas sob pleno sol (Figura 21, Tabela 3)

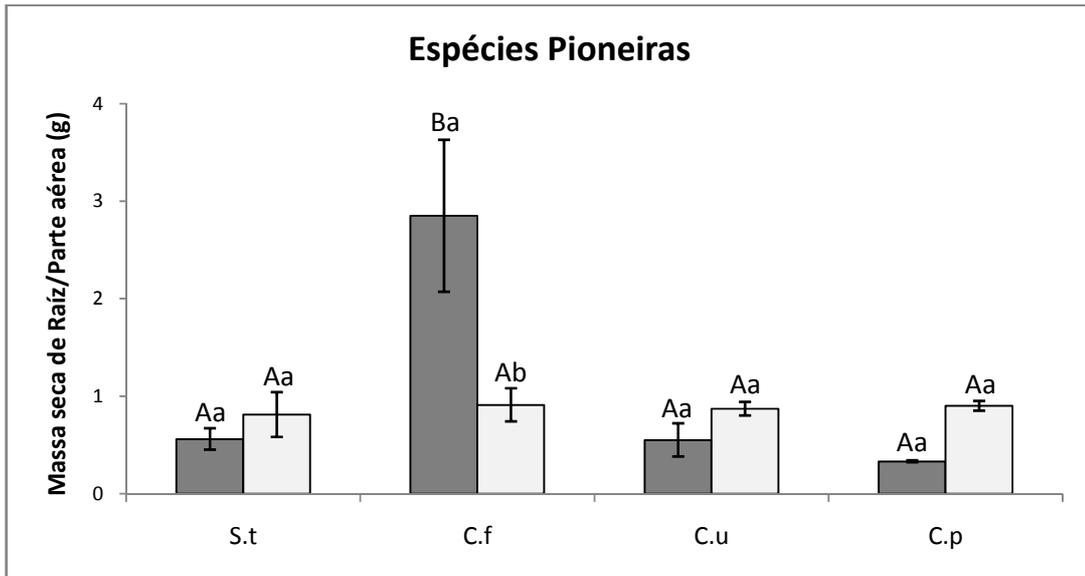


Figura 20: Massa seca de raiz/parte aérea em plantas pioneiras *S.terebinthifolius* (S.t), *C.floribundus* (C.f), *C.urucurana* (C.u) e *C.pachystachya* (C.p) crescidas sob 10% de FFFA (sombra) (■) e 100% de FFFA (sol) (□), após 130 dias do plantio. Letras maiúsculas diferentes representam diferenças significativas ($p \leq 0,05$) entre as espécies para a mesma condição de FFFA (10% ou 100%). Letras minúsculas diferentes representam diferença significativa ($p \leq 0,05$) entre os tratamentos de FFFA (10% e 100%) para cada espécie. Dados representam médias \pm S.E., $n=5$.

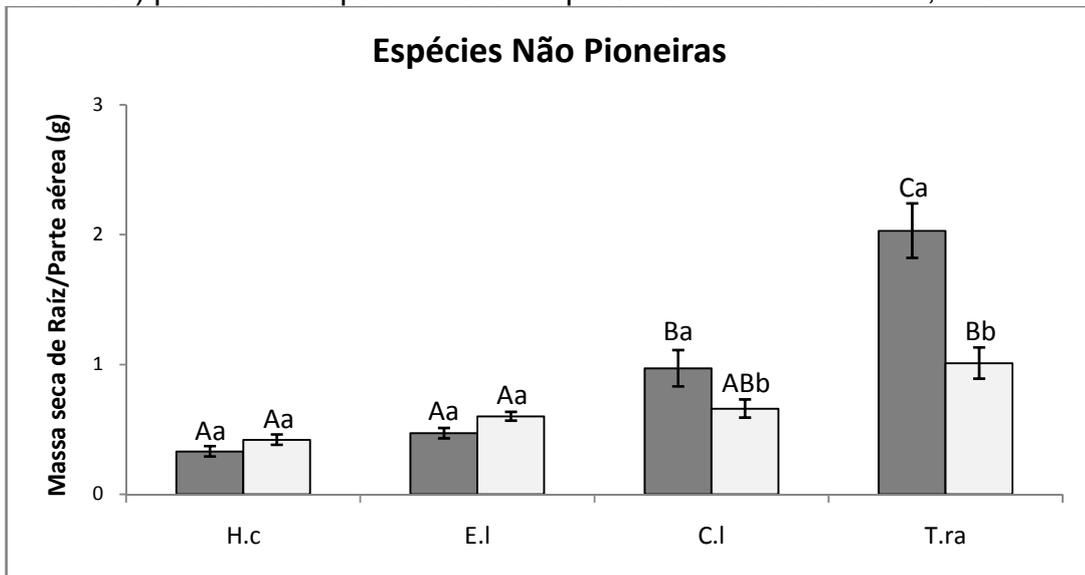


Figura 21: Massa seca de raiz/parte aérea em plantas não pioneiras *H.courbaril* (H.c), *E.leiocarpa* (E.l), *C.legalis* (C.l) e *T.roseo-alba* (T.ra) crescidas sob 10% de FFFA (sombra) (■) e 100% de FFFA (sol) (□), após 130 dias do plantio. Letras maiúsculas diferentes representam diferenças significativas ($p \leq 0,05$) entre as espécies para a mesma condição de FFFA (10% ou 100%). Letras minúsculas diferentes representam diferença significativa ($p \leq 0,05$) entre os tratamentos de FFFA (10% e 100%) para cada espécie. Dados representam médias \pm S.E., $n=5$.

5.2.7. Massa seca entre os grupos sucessionais

No grupo das espécies pioneiras, a massa seca total (MST), massa seca de raízes (MSR), massa seca do caule (MSC), massa seca de pecíolos (MSP) e massa seca de limbos (MSL) foi muito maior nas plantas sob condição de pleno sol do que nas plantas sob sombreamento, sendo essa diferença significativa (Figura 22). O incremento de massa seca encontrado nas plantas sob pleno sol em relação às plantas de sombreamento, no grupo das espécies pioneiras foi em torno de 17 vezes para MST, 24 vezes para MSR, 19 vezes para MSC, 11 vezes em MSP e 10 vezes em MSL (Tabela 3).

No grupo das espécies não pioneiras, diferença significativa entre as plantas sob sombreamento e pleno sol foi observado em MSR, MSC e MSP, com maior massa seca nas plantas sob pleno sol do que sob sombreamento. No entanto, essa diferença foi bem menor do que no grupo das espécies pioneiras. O incremento de massa seca das plantas sob sombreamento para as plantas sob pleno sol no grupo das espécies não pioneiras foi de 2,5 vezes em MSR, 3,7 vezes em MSC e 4,8 vezes em MSP. O grupo das espécies não pioneiras também apresentou maiores valores de MST (3 vezes) e MSL (3,9 vezes) nas plantas sob condição de pleno sol do que sob sombreamento, apesar de não ter sido estatisticamente significativa.

Na comparação entre os grupos sucessionais, não foram observadas diferenças significativas na MST, MSR, MSC, MSP e MSL entre o grupo das espécies pioneiras e o grupo das espécies não pioneiras, nas plantas crescidas sob sombreamento (Figura 22). Porém nas plantas crescidas sob pleno sol, as espécies pioneiras apresentaram maiores valores significativos em todos esses parâmetros do que o grupo das espécies não pioneiras (Figura 22).

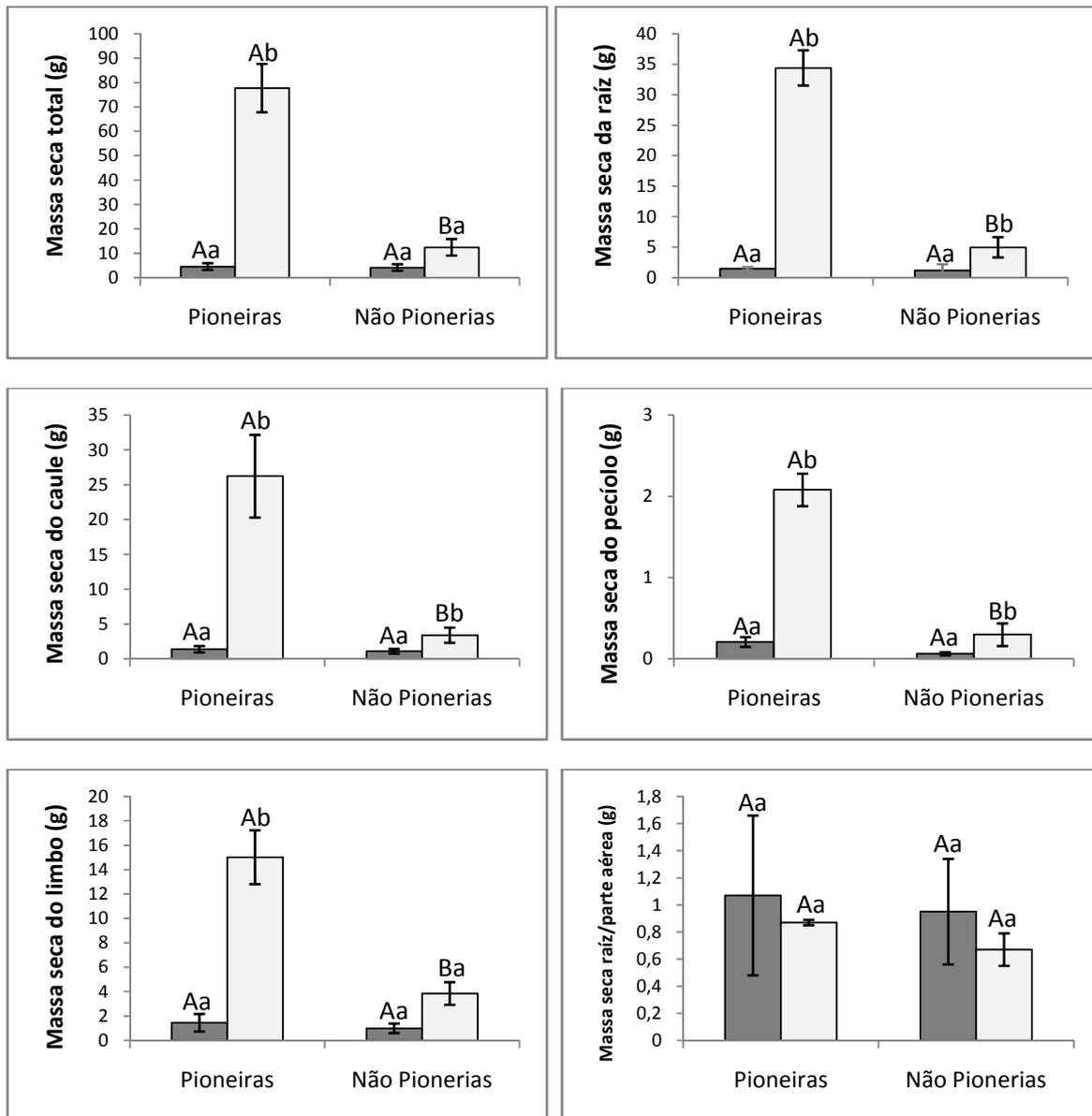


Figura 22: Massa seca total, massa seca de raízes, massa seca de caules, massa seca de pecíolos, massa seca de limbos e massa seca raiz/parte aérea de quatro espécies pioneiras (*S.terebinthifolius*, *C.floribundus*, *C.urucurana* e *C.pachystachya*) e quatro espécies não pioneiras (*H.courbaril*, *E.leiocarpa*, *C.legalis* e *T.roseo-alba*) após 130 dias do plantio, crescidas sob 10% de FFFA (sombra) (■) e 100% de FFFA (sol) (▒). Dados expressos em gramas (g). Letras maiúsculas diferentes representam diferenças significativas ($p \leq 0,05$) entre os grupos sucessionais (pioneiras e não pioneiras) para a mesma condição de FFFA (10% ou 100%). Letras minúsculas diferentes representam diferença significativa ($p \leq 0,05$) entre os tratamentos de FFFA (10% e 100%) para cada grupo sucessional. Dados representam médias \pm S.E. ($n=5$).

Tabela 3: Partição de biomassa (g), massa seca total (caule + pecíolo + limbo), massa seca da raiz, do caule, do pecíolo, do limbo e da razão raiz/parte aérea (pecíolo +caule +limbo) de oito espécies arbóreas tropicais após 130 dias do plantio em oito espécies arbóreas tropicais expostas a 10% (sombra) e 100% (pleno sol) de fluxo de fótons fotossinteticamente ativos (FFFA).

FFFA	Grupo sucessional	Espécies	Parâmetros de Biomassa (g)					
			Total	Raiz	Caule	Pecíolo	Limbo	Raiz/Parte aérea
10%	Pioneiras	<i>S.terebinthifolius</i>	2.19	0.77	0.69	0.10	0.64	0.56
		<i>C.floribundus</i>	2.41	1.68	0.55	0.11	0.08	2.85
		<i>C.urucurana</i>	5.33	1.43	1.95	0.27	1.68	0.55
		<i>C.pachystachya</i>	8.03	1.95	2.37	0.35	3.35	0.33
		Média	4.49±1.38	1.45±0.25	1.39±0.45	0.21±0.06	1.44±0.72	1.07±0.59
	Não Pioneiras	<i>H.courbaril</i>	5.01	1.27	1.55	0.06	2.14	0.33
		<i>E.leiocarpa</i>	1.19	0.40	0.35	0.02	0.43	0.47
		<i>C.legalis</i>	2.92	1.43	0.71	Não tem	0.79	0.97
		<i>T.roseo-alba</i>	7.33	4.88	1.78	0.11	0.56	2.03
		Média	4.11±1.32	2±0.99	1.1±0.34	0.063±0.02	0.98±0.39	0.95±0.39
100%	Pioneiras	<i>S.terebinthifolius</i>	106.12	42.21	43.24	2.32	18.4	0.81
		<i>C.floribundus</i>	76.44	35.37	20.59	2.51	17.97	0.91
		<i>C.urucurana</i>	65.28	29.97	24.78	1.71	8.82	0.87
		<i>C.pachystachya</i>	63.02	30.05	16.30	1.78	14.89	0.90
		Média	77.72±9.91	34.4±2.89	26.23±5.93	2.08±0.20	15.02±2.21	0.87±0.02
	Não Pioneiras	<i>H.courbaril</i>	17.15	5.02	5.98	0.20	5.95	0.42
		<i>E.leiocarpa</i>	3.7	1.36	0.81	0.074	1.45	0.60
		<i>C.legalis</i>	10.47	4.13	2.71	Não tem	3.63	0.66
		<i>T.roseo-alba</i>	18.38	9.35	4.11	0.62	4.31	1.01
		Média	12.43±3.39	4.97±1.66	3.4±1.09	0.3±0.14	3.84±0.93	0.67±0.12
ANOVA			F _E =	F _E = 10.9*	F _E = 7.6*	F _E = 9.5*	F _E = 11.5*	F _E = 10.6*
			F _L =	F _L = 107.4*	F _L = 52.9*	F _L = 80.3*	F _L = 128.6*	F _L = 4.6 *
			F _{EXL} =	F _{EXL} = 11.4*	F _{EXL} = 7.6*	F _{EXL} = 7.7*	F _{EXL} = 10.7*	F _{EXL} = 6.8*

As análises foram feitas sobre cinco replicas, após 130 dias de exposição a dois níveis de FFFA contrastante. Os resultados são de uma análise de variância de dois fatores (ANOVA), com espécie (E) e luz (L) como fatores fixos e sua interação (ExL). Os dados são das médias ± erro padrão, *, P<0.05; NS, não significativa.

5.3. Partição de biomassa

Os resultados mostram que ocorreu diferença na partição de biomassa tanto entre as espécies quanto nas condições de crescimento (10% e 100% de FFFA). Nas espécies pioneiras sob condição de pleno sol, a maior porcentagem de biomassa foi alocada respectivamente para raízes, caules e folhas, com variações entre as espécies (Figuras 23, 24, 25 e 26). A alocação de biomassa para as raízes nestas espécies ficou entre 40% (*S.terebinthifolius*) e 48% (*C.pachystachya*). Maior alocação de biomassa para os caules foi encontrado *S.terebinthifolius* (41%) e menor em *C.pachystachya* (26%) e nas folhas *C.urucurana* teve 13% de alocação de biomassa para esse órgão (menor valor) e *C.floribundus* apresentou 24% (maior valor).

A partição de biomassa nas espécies pioneiras crescidas sob sombreamento diferiu daquelas crescidas sob pleno sol. Nessa condição de crescimento, *C.urucurana* e *C.pachystachya* tiveram maior partição de biomassa para caules, folhas e por último para as raízes. No entanto, *S.terebinthifolius* e *C.floribundus* particionaram a sua biomassa preferencialmente para raiz, caule e folhas. Nestas espécies crescidas sob sombreamento, a maior partição para raízes foi em *C.floribundus* (69%) e a menor foi em *C.pachystachya* (24%). A partição de biomassa para os caules ficou entre 23% em *C.floribundus* e 37% em *C.urucurana*. A maior partição para as folhas foi observado em *C.pachystachya* (42%) e a menor em *C.floribundus* (3%).

A partição de biomassa diferiu entre as espécies não pioneiras, e além disso, foi encontrado menor discrepância entre as plantas crescidas sob pleno sol e as crescidas sob sombreamento do que foi observado nas espécies pioneiras (Figuras 27, 28, 29 e 30). A maior partição de biomassa em *H.courbaril* foi para Folhas, caule e raízes (Figura 27), em *E.leiocarpa* foi para folhas, raízes e caule (Figura 28) e em *C.legalis* foi para raízes, folhas e caule (Figura 29) tanto nas plantas sob sombreamento quanto nas plantas sob pleno sol. Em *T.roseo-alba* a maior contribuição de biomassa foi respectivamente para raízes, caule e folhas nas plantas crescidas sob sombreamento e nas plantas crescidas sob pleno sol a biomassa foi particionada respectivamente para raízes, folhas e caule (Figura 30)

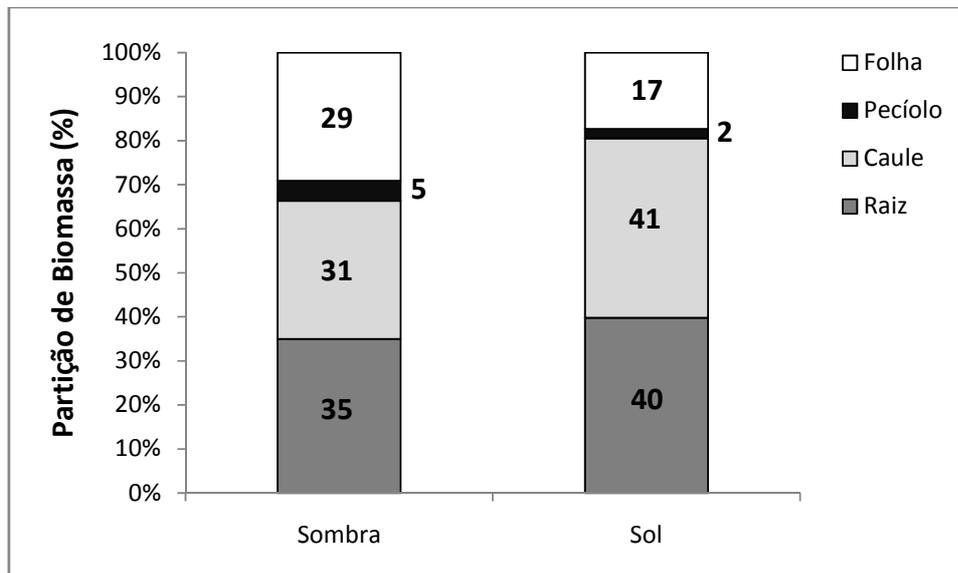


Figura 23: Distribuição percentual da partição de biomassa em folhas, pecíolos, caules e raízes em plantas de *S. terebinthifolius* crescidas sob 10% de FFFA (sombreamento) e 100% de FFFA (sol) após 130 do plantio.

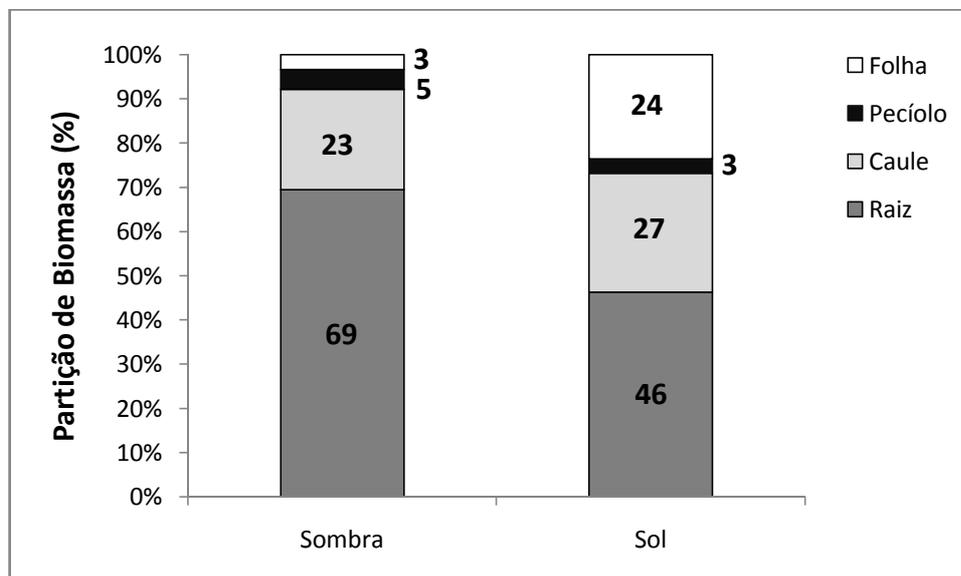


Figura 24: Distribuição percentual da partição de biomassa em folhas, pecíolos, caules e raízes em plantas de *C. floribundus* crescidas sob 10% de FFFA (sombreamento) e 100% de FFFA (sol) após 130 do plantio.

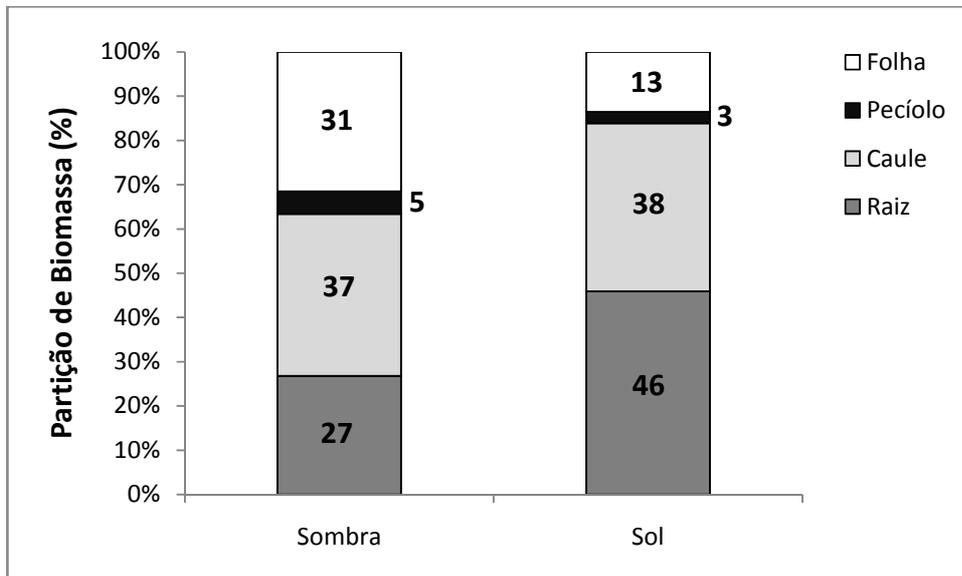


Figura 25: Distribuição percentual da partição de biomassa em folhas, pecíolos, caules e raízes em plantas de *C.urucurana* crescidas sob 10% de FFFA (sombreamento) e 100% de FFFA (sol) após 130 do plantio.

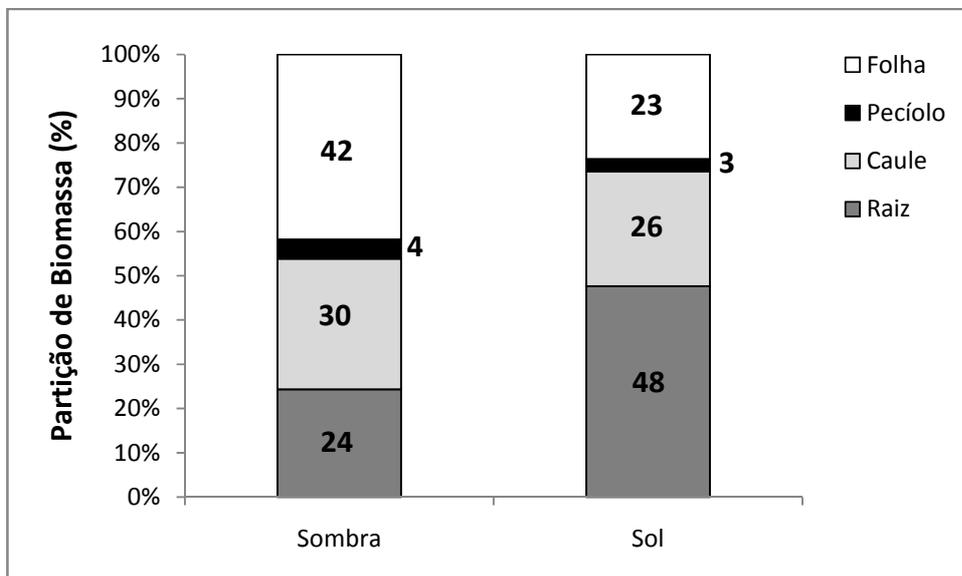


Figura 26: Distribuição percentual da partição de biomassa em folhas, pecíolos, caules e raízes em plantas de *C.pachystachya* crescidas sob 10% de FFFA (sombreamento) e 100% de FFFA (pleno sol) após 130 do plantio.

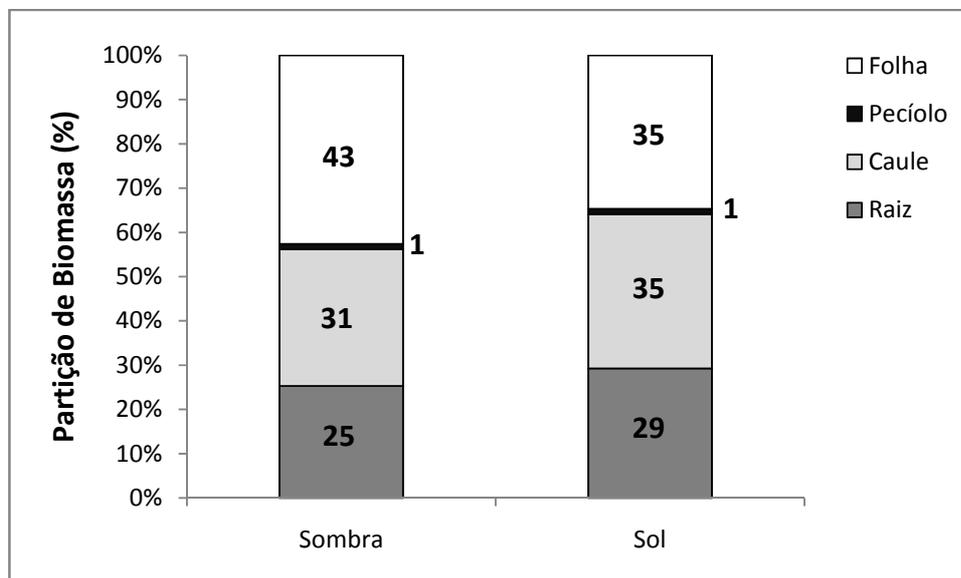


Figura 27: Distribuição percentual da partição de biomassa em folhas, pecíolos, caules e raízes em plantas de *H.courbaril* crescidas sob 10% de FFFA (sombreamento) e 100% de FFFA (sol) após 130 do plantio.

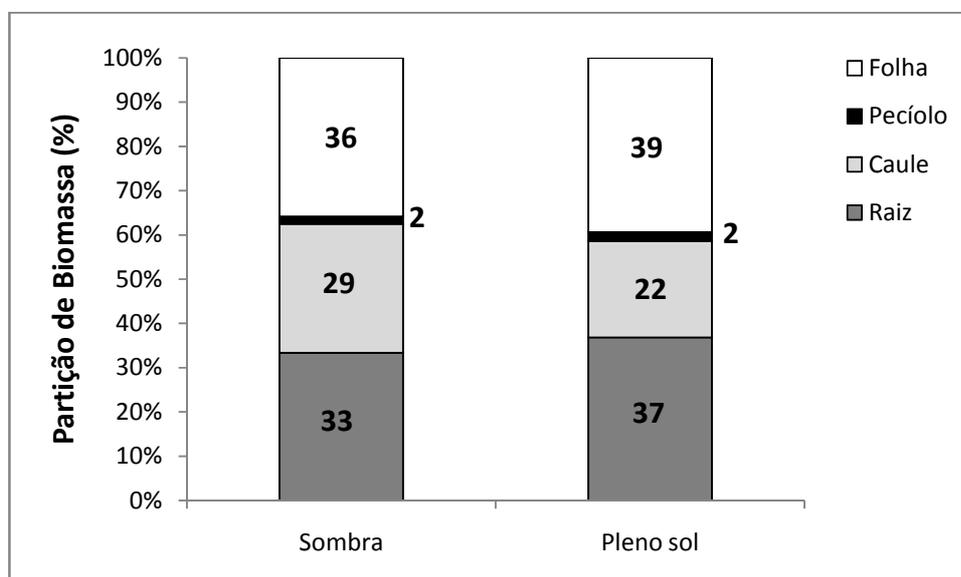


Figura 28: Distribuição percentual da partição de biomassa em folhas, pecíolos, caules e raízes em plantas de *E.leiocarpa* crescidas sob 10% de FFFA (sombreamento) e 100% de FFFA (sol) após 130 do plantio.

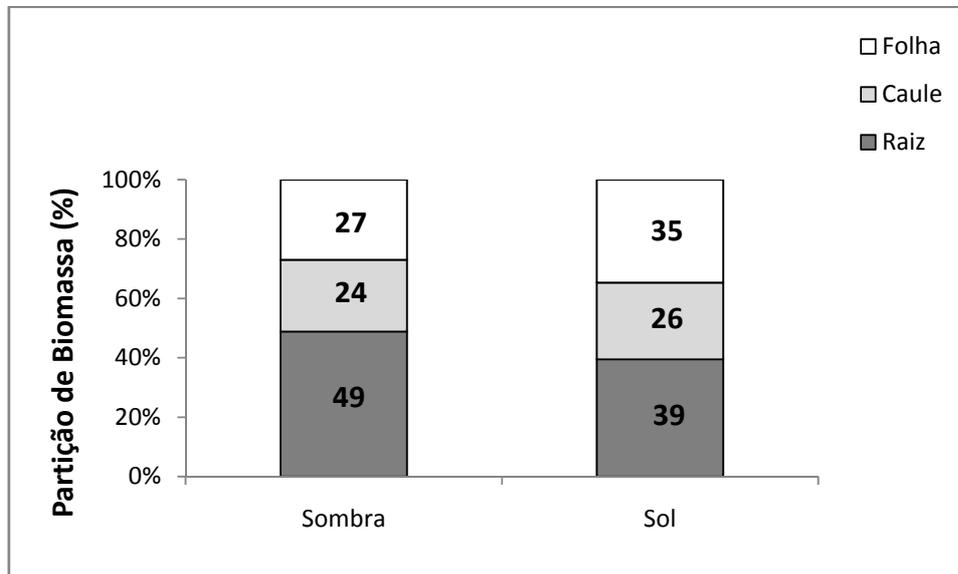


Figura 29: Distribuição percentual da partição de biomassa em folhas, pecíolos, caules e raízes em plantas de *C.legalis* crescidas sob 10% de FFFA (sombreamento) e 100% de FFFA (pleno sol) após 130 do plantio.

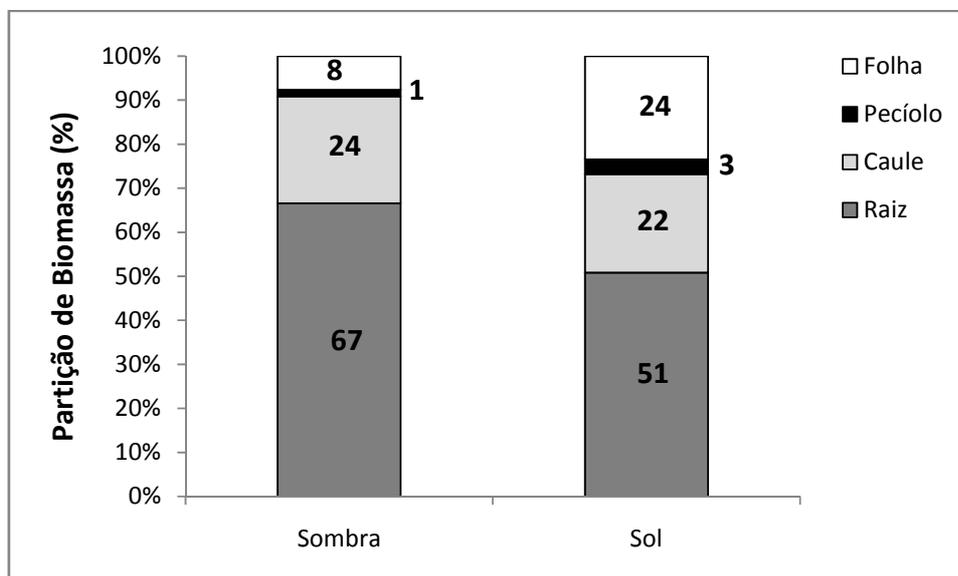


Figura 30: Distribuição percentual da partição de biomassa em folhas, pecíolos, caules e raízes em plantas de *T.roseo-alba* crescidas sob 10% de FFFA (sombreamento) e 100% de FFFA (pleno sol) após 130 do plantio.

VI. DISCUSSÃO

Todas as espécies sobreviveram aos dois tratamentos de disponibilidade de radiação (10% e 100% de FFFA). Após 130 dias do plantio, as espécies pioneiras apresentaram maior incremento em altura do que as espécies não pioneiras, tanto sob condição de sombreamento quanto sob condição de pleno sol. Esta diferença na resposta em relação às espécies sucessionais iniciais e tardias talvez seja uma consequência de diferenças no potencial de crescimento destas espécies (Souza e Válio, 2001). As espécies não pioneiras tiveram respostas menos pronunciadas entre os tratamentos de sol e sombra. Aparentemente, o menor incremento em altura das espécies sucessionais tardias esteja associada com a sua tolerância à sombra (Chazdon 1992). Mudanças no padrão de desenvolvimento destas espécies pode não conferir alguma vantagem em ambientes densamente sombreados (Krause *et al.*, 2001). As espécies que apresentaram maior incremento em altura foram *S.terebinthifolius* e *C.urucurana* (espécies pioneiras) nas duas condições de crescimento (sombra e sol) e o menor incremento em altura foi observado em *E.leiocarpa* (espécie não pioneira) sob as duas condições de FFFA .

Assim como ocorreu com o incremento em altura, o incremento no diâmetro do caule a altura do solo foi significativamente maior nas plantas sob condição de pleno sol do que nas plantas sob sombreamento nas espécies pioneiras. Nas espécies não pioneiras, maiores valores de diâmetro do caule também foram encontrados em plantas sob pleno sol do que plantas sob sombreamento, mas essa diferença não foi significativa. As espécies pioneiras apresentaram incremento no diâmetro do caule 484% maior nas plantas sob condição de pleno sol do que nas plantas sob sombreamento. Espécies que demandam luz, com seu grande potencial de taxa de crescimento, sofrem um tipo de resposta de inanição em sombra (Chazdon *et al.*, 2001). Talvez isto explique o baixo incremento do diâmetro do caule nas espécies pioneiras sob sombreamento. Segundo Atroch *et al.*, (2001) o crescimento em diâmetro tem relação mais direta com a fotossíntese do que o crescimento do caule porque depende mais dos carboidratos acumulados e de um balanço favorável entre fotossíntese líquida e respiração. A grande discrepância no incremento do diâmetro do caule entre as plantas sob sombreamento e pleno sol no grupo das espécies pioneiras pode ser explicado pelo fato de que estas espécies

(pioneiras) são consideradas muito exigentes de luz (Rodrigues, 1995) Além disso, as espécies pioneiras de florestas tropicais normalmente apresentam maior capacidade fotossintética que espécies de sombreamento (Nogueira *et al.*, 2004).

Os maiores incrementos no diâmetro do caule foram vistos em *C.pachystachya* e *C.urucurana* (pioneiras) enquanto os menores valores foram observados em *E.leiocarpa* (não pioneira). Interessantemente, os valores de incremento no diâmetro do caule de *C.floribundus* (pioneira) e *H.courbaril* (não pioneira) foram próximos em plantas sob condição de pleno sol. O diâmetro do caule é um importante fator, pois além da sustentação, plantas com maior diâmetro apresentam melhores condições de sobrevivência por apresentarem maior capacidade de formação e crescimento de raízes novas (Reis *et al.*, 1991).

O incremento no número de folhas foi maior sob condição de pleno sol nas espécies pioneiras do que na condição de sombra. Nas espécies não pioneiras apenas *C.legalis* teve maior incremento significativo em folhas sob condição de sol que de sombra. Neste trabalho as espécies pioneiras sob 10% FFFA (sombreamento) ficaram debilitadas ao final do experimento (130 dias) com grande perda de folhas, talvez isto tenha ocorrido porque em ambientes sombreados a fotossíntese é limitada pela disponibilidade de radiação fotossinteticamente ativa (Thompson, 1987) e a fotossíntese realizada por elas não tenha sido suficiente para sua saudável manutenção. O maior incremento no número de folhas foi observado em *S.terebinthifolius* (pioneira) e *C.legalis* (não pioneira) sob condição de pleno sol.

A área foliar específica (AFE) foi significativamente maior nas plantas sob condição de sombreamento do que nas plantas sob pleno sol em todas as espécies com exceção de *H.courbaril*. Segundo Senevirathna *et al.*, (2003) e Evans e Poorter (2001) as plantas adaptam-se a sombra expandindo a lâmina foliar, o que maximiza a interceptação da claridade e o uso desta luz mais eficientemente; isto leva ao aumento do ganho do carbono em irradiações solares baixas, com um investimento mais eficiente na maquinaria fotossintética. Por outro lado, sob alta radiação, as espécies tendem a restringir a transpiração e aumentar a capacidade fotossintética, apresentando folhas menores e mais grossas, o que resulta na diminuição da AFE (Lee *et al.*, 1996). Poorter (1999), estudando 15 espécies arbóreas de floresta chuvosa, de diferentes grupos sucessionais, sob diferentes gradientes de radiação solar também observou maior AFE nas plantas sob baixa radiação solar.

Praticamente toda a matéria orgânica acumulada numa planta durante seu

crescimento tem origem no processo fotossintético de fixação de carbono atmosférico, e isto representa em torno de 95% de toda sua biomassa seca. Assim, qualquer fator ambiental que afetar a fotossíntese afetará também o crescimento e acúmulo de biomassa (Syvertsen e Lloyd, 1994). Nesta pesquisa, todas as espécies tiveram maior MSR, MSC, MSP e MSL nas plantas sob 100% de FFFA do que nas plantas sob 10% de FFFA, o que refletiu então em maior MST nesta condição de crescimento. A MST foi muito maior nas espécies pioneiras sob condição de pleno sol quando comparadas com as espécies não pioneiras e com as plantas sob 10% de FFFA. Isso vem a confirmar que as espécies consideradas pioneiras, apresentam melhor performance na condição de sol por serem muito exigentes de luz. Segundo Krause *et al.*, (2001) em áreas desflorestadas na região Amazônica, as espécies sucessionais primárias mostram maior tolerância para condições de novos ambientes devido a alto grau de rusticidade e plasticidade fisiológica (alta radiação). Por outro lado em espécies sucessionais tardias (climácicas), as taxas de mortalidade são maiores e elas apresentam crescimento reduzido sendo o reflorestamento de áreas degradadas com estas espécies geralmente mal sucedidas (Gonçalves *et al.*, 2001).

A razão MSR/MSA foi em média maior nas plantas sob pleno sol do que sob sombreamento entre as espécies pioneiras, com exceção de *C.floribundus* que teve maior valor significativo desta razão nas plantas sob sombreamento. Sob baixa radiação as espécies tendem a aumentar a absorção de luz, particionando mais biomassa para as folhas que para as raízes e aumentando assim a área foliar, resultando em folhas mais finas e de maior área (Poorter, 1999).

As espécies não pioneiras *C.legalis* e *T.roseo-alba* tiveram valores da razão MSR/MAS significativamente mais alto nas plantas sob pleno sol do que em sombreamento.

Poorter e Nargel (2000) relatam que a partição da biomassa para os diferentes órgãos da planta depende da espécie, da ontogenia e do ambiente no qual a planta vive. Neste trabalho, todas as espécies pioneiras e as espécies não pioneiras *C.legalis* e *T.roseo-alba* sob condição de 100% de FFFA tiveram maior alocação da biomassa para raízes, caules e folhas respectivamente. Esses resultados concordam com Korner (1991) que afirma que a alta radiação conduz ao maior requerimento de partição de biomassa para raízes para buscar água e assim compensar a sua perda ocorrida através da transpiração. Menor biomassa pode ser

então investida no material foliar, que reduz fortemente o ganho fotossintético e o potencial de crescimento.

Nas plantas sob sombreamento, cada espécie comportou-se diferentemente sob a alocação de biomassa entre os órgãos, porém as espécies *C.urucurana*, *C.pachystachya*, *H.courbaril* e *E.leiocarpa* tiveram alocação de biomassa em maior quantidade para folhas e caules do que para as raízes. Segundo Duz *et al.*, (2004) e Alvarenga *et al.*, (2003) as espécies arbóreas em condições de baixa luminosidade tendem a usar mecanismos para melhorar a absorção da luz, alocando mais biomassa para as folhas do que para as raízes.

Os valores de maior alocação da biomassa para raízes ao invés da parte aérea nas espécies *S.terebinthifolius* e *C.floribundus* sob condição de sombreamento aconteceu por que ao final do experimento (após 130 dias do plantio) essas espécies tiveram aspecto muito debilitado com a perda da maioria das folhas. A condição de 10% de luminosidade nestas espécies parece ser insuficiente para as suas sobrevivências.

Os resultados deste trabalho sugerem que as quatro espécies pioneiras aqui analisadas são muito mais tolerantes a alta luminosidade e aproveitam melhor essa condição para crescer em altura, número de folhas, diâmetro do caule e ganho de biomassa do que as quatro espécies não pioneiras, mostrando assim um desenvolvimento muito mais rápido. Entre as espécies não pioneiras tiveram melhor performance, sob alta luminosidade, as espécies *H.courbaril* e *T.roseo-alba* do que *C.legalis* e *E.leiocarpa* evidenciadas pelo maior incremento de biomassa e diâmetro do caule. A espécie *E.leiocarpa* foi a que apresentou os menores valores dos parâmetros de crescimento confirmando com isso a característica de crescimento lento das espécies secundárias tardias (Rodrigues, 1995).

VII. CONCLUSÕES

▶ As espécies pioneiras apresentaram maior incremento em altura, diâmetro do caule, e em número de folhas nas plantas sob condição de 100% de FFFA do que em 10% FFFA.

▶ Sob condição de 100% de FFFA, as espécies pioneiras tiveram maior incremento significativo em altura, diâmetro do caule e em número de folhas, do que as espécies não pioneiras.

▶ A AFE foi maior nas plantas sob condição de sombreamento do que sob pleno sol

▶ As espécies pioneiras apresentaram maiores valores significativos de MSR, MSC, MSP, MSL e, portanto de MST nas plantas sob pleno sol (100% de FFFA) do que nas plantas sob sombreamento (10% de FFFA). Além disso, esses parâmetros foram também maiores no grupo das espécies pioneiras comparados com as espécies não pioneiras.

▶ A partição de biomassa variou entre as espécies e os tratamentos (sombra e sol). No geral, as espécies sob pleno sol particionaram maior biomassa, respectivamente, para raiz, caule e folhas (a exceção de *H.courbaril* e *E.leiocarpa*).

▶ Sob sombreamento a partição de biomassa para os diferentes órgãos das plantas foi diferente para cada espécie.

▶ As quatro espécies pioneiras apresentaram desenvolvimento parecido sob condição de sombreamento e sob pleno sol.

▶ As espécies não pioneiras *E.leiocarpa* e *C.legalis* tiveram, no geral, menor desenvolvimento do que *H.courbaril* e *T.roseo-alba*.

Esses resultados evidenciam então a boa performance de crescimento e ganho de biomassa destas espécies pioneiras sob ambiente de alta radiação solar.

VIII. CONSIDERAÇÕES FINAIS

No contexto atual, em decorrência dos problemas ambientais associadas ao incremento de gases de efeito estufa, desmatamento e mudanças de uso da terra, no presente século são previstas significativas alterações no clima que podem levar ao aquecimento global, com incremento da temperatura, provavelmente entre 3-5°C, além de secas e severas alterações nos padrões de precipitação (IPCC, 2007). Neste cenário nada otimista, o conhecimento das respostas ecofisiológicas e características adaptativas e aclimatação das espécies arbóreas de vida longa serão essenciais para permitir a sobrevivência das florestas tropicais. Além disso, as espécies arbóreas são classificadas quanto aos estágios sucessionais em plantas pioneiras e não pioneiras. No entanto, as definições dos grupos existentes nem sempre são claras, nem proporcionam informação exata sobre a capacidade de tolerância ou aclimatação das espécies a diferentes fatores do meio ambiente.

No Brasil, apesar de sua grande relevância, as características de sensibilidade ou tolerância à fotoinibição das espécies da sucessão vegetal, pioneiras e não pioneiras (secundárias iniciais ou tardias) são praticamente desconhecidas. Nos projetos de reflorestamento, dado que as mudas são plantadas em ambientes abertos sob alta radiação, a predisposição para sofrer tanto estresse luminoso quanto hídrico é muito alta. Portanto levando-se em consideração todos esses fatores os estudos bioquímicos e fisiológicos em espécies arbóreas nativas tropicais são de extrema importância.

Neste trabalho, a hipótese de que as espécies pioneiras teriam melhor resposta em situação de provável formação de radicais livres, sob alto fluxo de fótons fotossinteticamente ativos (estresse luminoso), do que as espécies não pioneiras foi confirmada. A confirmação da hipótese se deu pelo fato das espécies pioneiras apresentarem maior eficiência quântica máxima do fotossistema II, evidenciada pelos maiores valores da razão F_v/F_m e pela maior atividade das enzimas antioxidantes SOD e CAT, do que as espécies não pioneiras quando em situação de alta radiação.

As plantas não apresentaram respostas acentuadas no sistema antioxidante e na eficiência quântica máxima do fotossistema II (F_v/F_m) quando foram submetidas à umidade do solo que representou 50% da capacidade de campo. Por tanto, a

deficiência hídrica do solo gerada por esse tratamento, aparentemente foi muito leve e não chegou a causar estresse hídrico evidente nas plantas. Isso foi confirmado pela manutenção do conteúdo relativo de água das folhas em ambos os grupos sucessionais, pioneiras e não pioneiras. No entanto é importante salientar que nesse experimento as medições foram realizadas somente no horário das 6:00h, horário de baixo nível de radiação. Em função dos resultados encontrados nesse experimento hídrico, sugere-se a complementação deste trabalho com imposição de níveis mais severos de déficit hídrico em combinação com alta radiação, situação esta que deve elevar a maior produção de radicais livres nas células. A única espécie afetada foi a não pioneira *C.legalis* mostrando a sua maior vulnerabilidade.

Os maiores valores significantes nos parâmetros de crescimento e no incremento em biomassa encontrado nas espécies pioneiras sob alta radiação, quando comparadas com as espécies não pioneiras confirmou a hipótese de que as espécies de sucessão inicial possuem melhor e mais rápido desenvolvimento sob ambientes ensolarados do que as espécies não pioneiras, permitindo, possivelmente melhor sucesso quando plantadas em áreas deflorestadas do que as espécies não pioneiras.

A informação gerada neste trabalho permitiu uma melhor caracterização bioquímica da sensibilidade e tolerância destas espécies de diferentes grupos sucessionais ao estresse hídrico e luminoso e poderá ser muito útil para auxiliar o manejo de plantas em projetos de recomposição florestal além de contribuir na melhor classificação sucessional das espécies em estudo. No entanto, é evidente a importância de estudar também outras enzimas do sistema antioxidativo, bem como dos mecanismos antioxidativos não-enzimáticos sob diversos fatores adversos, como alta radiação e maior deficiência hídrica, associadas a alta temperatura como as que ocorrem na natureza, para que o conjunto das informações geradas possibilite estratégias adequadas de melhoramento em programas de reflorestamentos.

IX. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Almeida S.M.Z., Soares A.M., Castro E.M. Vieira C.V., Gajego E.B.** (2005) Alterações morfológicas e alocação de biomassa em plantas jovens de espécies florestais sob diferentes condições de sombreamento, *Ciência Rural*, Santa Maria v35 n1 pp.62-68.
- Alvarenga A.A., Castro E.M., Lima Junior E.C., MAgalhães M.M.** (2003) Effects of different light levels on the initial growth and photosynthesis of *Croton urucurana* Baill. in southeastern Brazil. *Revista Árvore* 27, 53-57.
- Atroch E.M.A.C., Soares A.M., Alvarenga A.A., Castro E.M.** (2001) Crescimento, teor de clorofilas, distribuição de biomassa e características anatômicas de plantas jovens de *Bauhinia forficata* Link submetidas a diferentes condições de sombreamento. *Ciência Agrotécnica* 25, 853-862.
- Barbosa L.M. e colaboradores** (2006) Manual para recuperação de áreas degradadas do Estado de São Paulo : Matas Ciliares do Interior Paulista, Instituto de Botânica, pp129.
- Bazzaz F.** (1979) The physiological ecology of plant succession. *Annual Review of Ecology and Systematics* 10, 351-371.
- Beadle C.L.** (1993) Growth analysis. In "Photosynthesis and production in a changing environment: a field and laboratory manual" (Hall D.O., Scurlock J.M.O., Bolhàr-Nordenkamp H.R., Leegood R.C., Long S.P. eds.). London, Chapman & Hall. pp.36-46.
- Chazdon R.L.** (1992) Photosynthetic plasticity of two rain forest shrubs across natural gap transects. *Oecologia* 92, 586-595.

- Choudhury N.K., Behera R.K.** (2001) Photoinhibition of photosynthesis: Role of carotenoids in photoprotection of chloroplast constituents. *Photosynthetica* 39, 481-488.
- Claussen J.W.** (1996) Acclimation abilities of three tropical rainforest seedlings to an increase in light intensity. *Forest Ecology and Management* 80, 245-255.
- Critchly C.** (1998) *Photosynthesis: A Comprehensive Treatise*. Cambridge. pp. 264-488.
- Cullen Jr.L., Rudian R., Pdua C.V.** (2006) Métodos de Estudo em Biologia da Conservação & Manejo da Vida, 2ª Edição, Curitiba, UFPR, pp.383-393
- Duz S.R., Siminski A., Santos M., Paulilo M.T.S.** (2004) Crescimento inicial de três espécies arbóreas da Floresta Atlântica em resposta à variação na quantidade de luz. *Revista Brasileira de Botânica* 27, 587-596.
- Evans J.R., Poorter H.** (2001) Photosynthetic acclimation of plants to growth irradiance: the relative importance of specific leaf area and nitrogen partitioning in maximizing carbon gain. *Plant, Cell and Environment* 24, 755-767.
- Gonçalves C.J.F., Marengo A.R., Vieira G.** (2001) Concentration of photosynthetic pigments and chlorophyll fluorescence of Mahogany and Tonka bean under two light environments. *Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal* 13, 149-157.
- Hanba Y.T., Kogami H., Terashima I.** (2002) The effect of growth irradiance on leaf anatomy and photosynthesis in *Acer* species differing in light demand. *Plant, Cell and Environment* 25, 1021-1030.
- Korner Ch.** (1991) Some often overlooked plant characteristics as determinants of plant growth: a reconsideration. *Functional Ecology* 5, 162-173.

- Krause G.H., Koroleva O.Y., Dalling W., Winter K.** (2001) Acclimation of tropical tree seedlings to excessive light in simulated tree-fall gaps. *Plant, Cell and Environment* 24, 1345-1352.
- Lee D.W., Baskaran K., Mansor M., Mohamad H., Yap S.K.** (1996) Irradiance and spectral quality affect Asian tropical rain forest tree seedling development. *Ecology* 77, 568-580.
- Lorenzi H.** (2002) Árvores Brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil. 2.ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum. pp 368.
- Mamade M.C.H., Souza V.C., Prodo J.** (2007) Livro Vermelho das Espécies Vegetais Ameaçadas do Estado de São Paulo, São Paulo, Instituto de Botânica, pp165.
- Nogueira A., Martinez C.A., Ferreira L.L., Prado C.H.B.A.** (2004). Photosynthesis and water use efficiency in twenty tropical tree species of differing succession status in a Brazilian reforestation. *Photosynthetica* 42, 351-356.
- Poorter H., Nagel O.** (2000) The role of biomass allocation in the growth response of plants to different levels of light, CO₂, nutrients and water: a quantitative review. *Australian Journal of Plant Physiology* 27, 595-607.
- Poorter L.** (1999) Growth responses of 15 rain-forest tree species to a light gradient: the relative importance of morphological and physiological traits. *Functional Ecology* 13, 396-410.
- Powles S.B.** (1984) Photoinhibition of photosynthesis by visible light. *Annual Review of Plant Physiology* 35, 15-44.
- Rêgo G.M., Possamai E.** (2004) Avaliação dos teores de clorofila e crescimento de mudas do Jequitibá-Rosa (*Cariniana legalis*). Comunicado Técnico. Embrapa, Brasília, pp.128

- Reis M.G.F., Reis G.G., Regazzi A.J., Leles P.S.S.** (1991) Crescimento e forma do fuste de mudas de jacarandá-da-bahia (*Dalbergia nigra* Fr. Allem.), sob diferentes níveis de sombreamento e tempo de cobertura. *Revista Árvore* 15, 23-34.
- Rodrigues R.R.** (1995) A sucessão florestal. *In*: “Ecologia e Preservação de uma Floresta Tropical Urbana” (Morellato, L.P.C. Leitão-Filho, H. F. eds.). Campinas, Editora da Unicamp. pp.30-35.
- Senevirathna A.M.W.K. Stirling C.X.M, Rodrigo V.H.L** (2003) Growth, photosynthetic performance and shade adaptation of rubber (*Hevea brasiliensis*) grown in natural shade. *Tree Physiology* 23, 705-712.
- Smith H., Whitelam G.C.** (1990) Phytochrome, a family of photoreceptors with multiple physiological roles. *Plant, Cell and Environment* 13, 695-707.
- Souza R.P., Válio I.F.M.** (2001) Seed size, seed germination and seedling survival of Brazilian tropical trees differing in successional status. *Biotropica* 33, 447-457.
- Syvertsen J.P., Lloyd J.** (1994) Citrus. *In* “Handbook of environmental physiology of fruits crops: subtropical and tropical crops”: (Schaeffer B., Andersen P. ed.) Boca Raton, CRC Press, v.2, pp.65-99.
- Taiz L. e Zeiger E.** (2004) Fisiologia do estresse. *In*: “Fisiologia Vegetal” (Taiz L. e Zeiger E. eds.) Artmed. pp.613-643.
- Thompson L.K.** (1987) Irradiation stress. *In* “The physiology of plants under stress” (Hale M.G., Orcutt D.M. ed). New York, John Wiley e Sons, cap.7 pp 103-115.
- Vieira D.C.M., Gandolfi S.** (2006) Chuva de sementes e regeneração natural sob três espécies arbóreas em uma floresta em processo de restauração. *Revista Brasileira de Botânica* 29, 541-554.

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)