

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS



Viviane Camila de Oliveira

**EFEITO DA SATURAÇÃO HÍDRICA DO SOLO NA TAXA
DE ASSIMILAÇÃO DE CO₂ E NO DESENVOLVIMENTO DE
Calophyllum brasiliense Camb. (Clusiaceae)**

Este exemplar corresponde à redação final
da tese defendida pelo(a) candidato (a)
Viviane Camila de Oli-
veira
e aprovada pela Comissão Julgadora.

**Tese apresentada ao Instituto de
Biologia da Universidade de
Campinas para a obtenção do título
de Mestre em Biologia Vegetal.**

Orientador: Prof. Dr. Carlos Alfredo Joly

A handwritten signature in blue ink, appearing to read "C. Joly".

CAMPINAS, 2007

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DO INSTITUTO DE BIOLOGIA – UNICAMP

OL43e

Oliveira, Viviane Camila de
Efeito da saturação hídrica do solo na taxa de
assimilação de CO₂ e no desenvolvimento de *Calophyllum
brasiliense* Camb. (Clusiaceae) / Viviane Camila de
Oliveira. – Campinas, SP: [s.n.], 2007.

Orientador: Carlos Alfredo Joly.
Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual de
Campinas, Instituto de Biologia.

1. Carbono. 2. Fotossíntese. 3. Crescimento. 4.
Alagamento. I. Joly, Carlos Alfredo. II. Universidade
Estadual de Campinas. Instituto de Biologia. III. Título.

(scs/ib)

Título em inglês: Effect of flooding on net CO₂ assimilation and development of *Calophyllum
brasiliense* Camb (Clusiaceae).

Palavras-chave em inglês: Carbon; Photosynthesis; Growth; Flooding.

Área de concentração: Biologia Vegetal.

Titulação: Mestre em Biologia Vegetal.

Banca examinadora: Carlos Alfredo Joly, Marlene Aparecida Schiavinato, Rosana Marta Kolb.

Data da defesa: 26/02/2007.

Programa de Pós-Graduação: Biologia Vegetal.

Campinas, 26 de fevereiro de 2007

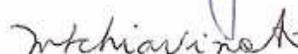
BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Carlos Alfredo Joly (Orientador)



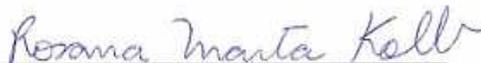
Assinatura

Profª. Dra. Marlene Aparecida Schiavinato



Assinatura

Profª. Dra. Rosana Marta Kolb



Assinatura

Prof. Dr. Marcos Pereira Marinho Aidar

Assinatura

Prof. Dr. Eduardo Arcoverde de Mattos

Assinatura

Aos meus pais, Ezilda e Álvaro,
que tanto me incentivaram na
execução deste trabalho. Dedico.

AGRADECIMENTOS

À Fundação de Apoio a Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), pela oportunidade na concessão da bolsa de estudos.

Ao Prof. Dr. Carlos Alfredo Joly, pela orientação, confiança, apoio e amizade.

Ao Prof. Dr. Marcos Pereira Marinho Aidar, pela imprescindível colaboração.

Às Professoras, Dra. Inês Cechin e Dra. Marlene Aparecida Schiavinato, pelas valiosas sugestões no exame de qualificação.

Aos Professores do Departamento de Botânica do Instituto de Biologia da UNICAMP, pela acessoria e valiosos ensinamentos.

Aos amigos, colegas e tantas pessoas que participaram colaborando com a execução deste trabalho, seja nas pesquisas de campo como no laboratório.

À minha família, em especial aos meus pais, pelo incentivo e apoio de sempre.

Ao Daniel De Angeles, pelos dias de paciência, companheirismo e cumplicidade, a quem tanto amo.

E enfim, a Deus, que permitiu a presença de todas estas pessoas em minha vida.

SUMÁRIO

RELAÇÃO DE FIGURAS.....	vii
RELAÇÃO DE TABELAS.....	xi
RESUMO.....	xii
I. INTRODUÇÃO GERAL	1
II. CARACTERIZAÇÃO DA ESPÉCIE	5
III. OBJETIVOS GERAIS	7
IV. CAPÍTULO 1: CRESCIMENTO INICIAL DE <i>Calophyllum brasiliense</i> Camb. (Clusiaceae) SOB CONDIÇÕES DE SATURAÇÃO HÍDRICA DO SOLO.....	8
1. Introdução	8
2. Material e Métodos	10
2.1. Material vegetal e delineamento experimental.....	10
2.2. Análise de crescimento.....	11
2.3. Características foliares.....	12
2.4. Concentração de carbono e nitrogênio e análises de composição isotópicas.....	13
2.5. Análise estatística.....	13
3. Resultados e Discussão.....	14
V. CAPÍTULO 2: EFEITO DA SATURAÇÃO HÍDRICA DO SOLO NA TAXA DE ASSIMILAÇÃO DE CO ₂ DE <i>Calophyllum brasiliense</i> Camb. (Clusiaceae).....	33
1. Introdução.....	33
2. Material e Métodos.....	35
2.1. Material vegetal e condições de cultivo.....	35
2.2. Taxa de assimilação de CO ₂	35
2.3. Fluorescência da clorofila <i>a</i>	37
2.4. Extração e determinação de pigmentos	38
2.5. Taxa de assimilação de CO ₂ sob condições de campo.....	39
2.6. Análise estatística.....	41

3. Resultados e Discussão.....	42
VI. CAPÍTULO 3: ALTERAÇÕES ANATÔMICAS EM <i>Calophyllum brasiliense</i> Camb. (Clusiaceae) SUBMETIDA A CONDIÇÕES DE SATURAÇÃO HÍDRICA DO SOLO.	69
1. Introdução.....	69
2. Material e Métodos.....	71
2.1. Material vegetal e condições de cultivo.....	71
2.2. Alterações morfológicas.....	71
2.3. Alterações anatômicas.....	72
3. Resultados e Discussão.....	73
VII. CONCLUSÕES GERAIS.....	81
VIII. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	83

RELAÇÃO DE FIGURAS

- Figura 1.** Taxa de Crescimento Relativo (TCR) de plantas de *Calophyllum brasiliense* não-alagadas (colunas vazias) e alagadas (colunas cheias) ao longo do período experimental.....22
- Figura 2.** Conteúdo de Umidade Específica (SUC), Massa Foliar Específica (MFA) e Densidade Foliar (DEN) de plantas de *Calophyllum brasiliense* sob condições controle (não-alagadas) e alagadas.....25
- Figura 3.** Assimilação de CO₂ (A) em função da radiação fotossinteticamente ativa (RAF) de plantas de *Calophyllum brasiliense*.....42
- Figura 4.** Em a, Assimilação de CO₂ (A) e em b, transpiração (E) ao longo das horas do dia de plantas de *Calophyllum brasiliense*.....44
- Figura 5.** Assimilação de CO₂ (A) em função da radiação fotossinteticamente ativa (RAF) de plantas de *Calophyllum brasiliense* não alagadas (símbolos vazios) e alagadas por dois dias (símbolos cheios).....45
- Figura 6.** Em a, Assimilação de CO₂ (A) e em b, transpiração (E) ao longo das horas do dia de plantas de *Calophyllum brasiliense* não alagadas (símbolos vazios) e alagadas por dois dias (símbolos cheios).....47
- Figura 7.** Em a, Assimilação de CO₂ (A) e em b, condutância estomática (g_s) ao longo do tempo, após o alagamento de um indivíduo de *Calophyllum brasiliense*.....48
- Figura 8.** Assimilação de CO₂ (A), Transpiração (E), Condutância estomática (g_s) e Concentração interna de CO₂ (C_i) de plantas de *Calophyllum brasiliense* não alagadas (símbolos vazios) e alagadas (símbolos cheios).....50

Figura 9. Razão entre a concentração interna e externa de CO ₂ (Ci/Ca) e Eficiência do Uso da Água (EUA) de plantas de <i>Calophyllum brasiliense</i> não alagadas (símbolos vazios) e alagadas (símbolos cheios).....	51
Figura 10. Assimilação de CO ₂ (A), Transpiração (E), Condutância estomática (g _s) e Concentração interna de CO ₂ (Ci) de plantas de <i>Calophyllum brasiliense</i> não alagadas (símbolos vazios) e alagadas (símbolos cheios).....	54
Figura 11. Rendimento quântico efetivo do PS II (Φ) e Taxa de transporte de elétrons (ETR) em função da Densidade de fluxo de fótons fotossinteticamente ativos (PPFD) de plantas de <i>Calophyllum brasiliense</i> não alagadas (controle) e alagadas por 3 e 15 dias.....	55
Figura 12. Razão entre a concentração interna e externa de CO ₂ (Ci/Ca) de plantas de <i>Calophyllum brasiliense</i> não alagadas (símbolos vazios) e alagadas (símbolos cheios).....	58
Figura 13. Eficiência do Uso da Água (EUA) de plantas de <i>Calophyllum brasiliense</i> não alagadas (símbolos vazios) e alagadas (símbolos cheios).....	58
Figura 14. Concentração de Clorofila <i>a</i> , <i>b</i> e <i>a + b</i> (Cl), de Xantofilas + Carotenos (<i>x + c</i>) e Razão entre Clorofila <i>a</i> e <i>b</i> (Razão <i>a/b</i>) de plantas de plantas de <i>Calophyllum brasiliense</i> não alagadas (colunas vazias) e alagadas por 15 dias (colunas cheias).....	60
Figura 15. Concentração de Clorofila <i>a</i> , <i>b</i> e <i>a + b</i> (Cl), de Xantofilas + Carotenos (<i>x + c</i>) e Razão entre Clorofila <i>a</i> e <i>b</i> (Razão <i>a/b</i>) de plantas de <i>Calophyllum brasiliense</i> não alagadas (colunas vazias) e alagadas por 150 e 180 dias (colunas cheias).....	61
Figura 16. Assimilação de CO ₂ (A) em função da radiação fotossinteticamente ativa (RAF) de plantas de <i>Calophyllum brasiliense</i> não alagadas (símbolos vazios) e alagadas por 180 dias (símbolos cheios).....	62

Figura 17. Assimilação de CO ₂ (A) e Transpiração (E) ao longo das horas do dia de plantas de <i>Calophyllum brasiliense</i> sob condição de campo, no mês de janeiro de 2006.....	63
Figura 18. Assimilação de CO ₂ (A) e Transpiração (E) ao longo das horas do dia de plantas de <i>Calophyllum brasiliense</i> sob condição de campo, no mês de agosto de 2006.....	64
Figura 19. Assimilação de CO ₂ (A) em função da Radiação Fotossinteticamente Ativa (RAF) de plantas de <i>Calophyllum brasiliense</i> sob condição de campo, no mês de janeiro de 2006.....	66
Figura 20. Assimilação de CO ₂ (A) em função da Radiação Fotossinteticamente Ativa (RAF) de plantas de <i>Calophyllum brasiliense</i> sob condição de campo, no mês de agosto de 2006.....	66
Figura 21. Assimilação máxima (Amáx) e Ponto de saturação luminoso (Psat) de plantas de <i>Calophyllum brasiliense</i> sob condições de campo, nos meses de janeiro e de agosto de 2006.....	67
Figura 22. Plantas de <i>Calophyllum brasiliense</i> alagadas por 30 (a) e 120 dias (b); notar a presença de inúmeras lenticelas hipertrofiadas.....	73
Figura 23. Seção transversal caulinar com vista geral de uma lenticela hipertrofiada (estrela) de um indivíduo de <i>Calophyllum brasiliense</i> alagado por 30 dias.....	74
Figura 24. Planta de <i>Calophyllum brasiliense</i> alagada por 180 dias; notar a presença de raízes adventícias.....	77
Figura 25. Seção transversal caulinar de um indivíduo de <i>Calophyllum brasiliense</i> não alagado (a) e alagado por 30 dias (b).....	78

Figura 26. Seção transversal da raiz principal de um indivíduo de *Calophyllum brasiliense* não alagado (a) e alagado por 30 dias (b).....79

RELAÇÃO DE TABELAS

- Tabela 1.** Mudanças no crescimento de plantas de *Calophyllum brasiliense* Camb. (Clusiaceae) sob condições controle (não-alagadas) e alagadas.....17
- Tabela 2.** Massa seca (g) do caule, folhas e raízes e razão raiz/parte aérea de plantas de *Calophyllum brasiliense* Camb. (Clusiaceae) sob condições controle (não-alagadas) e alagadas.....19
- Tabela 3.** Concentração de carbono (%C) e nitrogênio (%N) em folhas, caule e raízes de plantas de *Calophyllum brasiliense* sob condições controle (não-alagadas) e alagadas.....27
- Tabela 4.** Relação entre carbono e nitrogênio (C/N) em folhas, caule e raízes de plantas de *Calophyllum brasiliense* sob condições controle (não-alagadas) e alagadas.....29
- Tabela 5.** Assinatura isotópica de carbono ($\delta^{13}\text{C}$) em folhas, caule e raízes de plantas de *Calophyllum brasiliense* sob condições controle (não-alagadas) e alagadas.....30
- Tabela 6.** Assinatura isotópica de carbono ($\delta^{13}\text{N}$) em folhas, caule e raízes de plantas de *Calophyllum brasiliense* sob condições controle (não-alagadas) e alagadas.....32

RESUMO

A inundação desencadeia uma série de processos que influenciam as características físico-químicas e biológicas do solo como meio para o desenvolvimento das plantas e nestas condições, as plantas podem apresentar adaptações morfológicas, anatômicas e metabólicas, de forma a minimizar os efeitos da falta de oxigênio. Dentre as espécies típicas de ambientes inundáveis, *Calophyllum brasiliense* Camb. (Clusiaceae) é uma das espécies arbóreas de maior distribuição e seu desenvolvimento está adaptado à inundação temporária do solo. O presente trabalho teve como objetivo estudar o efeito da saturação hídrica do solo na taxa de assimilação de CO₂ e no desenvolvimento de *C. brasiliense*. Neste sentido foram determinados os parâmetros fotossintéticos básicos, as respostas de crescimento, as características foliares e as possíveis alterações morfo-anatômicas em indivíduos jovens crescendo em condições controle (mantidos em capacidade de campo) e submetidos à saturação hídrica do solo. Embora a saturação hídrica do solo tenha afetado significativamente a taxa de assimilação do carbono de indivíduos de *C. brasiliense*, a habilidade da espécie de continuar o crescimento sob condições de alagamento, caracteriza-a como tolerante ao alagamento; isto explica a ampla distribuição da espécie, sempre associada a ambientes florestais sujeitos a alagamentos. Além disso, foram verificadas alterações morfo-anatômicas em resposta ao estresse imposto, como hipertrofia de lenticelas e hipertrofia da base do caule. Os dados obtidos mostraram claramente que os efeitos do estresse ocasionado pela saturação hídrica do solo foram gradativos e se intensificaram com o aumento da duração dessa condição. Portanto, a duração do alagamento é um fator crítico para a manutenção das trocas gasosas e do crescimento em plantas de *C. brasiliense*. A sobrevivência das plantas mesmo durante um longo período de alagamento, como o imposto neste experimento, é um indicativo de que esta espécie pode ser utilizada em programas de restauração de vegetação exposta a ambientes com saturação hídrica do solo, como restingas e florestas de galeria.

INTRODUÇÃO GERAL

A possibilidade de uma espécie vegetal ocorrer em um determinado ambiente está diretamente relacionada à capacidade dos indivíduos de manterem um balanço positivo de carbono ao longo do seu estabelecimento, crescimento e reprodução (LAMBERS *et al.* 1998). Portanto, o sucesso na ocupação de um ambiente é influenciado por características intrínsecas do vegetal e está relacionado à forma com que os indivíduos respondem à variação dos fatores bióticos e abióticos.

Considerando que os recursos se encontram distribuídos espacialmente e temporalmente em um dado ambiente, pode-se esperar que diferentes espécies apresentem capacidades distintas para a aquisição de água, nutrientes e captação de energia luminosa. No entanto, faltam estudos que contribuam para uma previsão das prováveis respostas das plantas à natureza interativa das condições ambientais em ambientes tropicais (DE MATTOS 1998, DE MATTOS *et al.* 2004).

A Floresta Ombrófila Densa Atlântica é um dos biomas florestais mais ameaçados do mundo. Considerada um “hot spot” (MYERS *et al.* 2000), segundo a classificação do IBGE, se estendia desde o Cabo de São Roque, no estado do Rio Grande do Norte, até o município de Osório, no Rio Grande do Sul. Levantamentos recentes mostram que restam apenas 7,6% da cobertura original da Mata Atlântica *sensu lato* e que grande parte dos remanescentes contínuos estão no estado de São Paulo (SOS MATA ATLÂNTICA 1993).

Estudos sobre o comportamento de muitas espécies são ainda necessários para conhecer os padrões de regeneração de florestas tropicais (CLARCK & CLARCK 1987, HEIDEMAN 1989), particularmente nos ambientes alagáveis, raramente estudados (SCARANO *et al.* 1997), como a Floresta de Restinga (ASSIS 1999).

A Floresta de Restinga é intensamente associada a inundações sazonais, o que faz com que a vegetação sofra frequentemente com fatores estressantes resultantes do alagamento do solo, tais como hipoxia e anoxia (KOZLOWSKI 1997, PEZESHKI 2001).

O alagamento modifica uma série de parâmetros físicos, químicos e biológicos do solo, alterando drasticamente as condições ambientais. A redução na disponibilidade de oxigênio no solo, e conseqüentemente para o sistema radicular, constitui a principal limitação para o crescimento de plantas submetidas à inundação (PEZESHKI 1994, 2001).

O ar existente nos poros de solos drenados, geralmente em concentrações próximas às da atmosfera (DREW 1992), fornece oxigênio em quantidades suficientes para a respiração das raízes e dos microrganismos. Com o alagamento do solo, a maior parte do oxigênio é substituída por água, limitando a disponibilidade para a respiração das raízes, em função da baixa solubilidade e da menor difusão do O_2 na água em relação ao ar, o que reduz a troca de O_2 entre a atmosfera e o solo inundado (LOBO & JOLY 2000, PONAMPERUMA 1984).

De acordo com PONAMPERUMA (1984), o alagamento leva ainda a um aumento significativo das concentrações da forma solúvel de íons como o Fe^{2+} e o Mg^{2+} , o que acarreta mudanças do pH e no potencial de redox do solo.

Adicionalmente, em condições hipóxicas e/ou anóxicas, a substituição de microrganismos aeróbicos por anaeróbicos pode levar ao acúmulo de gases e outras substâncias a níveis potencialmente tóxicos para as plantas (PONAMPERUMA 1984).

Nestas condições, tanto a germinação das sementes quanto o crescimento das plantas podem ser comprometidos, dependendo da espécie e da duração da inundação (KOZLOWSKI 1984).

Muitas espécies vegetais podem morrer quando expostas até mesmo a breves períodos de alagamento; outras são capazes de desenvolver diversas respostas que as capacitam a sobreviver sob tais condições (CRAWLEY 1997).

Os efeitos do alagamento em geral são múltiplos e complexos e incluem desde limitação na difusão dos gases e redução dos nutrientes existentes no solo a um aumento na suscetibilidade das plantas a doenças (SINGH *et al.* 2001).

Segundo PEZESHKI (1994) logo após o alagamento do solo, a redução de oxigênio na rizosfera pode induzir a diminuição da condutância estomática e a redução da taxa fotossintética. Outros efeitos adversos acarretados pelo alagamento podem ser: redução no crescimento da parte aérea e da raiz, redução na produção de biomassa, aceleração da senescência e da mortalidade (BLOM *et al.* 1994, PEZESHKI 1994, KOZLOWSKI 1997, GRAVATT & KIRBY 1998, LOPEZ & KURSAR 1999).

No entanto, diversos estudos têm relatado que os efeitos da inundação do solo sobre as plantas superiores podem variar de catastróficos a benéficos, dependendo da espécie e genótipo da planta, da intensidade e tempo de duração do alagamento e da variedade das condições locais (KOZLOWSKI 1982, 1984, CRAWFORD 1989, KOZLOWSKI & PALLARDY 1997, KOZLOWSKI 2002).

Sob condições de alagamento, a planta pode apresentar estratégias específicas de tolerância, a fim de garantir sua sobrevivência às condições de saturação hídrica do solo e que possibilitem o seu crescimento nesse ambiente. Estudos recentes têm sugerido que tolerância ao alagamento de árvores tropicais pode ser mais comum do que se havia pensado anteriormente (JOLY & CRAWFORD 1982, ANDRADE *et al.* 1999, LOPEZ & KURSAR 2003, MIELKE *et al.* 2003).

A capacidade das espécies de se mostrarem tolerantes e adaptadas a períodos de encharcamento do solo ou mesmo de inundações pode ser atribuída a mecanismos de adaptações morfológicas, anatômicas e/ou metabólicas, tais

como desenvolvimento de lenticelas hipertrofiadas, raízes superficiais e adventícias, fundamentais no transporte e difusão de oxigênio para as partes submersas das plantas (HOOK 1984; JOLY 1991; CRAWFORD & BRÄNDLE 1996).

Quando submetidas a ambientes hipóxicos, as plantas também podem desviar a rota metabólica aeróbica para anaeróbica, resultando na produção de gás carbônico e baixa quantidade de ATP, o que pode ser compensada pela aceleração da glicólise, aumentando a produção de produtos fitotóxicos como etanol, lactato e acetaldeído (JOLY 1994, LOBO & JOLY 2000).

Os estudos referentes à tolerância ao alagamento e deficiência de O₂ nas plantas tiveram origem nos países temperados e em geral estão relacionados com espécies agrícolas (KOLB 1998). Nas regiões tropicais, onde existe a maior diversidade de ecossistemas sujeitos a inundações (JOLY 1991) esta linha de pesquisa é mais recente e apresenta um grande potencial para estudos. Ainda segundo KOLB (1998), nos últimos anos vem crescendo o número de trabalhos motivadas a elucidar os mecanismos adaptativos que permitem a ocorrência de vegetação em locais sazonal ou permanentemente alagados, buscando suprir a grande carência de conhecimento nesta área com espécies arbóreas tropicais.

Face à grande preocupação atual com a preservação de áreas naturais e recuperação de áreas já degradadas, em especial da Floresta Atlântica, a compreensão das estratégias que permitem a sobrevivência das espécies dessa formação vegetal, bem como do seu comportamento ecofisiológico é indispensável para o desenvolvimento de planos de manejo e reintrodução de espécies nativas, uma vez que subsídios importantes podem ser obtidos do conhecimento da capacidade das espécies para a assimilação de carbono.

De acordo com LOBO & JOLY (2000), deve-se procurar aliar estudos morfo-anatômicos, bioquímicos e ecofisiológicos, buscando gerar conhecimento necessário para a prática da conservação e manejo de fragmentos florestais.

II. CARACTERIZAÇÃO DA ESPÉCIE

Calophyllum brasiliense Camb., popularmente conhecido como guanandi, olandi ou jacareúba, é uma espécie arbórea pertencente a família Clusiaceae, que pode chegar a atingir 20 a 30m de altura, com tronco de 40 a 60cm de diâmetro (LORENZI 1992).

Possui tronco reto, cilíndrico, de casca dura, escura e muito fissurada. A copa geralmente é larga, umbeliforme, densamente foliada, de cor verde-escura. Suas folhas são coriáceas, glabras e apresentam numerosas nervuras laterais paralelas, bem próximas entre si, de aspecto muito característico. As flores são polígamas, arranjadas em inflorescências racemiformes e seus frutos são drupas globosas, com 1,5 a 2cm de diâmetro (REITZ *et al.* 1978).

Segundo LORENZI (1992), por volta de 1800, o governo imperial reservou para o Estado o monopólio de exploração da madeira do guanandi para o uso exclusivo na confecção de mastros e vergas de navios, portanto, sendo a primeira madeira de lei do país. Ainda hoje sua madeira é intensamente utilizada na confecção de mastros de navios, além de vigas para a construção civil, assoalhos, marcenaria e carpintaria.

A espécie é perenifólia, heliófita ou de luz difusa, podendo ser encontrada tanto em florestas primárias densas como em vários estádios de sucessão secundária, como capoeiras e capoeirões (LORENZI 1992).

Dentre as espécies típicas de ambientes inundáveis, *C. brasiliense* é uma das espécies arbóreas de maior distribuição, ocorrendo desde a América Central até o Litoral Sul do Brasil, na Floresta Amazônica, Floresta Atlântica e de Restinga e em Florestas de Galeria do interior do país, sempre associada à áreas alagáveis (REITZ *et al.* 1978, SCHIAVINI 1992, OLIVEIRA-FILHO & RATTER 1995), onde a espécie parece se desenvolver com maior sucesso (FISCHER & DOS SANTOS

2001). Segundo HENRIQUES *et al.* (1986) esta é uma espécie arbórea dominante em Restingas.

Plantas jovens de *C. brasiliense* têm a capacidade de crescer mesmo quando submetidas à situação de hipoxia, enquanto que em condições normais de arejamento do solo a espécie tem crescimento lento (MARQUES & JOLY 2000).

Ao contrário de muitas espécies ocorrentes em locais sujeitos ao alagamento, cujas plantas têm o crescimento inibido pelo estresse, o desenvolvimento de *C. brasiliense* está adaptado à inundação temporária ou permanente (MARQUES & JOLY 2000).

III. OBJETIVOS GERAIS

Considerando que, apesar da sua ampla distribuição, *Calophyllum brasiliense* Camb. (Clusiaceae) é uma espécie fortemente associada a solos sazonal ou permanentemente encharcados, o presente trabalho teve como objetivos principais:

- Testar a hipótese de que a saturação hídrica do solo não afeta, significativamente, sua taxa de assimilação de carbono, bem como seu crescimento.
- Verificar o aparecimento de possíveis alterações morfo-anatômicas em resposta a saturação hídrica do solo
- Contribuir para o conhecimento das estratégias adaptativas de espécies que ocupam ambientes com solo exposto a saturação hídrica.
- Gerar subsídios que possam ser utilizados em projetos de recomposição destas áreas, como a Restinga.

IV. CAPÍTULO 1

CRESCIMENTO INICIAL DE *Calophyllum brasiliense* Camb. (Clusiaceae) SOB CONDIÇÕES DE SATURAÇÃO HÍDRICA DO SOLO

1. INTRODUÇÃO

O estresse é considerado como um desvio significativo das condições ótimas para a vida e pode induzir mudanças e respostas em todos os níveis funcionais do organismo, as quais são reversíveis a princípio, mas podem se tornar permanentes (LARCHER 2004).

O crescimento de plantas em ambientes particulares e sua habilidade de adaptação às mudanças nestes ambientes, dependem de uma complexa interação de atributos morfológicos, anatômicos e fisiológicos de cada espécie (GARWOOD 1995).

A redução na disponibilidade de oxigênio no solo constitui a maior limitação para o crescimento vegetal sob condições de inundação. As plantas têm seu crescimento diminuído principalmente devido a decréscimos no metabolismo das raízes e no acúmulo de sais que afetam seriamente a capacidade de absorção de água. Por outro lado, o acúmulo de gás carbônico existente durante a inundação também exerce uma função inibidora na adsorção, devido ao aumento na viscosidade do protoplasma e diminuição na permeabilidade das raízes (KLAR 1984).

Segundo VOESENEK *et al.* (2006), o alagamento é um fenômeno que reduz drasticamente o crescimento e a sobrevivência de plantas terrestres. No entanto, PEZESHKI (1994) afirma que os efeitos da saturação hídrica do solo para o crescimento vegetal variam de acordo com a espécie, bem como com o estágio de desenvolvimento da planta e com a duração do estresse.

Mesmo considerando apenas espécies tropicais, a diversidade de respostas observadas quanto ao crescimento em plantas arbóreas quando submetidas a períodos de alagamento do solo é grande, o que dificulta o estabelecimento de critérios para definir a tolerância ao estresse (JOLY 1991, LOBO & JOLY 2000).

Em vista da ampla distribuição da espécie, em geral associada a ambientes sujeitos a longos períodos de inundação do solo, o objetivo deste experimento foi testar a hipótese de que a saturação hídrica do solo não afeta significativamente a capacidade de incorporação de matéria seca de plantas de *C. brasiliense*.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Material vegetal e delineamento experimental

Sementes de *Calophyllum brasiliense*, coletadas na Estação Ecológica de Assis (SP), foram colocadas para germinar em sacos plásticos de 3 litros contendo areia grossa lavada, sob condições naturais de luz e temperatura, em casa de vegetação do Departamento de Botânica do Instituto de Biologia (UNICAMP), sendo colocada apenas uma semente por saco plástico. Quinze dias após a germinação as plantas foram regadas semanalmente com solução nutritiva de Hoagland.

Quando as plantas atingiram cerca de 6 meses de idade, foi separado um lote homogêneo, em relação à altura e número de folhas, para o desenvolvimento do experimento. Foram estabelecidos dois tratamentos: plantas controle, regadas diariamente e mantidas em condições de capacidade de campo (normoxia); e plantas submetidas ao tratamento de saturação hídrica do solo, colocadas em tanques com 3cm de água acima do nível do solo (hipoxia), conforme descrito por JOLY & CRAWFORD (1982). A água dos tanques de alagamento foi trocada semanalmente.

Após o início do experimento, foi suspensa a rega com solução nutritiva para as plantas de ambos os tratamentos (normoxia e hipoxia). Essa decisão de suspender a rega com solução nutritiva foi tomada devido à dificuldade de assegurar que ambos os tratamentos recebessem a mesma quantidade de nutrientes. Além disso, no tratamento de alagamento do solo poderia ocorrer um aumento significativo das concentrações solúveis de íons como Fe^{+2} e Mg^{+2} a níveis potencialmente tóxicos. Não obstante, a suspensão da rega com solução nutritiva foi feita também com o intuito de evitar uma acentuada proliferação de

algas nos tanques de alagamento (como ocorrido em experimentos anteriores desenvolvidos pelo Laboratório de Ecofisiologia Vegetal do IB/UNICAMP).

Durante os meses de dezembro de 2005 a junho de 2006, foram realizadas coletas de dados mensais sobre o efeito do alagamento do solo no crescimento das plantas de *C. brasiliense*.

Os dados de crescimento foram obtidos de 5 plantas no início do tratamento (T_0) e de 5 plantas controle e 5 plantas alagadas após 30, 60, 90, 120, 150 e 180 dias.

2.2 – Análise de crescimento

Inicialmente foram feitas as determinações de área foliar através de obtenção da imagem da folha utilizando um scanner (Scanjet ADF, Hewlett Packard) e posterior utilização de um programa de cálculo de área foliar (AREA 2.1, Copyright 1992 by Carlos Bravo).

Em seguida, foram determinadas as respostas de crescimento por meio de medidas de altura, número de folhas e diâmetro da base do caule. Respostas de crescimento em altura foram obtidas através da medição com régua milimetrada a partir da base do caule, imediatamente acima do solo, até o ápice; o número de folhas foi contado e o diâmetro da base do caule foi obtido através da medição com paquímetro digital da largura do caule (cerca de 3 cm acima do solo).

Também foram analisadas a massa fresca e a massa seca (massa obtida após secagem em estufa a 80°C por 48 horas ou até obtenção de massa constante) do caule, das raízes e das folhas de plantas controle e de plantas submetidas ao alagamento.

A Taxa de Crescimento Relativo (TCR) foi calculada a partir da fórmula proposta por (HUNT 1978):

$$TCR = \frac{\ln M_2 - \ln M_1}{t_2 - t_1} \text{ g} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{dia}^{-1}$$

Onde:

$\ln M_2$ é o logaritmo neperiano da massa seca da planta no tempo 2 (t_2)

$\ln M_1$ é o logaritmo neperiano da massa seca da planta no tempo 1 (t_1)

2.3 - Características foliares

Com o auxílio de um cortador de metal foram retirados três discos foliares de área conhecida de duas folhas de cada indivíduo, evitando-se a nervura principal. Os discos foram hidratados em água destilada por um período mínimo de 4 horas. Após a hidratação, a espessura da folha em mm foi medida com um paquímetro digital e a massa saturada com uma balança eletrônica digital. Os discos hidratados foram colocados em estufa a 55°C por 72 horas para obtenção da massa seca.

A partir destes valores, segundo WITKOWSKI & LAMONT (1991), foram calculados:

$$SUC \text{ (Conteúdo de Umidade Específica)} = \frac{\text{massa saturada} - \text{massa seca}}{\text{área}}$$

$$MFA \text{ (Massa Foliar Específica)} = \frac{\text{massa seca}}{\text{área}}$$

$$\text{DEN (Densidade Foliar)} = \frac{\text{massa foliar específica}}{\text{Espessura}}$$

2.4 – Concentração de carbono e nitrogênio e Análises de composição isotópica

Após a pesagem as folhas, os caules e as raízes de cinco plantas controle e alagadas por 30, 60, 90, 120, 150 e 180 dias foram trituradas e homogeneizadas em moinho. O material vegetal moído foi dividido em sub-amostras de aproximadamente 0,5 gramas e enviado ao Laboratório de Ecologia Isotópica do CENA – USP, onde foi realizada a determinação da concentração de carbono (%C) e nitrogênio (%N), bem como as análises de composição isotópica de carbono ($\delta^{13}\text{C}$) e nitrogênio ($\delta^{15}\text{N}$), através do uso de espectrômetro de massas.

Os valores de $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$ foram obtidos mediante a seguinte fórmula:

$$\delta (\text{‰}) = [(R_{\text{amostra}}/R_{\text{padrão}}) - 1] \times 1000$$

Onde: R_{amostra} é a proporção entre isótopos pesados e leves ($^{13}\text{C}:^{12}\text{C}$ e $^{15}\text{N}:^{14}\text{N}$) da amostra e $R_{\text{padrão}}$ é a proporção entre isótopos pesados e leves de um padrão internacional, em partes por mil (‰).

2.5 – Análise Estatística

As comparações entre médias foram realizadas a partir da Análise de Variância, seguida pelo Teste de Tukey, a 5% de probabilidade (SOKAL & ROHLF 1995; ZAR 1999).

3 – RESULTADOS E DISCUSSÃO

Houve dificuldade para obtenção das plantas, o que ocorreu devido à reduzida taxa de germinação das sementes.

Sob condições de campo, os frutos do guanandi freqüentemente têm a polpa retirada por morcegos, que a utilizam para alimentação, auxiliando dessa forma na dispersão destes frutos (SAZIMA *et al.* 1994).

Foi observado que as sementes coletadas sem a polpa (pericarpo) ou parte dela, ou ainda que tiveram a polpa retirada manualmente, apresentaram germinação mais rápida e eficiente. As sementes (ou frutos) com polpa permaneceram por períodos mais longos no solo, o que provavelmente levou a uma maior vulnerabilidade à ação de fungos e/ou de agentes patógenos, conseqüentemente reduzindo a sua viabilidade.

FISCHER & DOS SANTOS (2001) observaram, em um estudo sob condições de campo, que sementes de *C. brasiliense* que não germinaram logo após serem dispersas, foram predadas por vertebrados ou consumidas por fungos e invertebrados.

Segundo GARWOOD (1983), o tempo de germinação de uma semente pode ser controlado não somente pelo mecanismo de dormência, mas também pelo modo de dispersão. Em *Calophyllum brasiliense*, a dispersão por morcegos tem influência direta no tempo de germinação, pois quanto menor a quantidade de polpa, mais rapidamente ocorre a germinação (MARQUES 1994).

Trinta dias após o início do experimento não foram observadas mudanças significativas no crescimento de plantas controle e de plantas alagadas, no entanto, a partir deste período o alagamento do solo passou a influenciar no crescimento das plantas submetidas a esta condição (Tabela 1).

A produção de novas folhas foi o primeiro fator do crescimento alterado pelo estresse. Em plantas controle o número de folhas foi significativamente maior após 60 dias de experimento, enquanto que, as plantas alagadas não produziram significativamente novas folhas durante todo o período experimental.

Noventa dias após o início do experimento a altura das plantas controle foi maior em relação a medição realizada após 30 dias de experimento, indicando que houve incremento em altura. Em plantas alagadas tal incremento foi verificado somente após 180 dias, evidenciando um crescimento em altura mais lento em plantas alagadas em comparação às plantas controle. Diferenças significativas no crescimento em altura entre os tratamentos controle e alagado foram observadas após 120 dias de alagamento do solo, mantendo-se até o final do experimento.

Esse mesmo padrão de redução no crescimento foi observado na área foliar total, visto que as plantas controle apresentaram crescimento mais pronunciado do que as plantas submetidas ao alagamento do solo, embora também tenham apresentado um aumento significativo da área foliar total ao final do experimento. As diferenças entre a área foliar total de plantas controle e alagadas se deram após 120, 150 e 180 dias de experimento. Tal redução no crescimento em área foliar indica que o alagamento do solo tem efeito negativo não somente na produção de novas folhas, mas também na expansão de folhas já existentes.

As plantas de ambos os tratamentos apresentaram aumento significativo da massa seca total ao longo do experimento. Somente após 150 dias de experimento é que foi observada uma redução da massa seca em plantas alagadas em relação às plantas controle.

MARQUES (1994) em estudos com indivíduos jovens de *C. brasiliense* mantidos sob inundação por 90 dias, também não encontrou redução significativa da massa seca.

TEIXEIRA *et al.* (2001) também observaram redução do crescimento em altura de uma população de plantas jovens de *Inga vera* submetidas a condições de saturação hídrica do solo. Por outro lado, SANCHES *et al.* (2006) não observaram redução no crescimento de plantas jovens de *Erythrina speciosa* submetidas às mesmas condições e KOLB (1998) observou um aumento no crescimento da parte aérea de plantas de *Tabebuia cassinoides* submetidas ao alagamento, tanto pelo incremento em altura, como pela maior produção de folhas.

Tais comparações evidenciam que em geral as plantas freqüentemente diferem em relação à sensibilidade da deficiência de oxigênio no solo. Segundo JOLY (1991) durante o processo evolutivo, diferentes espécies desenvolveram estratégias distintas que as capacitaram para ocupar áreas alagadas; essas espécies podem ser classificadas em duas categorias: aquelas que desenvolveram adaptações morfológicas e anatômicas *versus* aquelas que desenvolveram adaptações metabólicas. Na maioria dos casos, a estratégia de sucesso consiste em uma combinação de adaptações morfológicas, anatômicas e metabólicas.

Ainda de acordo com a Tabela 1, o diâmetro da base do caule sofreu um aumento em função do estresse imposto. As diferenças entre os tratamentos foram verificadas após 90, 120, 150 e 180 dias. Tal incremento geralmente é atribuído a diversas alterações anatômicas, como aumento dos espaços intercelulares no córtex e menor densidade de células (FRYE & GROSSE 1992), formação de aerênquima (PIMENTA *et al.* 1996), aumento das células parenquimáticas do floema (YAMAMOTO & KOZLOWSKI 1987a), aumento do número e tamanho de fibras do xilema (YAMAMOTO *et al.* 1995).

A formação de aerênquima ocorre em muitas espécies, geralmente associada à hipertrofia de lenticelas e ao surgimento de raízes adventícias e é considerada como um dos fatores decisivos para a sobrevivência de plantas sob hipoxia (SENA GOMES & KOZLOWSKI 1988, ARMSTRONG *et al.* 1994).

Tabela 1. Mudanças no crescimento de plantas de *Calophyllum brasiliense* sob condições controle (não-alagadas) e alagadas. Os valores apresentados são médias \pm desvio padrão (n=5). Valores seguidos de letras iguais não diferem estatisticamente pelo Teste de Tukey ($p < 0,05$).

Dias	Tratamento	Altura (cm)	Número de folhas	Diâmetro do caule (mm)	Área foliar total (cm)	Massa seca total (g)
0	----	22,60 \pm 3,05def	8,0 \pm 1,41ef	4,65 \pm 0,31f	86,66 \pm 15,84f	2,17 \pm 0,31g
30	Controle	18,52 \pm 2,85f	7,6 \pm 0,89ef	4,73 \pm 0,22f	88,43 \pm 11,11ef	2,25 \pm 0,22g
	Alagado	19,06 \pm 1,77f	6,4 \pm 0,89f	4,77 \pm 0,31f	72,09 \pm 6,44f	2,21 \pm 0,20g
60	Controle	23,96 \pm 2,21cdef	11,6 \pm 1,67abcd	5,54 \pm 0,51ef	88,43 \pm 11,11ef	3,32 \pm 0,59fg
	Alagado	21,58 \pm 1,67ef	8,2 \pm 1,09ef	6,53 \pm 0,67cde	140,19 \pm 33,89de	3,39 \pm 0,56fg
90	Controle	27,02 \pm 1,48cde	12,0 \pm 0abc	5,70 \pm 0,27ef	173,27 \pm 28,15cd	4,94 \pm 0,79def
	Alagado	20,96 \pm 3,56ef	9,0 \pm 1,73cdef	7,60 \pm 0,23bc	124,69 \pm 27,06def	5,40 \pm 0,96de
120	Controle	27,74 \pm 2,46bcd	12,2 \pm 1,48abc	5,86 \pm 0,33def	213,49 \pm 38,58bc	5,85 \pm 0,81cde
	Alagado	20,68 \pm 3,47f	8,6 \pm 1,94def	7,31 \pm 0,86bc	89,80 \pm 17,07ef	4,48 \pm 0,93ef
150	Controle	28,78 \pm 2,04bc	13,2 \pm 0,83ab	7,07 \pm 0,50cd	257,0 \pm 27,27ab	9,92 \pm 1,15a
	Alagado	21,82 \pm 0,66def	7,60 \pm 1,14ef	8,35 \pm 0,38ab	102,06 \pm 0,08ef	6,30 \pm 1,94bcd
180	Controle	41,86 \pm 3,14a	14,8 \pm 2,28a	6,55 \pm 0,54cde	270,66 \pm 23,48a	7,68 \pm 1,03 b
	Alagado	33,6 \pm 4,05b	10,0 \pm 2,0bcde	9,11 \pm 1,12a	170,14 \pm 1,16cd	7,40 \pm 1,16bc

Não houve reduções significativas na massa seca do caule em função do estresse ao longo de todo o período experimental, já o incremento na massa seca de folhas foi reduzido após 120, 150 e 180 dias de alagamento do solo (Tabela 2).

Conforme mostra a Tabela 2, durante a maior parte do período experimental a massa seca das raízes das plantas submetidas ao alagamento apresentou valores semelhantes aos das plantas controle, sugerindo uma possível adaptação seja metabólica ou morfológica da espécie, que possibilitou a manutenção do crescimento do sistema radicular existente (ainda que reduzido) e o início da renovação das raízes perdidas sob tais condições.

A massa seca do sistema radicular de plantas mantidas sob condições de saturação hídrica do solo foi reduzida somente após 150 dias de alagamento. Essa redução provavelmente está relacionada tanto com a diminuição do crescimento das raízes já existentes, como com a deteriorização de parte desse sistema, evidenciada pela coloração escura das raízes e sinais de apodrecimento. Segundo KLAR (1984), a interferência causada pela inundação nas atividades de síntese de raízes, pode restringir a absorção de água e minerais, bem como reduzir a síntese de substâncias ligadas ao crescimento, como giberelinas e citoquininas.

LOBO-FARIA (1998) relatou que o alagamento por 60 dias afetou drasticamente o sistema radicular de plantas de *Tapirira guianensis* e *Protium heptaphyllum*, levando a sua completa substituição por novas raízes.

De acordo com LOBO & JOLY (2000), na ausência de O₂, o sistema radicular passa a quebrar moléculas de carboidrato anaerobicamente, o que resulta em uma baixa produção de energia por mol de glicose e conseqüentemente, a uma menor disponibilidade de recursos para manutenção do crescimento.

Tabela 2. Massa seca (g) do caule, folhas e raízes e razão raiz/parte aérea de plantas de *Calophyllum brasiliense* sob condições controle (não-alagadas) e alagadas. Os valores apresentados são médias \pm desvio padrão. (n=5). Valores seguidos de letras iguais não diferem estatisticamente pelo Teste de Tukey ($p < 0,05$).

Dias	Tratamento	Caule	Folhas	Raízes	Raiz/Parte Aérea
0	----	0,631 \pm 0,10e	0,645 \pm 0,10f	0,896 \pm 0,14fg	0,710 \pm 0,11bc
30	Controle	0,601 \pm 0,14e	0,682 \pm 0,05ef	0,971 \pm 0,13fg	0,766 \pm 0,13abc
	Alagado	0,655 \pm 0,05e	0,729 \pm 0,08ef	0,734 \pm 0,09g	0,530 \pm 0,05c
60	Controle	1,021 \pm 0,21de	0,717 \pm 0,06ef	1,582 \pm 0,36def	0,908 \pm 0,15ab
	Alagado	1,229 \pm 0,24cde	0,896 \pm 0,27def	1,269 \pm 0,22efg	0,603 \pm 0,08c
90	Controle	1,421 \pm 0,13cd	1,561 \pm 0,31cd	1,962 \pm 0,39cde	0,656 \pm 0,07bc
	Alagado	1,760 \pm 0,49bc	1,707 \pm 0,49cd	1,938 \pm 0,23cde	0,590 \pm 0,16c
120	Controle	1,520 \pm 0,21cd	2,188 \pm 0,32bc	2,14 \pm 0,58cd	0,585 \pm 0,17c
	Alagado	1,570 \pm 0,41cd	1,180 \pm 0,26def	1,678 \pm 0,23def	0,622 \pm 0,09bc
150	Controle	2,844 \pm 0,29a	3,389 \pm 0,54a	3,694 \pm 0,58a	0,676 \pm 0,06c
	Alagado	2,270 \pm 0,21ab	1,506 \pm 1,94cde	2,528 \pm 0,43bc	0,593 \pm 0,08bc
180	Controle	2,343 \pm 0,36a	2,600 \pm 0,58ab	2,743 \pm 0,21bc	0,563 \pm 0,26c
	Alagado	2,589 \pm 0,56ab	1,720 \pm 0,71cd	3,055 \pm 0,68ab	0,708 \pm 0,37a

Para compensar este baixo rendimento energético há uma aceleração da via fermentativa com a quebra de um número maior de moles de glicose por unidade de tempo. Esta estratégia depende de um suprimento ilimitado de carboidratos, geralmente translocado da parte aérea para o sistema radicular, além de ter a desvantagem de produzir quantidades de etanol e lactato a níveis tóxicos (LOBO & JOLY 2000). Segundo CRAWFORD (1978), no entanto, propôs que as plantas tolerantes à inundação evitariam as vias fermentativas, alcoólica e láctica, e ativariam uma rota alternativa que levaria a produção e ao acúmulo de malato. Quando o sistema radicular volta a ter acesso ao O₂, difundido da parte aérea, o malato pode ser oxidado gerando ATP (JOLY 1994).

A razão entre raiz e parte aérea foi maior nas plantas alagadas somente após 180 dias de alagamento em comparação com a primeira determinação, em função da redução do crescimento do sistema aéreo (Tabela 2). Contudo, a diferença entre a razão raiz e parte aérea entre os tratamentos já pode ser observada após 60 dias de experimento. Sob condições de alagamento pode haver uma mudança na alocação de biomassa (NAIDOO & NAIDOO 1992), para maximizar a eficiência na captura dos recursos limitantes. Esta estratégia pode ser definida como um ajuste entre a parte aérea e a parte subterrânea em resposta ao estresse ambiental.

Em trabalhos anteriores realizados com plantas tropicais (KOLB *et al.* 1998, ANDRADE *et al.* 1999, PAROLIN 2001, MIELKE *et al.* 2003, 2005), a massa seca de caule, folhas e raízes, a razão entre raiz e parte aérea e a altura de indivíduos de algumas espécies foram significativamente inibidas sob condições de alagamento. A redução no acúmulo de biomassa em decorrência ao alagamento do solo é uma resposta comum em muitas espécies (PEZESHKI 1994). Estudos anteriores têm demonstrado que estas mudanças geralmente são mais drásticas no sistema radicular do que no caule, o que parece estar relacionado com a baixa atividade metabólica, seguida pela diminuição do crescimento e da renovação das raízes sob tais condições (PEZESHKI 1991).

A redução gradual dos parâmetros de crescimento nesta espécie, iniciando pela redução da área foliar e por fim da redução da massa seca, infere que os efeitos negativos do alagamento no crescimento desta espécie são gradativos e aumentam de acordo com a duração do mesmo.

No entanto, embora tenha havido reduções no crescimento, a taxa de crescimento relativo foi positiva durante a maior parte do período experimental e principalmente ao final deste, o que evidencia que o crescimento foi mantido ainda que reduzido (Figura 1). A taxa de crescimento relativo do caule de plantas alagadas foi negativa somente após 120 dias, mas não determinou uma redução significativa de sua massa seca (como visto na Tabela 2). Igualmente, a taxa de crescimento relativo das folhas de plantas alagadas também foi negativa após 120 dias, mas neste caso, resultou em redução da massa seca.

Ainda de acordo com a Figura 1, a taxa de crescimento relativo das raízes de plantas alagadas foi negativa no início do experimento (após 30 dias), recuperando-se a seguir, para voltar a apresentar valores negativos após 120 dias.

A taxa de crescimento relativo encontrada para os indivíduos de *C. brasiliense* (Figura 2), neste experimento, foi reduzida mesmo nas plantas controle. Isso evidenciou que a espécie tem crescimento lento, corroborando com os dados obtidos por MARQUES (1994). Trabalhos anteriores também relataram um comportamento parecido de espécies arbóreas de florestas tropicais (LANG & KNIGHT 1983).

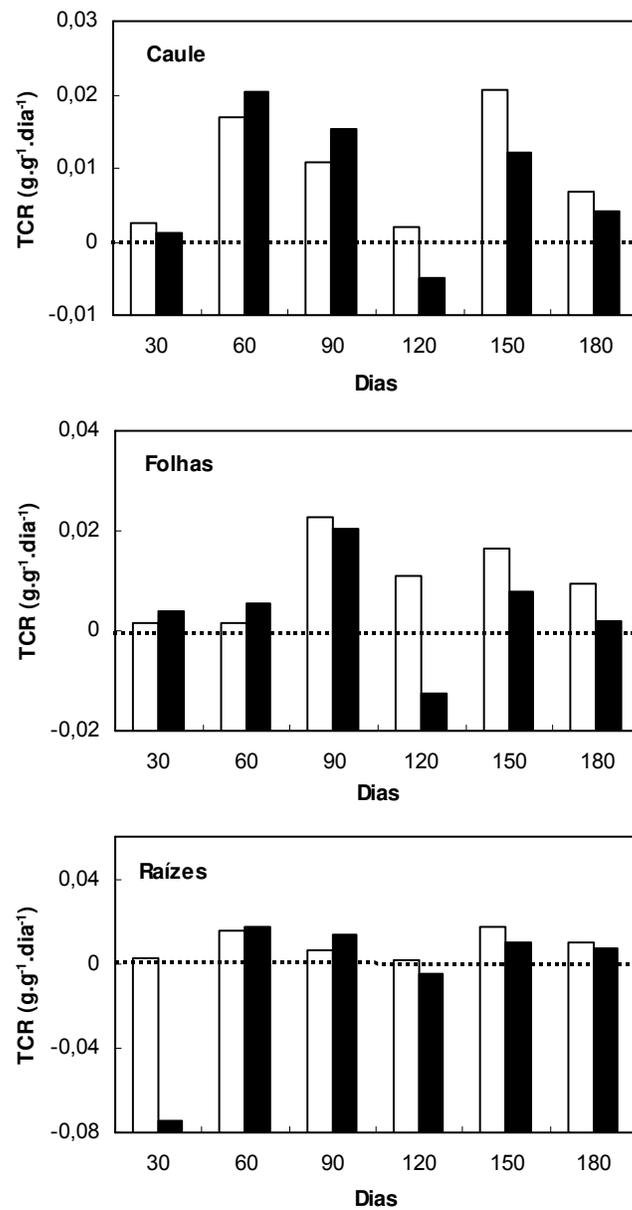


Figura 1: Taxa de Crescimento Relativo (TCR) de plantas de *Calophyllum brasiliense* não-alagadas (colunas vazias) e alagadas (colunas cheias) ao longo do período experimental. A linha tracejada indica se a taxa de crescimento relativo é negativa ou positiva. Os valores são médias das plantas (n=5).

JOLY & CRAWFORD (1982) adotaram a capacidade de incorporação significativa de matéria seca, após um período de 30 dias de alagamento, como critério para definir a tolerância ao alagamento. Porém, a redução da matéria seca pode muitas vezes ocorrer em função da abscisão foliar e da deterioração do sistema radicular, o que não impede a sobrevivência das plantas mesmo após longos períodos de alagamento (LOBO 1998).

Já LOBO & JOLY (2000) recomendam considerar como tolerantes ao alagamento as espécies que conseguem manter ou incrementar o peso seco da parte aérea, quando submetidas a um estresse por períodos comparáveis aos que estaria sujeita em seu habitat natural.

Segundo o critério destes autores e os dados obtidos neste experimento, *C. brasiliense* pode ser classificada como uma espécie tolerante ao alagamento.

Durante os primeiros meses deste experimento, possivelmente os indivíduos inundados mantiveram a produção de matéria seca da parte aérea e do sistema radicular também graças a reservas acumuladas e/ou a fotossintetatos necessários para manter as atividades metabólicas essenciais.

Foi observado que várias plantas controle e inundadas permaneceram com o cotilédone viável, ainda que estas apresentassem em média 11 meses de idade. Esta estrutura pode também ter fornecido reservas que auxiliam na manutenção do crescimento das plantas durante este período. Contudo, isso não explica as diferenças existentes no crescimento entre os tratamentos, visto que foram encontrados cotilédones viáveis tanto em plantas alagadas como em plantas controle.

No entanto, como o período de inundação utilizado foi de 180 dias (o que pode ser considerado longo, visto que os experimentos de tolerância a inundação raramente utilizam períodos superiores a 60 dias), é inviável que o crescimento tenha sido mantido apenas às expensas de reservas. Portanto, os resultados

sugerem que a espécie realmente desenvolveu mecanismos para tolerar períodos longos de inundação.

A observação de indivíduos de *C. brasiliense* em condições de campo, crescendo naturalmente em áreas sujeitas a períodos longos de alagamento do solo, corrobora com a afirmação acima. Segundo LOBO & JOLY (2000), dificilmente uma espécie que sobreviva apenas às expensas de reservas durante o período de alagamento do solo teria condições de se estabelecer com sucesso, atingindo a fase reprodutiva e disseminando, em áreas naturalmente sujeitas a inundações.

As características foliares das plantas alagadas também foram influenciadas pelo estresse (Figura 2). Num primeiro momento, 30 a 60 dias após o início do experimento, o Conteúdo de Umidade Específica das folhas de plantas alagadas foi menor se comparado com os valores das plantas não-alagadas. Isso sugere que pode ter havido dificuldades na absorção de água ou ainda na manutenção do status hídrico da folha.

Durante esse mesmo período, a Massa Foliar Específica e a Densidade Foliar foram maiores nas plantas alagadas (Figura 2). Isso ocorreu em função do aumento da massa seca, bem como da manutenção da espessura de discos foliares de área conhecida.

Após 90 dias de inundação, o Conteúdo de Umidade Específica, Massa Foliar Específica e Densidade Foliar foram igualados aos das plantas controle (Figura 2), evidenciando uma possível capacidade apresentada pela espécie de manutenção do crescimento das folhas já existentes sob as condições impostas.

No entanto, o Conteúdo de Umidade Específica das plantas submetidas ao alagamento voltou a ser menor, bem como a Massa Foliar Específica e a Densidade Foliar voltaram a ser maiores do que as das plantas controle, após 120 dias do início do experimento. E, novamente, os valores de Conteúdo de Umidade Específica e Densidade Foliar das plantas alagadas voltaram a serem

semelhantes aos das plantas controle (após 150 dias do início do experimento), mantendo-se assim até o fim do experimento. Apenas a Massa Foliar Específica das plantas alagadas continuou a apresentar valores maiores do que os das plantas controle.

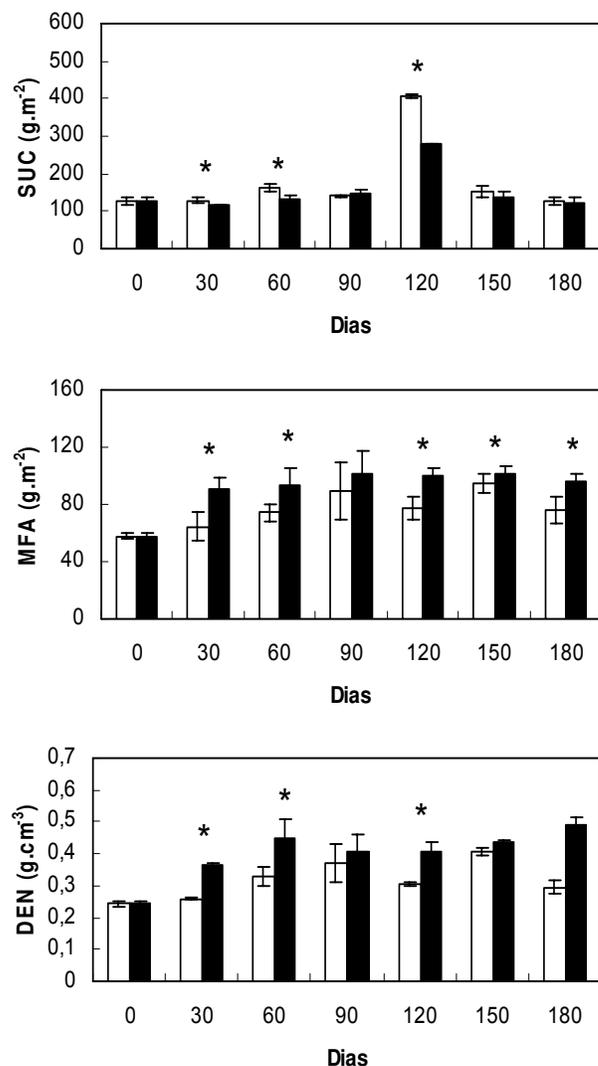


Figura 2. Conteúdo de Umidade Específica (SUC), Massa Foliar Específica (MFA) e Densidade foliar (DEN) de plantas de *Calophyllum brasiliense* sob condições controle (não-alagadas) e alagadas. Os valores apresentados são médias \pm desvio padrão (n=5). Valores seguidos de letras iguais não diferem estatisticamente dentro do mesmo período pelo Teste de Tukey ($p < 0,05$).

Não foram observadas diferenças significativas na %C nas folhas, no caule e nas raízes de plantas controle e alagadas durante todo o período experimental (Tabela 3). No entanto, ao longo do período experimental foram observadas reduções na %C nas folhas e caule de indivíduos de ambos os tratamentos em relação à primeira determinação. Tal queda parece estar mais relacionada com a ontogenia, isto é, com o estágio de desenvolvimento das folhas e do caule do que com o estresse imposto, visto que a redução da %C ocorreu tanto nas folhas de indivíduos controle como nas folhas de indivíduos alagados.

A manutenção da %C nas folhas, raízes e no caule de plantas alagadas durante a maior parte do período experimental sugere que estas podem estar consumindo e/ou mobilizando reservas para suportar o estresse imposto, visto que a assimilação de carbono foi reduzida (como será mostrado no capítulo seguinte).

Em relação ao caule, houve uma tendência de aumento da %C nas plantas alagadas, ainda que essa tendência não tenha sido comprovada estatisticamente (Tabela 3).

Esse aumento na %C pode indicar ainda um possível acúmulo temporário de reservas no caule, originados da mobilização de recursos para tolerar a inundação. O acúmulo de carboidratos é comum e amplamente relatado em plantas submetidas a estresse hídrico (HSIAO 1973; KAMELI & LÖSEL 1996; LORETI *et al.* 2003). RODRIGUES *et al.* (1995) relataram um acúmulo temporário de reservas no caule de *Lipinus albus* sob condições de estresse hídrico, sendo que este acúmulo geralmente é acompanhado por alterações no metabolismo do carbono e nitrogênio. CHAVES *et al.* (2002) também citam que algumas espécies temperadas resistem ao estresse hídrico acumulando reservas em diferentes órgãos, principalmente no caule e raízes.

Tabela 3. Concentração de carbono (%C) e nitrogênio (%N) em folhas, caule e raízes de plantas de *Calophyllum brasiliense* sob condições controle (não-alagadas) e alagadas. Os valores apresentados são médias \pm desvio padrão (n=5). Valores seguidos de letras iguais não diferem estatisticamente pelo Teste de Tukey (p<0,05).

Dias	Tratamento	Folhas		Caule		Raízes	
		C (%)	N (%)	C (%)	N (%)	C (%)	N (%)
0	----	46,49 \pm 0,01a	2,27 \pm 1,13abc	47,42 \pm 0,84a	0,65 \pm 0,65a	38,31 \pm 1,01bc	0,77 \pm 0,06bc
30	Controle	45,00 \pm 1,01ab	1,03 \pm 0,17abcd	46,00 \pm 1,23ab	0,51 \pm 0,01abc	44,91 \pm 1,49a	0,75 \pm 0,07bc
	Alagado	44,50 \pm 0,12ab	0,64 \pm 0,04cd	45,50 \pm 0,51abc	0,56 \pm 0,01abc	41,01 \pm 1,47abc	0,74 \pm 0,01bc
60	Controle	44,92 \pm 0,08ab	1,35 \pm 0,01a	43,49 \pm 0,20c	0,63 \pm 0,03ab	39,71 \pm 4,92bc	0,87 \pm 0,06a
	Alagado	43,74 \pm 0,33bc	0,65 \pm 0,03cd	45,36 \pm 0,63abc	0,56 \pm 0,06abc	37,02 \pm 0,77bc	0,70 \pm 0,06cd
90	Controle	43,82 \pm 0,50bc	1,17 \pm 0,07ab	43,95 \pm 0,30bc	0,53 \pm 0,04abc	42,51 \pm 0,87ab	0,76 \pm 0,02bc
	Alagado	44,38 \pm 0,53ab	0,68 \pm 0,10bcd	44,69 \pm 0,06bc	0,50 \pm 0,07abc	37,35 \pm 1,20bc	0,68 \pm 0,07cd
120	Controle	44,09 \pm 0,07bc	1,22 \pm 0,20a	44,15 \pm 0,25bc	0,56 \pm 0,08abc	40,97 \pm 2,34abc	0,87 \pm 0,05a
	Alagado	45,02 \pm 0,53ab	0,70 \pm 0,10bcd	46,4 \pm 0,50ab	0,47 \pm 0,02bc	40,52 \pm 1,45abc	0,62 \pm 0,01cd
150	Controle	43,04 \pm 0,53bc	1,0 \pm 0,03abcd	43,26 \pm 0,58c	0,55 \pm 0,01abc	42,88 \pm 1,25ab	0,79 \pm 0,02abc
	Alagado	43,34 \pm 0,99bc	0,64 \pm 0,03cd	44,71 \pm 0,02bc	0,48 \pm 0,01bc	37,03 \pm 2,38bc	0,64 \pm 0,02cd
180	Controle	42,06 \pm 1,10c	0,99 \pm 0,08abcd	44,11 \pm 0,27bc	0,59 \pm 0,06ab	39,15 \pm 4,45bc	0,83 \pm 0,18ab
	Alagado	44,22 \pm 0,05abc	0,58 \pm 0,01d	44,55 \pm 0,96bc	0,42 \pm 0,05c	41,32 \pm 1,32abc	0,60 \pm 0,08cd

A saturação hídrica do solo afetou mais negativamente a %N do que de carbono (Tabela 3). A redução da %N nas folhas, em especial, possivelmente seja um fator que atua reduzindo a concentração de pigmentos fotossintéticos e conseqüentemente a fotossíntese.

Em função da redução da %N em indivíduos alagados houve uma queda na razão entre carbono e nitrogênio nas folhas (Tabela 4).

Segundo DUARTE *et al.* (2005) a disponibilidade hídrica, dentre outros fatores, pode representar um fator abiótico limitante da concentração de C e N nas plantas. No entanto, os estudos sobre composição isotópica de espécies tropicais são ainda escassos em comparação com a grande quantidade de estudos que têm sido publicados em zonas temperadas (SILVEIRA *et al.* 2005).

A $\delta^{13}\text{C}$ foi de cerca de -28‰ (Tabela 5). DUARTE *et al.* (2005) encontraram valores semelhantes em indivíduos de *C. brasiliense* crescendo sob condições de campo.

Não foram observadas diferenças significativas em relação aos valores de $\delta^{13}\text{C}$ de plantas controle e alagadas (Tabela 5). A partir de sessenta dias de alagamento do solo houve uma tendência de redução dos valores de $\delta^{13}\text{C}$ de folhas, caule e raízes de plantas alagadas em comparação com as plantas controle, no entanto, tal tendência não foi confirmada estatisticamente.

Valores mais negativos de $\delta^{13}\text{C}$ geralmente indicam menor abertura estomática ou menor desempenho fotossintético e sugerem uma maior discriminação do ^{13}C . Tais dados ajudam a explicar a redução da assimilação de carbono e a tendência de redução da condutância estomática durante o mesmo período experimental (sendo esta última confirmada estatisticamente após 90 dias de alagamento), apresentadas por indivíduos de *C. brasiliense* sob condições de alagamento do solo, como será apresentado no capítulo a seguir.

Tabela 4. Relação entre carbono e nitrogênio (C/N) em folhas, caule e raízes de plantas de *Calophyllum brasiliense* sob condições controle (não-alagadas) e alagadas. Os valores apresentados são médias \pm desvio padrão (n=5). Valores seguidos de letras iguais não diferem estatisticamente pelo Teste de Tukey ($p < 0,05$).

Dias	Tratamento	C/N		
		Folhas	Caule	Raízes
0	----	41,50 \pm 8,07c	72,77 \pm 5,98b	49,76 \pm 5,48bc
30	Controle	44,12 \pm 6,75bc	89,24 \pm 1,12ab	60,23 \pm 3,74abc
	Alagado	69,19 \pm 4,62a	80,44 \pm 1,79ab	55,3 \pm 0,77abc
60	Controle	33,18 \pm 0,31c	68,61 \pm 3,05b	45,35 \pm 2,13c
	Alagado	67,14 \pm 3,18a	80,97 \pm 8,28ab	5,55 \pm 0,35abc
90	Controle	37,43 \pm 2,25c	82,51 \pm 1,48ab	56,45 \pm 2,19abc
	Alagado	64,60 \pm 5,78ab	89,03 \pm 5,20ab	54,48 \pm 1,12abc
120	Controle	36,49 \pm 6,03c	79,02 \pm 11,3ab	47,05 \pm 0,55c
	Alagado	64,43 \pm 10,42ab	98,09 \pm 5,42ab	65,29 \pm 3,69ab
150	Controle	42,75 \pm 1,90c	74,77 \pm 8,18ab	53,89 \pm 2,77abc
	Alagado	67,85 \pm 2,79a	107,43 \pm 18,20ab	58,12 \pm 0,97abc
180	Controle	42,59 \pm 2,53c	74,43 \pm 8,18b	47,74 \pm 5,21bc
	Alagado	75,99 \pm 0,62a	107,43 \pm 5,80a	69,55 \pm 7,15a

Tabela 5. Assinatura isotópica de carbono ($\delta^{13}\text{C}$) em folhas, caule e raízes de plantas de *Calophyllum brasiliense* sob condições controle (não-alagadas) e alagadas. Os valores apresentados são médias \pm desvio padrão (n=5). Valores seguidos de letras iguais não diferem estatisticamente pelo Teste de Tukey ($p < 0,05$).

Dias	Tratamento	$\delta^{13}\text{C}$ (‰)		
		Folhas	Caule	Raízes
0	----	-29,33 \pm 0,10b	-29,47 \pm 0,20b	-29,45 \pm 0,40b
30	Controle	-28,77 \pm 0,13b	-28,97 \pm 0,89ab	-28,57 \pm 0,15ab
	Alagado	-28,42 \pm 0,15ab	-28,50 \pm 0,09ab	28,75 \pm 0,65ab
60	Controle	-27,89 \pm 0,10ab	27,82 \pm 0,51ab	-28,29 \pm 0,09ab
	Alagado	-28,85 \pm 0,39b	-28,91 \pm 0,42ab	-28,73 \pm 0,15ab
90	Controle	-27,75 \pm 0,25ab	-27,67 \pm 0,12ab	-28,14 \pm 0,21ab
	Alagado	-28,98 \pm 0,29ab	-28,89 \pm 0,45ab	-28,81 \pm 0,33ab
120	Controle	-27,08 \pm 0,39ab	-28,07 \pm 0,14ab	-28,12 \pm 0,81ab
	Alagado	-29,02 \pm 0,20b	-29,11 \pm 0,04b	-29,18 \pm 0,27b
150	Controle	-27,82 \pm 0,64ab	-27,72 \pm 0,49ab	-28,03 \pm 0,51ab
	Alagado	-28,93 \pm 0,80b	-28,83 \pm 0,34ab	-28,80 \pm 0,01ab
180	Controle	-27,04 \pm 0,48a	-26,90 \pm 0,53a	-27,30 \pm 0,28a
	Alagado	-28,22 \pm 0,24ab	-28,09 \pm 0,42ab	-28,66 \pm 0,17ab

Em relação ao $\delta^{15}\text{N}$, não foram observadas diferenças significativas em função do estresse imposto, sendo que os menores valores foram encontrados nas plantas alagadas (Tabela 6). As diferenças significativas entre os tratamentos controle e alagado deram-se nas folhas após 30, 90, 120 e 150 dias de experimento, no caule após 150 e 180 dias e nas raízes após 120, 150 e 180 dias.

Essa queda nos valores de $\delta^{15}\text{N}$ nas plantas alagadas sugere que o processo inverso da reciclagem para estruturação de reserva pode estar acontecendo. Reforça também a hipótese das plantas estarem consumindo as reservas e/ou mobilizando todos os recursos para suportar o estresse imposto. Nesse processo ocorre uma perda de nitrogênio, como foi evidenciado pela redução da %N.

Valores maiores de $\delta^{15}\text{N}$, apresentados pelas plantas controle, também podem ser reflexos de diferenças na $\delta^{15}\text{N}$ do solo. Pois em solos aerados a quantidade de nitrogênio é geralmente maior do que em solos alagados.

Com os resultados obtidos pode-se concluir que, embora tenha havido reduções significativas no crescimento das plantas de *C. brasiliense* submetidas ao tratamento de saturação hídrica do solo, tal redução não impediu a sobrevivência das plantas mesmo após longo período de alagamento, como o imposto neste experimento. Após 180 dias, ainda que diminuída em relação às plantas controle, as plantas alagadas mantiveram a capacidade de incorporação de matéria seca, confirmando que a espécie é tolerante ao alagamento do solo.

Tabela 6. Assinatura isotópica de carbono ($\delta^{13}\text{N}$) em folhas, caule e raízes de plantas de *Calophyllum brasiliense* sob condições controle (não-alagadas) e alagadas. Os valores apresentados são médias \pm desvio padrão (n=5). Valores seguidos de letras iguais não diferem estatisticamente pelo Teste de Tukey ($p < 0,05$).

Dias	Tratamento	$\delta^{15}\text{N}$ (‰)		
		Folhas	Caule	Raízes
0	----	3,32 \pm 0,15c	3,34 \pm 0,7d	5,88 \pm 0,3bcd
30	Controle	4,03 \pm 0,38bc	4,41 \pm 0,55bcd	5,76 \pm 0,67bcd
	Alagado	2,74 \pm 0,10d	2,26 \pm 0,29abcd	4,78 \pm 0,67d
60	Controle	4,43 \pm 0,02ab	4,72 \pm 0,01abcd	7,22 \pm 0,73abc
	Alagado	4,05 \pm 0,35bc	3,94 \pm 0,41cd	5,55 \pm 0,35bcd
90	Controle	5,69 \pm 0,25a	5,87 \pm 0,48abc	6,61 \pm 1,19abcd
	Alagado	4,03 \pm 0,05bc	4,65 \pm 0,03abcd	5,41 \pm 0,64bcd
120	Controle	4,99 \pm 0,38a	5,78 \pm 0,36abc	7,58 \pm 0,28ab
	Alagado	3,41 \pm 0,03c	4,01 \pm 0,28cd	4,68 \pm 0,10d
150	Controle	5,46 \pm 1,10a	6,33 \pm 0,59ab	8,09 \pm 0,51a
	Alagado	2,70 \pm 1,2bc	3,17 \pm 2,00d	4,56 \pm 0,01d
180	Controle	4,38 \pm 0,99abc	7,54 \pm 0,55a	7,54 \pm 0,28ab
	Alagado	3,03 \pm 0,28c	4,26 \pm 0,75cd	5,13 \pm 0,17cd

V. CAPÍTULO 2

EFEITO DA SATURAÇÃO HÍDRICA DO SOLO NA TAXA DE ASSIMILAÇÃO DE CO₂ DE *C. brasiliense* Camb. (Clusiaceae)

1. INTRODUÇÃO

As trocas gasosas entre planta e atmosfera ocorrem sob contínua mudança de fatores externos. Os processos fotoquímicos reagem primeiramente em função da disponibilidade de radiação, enquanto os processos bioquímicos são influenciados principalmente pela temperatura e pela disponibilidade de água e minerais (LARCHER 2004). Cada um destes processos é influenciado por fatores internos e externos que, por consequência, podem limitar o rendimento assimilatório como um todo.

A assimilação fotossintética de CO₂ é uma expressão direta da atividade metabólica do vegetal (PAROLIN 2000). Reduções na taxa fotossintética podem ser causadas pela senescência foliar, redução ou alteração no suprimento de nutrientes e por diversos fatores ambientais, tais como o alagamento do solo (PEZESHKI 1993, PEZESHKI *et al.* 1996).

Segundo KOZLOWSKI & PALLARDY (1984), o alagamento do solo é um dos fatores que podem levar a uma rápida redução da taxa fotossintética. A literatura cita que diversas espécies têm a capacidade fotossintética reduzida em resposta à saturação hídrica do solo (LOBO-FARIA 1998, PAROLIN 2001, MIELKE *et al.* 2003, 2005).

Entretanto, existe uma variação muito grande em relação ao padrão de resposta das plantas ao alagamento. Estudos recentes têm demonstrado que

muitas espécies apresentam consideráveis graus de tolerância a tal condição (PEZESHKI 1993, GRAVATT & KIRBY 1998, SENA GOMES & KOZLOWSKI 1988).

Sabe-se que o declínio na capacidade fotossintética, encontrado na maioria das espécies, resultante da saturação hídrica do solo pode ser atribuído tanto a limitações estomáticas como a não estomáticas (PANKOVIC *et al.* 1999; PEZESHKI 2001). Contudo, os processos bioquímicos que afetam a capacidade fotossintética em decorrência do estresse imposto pela deficiência de O₂ ainda não são totalmente conhecidos (PEZESHKI 1994).

Considerando que, apesar da sua ampla distribuição, *Calophyllum brasiliense* é uma espécie fortemente associada a solos sazonal ou permanentemente encharcados, o presente trabalho teve como objetivo testar a hipótese de que a saturação hídrica do solo não afeta, significativamente, sua taxa de assimilação de carbono.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 – Material vegetal e condições de cultivo

Sementes de *Calophyllum brasiliense*, coletadas na Estação Ecológica de Assis (SP), foram colocadas para germinar em sacos plásticos de 3 litros contendo areia grossa lavada, sob condições naturais de luz e temperatura, em casa de vegetação do Departamento de Botânica do Instituto de Biologia (UNICAMP), sendo colocada apenas uma semente por saco plástico. Quinze dias após a germinação as plantas foram regadas semanalmente com solução nutritiva de Hoagland.

Quando as plantas atingiram cerca de 6 meses de idade, foi separado um lote homogêneo, em relação à altura e número de folhas, para o desenvolvimento do experimento. Foram estabelecidos dois tratamentos: plantas controle, regadas diariamente e mantidas em condições de capacidade de campo (normoxia); e plantas submetidas ao tratamento de saturação hídrica do solo, colocadas em tanques com 3cm de água acima do nível do solo (hipoxia), conforme descrito por JOLY & CRAWFORD (1982). A água dos tanques de alagamento foi trocada semanalmente.

Após o início do experimento, foi suspensa a rega com solução nutritiva para as plantas de ambos os tratamentos (normoxia e hipoxia). Essa decisão de suspender a rega com solução nutritiva foi tomada devido à dificuldade de assegurar que ambos os tratamentos recebessem a mesma quantidade de nutrientes. Além disso, no tratamento de alagamento do solo poderia ocorrer um aumento significativo das concentrações solúveis de íons como Fe^{+2} e Mg^{+2} a níveis potencialmente tóxicos. Não obstante, a suspensão da rega com solução nutritiva foi feita também com o intuito de evitar uma acentuada proliferação de

algas nos tanques de alagamento (como ocorrido em experimentos anteriores desenvolvidos pelo Laboratório de Ecofisiologia Vegetal do IB/UNICAMP).

Durante os meses de dezembro de 2005 a junho de 2006, foram realizadas coletas de dados mensais sobre o efeito do alagamento do solo no crescimento das plantas de *C. brasiliense*.

Os trocas gasosas foram determinadas em 5 plantas no início do tratamento (T_0) e em 5 plantas controle e 5 plantas alagadas após 30, 60, 90, 120, 150 e 180 dias.

2.2 – Taxa de assimilação de CO₂

Medidas de trocas gasosas de CO₂ e H₂O foram realizadas através de um Analisador de Fotossíntese Portátil – IRGA (*Infra-Red Gas Analyser*) em sistema aberto (LCA-4 ADC, *Analytical Development Company Limited*).

O aparelho foi utilizado com uma câmara foliar de 6,25 cm² de área. Acoplado à câmara existe um sistema de Peltier, que mantém a temperatura da câmara próxima à do ar. Em seu interior, existe uma ventoinha que promove um fluxo de ar suficiente para a manutenção de uma elevada condutância da camada envolvente (maior que 2,8 mol m⁻² s⁻¹). A câmara também possui um sensor de infravermelho para medição da temperatura foliar, e sensores para a monitoração de parâmetros microclimáticos, tais como temperatura do ar, umidade relativa e densidade de fluxo de fótons (DFF).

Após a realização de experimentos preliminares, foi definido que as medições sempre seriam feitas fora da casa de vegetação, em dias de sol claro, com radiação fotossinteticamente ativa (RAF) superior a 700 μmol m⁻² s⁻¹ e entre 9:00 e 10:00 horas. Como o equipamento possui um sensor interno para

determinação do RAF, foi possível assegurar que as medições de trocas gasosas não fossem limitadas pela energia luminosa.

Para as determinações de trocas gasosas sob condições de alagamento do solo os indivíduos foram colocados em baldes plásticos, com água cerca de 3 centímetros acima do nível do solo, para o transporte e determinações fora da casa de vegetação.

Com o objetivo de identificar a velocidade de ocorrência de possíveis alterações nos padrões de trocas gasosas em resposta ao alagamento do solo, enquanto um indivíduo de *C. brasiliense* era alagado (tempo estimado em cerca de 2 minutos) e durante três horas após o início do estresse, foram feitas medidas de trocas gasosas a cada 30 segundos.

Foram utilizadas repetições de 5 plantas para cada tratamento e as medidas foram realizadas em duas folhas distintas e totalmente expandidas, no início do tratamento (T_0), após 12 horas e após 1, 2, 5, 7, 15, 30, 60, 90, 120, 150 e 180 dias.

As folhas foram inseridas na câmara foliar e a variação no fluxo líquido de CO_2 e H_2O foram monitoradas até o estabelecimento de níveis constantes. Assimilação de CO_2 (A), transpiração (E), condutância estomática ao vapor de água (g_s) e concentração de CO_2 nos sítios de evaporação (C_i) foram calculados através da diferença entre o ar atmosférico (ar de referência) e o ar oriundo da câmara foliar (ar analisado), de acordo com as equações descritas por VON CAEMMERER & FARQUHAR (1981).

Foi calculada a Eficiência do Uso da Água (EUA), de acordo com a razão utilizada por SOUZA *et al.* (2001):

$$\text{EUA} = A / E \text{ (}\mu\text{mol CO}_2 \text{ / mol H}_2\text{O)}$$

Além das medições pontuais, foram realizadas também curvas de resposta à luz e andamento diário da fotossíntese e transpiração em plantas submetidas a dois dias de alagamento, obtidas através de um analisador de fotossíntese portátil – IRGA (LI-6400, LI-COR).

2.3 - Fluorescência da clorofila *a*

A avaliação da emissão de fluorescência da clorofila *a* foi realizada com um medidor de fluorescência com amplitude modulada de pulso (PAM 2100, WALZ) em duas folhas totalmente expandidas de 5 plantas controle e 5 plantas submetidas a 3 e 15 dias de alagamento. A folha foi mantida a uma distância (cerca de 1 cm) e ângulo constante (60°) da fibra óptica com o auxílio de um clipe foliar.

O rendimento quântico efetivo do fotossistema II (Φ) foi determinado conforme GENTY *et al.* (1989) através da fórmula: $\Phi = Fv/Fm = (Fm - F)/Fm$, onde *F* é a fluorescência da clorofila na amostra adaptada à luz e *Fm* a máxima fluorescência da amostra adaptada à luz, com o pulso saturante; e a taxa aparente de transporte de elétrons (ETR) através do fotossistema II foi calculada como $\Delta F/Fm \times DFF \times 0,5 \times 0,84$.

2.4– Extração e determinação de pigmentos

Após a determinação de trocas gasosas, as mesmas folhas foram utilizadas para extração de pigmentos segundo HISCOX & ISRAELSTAM (1979). Com o auxílio de um cortador de metal foram retirados três discos foliares de área conhecida de duas folhas de cada indivíduo, evitando-se a nervura principal, após

15, 150 e 180 dias do início do alagamento do solo. Os discos foram imersos em 4 ml de dimetil-sulfóxido (DMSO), em tubos de ensaio com tampa de rosca. Os tubos foram mantidos no escuro por 24 horas para extração de pigmentos. As leituras de densidade óptica foram determinadas em espectrofotômetro (B542, Micronal) na faixa de absorbância de 470, 645, 646 e 663 nm.

Réplicas de discos foliares das mesmas folhas e com a mesma área foram retiradas e submetidas à secagem por 48 horas em estufa a 80°C, para a obtenção da massa seca.

As concentrações de clorofila e de carotenos + xantofilas, expressas em mg/g de massa seca, foram calculadas seguindo as equações usadas por ARNON (1949) e LICHTENTHALER (1987), respectivamente, a saber:

$$Cl\ a = \frac{(12,7 \cdot A_{663} - 2,69 \cdot A_{645}) \cdot V}{1000\ MS}$$

$$Cl\ b = \frac{(22,9 \cdot A_{645} - 4,68 \cdot A_{663}) \cdot V}{1000\ MS}$$

$$Cl\ a + b = \frac{(20,2 \cdot A_{646}) + (8,02 \cdot A_{663}) \cdot V}{1000\ MS}$$

$$C\ x + c = \frac{(1000 \cdot A_{470}) - (1,82 \cdot Ca) - (85,02 \cdot Cb) \cdot V}{198}$$

Onde:

Cl a = Clorofila a (mg.g⁻¹ de massa seca)

Cl b = Clorofila b (mg.g⁻¹ de massa seca)

Cl a + b = Clorofila a + b (mg.g⁻¹ de massa seca)

C x + c = Xantofilas + Carotenos (mg.g⁻¹ de massa seca)

V = Volume da amostra (mL)

MS = Massa seca

A470 = Absorbância a 470 nm

A663 = Absorbância a 663 nm

A645 = Absorbância a 645 nm

2.5- Taxa de assimilação de CO₂ sob condições de campo

Para comparar os dados relativos às trocas gasosas, obtidos em casa de vegetação, foram realizadas determinações pontuais de trocas gasosas e curvas de saturação a luz em pelo menos cinco indivíduos de *C. brasiliense* crescendo naturalmente, na área de Floresta Ombrófila Densa de Terras Baixas, do Núcleo Picinguaba do Parque Estadual da Serra do Mar, no município de Ubatuba – SP (44°48'W e 23°22'S).

O clima da região de Ubatuba, segundo classificação proposta por KOEPPEN (1948), pode ser definido como clima de floresta tropical chuvosa (Af), constantemente úmido, com chuvas suficientes todos os meses.

Os dados de precipitação atmosférica obtidos junto ao Instituto Agronômico de Campinas (IAC) para o município de Ubatuba, SP, para o período de 1961 a 1990, apontam para a existência de dois períodos durante o ano: um bastante úmido (de outubro a abril) com chuvas freqüentes e precipitação total geralmente superior aos 180 mm mensais, e outro menos úmido (de maio a setembro) com chuvas menos constantes, embora sem déficit hídrico, com precipitação entre 80 e 160 mm mensais.

Dentro da estação mais chuvosa, a maior precipitação ocorre entre dezembro e março, com valores médios entre 300 e 340 mm mensais, época em que o solo geralmente apresenta saturação hídrica, podendo ocorrer inundação. É bastante comum, durante esse período, o aparecimento de grandes e inúmeras poças de água (também chamadas de lagoas) nas partes mais baixas do relevo.

A precipitação média anual é de aproximadamente 2.600 mm e a umidade relativa do ar é sempre superior a 85%. A temperatura média anual gira em torno dos 21°C, com a média das máximas em fevereiro (30,4°C) e a média das mínimas em julho (12,6° C).

Foram realizadas duas coletas de dados: uma primeira coleta no mês de janeiro de 2006 (período de maior pluviosidade, em que o solo apresenta-se naturalmente saturado hidricamente) e uma segunda coleta no mês de agosto de 2006 (período de menor pluviosidade).

Para tais determinações, procurou-se utilizar plantas no mesmo estágio de desenvolvimento das plantas crescidas em casa de vegetação. Os indivíduos utilizados na primeira coleta de dados foram marcados, o que tornou possível fazer a segunda coleta de dados nestes mesmos indivíduos.

2.6– Análise Estatística

As comparações entre médias foram realizadas a partir da Análise de Variância (ANOVA), seguida pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade (SOKAL & ROHLF 1995; ZAR 1999).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A curva de saturação lumínica evidencia como é o padrão de resposta da fotossíntese desta espécie a variações na radiação luminosa. Neste experimento, a curva de resposta à luz mostrou que a taxa máxima de assimilação de CO₂ para indivíduos de *C. brasiliense* ocorre por volta de 700 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (Figura 3), indicando que as medições de trocas gasosas no período experimental não ocorreram sob limitações de energia luminosa.

A fase de saturação da curva pode ser reconhecida quando o fator externo varia, neste caso a luz, mas não tem a capacidade de limitar ou aumentar sozinho a velocidade dos processos de assimilação.

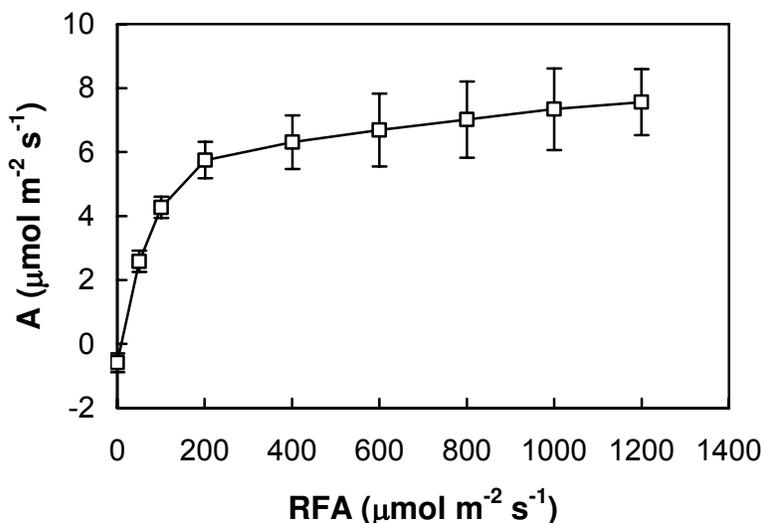


Figura 3. Assimilação de CO₂ (A) em função da radiação fotossinteticamente ativa (RAF) de plantas de *Calophyllum brasiliense*. Os valores são médias \pm desvio padrão (n=5).

As trocas gasosas acompanharam as mudanças da radiação luminosa ao longo do dia. Conforme mostra a Figura 4a, o curso diário da fotossíntese de indivíduos de *C. brasiliense* apresentou comportamento típico, com redução nas horas mais quentes do dia (a partir das 12 horas), discreta recuperação no período da tarde (por volta das 16 horas) e redução acentuada com a diminuição da radiação luminosa no final do dia (após as 18 horas), sendo os valores máximos de fotossíntese observados no período da manhã.

Segundo DUARTE *et al.* (2005), esta espécie apresenta um padrão típico de fotoinibição com função fotoprotetora que pode, após uma depressão do rendimento fotossintético durante o período do dia que apresenta picos de irradiância, retornar aos seus valores ótimos de fotossíntese.

De acordo com o curso diário da transpiração (Figura 4b), as menores taxas de transpiração foram encontradas nas primeiras horas do dia e no final da tarde. O aumento da radiação luminosa durante o período da manhã foi acompanhado pelo aumento da transpiração, no entanto, após serem atingidos os valores máximos de transpiração (por volta das 13 horas) tal fator foi reduzido acentuadamente. O período em que foram observados os valores máximos de transpiração correspondeu ao período de maior incidência luminosa, conseqüentemente, período de temperatura mais elevada.

O padrão de trocas gasosas no decorrer do dia depende das condições internas e externas da planta. A depressão da fotossíntese no meio do dia é um fenômeno típico, sobretudo nas plantas lenhosas.

Nos períodos do dia em que a temperatura é mais alta devido a forte radiação e a alta capacidade evaporativa do ar, o calor acumulado sobre a folha exposta à luz solar plena é muito alto, devendo ser dissipado. Nestas condições os estômatos tendem a fechar, a concentração interna de CO₂ a aumentar e a eficiência fotoquímica do fotossistema II a diminuir, assim como o potencial hídrico da folha também tende a diminuir.

A depressão da fotossíntese no meio do dia geralmente é resultado da interação de muitos fatores estressantes, dentre eles, a forte radiação, o balanço hídrico negativo e o estresse térmico.

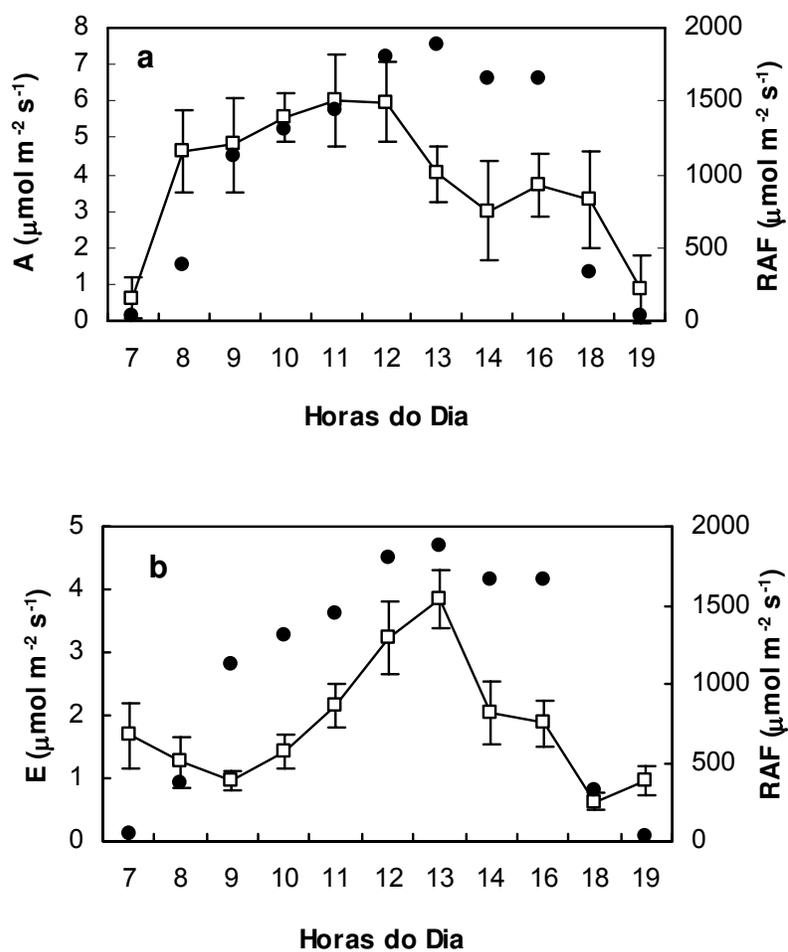


Figura 4. Em a, Assimilação de CO₂ (A) e em b, transpiração (E) ao longo das horas do dia de plantas de *Calophyllum brasiliense*. Os círculos cheios representam a radiação fotossinteticamente ativa (RAF). Os valores são médias \pm desvio padrão (n=5).

A curva de saturação lumínica de indivíduos de *C. brasiliense* submetidos a dois dias de saturação hídrica do solo indica que não houve uma influência significativa do estresse na assimilação fotossintética máxima neste período. Conforme mostra a Figura 5, a taxa máxima de assimilação de CO₂ de plantas alagadas por dois dias também ocorreu por volta de 700 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$.

O ponto de saturação da fotossíntese pode ser utilizado para caracterizar o comportamento das espécies vegetais em relação ao uso de um determinado recurso, neste caso, a radiação luminosa. Geralmente, quanto maior for o valor do ponto de saturação, maior será o ganho fotossintético. Neste experimento, plântulas submetidas a dois dias de alagamento não mostraram diferenças significativas em relação aos valores do ponto de saturação a luz em relação às plantas controle.

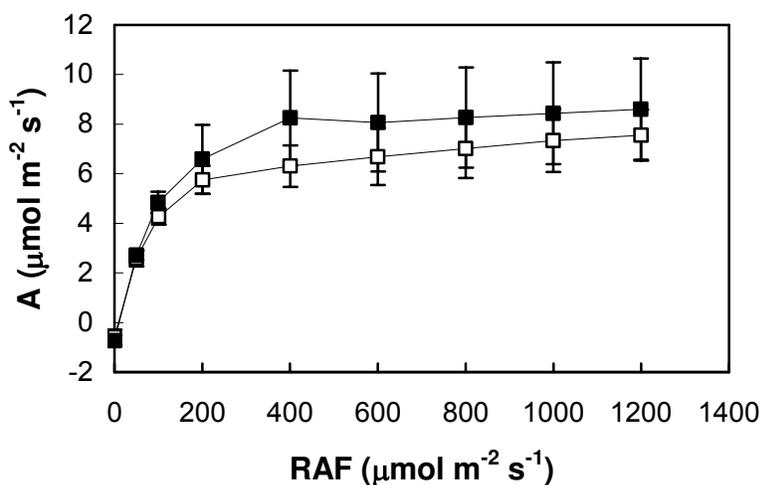


Figura 5. Assimilação de CO₂ (A) em função da radiação fotossinteticamente ativa (RAF) de plantas de *Calophyllum brasiliense* não alagadas (símbolos vazios) e alagadas por dois dias (símbolos cheios). Os valores são médias \pm desvio padrão (n=5).

No entanto, em relação ao curso diário da fotossíntese e da transpiração, foram observadas diferenças em função da saturação hídrica do solo. Conforme mostra a Figura 6a, o curso diário da fotossíntese de plantas alagadas por dois dias apresentou comportamento semelhante ao das plantas controle, com redução nas horas mais quentes do dia. Nas plantas alagadas, entretanto, a redução foi mais acentuada, diferindo significativamente dos valores das plantas não-alagadas.

As diferenças no curso diário da transpiração de plantas alagadas por dois dias em relação ao de plantas controle também ocorreram durante o período de maior incidência luminosa (por volta das 12 e 13 horas). As plantas não alagadas continuaram a mostrar valores altos de transpiração até as 13 horas, enquanto as plantas alagadas por dois dias tiveram uma queda significativa nestes valores (Figura 6b). A partir desse período do dia, a transpiração tanto das plantas não alagadas quanto das plantas alagadas permaneceu baixa. Isso sugere que tenha havido uma limitação estomática da fotossíntese durante o período da tarde, evidenciada pela restrição da transpiração, no entanto, esse controle ocorreu primeiramente nas plantas submetidas ao alagamento.

Tais diferenças nas taxas de fotossíntese e de transpiração de plantas controle e saturadas hidricamente, ocorridas nos horários de maior incidência luminosa, provavelmente se deram por que as plantas alagadas estavam sob condições mais estressantes do que as plantas controle: além do estresse promovido pela alta temperatura, havia também o estresse imposto pela saturação hídrica do solo.

O acompanhamento em curto prazo das alterações nos padrões de trocas gasosas durante o alagamento de um indivíduo de *C. brasiliense* mostrou que a espécie responde rapidamente às condições impostas. Cerca de uma hora após o início do alagamento a taxa fotossintética foi reduzida em mais de 50% dos valores iniciais, sendo acompanhada também pela redução da condutância estomática (Figura 7). Nesse período, a rápida redução da taxa fotossintética pode

ser atribuída principalmente a limitações difusionais devido a reduções na abertura estomática. No entanto, a recuperação total foi verificada cerca de 3 horas após o início do estresse.

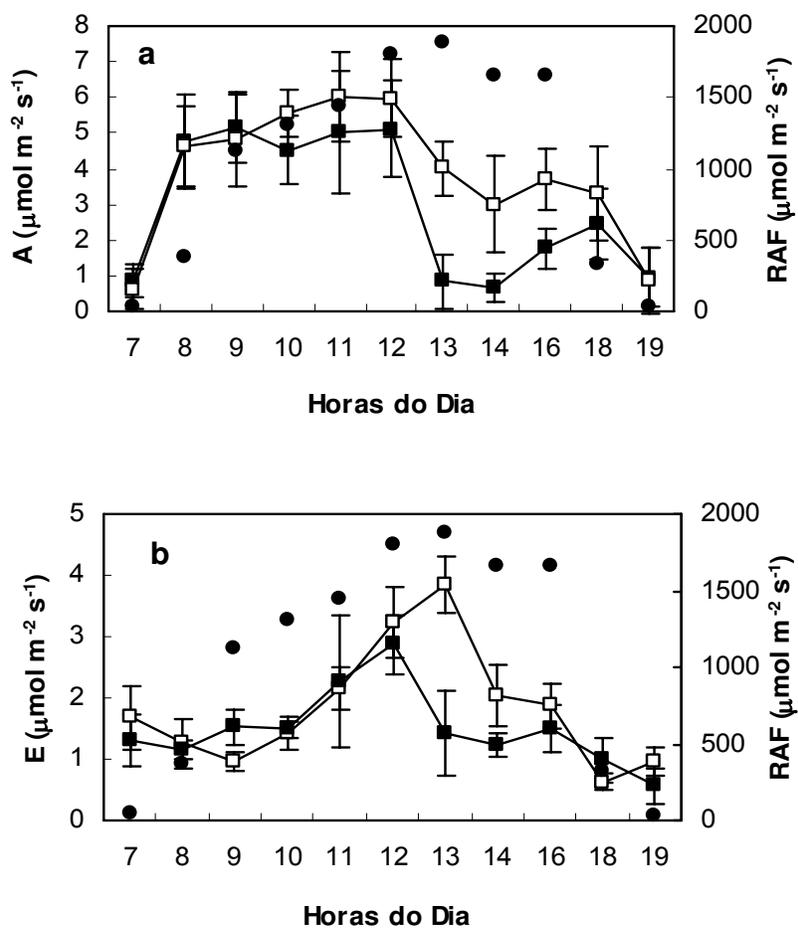


Figura 6. Em a, Assimilação de CO₂ (A) e em b, transpiração (E) ao longo das horas do dia de plantas de *Calophyllum brasiliense* não alagadas (símbolos vazios) e alagadas por dois dias (símbolos cheios). Os círculos cheios representam a radiação fotossinteticamente ativa (RAF). Os valores são médias ± desvio padrão (n=5).

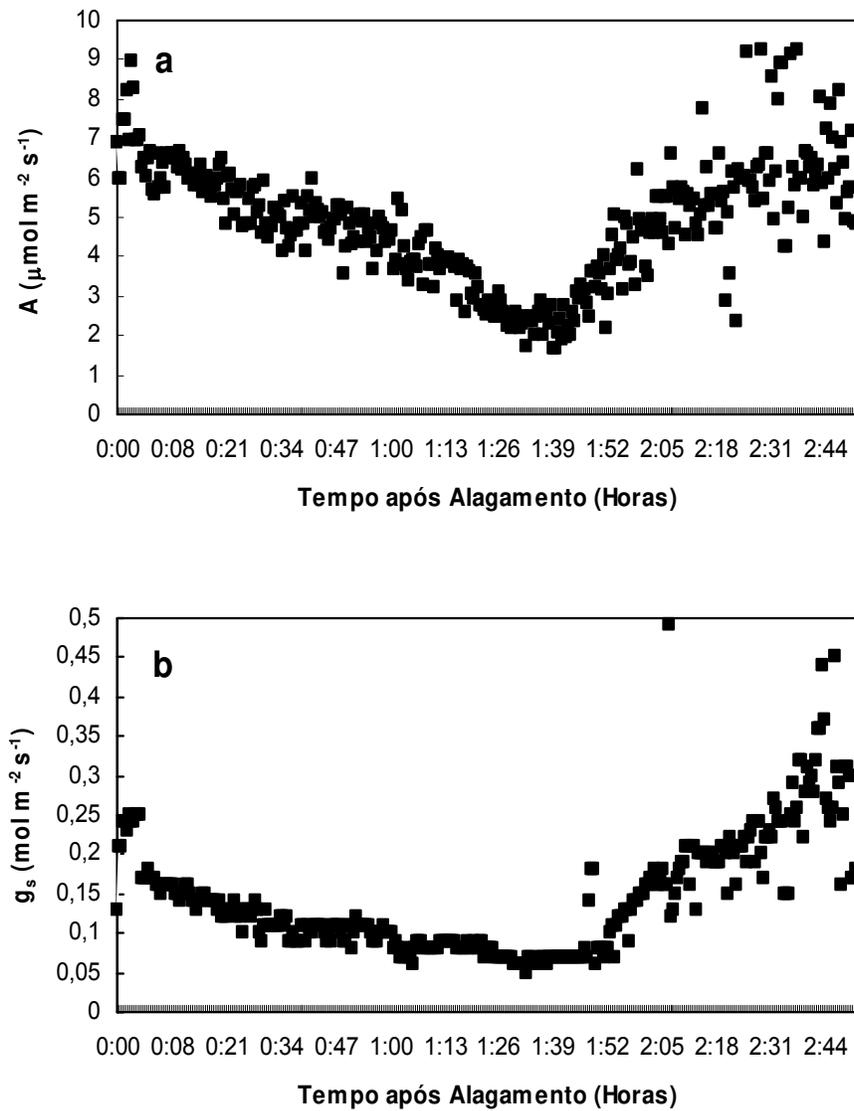


Figura 7. Em a, Assimilação de CO₂ (A) e em b, condutância estomática (g_s) ao longo do tempo, após o alagamento de um indivíduo de *Calophyllum brasiliense*.

Deste período até os sete primeiros dias que sucederam o início do tratamento, não foram observadas mudanças significativas na taxa fotossintética, transpiração, condutância estomática e na concentração interna de CO₂ na folha de plantas mantidas sob condições de saturação hídrica do solo (Figura 8).

Tais observações sugerem que a espécie tem um padrão de resposta a este tipo de estresse que atua em curto prazo, mantendo suas taxas fotossintéticas próximas aos valores que apresenta quando em condições normais de aeração do solo.

No entanto, 15 dias após o início do estresse foi observada uma redução significativa da taxa fotossintética, o que não foi acompanhada por reduções seja da transpiração, condutância estomática ou da concentração interna de CO₂ na folha (Figura 8). Igualmente, não houve mudanças na eficiência do uso da água e na razão entre concentração interna de CO₂ na folha e concentração atmosférica de CO₂ (Figura 9).

No experimento de longo prazo, trinta e sessenta dias após o alagamento foi observada novamente uma redução na atividade fotossintética das plantas submetidas ao alagamento, sem que houvesse reduções da transpiração, da condutância estomática e da concentração interna de CO₂ na folha (Figura 10).

Contudo, trabalhos anteriores observaram uma redução significativa da fotossíntese acompanhada pela redução tanto da condutância estomática como da transpiração em espécies arbóreas tropicais tolerantes ao alagamento (PAROLIN 2001, MIELKE *et al.* 2005, LOPEZ & KURSAR 1999), embora algumas exceções também tenham sido relatadas (PEZESHKI & DELAUNE 1990, PEZESHKI & ANDERSON 1997).

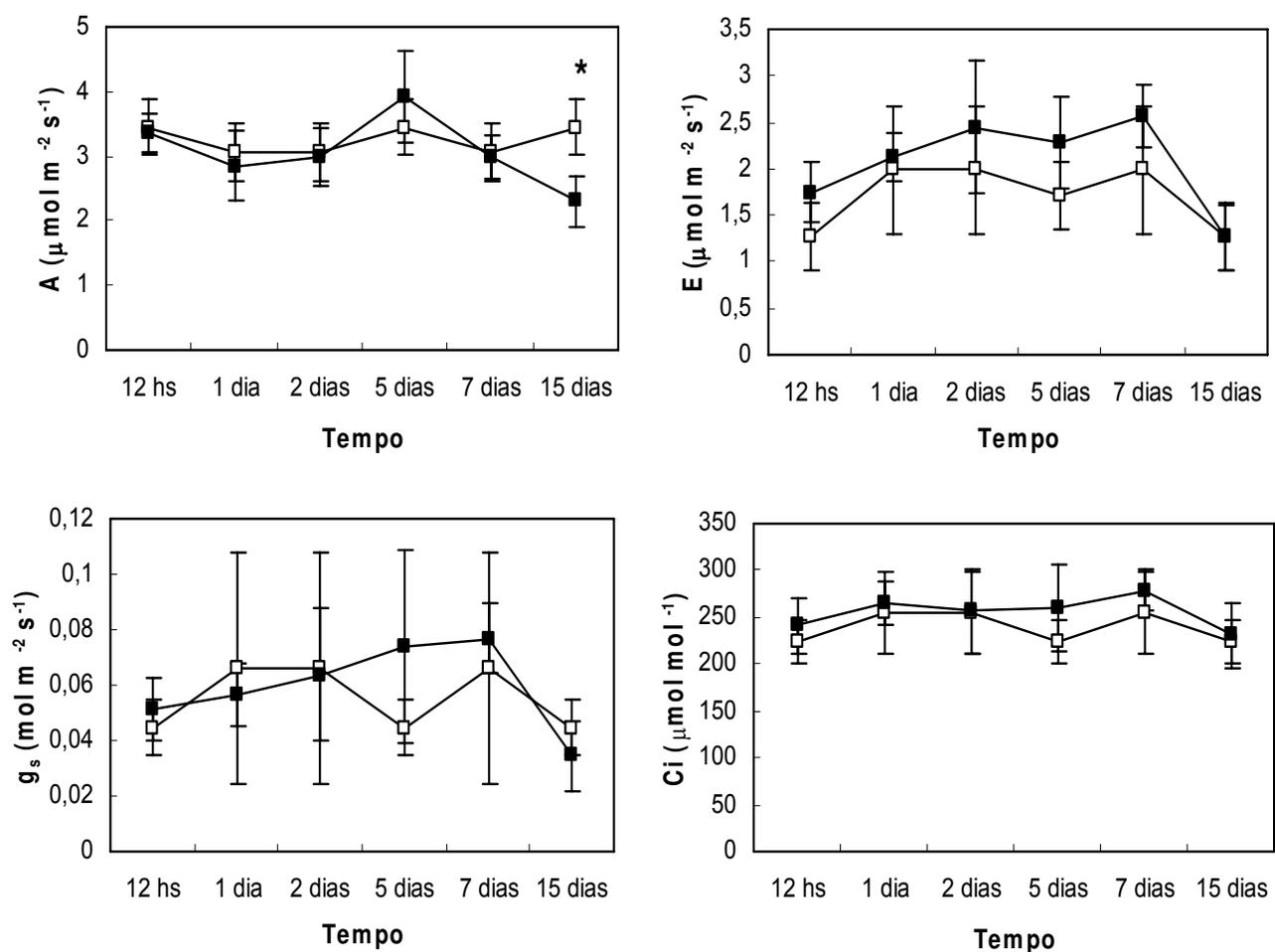


Figura 8. Assimilação de CO₂ (A), Transpiração (E), Condutância estomática (g_s) e Concentração interna de CO₂ (C_i) de plantas de *Calophyllum brasiliense* não alagadas (símbolos vazios) e alagadas (símbolos cheios). O asterisco (*) indica que houve diferença significativa entre os tratamentos dentro do mesmo período. Os valores são médias ± desvio padrão (n=5).

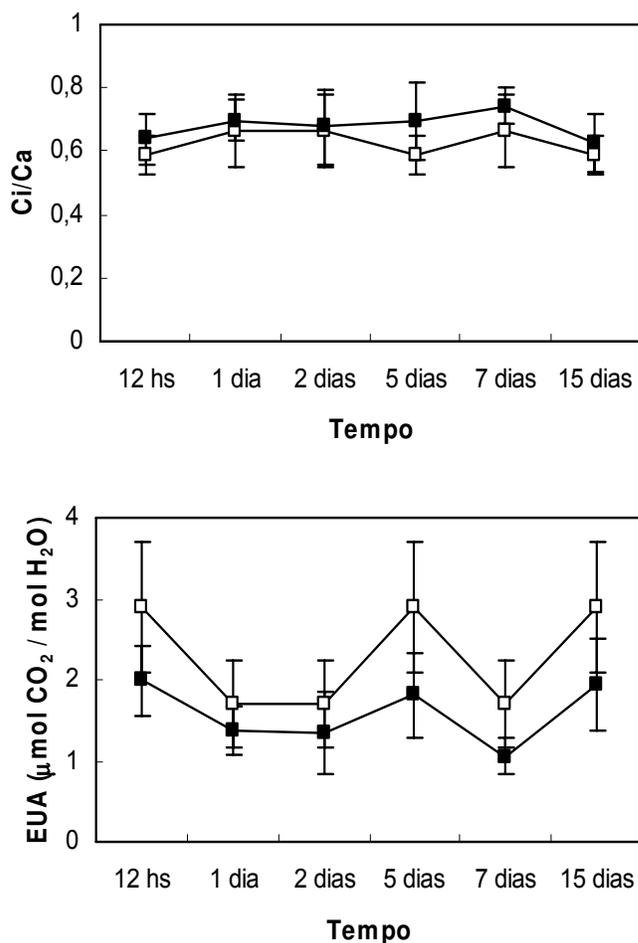


Figura 9. Razão entre a concentração interna e externa de CO₂ (Ci/Ca) e Eficiência do Uso da Água (EUA) de plantas de *Calophyllum brasiliense* não alagadas (símbolos vazios) e alagadas (símbolos cheios). Os valores são médias \pm desvio padrão (n=5).

LOPEZ & KURSAR (1999) relataram que o alagamento do solo ocasionou reduções significativas na fotossíntese de plantas de *Calophyllum longifolium* mantidas sob tais condições por 45 dias, ainda que não tenham havido efeitos negativos na condutância estomática.

A manutenção da abertura estomática, durante esse período, pode estar relacionada ao desenvolvimento de lenticelas hipertrofiadas e de raízes adventícias (GRAVATT & KIRBY 1998, LOPEZ & KURSAR 1999).

Somente após 90 dias de hipóxia é que a redução da assimilação de CO₂ foi acompanhada pela redução significativa da transpiração e da condutância estomática (Figura 10). Porém, após 150 de alagamento, os valores de transpiração e condutância estomática das plantas submetidas ao estresse voltaram a se igualar com os valores das plantas controle, em contraponto com os valores de fotossíntese que permaneceram menores.

O declínio da fotossíntese sob tais condições de estresse pode ocorrer tanto em resposta à limitação difusional do carbono, devido ao fechamento estomático, quanto à limitações não estomáticas (PEZESHKI 1993). Neste experimento, a condutância estomática somente foi reduzida após 90 dias de alagamento e recuperou-se após 150 dias, evidenciando que durante o período anterior a essa redução e após a sua recuperação, esse fator não foi responsável pela diminuição da fotossíntese.

No entanto, a avaliação da fluorescência máxima da clorofila evidenciou que o rendimento quântico efetivo do fotossistema II, bem como o transporte de elétrons das plantas mantidas sob condições de saturação hídrica do solo por 15 dias foi menor se comparado ao das plantas controle independente da densidade de fluxo de fótons fotossinteticamente ativos incidente sobre a folha (Figura 11).

Parâmetros obtidos através da avaliação da fluorescência da clorofila também podem ser utilizados para indicar efeitos do estresse ambiental na fotossíntese, para avaliar a capacidade da planta de tolerar esse estresse, bem como para indicar a extensão de um possível dano ao aparelho fotossintético (MAXWELL & JOHNSON 2000). Como neste experimento o rendimento quântico efetivo do fotossistema II e o transporte de elétrons foram reduzidos nas plantas mantidas alagadas por 15 dias, é possível que o estresse imposto tenha ocasionado danos ao aparelho fotossintético.

Outros autores também têm relatado reduções seja na eficiência fotoquímica do fotossistema II, como no transporte de elétrons, em função do alagamento do solo (GUIDI & SOLDATINI 1997, HALDIMANN & STRASSER 1999, SMETHURST *et al.* 2005).

Limitações não estomáticas, como alterações nas enzimas do Ciclo de Calvin e degradação de pigmentos (PEZESHKI 2001), possivelmente foram as principais responsáveis pela redução na assimilação de carbono na maior parte do tempo do experimento. Entretanto, a contribuição de cada componente requer maiores investigações.

SANCHES *et al.* (2006) também relacionaram a redução na taxa de assimilação de carbono a limitações não estomáticas em plantas de *Erythrina speciosa* alagadas por um período superior a 40 dias.

A concentração interna de CO₂ na cavidade sub-estomática da folha não diferiu entre os tratamentos durante quase todo o período experimental, confirmando que a limitação observada no processo fotossintético não foi causada pelo fechamento estomático, pelo menos no início do experimento, mas outro fator foi responsável pela limitação da assimilação do carbono no mesofilo. A concentração interna de CO₂ somente foi reduzida nas plantas submetidas a 180 dias de alagamento (Figura 10). Outros autores também observaram uma manutenção dessa concentração durante o alagamento (GUIDI & SOLDATINI 1997; FERNÁNDEZ 2006).

Ainda que a concentração interna de CO₂ na cavidade sub-estomática tenha sido semelhante nos dois tratamentos ao longo de quase todo o experimento, CORNIC *et al.* (1989) relataram que sob condições de estresse hídrico há um aumento na resistência do mesofilo ao CO₂, o que gera um decréscimo na concentração de CO₂ no cloroplasto; neste caso, a redução da fotossíntese durante o estresse hídrico pode ser atribuída a este decréscimo na concentração de CO₂ no cloroplasto (RENOU *et al.* 1990).

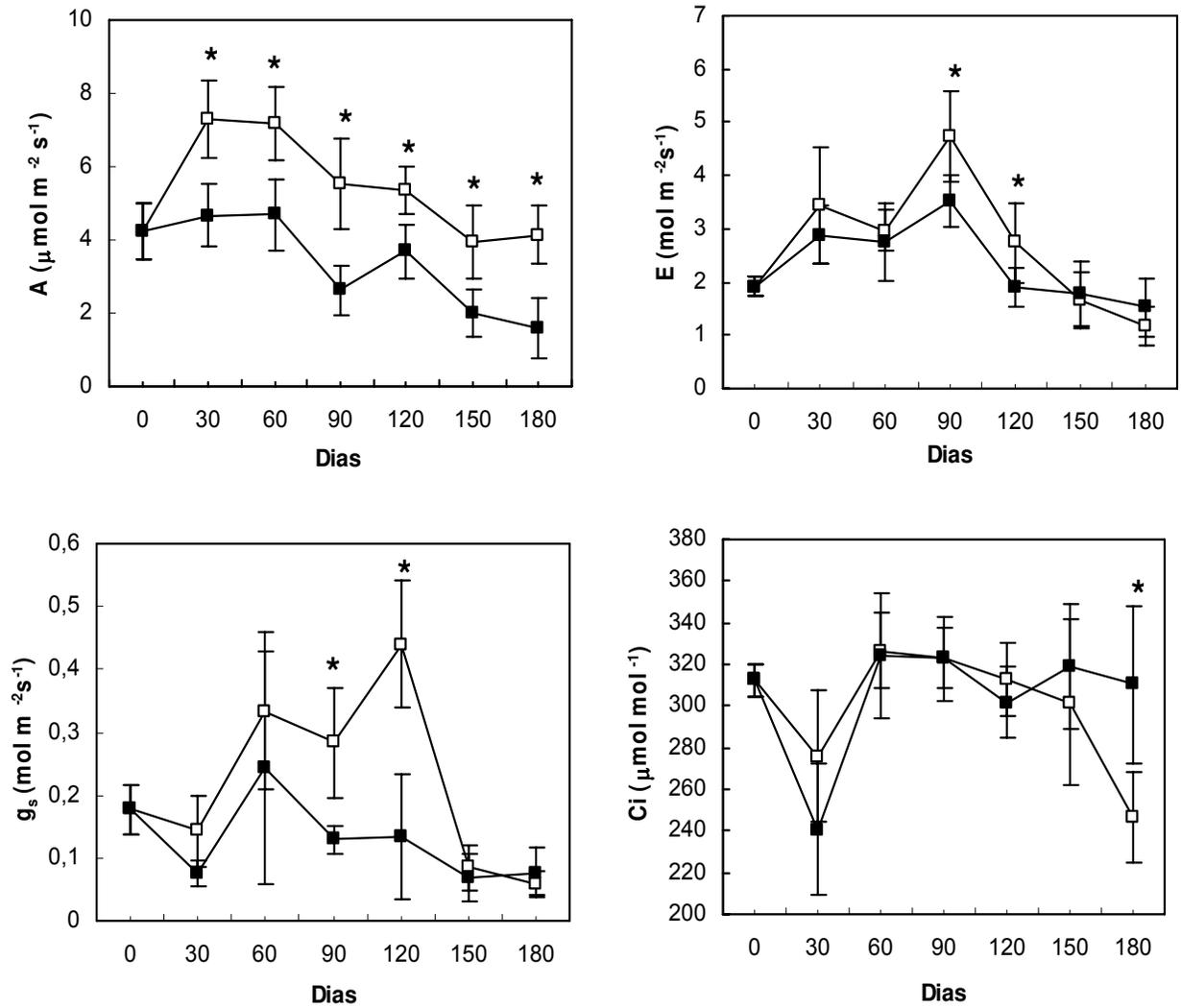


Figura 10. Assimilação de CO₂ (A), Transpiração (E), Condutância estomática (g_s) e Concentração interna de CO₂ (C_i) de plantas de *Calophyllum brasiliense* não alagadas (símbolos vazios) e alagadas (símbolos cheios). O asterisco (*) indica que houve diferença significativa entre os tratamentos dentro do mesmo período. Os valores são médias ± desvio padrão (n=5).

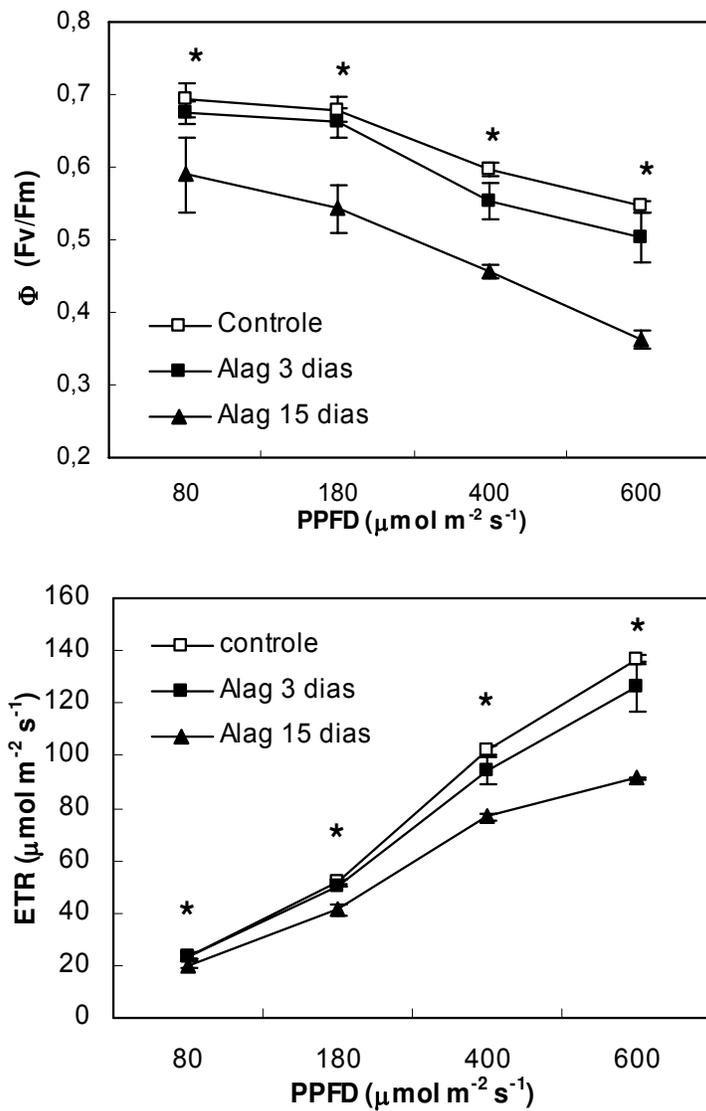


Figura 11. Rendimento quântico efetivo do PS II (Φ) e Taxa relativa de transporte de elétrons (ETR) em função da Densidade de fluxo de fótons fotossinteticamente ativos (PPFD) de plantas de *Calophyllum brasiliense* não alagadas (controle) e alagadas por 3 e 15 dias. O asterisco (*) indica que houve diferença significativa entre o tratamento de alagamento por 15 dias e os demais. Os valores são médias \pm desvio padrão (n=5).

A razão entre a concentração interna e externa de CO₂ (razão Ci/Ca) da folha também não diferiu entre os tratamentos durante boa parte do período experimental, sendo reduzida nas plantas estressadas somente após 180 dias de alagamento em função de um aumento da concentração interna de CO₂ na folha (Figura 12). Tal resultado confirma a afirmação anterior de que o comportamento estomático não foi o fator limitante da fotossíntese, pelo menos nos primeiros meses após a inundação do solo.

A pressão de CO₂ nos espaços intercelulares é definida pelo balanço entre o consumo de CO₂ pela fotossíntese e a sua reposição, seja pelo influxo do meio externo como pela respiração. O comportamento estomático tende a atuar de forma a manter constante a pressão parcial interna de CO₂ para uma dada pressão externa de CO₂; enquanto essa tendência de otimização é mantida, a razão Ci/Ca permanece constante.

A eficiência do uso da água igualmente não foi alterada pelo estresse durante os primeiros 150 dias seguintes ao alagamento do solo (Figura 13), contrapondo com os resultados de estudos anteriores realizados com espécies tropicais onde houve um aumento da eficiência do uso da água a partir do primeiro mês de inundação (MIELKE *et al.* 2005).

A manutenção da eficiência do uso da água mesmo sob tais condições ocorreu por que, embora tenha havido uma redução acentuada da fotossíntese, a transpiração das plantas inundadas não apresentou grandes diferenças em relação à transpiração das plantas controle, o que indica que não houve um alto grau de limitação estomática da fotossíntese.

Somente após 180 dias de alagamento é que houve diferença significativa entre a eficiência do uso da água de plantas controle e alagadas. No entanto, tal diferença se deu por que a eficiência do uso da água das plantas controle aumentou (em relação à determinação anterior) em função da redução da transpiração, enquanto a eficiência do uso da água das plantas alagadas foi mantida em relação à determinação anterior (Figura 13).

Os estômatos são, além da via de entrada e saída de gases, também a via de saída da água, ou seja, quando a planta absorve CO₂ do meio externo ela também perde água. A relação entre fotossíntese (assimilação) e consumo de água (transpiração) também é chamada de Eficiência do uso da água, que expressa quantitativamente o comportamento momentâneo das trocas gasosas na folha. A eficiência do uso da água tende a mudar quando as condições para a difusão do CO₂ ou da H₂O são alteradas.

Neste experimento, a manutenção de um estado hídrico favorável à sobrevivência das plantas alagadas pareceu estar mais relacionada à continuidade da condutividade da raiz, mantida possivelmente em resposta ao desenvolvimento de raízes adventícias e lenticelas hipertrofiadas (como será mostrado no próximo capítulo), do que a um controle estomático, visto que não houve redução da condutância estomática e da transpiração durante grande parte do período de estresse.

As folhas de plantas submetidas ao alagamento do solo adquiriram coloração pálida e tornaram-se cloróticas durante o experimento, evidenciando um sinal visual de estresse. A clorose deveu-se à redução no conteúdo de clorofila, o que provavelmente ocorreu em resposta ao estresse ocasionado pelo alagamento do solo, mas também pode estar relacionada a uma deficiência de nutrientes minerais. Assumindo o fato de que o alagamento do solo implique em uma redução da condutividade do sistema radicular, responsável pela absorção de água e nutrientes, é natural que as plantas sob tais condições apresentem deficiência nutritiva.

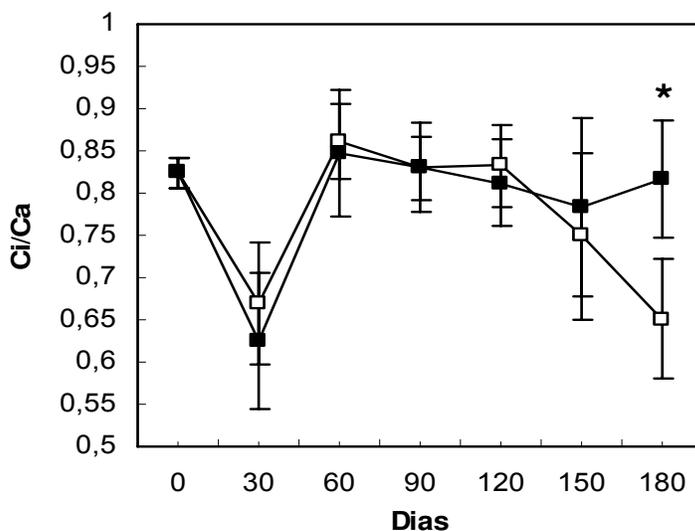


Figura 12. Razão entre a concentração interna e externa de CO_2 (C_i/C_a) de plantas de *Calophyllum brasiliense* não alagadas (símbolos vazios) e alagadas (símbolos cheios). O asterisco (*) indica que houve diferença significativa entre os tratamentos dentro do mesmo período. Os valores são médias \pm desvio padrão ($n=5$).

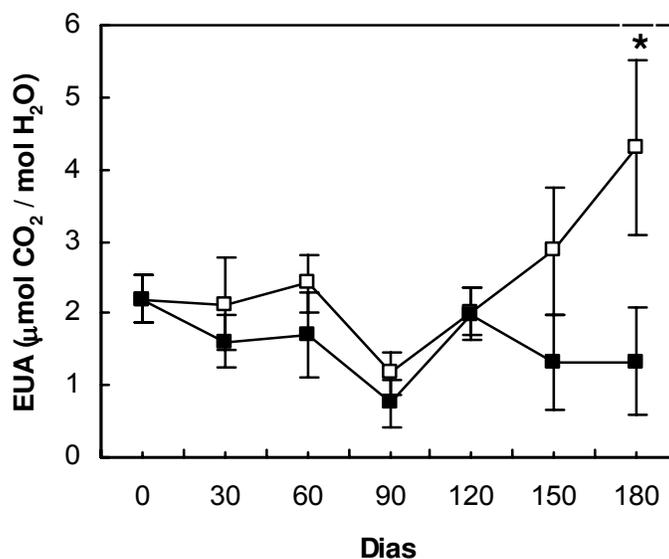


Figura 13. Eficiência do Uso da Água (EUA) de plantas de *Calophyllum brasiliense* não alagadas (símbolos vazios) e alagadas (símbolos cheios). O asterisco (*) indica que houve diferença significativa entre os tratamentos dentro do mesmo período. Os valores são médias \pm desvio padrão ($n=5$).

Logo no início do experimento foi observada uma diferença significativa entre o conteúdo de clorofila e pigmentos acessórios (caroteno e xantofila) de plantas controle e submetidas a 15 dias de alagamento (Figura 14). A redução na concentração de pigmentos tem sido interpretada como uma resposta ao alagamento em longo prazo, no entanto DELL-AMICO *et al.* (1994) verificaram uma redução no conteúdo de clorofilas ao submeterem cultivares diferentes de tomate a períodos de 24 a 72 horas de alagamento.

Após 150 dias de alagamento do solo essa redução do conteúdo de clorofila e de pigmentos acessórios foi novamente constatada (Figura 15). Resultados semelhantes foram encontrados por McKLEVIN *et al.* (1995) e LI *et al.* (2004), entretanto PEZESHKI *et al.* (1996) não encontrou decréscimo na concentração de pigmentos em resposta ao alagamento do solo.

A razão entre a clorofila *a* e *b* (razão *a/b*) foi significativamente maior nas plantas mantidas sob condições de saturação hídrica do solo (Figuras 14 e 15). Existem duas possíveis explicações para este aumento da razão *a/b*: a clorofila *b* pode ter sido mais rapidamente degradada pelas condições impostas do que a clorofila *a*, ou ainda, a síntese de clorofila *b* foi reduzida ou a síntese de clorofila *a* foi aumentada. No entanto, pouco se sabe se as condições impostas pelo alagamento do solo afetam diretamente a concentração de clorofila pela sua degradação ou se indiretamente pela redução da síntese de novas moléculas de clorofila.

A redução da concentração de clorofila e de pigmentos acessórios ocasionada durante o estresse pode ser um dos fatores que limitam o processo fotoquímico em longo prazo, visto que a absorção da radiação depende em grande parte da concentração do pigmento fotossinteticamente ativo, porém em curto prazo outros fatores podem estar envolvidos.

A deficiência mineral ou a alteração dos elementos nutritivos, a que as plantas possivelmente foram expostas (visto que não receberam solução nutritiva durante o período experimental), pode ter afetado o conteúdo de clorofila. Isso

pode ser observado através da comparação da concentração de pigmentos no início do experimento, após 15 dias (Figura 14) e no final do experimento, após 150 ou 180 dias (Figura 15): no início do experimento a concentração dos pigmentos das plantas controle e alagadas foi significativamente maior do que no final do experimento, quando a deficiência mineral provavelmente tornou-se mais acentuada.

A interrupção da oferta de solução nutritiva após o início do experimento e a renovação semanal da água dos tanques de alagamento pode ter ocasionado uma remoção mais acentuada dos nutrientes remanescentes no solo alagado. Em adição, a diminuição da concentração de nitrogênio nas folhas de plantas alagadas (mostrada na Tabela 4 do Capítulo 1) pode ter sido um fator decisivo na redução de pigmentos fotossintéticos.

No entanto, isso não explica a diferença significativa no conteúdo de pigmentos entre os tratamentos, visto que essa situação foi igual para as plantas de ambos os tratamentos.

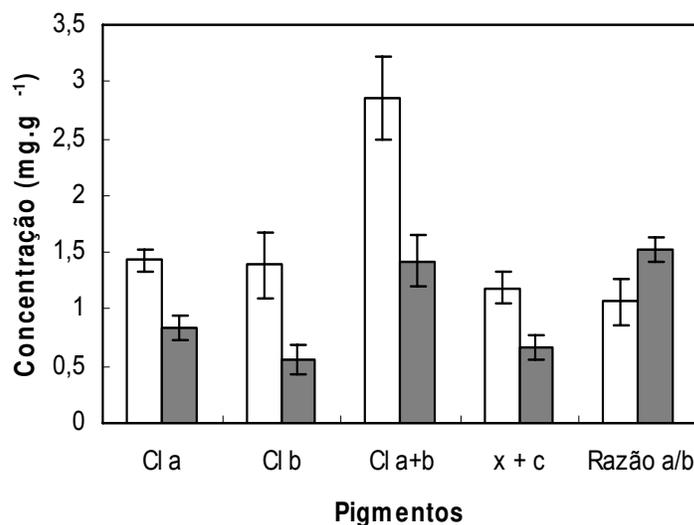


Figura 14. Concentração de Clorofila *a*, *b* e *a + b* (Cl), de Xantofilas + Carotenos (*x + c*) e Razão entre Clorofila *a* e *b* (Razão *a/b*) de plantas de *Calophyllum brasiliense* não alagadas (colunas vazias) e alagadas por 15 dias (colunas cheias). Os valores são médias \pm desvio padrão (n=5).

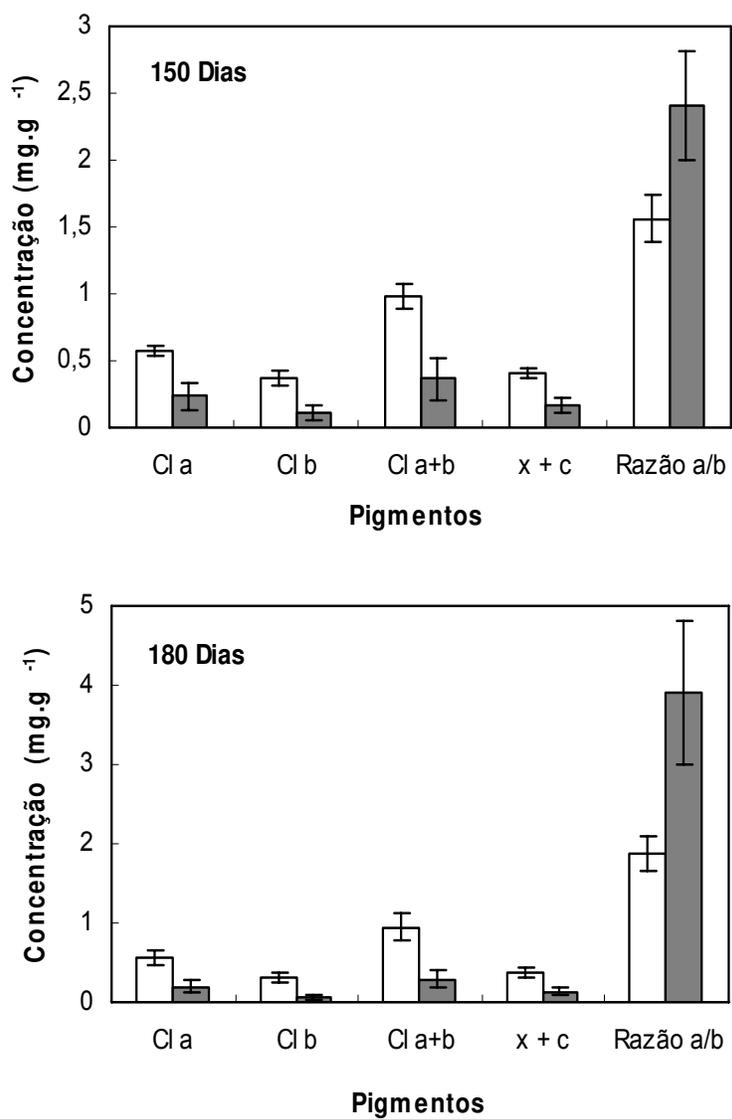


Figura 15. Concentração de Clorofila *a*, *b* e *a + b* (Cl), de Xantofilas + Carotenos (*x + c*) e Razão entre Clorofila *a* e *b* (Razão *a/b*) de plantas de *Calophyllum brasiliense* não alagadas (colunas vazias) e alagadas por 150 e 180 dias (colunas cheias). Os valores são médias \pm desvio padrão ($n=5$).

A curva de resposta à luz após 180 dias de experimento mostrou que o ponto de saturação luminoso de plantas mantidas sob condições controle ocorreu também por volta de $700 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$; enquanto que o das plantas mantidas sob condições de estresse ocorreu por volta de $450 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (Figura 16). A redução do ponto de saturação luminoso nas plantas alagadas provavelmente tenha ocorrido em função de danos do PS II e menor transporte de elétrons, como demonstrado anteriormente (Figura 11). Geralmente, quanto maior é o valor do ponto de saturação, maior é o ganho fotossintético.

A assimilação fotossintética máxima, mostrada pela curva de saturação lumínica após 180 dias de experimento, também diferiu significativamente entre os tratamentos (Figura 16). Nas plantas controle a média foi de $2,69 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ e nas plantas estressadas foi de $1,83 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Tais curvas foram realizadas no mês de junho, em que a temperatura média é mais baixa, o que justifica o fato de que as taxas fotossintéticas observadas neste período, mesmo nas plantas controle, tenham sido significativamente inferiores às encontradas no início do experimento.

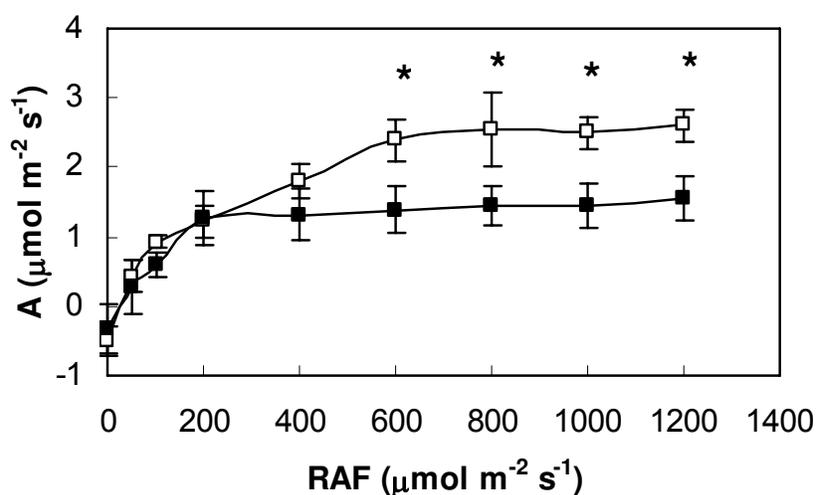


Figura 16. Assimilação de CO_2 (A) em função da radiação fotossinteticamente ativa (RAF) de plantas de *Calophyllum brasiliense* não alagadas (símbolos vazios) e alagadas por 180 dias (símbolos cheios). O asterisco (*) indica que houve diferença significativa entre os tratamentos. Os valores são médias \pm desvio padrão (n=5).

As diferenças existentes tanto em relação ao ponto de saturação luminoso quanto a assimilação fotossintética máxima evidencia que o efeito do alagamento de curta duração nas trocas gasosas desta espécie difere daquele de longa duração.

A comparação das trocas gasosas de plantas sob condições de campo no mês de janeiro, obtidos ao longo do dia, evidenciou valores de assimilação de CO₂ e de transpiração significativamente inferiores à maioria dos valores obtidos de plantas mantidas em casa de vegetação (Figura 17). Tais diferenças provavelmente ocorrem em resposta à baixa luminosidade incidente no interior da restinga, onde a radiação fotossinteticamente ativa máxima obtida foi de cerca de 24 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$.

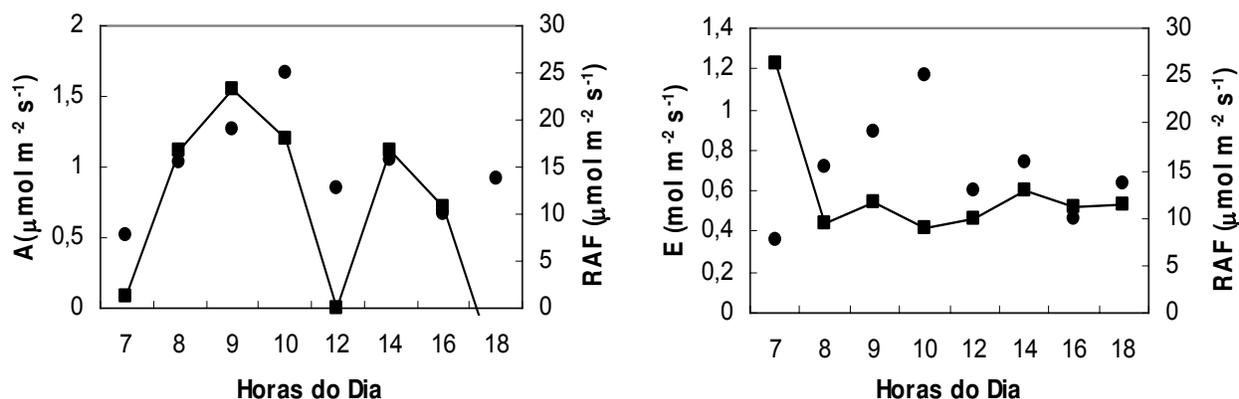


Figura 17. Assimilação de CO₂ (A) e Transpiração (E) ao longo das horas do dia de plantas de *Calophyllum brasiliense* sob condição de campo, no mês de janeiro de 2006. Os círculos cheios indicam os valores de Radiação Fotossinteticamente Ativa (RAF). Os valores são médias (n=5).

Porém, medições pontuais realizadas em indivíduos localizados na borda da restinga, sob condições de maior incidência luminosa (por volta de $700 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), revelaram taxas fotossintéticas mais altas ($3,09 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ em média). Considerando que estas determinações foram realizadas no mês de janeiro, que corresponde ao período em que o solo apresenta saturação hídrica naquela região, tais valores de fotossíntese são semelhantes aos obtidos em plantas alagadas em casa de vegetação, onde a incidência luminosa também foi maior.

Por outro lado, os dados relativos a trocas gasosas de plantas sob condições de campo no mês de agosto (período em que o solo não se apresentava saturado hidricamente), obtidos ao longo do dia, mostraram valores mais altos (Figura 18) se comparados com os dados obtidos no mês de janeiro (Figura 17).

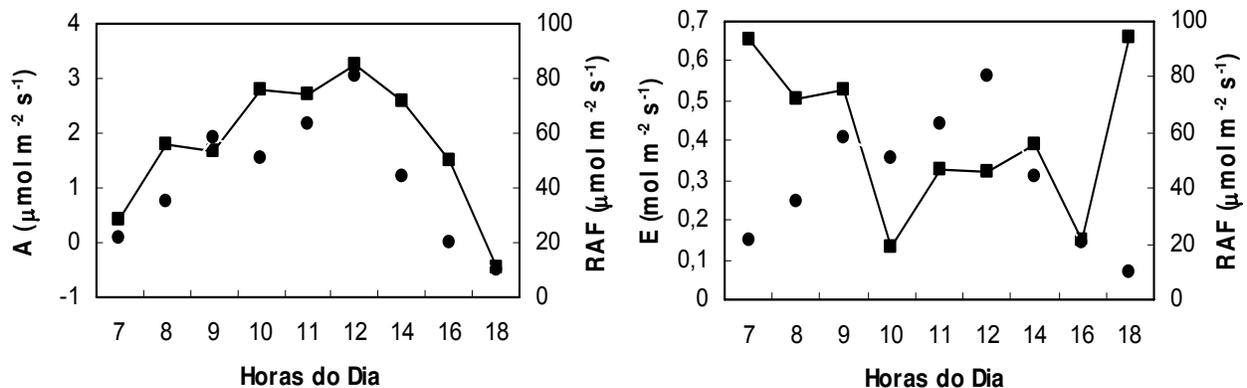


Figura 18. Assimilação de CO_2 (A) e Transpiração (E) ao longo das horas do dia de plantas de *Calophyllum brasiliense* sob condição de campo, no mês de agosto de 2006. Os círculos cheios indicam os valores de Radiação Fotossinteticamente Ativa (RAF). Os valores são médias (n=5).

Além da diferença na quantidade de água no solo e da radiação incidente, a temperatura também pode ter influenciado tais diferenças entre o ciclo diário da fotossíntese e da transpiração realizado no mês de janeiro e de agosto. A temperatura média durante as determinações no mês de janeiro e de agosto foi de cerca de 30°C e 20°C, respectivamente. A temperatura mais baixa no mês de agosto pode ter colaborado para a maior abertura estomática e, conseqüentemente, para a inexistência de depressão do meio do dia da assimilação de CO₂.

Embora seja evidente de que diversos fatores ambientais provavelmente tenham determinado tais diferenças entre o ciclo diário da fotossíntese e da transpiração realizado no mês de janeiro e de agosto, a contribuição de cada um destes requer maiores investigações.

Na natureza, os fatores ambientais não exercem suas influências isoladamente, mas em interação uns com os outros. Sob condições de campo, freqüentemente as plantas são expostas não somente a um tipo de estresse, mas há vários, atuando concomitantemente.

A curva de saturação lumínica de indivíduos sob condições de campo, realizadas também nos dois períodos de janeiro e agosto, revela que provavelmente a energia luminosa também não foi o principal fator limitante da fotossíntese no mês de janeiro.

A curva de resposta à luz de indivíduos sob condições de campo realizada no mês de janeiro mostrou que a taxa fotossintética máxima destes indivíduos foi cerca de 5,4 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, com ponto de saturação luminosa de 340 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (Figura 19), enquanto a curva de resposta à luz de indivíduos sob condições de campo realizada no mês de agosto mostrou que a taxa fotossintética máxima destes indivíduos foi cerca de 9,34 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, com ponto de saturação luminosa de 335 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (Figura 20).

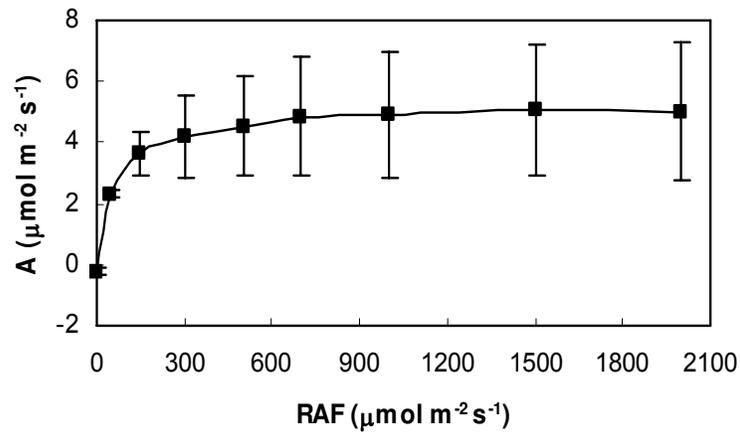


Figura 19. Assimilação de CO_2 (A) em função da Radiação Fotossinteticamente Ativa (RAF) de plantas de *Calophyllum brasiliense* sob condição de campo, no mês de janeiro de 2006. Os valores são médias \pm desvio padrão (n=5).

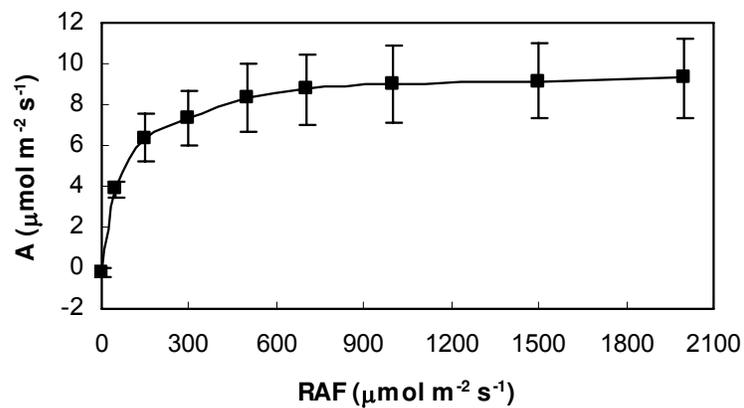


Figura 20. Assimilação de CO_2 (A) em função da Radiação Fotossinteticamente Ativa (RAF) de plantas de *Calophyllum brasiliense* sob condição de campo, no mês de agosto de 2006. Os valores são médias \pm desvio padrão (n=5).

A comparação destes valores indica que não houve uma diferença significativa entre ponto de saturação luminosa de indivíduos crescendo sob condições de campo, no mês de janeiro e de agosto. No entanto, houve uma diferença significativa entre a assimilação máxima destes indivíduos nos dois períodos analisados (Figura 21).

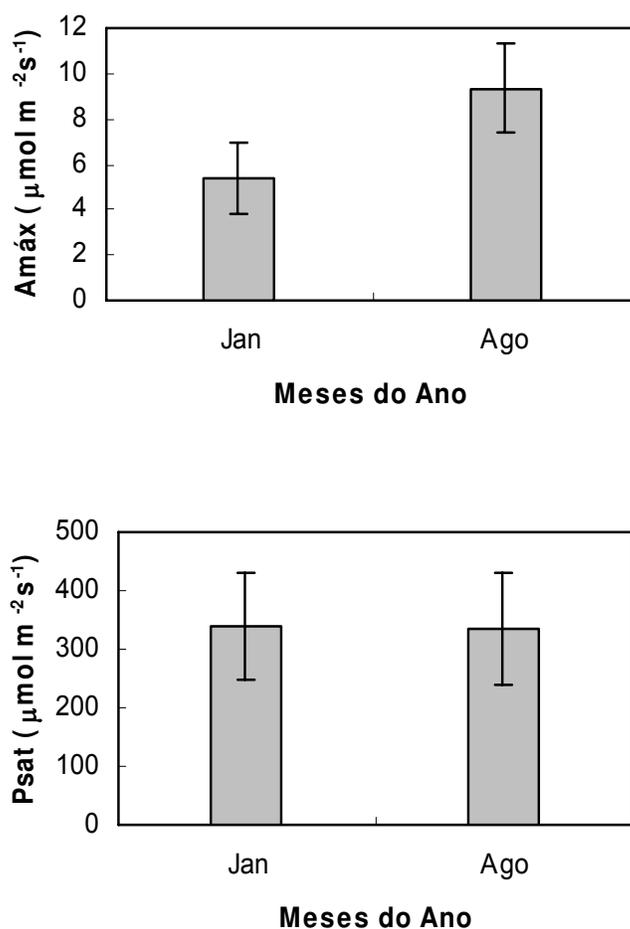


Figura 21. Assimilação máxima (Amáx) e Ponto de saturação luminoso (Psat) de plantas de *Calophyllum brasiliense* sob condição de campo, nos meses de janeiro e de agosto de 2006. Os valores são médias \pm desvio padrão (n=5).

Isso indica que mesmo sob condições de luminosidade semelhantes, os indivíduos tiveram taxas de fotossíntese diferentes no mês de janeiro e no mês de agosto. Tais dados sugerem que a mudança sazonal da assimilação fotossintética de indivíduos jovens pode estar diretamente relacionada com o nível de saturação hídrica do solo.

Em janeiro, apesar dos altos níveis de radiação fotossinteticamente ativa, as taxas de assimilação foram menores em função do alagamento. Já em agosto a taxa de assimilação foi maior porque os níveis de radiação fotossinteticamente ativa continuavam acima do ponto de saturação e, sem estar hidricamente saturado, o solo dispunha de água suficiente para manter os estômatos abertos. Possivelmente, a vantagem competitiva resultante do fato da saturação hídrica do solo não inibir completamente a assimilação de carbono dos indivíduos jovens de *C. brasiliense*, explica o fato de esta espécie aparecer sempre com um alto índice de valor de importância em áreas florestais naturalmente sujeitas a longos períodos de encharcamento do solo.

WALDHOFF *et al.* (1998) e PAROLIN (2000) também relataram reduções na taxa fotossintética de árvores amazônicas adultas durante o período natural de alagamento daquela região. Entretanto, PAROLIN (2001) ressalta que não é claro se estas mudanças estão diretamente ligadas ao alagamento, ou se outros fatores são também responsáveis, tais como irradiação, umidade do ar e fatores genéticos.

O que se pode afirmar com certeza é que as taxas fotossintéticas das plantas de *C. brasiliense* sob condições de campo no período de saturação hídrica do solo foram menores se comparadas as do período em que o solo é bem drenado.

VI. CAPÍTULO 3

ALTERAÇÕES MORFO-ANATÔMICAS EM PLANTAS DE *Calophyllum brasiliense* SUBMETIDAS A CONDIÇÕES DE SATURAÇÃO HÍDRICA DO SOLO

1. INTRODUÇÃO

Uma das principais dificuldades enfrentadas pelas plantas que são submetidas a períodos de inundação do solo é suportar a deficiência de oxigênio neste meio.

A capacidade que muitas espécies vegetais têm de se mostrarem tolerantes e adaptadas a períodos de encharcamento do solo ou mesmo a inundações, germinando, emitindo raízes e crescendo sobre solos com deficiência de oxigênio, pode ser atribuída a mecanismos de adaptações morfo-anatômicas, fundamentais no transporte e difusão de oxigênio para as partes submersas das plantas (DREW 1997).

Contudo, o estresse ocasionado pela saturação hídrica do solo não corresponde somente à redução de oxigênio para o metabolismo das raízes e de outros órgãos submersos, mas também inclui efeitos tóxicos provocados por produtos resultantes das condições redutoras do solo inundado (CRAWFORD 1989).

Segundo HOOK (1984), as respostas mais comuns das plantas vasculares ao alagamento correspondem às adaptações que favorecem tolerar ou evitar a

anoxia, reduzindo os impactos da ausência de oxigênio no solo e permitindo troca de gases entre planta e atmosfera. Tais respostas podem ser metabólicas, morfológicas ou anatômicas, podendo muitas vezes, ocorrerem simultaneamente.

Dentre as principais modificações morfo-anatômicas que possibilitam a difusão de oxigênio da parte aérea para as raízes destacam-se as lenticelas hipertrofiadas, desenvolvimento de aerênquima e formação de raízes adventícias, permitindo muitas vezes que os órgãos submersos mantenham um metabolismo aeróbico (JOLY 1994; GLENS *et al.* 2006; MOMMER *et al.* 2006).

A ocorrência destas estruturas tem sido relatada para diversas espécies arbóreas sujeitas ao alagamento (JOLY 1991, SCHLÜTER *et al.* 1993, LOBO & JOLY 1995, NÚÑEZ-ELISEA *et al.* 1999, LOBO & JOLY 2000), no entanto, o papel de cada uma delas como resposta adaptativa ainda é bastante discutido. Dessa forma, o estudo das respostas morfo-anatômicas pode gerar novas informações que contribuam para o melhor conhecimento da influência destas estruturas no desenvolvimento vegetal sobre condições de estresse.

O objetivo deste trabalho foi verificar a ocorrência de possíveis alterações morfológicas e anatômicas em plantas de *Calophyllum brasiliense* submetidas à condição de saturação hídrica do solo, bem como discutir seu valor adaptativo.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 – Material vegetal e condições de cultivo

Sementes de *Calophyllum brasiliense*, coletadas na Estação Ecológica de Assis (SP), foram colocadas para germinar em sacos plásticos de 3 litros contendo areia grossa lavada, sob condições naturais de luz e temperatura, em casa de vegetação do Departamento de Botânica do Instituto de Biologia (UNICAMP), sendo colocada apenas uma semente por saco plástico. Quinze dias após a germinação as plantas foram regadas semanalmente com solução nutritiva de Hoagland.

Quando as plantas atingiram cerca de 6 meses de idade, foi separado um lote homogêneo, em relação à altura e número de folhas, para o desenvolvimento do experimento. Foram estabelecidos dois tratamentos: plantas controle, regadas diariamente e mantidas em condições de capacidade de campo (normoxia); e plantas submetidas ao tratamento de saturação hídrica do solo, colocadas em tanques com 3cm de água acima do nível do solo (hipoxia), conforme descrito por JOLY & CRAWFORD (1982). A água dos tanques de alagamento foi trocada semanalmente.

Após o início do experimento, foi suspensa a rega com solução nutritiva para as plantas de ambos os tratamentos (normoxia e hipoxia). Essa decisão de suspender a rega com solução nutritiva foi tomada devido à dificuldade de assegurar que ambos os tratamentos recebessem a mesma quantidade de nutrientes. Além disso, no tratamento de alagamento do solo poderia ocorrer um aumento significativo das concentrações solúveis de íons como Fe^{+2} e Mg^{+2} a níveis potencialmente tóxicos. Não obstante, a suspensão da rega com solução nutritiva foi feita também com o intuito de evitar uma acentuada proliferação de

algas nos tanques de alagamento (como ocorrido em experimentos anteriores desenvolvidos pelo Laboratório de Ecofisiologia Vegetal do IB/UNICAMP).

2.2 - Alterações morfológicas

Durante os meses de dezembro de 2005 a junho de 2006 foi observada, semanalmente, a ocorrência de alterações morfológicas como o aparecimento de lenticelas hipertrofiadas e raízes adventícias, em plantas controle e alagadas crescidas em casa de vegetação.

2.3 – Alterações anatômicas

Amostras da região basal do caule e do colo da raiz principal (cerca de 2 cm abaixo do cotilédone) de plantas controle e alagadas por 30 dias foram fixadas em FAA por 24 horas (JOHANSEN 1940) e mantidas em etanol 70%. As porções de interesse foram incluídas em resina plástica (HistoResin, LEICA) seguindo as recomendações do fabricante.

Foram montadas lâminas permanentes com secções transversais, obtidas com auxílio de micrótomo rotativo (RM 2245, LEICA) e coradas com Azul de Toluidina em tampão acetato pH 4,7.

As fotomicrografias foram obtidas em fotomicroscópio (BX51, OLYMPUS) e as escalas foram reproduzidas nas mesmas condições ópticas.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Já nas primeiras semanas após o alagamento do solo as plantas apresentaram algumas lenticelas hipertrofiadas acima e abaixo do nível da água, principalmente na base do caule e na raiz principal (Figura 22). Ao longo do período experimental estas estruturas permaneceram semelhantes: brancas e em alguns locais formando fendas, com exposição de tecido esponjoso.



Figura 22. Plantas de *Calophyllum brasiliense* alagadas por 30 (a) e 120 dias (b); notar a presença de inúmeras lenticelas hipertrofiadas.

As lenticelas são extensões limitadas da periderme, caracterizadas por células de arranjo frouxo e pelo aumento de espaços intercelulares (MAZZONI-VIVEIROS & COSTA 2003) (Figura 23).

MAZZONI-VIVEIROS & COSTA (2003) relacionaram a formação do tecido frouxo associado à abertura lenticelar com a atividade mais intensa do felogênio da lenticela, originando centrifugamente o tecido de enchimento e centripetamente a feloderme da lenticela.

Há citações de que a hipertrofia destas estruturas é induzida pelas auxinas (YAMAMOTO & KOZLOWSKI 1987b) ou pela ação do etileno (KAWASE 1981, PIMENTA *et al.* 1994).

Após 30 dias de alagamento o desenvolvimento destas estruturas foi bastante pronunciado. Contudo, a continuidade do estresse fez com que a quantidade de lenticelas fosse ainda maior.



Figura 23. Seção transversal caulinar com vista geral de uma lenticela hipertrofiada de um indivíduo de *Calophyllum brasiliense* alagado por 30 dias. Barra = 80 μ m.

Este resultado contraria os dados obtidos por MARQUES (1994), que relatou que plantas de *C. brasiliense* inundadas por 150 dias apresentaram número reduzido de lenticelas hipertrofiadas. LOPEZ & KURSAR (1999) também observaram um baixo número de lenticelas hipertrofiadas em plantas de *C. longifolium* inundadas por 90 dias.

Os resultados obtidos com indivíduos da mesma espécie revelam que a espécie apresenta considerável plasticidade quanto à resposta morfo-anatômica decorrente da saturação hídrica do solo. Possíveis variações fenotípicas podem ocorrer devido a variações genéticas entre populações de diferentes locais, ocasionando assim, diferentes padrões de resposta a uma mesma condição.

O desenvolvimento de lenticelas hipertrofiadas em resposta ao alagamento do solo é comum em plantas arbóreas tolerantes a esta condição (HOOK *et al.* 1970, HOOK & BROWM, 1973). ZOTZ *et al.* (1997) ressaltam que o desenvolvimento destas adaptações morfológicas é responsável pela manutenção de altas taxas fotossintéticas em plantas de *Annona glabra* submetidas a longos períodos de alagamentos.

O aparecimento destas estruturas é descrito como uma resposta adaptativa que atua aumentando a aeração interna da planta (ARMSTRONG *et al.* 1994), difundindo oxigênio da parte aérea para as partes submersas (PIMENTA *et al.* 1996, MEDRI *et al.* 1998), facilitando a troca de gases dissolvidos na água (BLOM & VOESENEK 1996), permitindo assim a continuidade do crescimento (CRAWFORD 1989, WALDHOFF *et al.* 1998).

Considerações sobre a participação das lenticelas hipertrofiadas na recuperação da respiração aeróbica foram levantadas por BOTELHO *et al.* (1998), ROGGE *et al.* (1998), LOBO & JOLY (2000) entre outros. Para BOTELHO *et al.* (1998), a formação destas estruturas em condições de hipoxia está relacionada à presença de oxigênio na superfície da água, o que explica a sua ocorrência na região do caule próxima a superfície da água.

Adicionalmente a isso, as lenticelas hipertrofiadas podem funcionar como uma abertura através da qual componentes potencialmente tóxicos produzidos durante a anaerobiose, tais como etileno, etanol e acetaldeído, podem ser liberados (CRAWFORD 1989, KOZLOWSKI 1997).

A hipertrofia observada na base do caule provocou algumas fissuras nesta região. Tais fissuras no caule, também observadas por JOLY & CRAWFORD (1982) em *Sebastiania klotzchiana*, DAVANSO-FABRO *et al.* (1998) em *Sesbania virgata* e por DAVANSO *et al.* (2002) em *Tabebuia avellaneda*, podem ter a mesma função das lenticelas hipertrofiadas.

A presença de algumas raízes adventícias ocorreu somente após 90 dias do início do alagamento, apesar de não ser muito expressiva e não ocorrer em todos os indivíduos inundados (Figura 24).

O surgimento de raízes adventícias em plantas inundadas está diretamente ligado à continuidade da absorção de água e de nutrientes, podendo também ocasionar a oxidação da rizosfera (SENA GOMES & KOZLOWSKI 1980). As raízes adventícias produzidas durante o alagamento do solo também podem substituir as raízes deterioradas durante o período de hipoxia na produção de hormônios vegetais, tais como citocininas e giberelinas.

Embora o aparecimento de raízes adventícias tenha sido interpretado anteriormente como um sintoma de estresse ocasionado pelo alagamento do solo (HALL & SMITH 1955), ARMSTRONG (1968) concluiu que a capacidade apresentada por diversas espécies de sobreviver sob tais condições depende parcialmente ou totalmente da atividade destas estruturas.



Figura 24. Planta de *Calophyllum brasiliense* alagada por 180 dias; notar a presença de raízes adventícias. Cada quadrado corresponde a 1cm².

Diversos autores citaram que a presença de raízes adventícias e de lenticelas hipertrofiadas possibilita a sobrevivência dos indivíduos (SENA GOMES & KOZLOWSKI 1980; NEWSOME *et al.* 1982; TSUKAHARA & KOZLOWSKI 1985; KOLB *et al.* 1998).

Ainda que a formação de aerênquima seja uma resposta adaptativa comum e relatada apresentada por muitas espécies submetidas a períodos de alagamento do solo (FAHN 1990, PIMENTA *et al.* 1996, KOLB *et al.* 1998, PAROLIN 2001), não houve formação de novos espaços intercelulares no córtex do caule e da raiz de plantas de *C. brasiliense* mantidas por 30 dias sob condições de saturação hídrica do solo (Figuras 25 e 26, respectivamente). Resposta semelhante foi

encontrada por NÚÑEZ-ELISEA *et al.* (1999) com espécies de *Annona* submetidas ao alagamento do solo.

Não houve mudança significativa na estrutura do caule e da raiz de plantas alagadas por 30 dias quando comparadas ao controle (Figura 25 e 26, respectivamente).

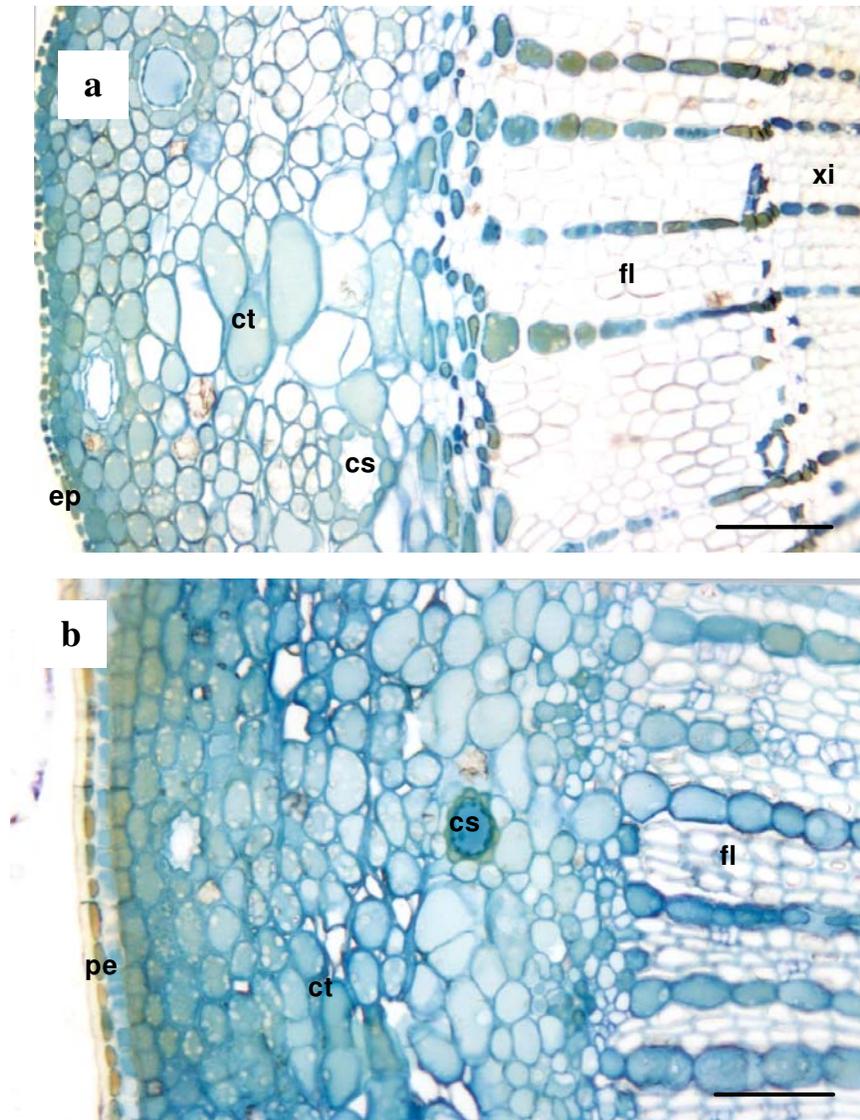


Figura 25. Seção transversal da base do caule de um indivíduo de *Calophyllum brasiliense* controle (a) e alagado por 30 dias (b). ep = epiderme; pe = periderme; ct = córtex; cs = canal secretor; fl = floema secundário ; xi = xilema secundário. Barra = 80 μ m.

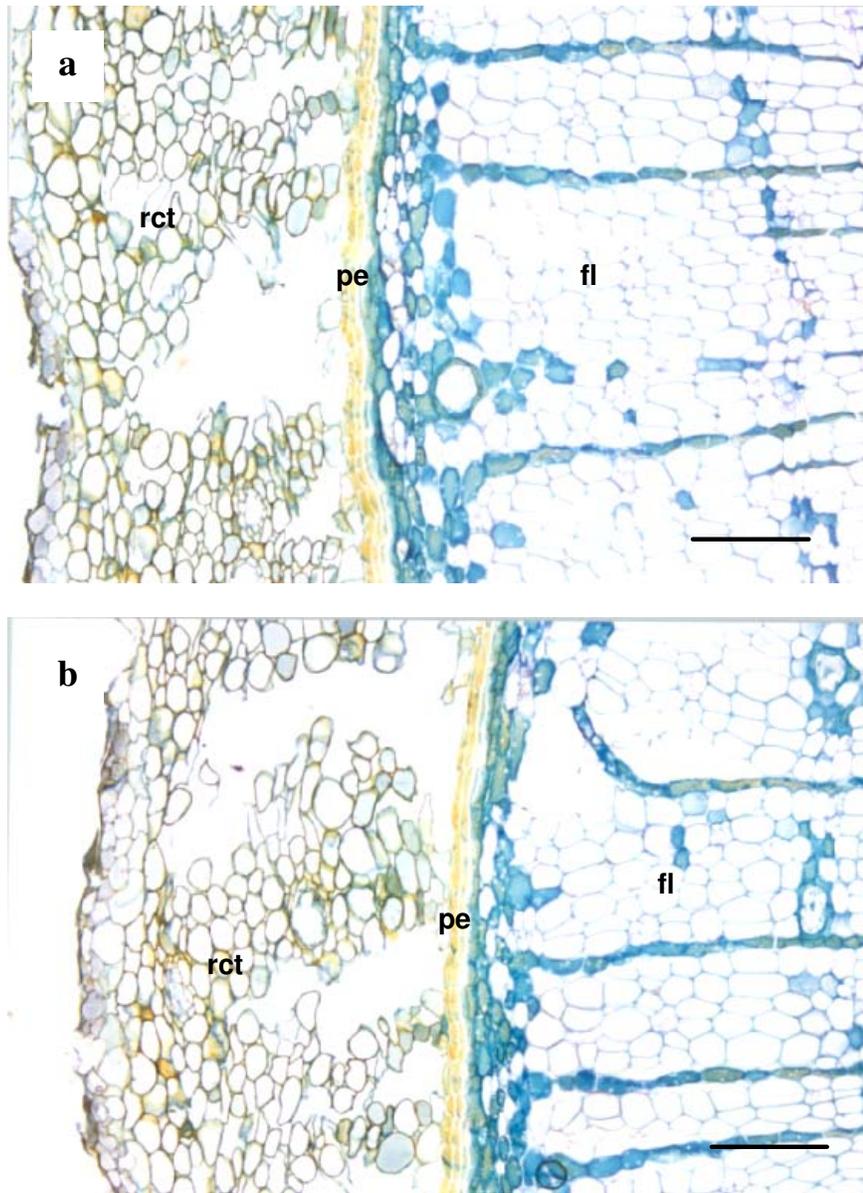


Figura 26. Seção transversal da raiz principal de um indivíduo de *Calophyllum brasiliense* controle (a) e alagado por 30 dias (b). rct = restos de córtex; pe = periderme; fl = floema secundário. Barra = 140 μ m.

Portanto, a sobrevivência e a continuidade do crescimento destas plantas sob condições de saturação hídrica do solo parece não estar envolvida com a formação de canais e espaços intercelulares de ar no caule ou raiz. Outras adaptações morfo-anatômicas já citadas parecem estar mais proximamente relacionadas com a sobrevivência da espécie sob tais condições, tais como a formação de novas raízes e de lenticelas hipertrofiadas.

Sob condições de campo, nem sempre a formação de estruturas como lenticelas hipertrofiadas e raízes adventícias podem ser observadas nas plantas. Segundo PAROLIN (2001) isso pode estar relacionado com a constante mudança no nível da água, o que não ocorreu sob condições experimentais neste estudo, pois o nível da água foi mantido sempre a cerca de 3 cm acima do nível do solo. No entanto, os resultados obtidos em casa de vegetação, neste experimento, evidenciam que plantas de *C. brasiliense* têm potencial para produzir tais adaptações morfo-anatômicas quando submetidas a períodos de alagamento do solo.

Outras respostas freqüentemente observadas em plantas submetidas ao alagamento, tais como epinastia, necrose, murchamento e abscisão foliar não foram observadas neste experimento com *C. brasiliense*.

É importante lembrar que a ocorrência de modificações morfo-anatômicas como as ocorridas neste experimento não são suficientes isoladamente para classificar a espécie como tolerante ao alagamento, no entanto, podem garantir para algumas espécies a continuidade do crescimento e a sobrevivência.

VII. CONCLUSÕES GERAIS

Ainda que as plantas tenham exibido reduções significativas nas taxas de trocas gasosas quando expostas ao alagamento do solo, o grau de redução e a inexistência de valores negativos mostram que a espécie tem capacidade para aclimatar-se e tolerar tais condições.

Limitações não estomáticas representam a principal causa de reduções nas taxas fotossintéticas de plantas de *C. brasiliense* submetidas à saturação hídrica do solo.

A saturação hídrica do solo, neste experimento, afetou tanto as trocas gasosas quanto a produção de biomassa de plantas de *C. brasiliense*. Contudo, mesmo sob condições desfavoráveis, as plantas continuaram a emitir folhas e produzir matéria seca.

A massa seca da parte aérea de plantas alagadas ao final do experimento foi menor do que a de plantas controle, como resultado tanto da redução da massa seca do caule, como da redução da massa seca das folhas.

A massa seca das raízes de plantas alagadas ao final do experimento também foi menor do que a de plantas controle, como resultado da degeneração progressiva do sistema radicular original ao longo do período de estresse, ainda que tenha havido uma substituição quase total do mesmo durante esse período.

Ainda assim, a taxa de crescimento relativo das plantas alagadas mostrou-se positiva ao final do experimento, evidenciando que o crescimento de caule, folhas e raízes foi mantido mesmo sob tais condições.

A habilidade da espécie de continuar o crescimento sob tais condições, caracteriza-a como tolerante ao alagamento; isso explica a ampla distribuição da

espécie, preferencialmente associada a ambientes florestais sujeitos à inundações.

As modificações morfo-anatômicas ocasionadas pelo estresse imposto consistem na hipertrofia de lenticelas, produção de raízes adventícias e na hipertrofia do caule, características que provavelmente foram responsáveis pela continuidade da troca de gases entre planta e atmosfera.

Os dados apresentados mostram claramente que os efeitos do estresse ocasionado pela saturação hídrica do solo são gradativos e intensificam com o aumento da duração dessa condição. Portanto, a duração do alagamento é um fator crítico para a manutenção da assimilação de CO₂ e do crescimento em plantas de *C. brasiliense*.

A sobrevivência das plantas mesmo durante um longo período de alagamento, como o imposto neste experimento, é um indicativo de que esta espécie pode ser utilizada em programas de restauração de vegetação exposta a ambientes com saturação hídrica do solo, como restingas e florestas de galeria.

VIII. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANDRADE, A.C.S.; RAMOS, F.N.; DE SOUZA, A.F.; LOUREIRA, M.B. & BASTOS, R. 1999. Flooding effects in seedlings of *Cytherexylum myrianthum* Cham. and *Genipa Americana* L.: responses of two neotropical lowland tree species. **Revista Brasileira de Botânica** 22: 281-285.
- ARMSTRONG, G.W. 1968. Oxygen diffusion from the roots of woody species. **Physiologia Plantarum** 21:539-543.
- ARMSTRONG, G.W.; BRÄNDLE, R. & JACKSON, M.B. 1994. Mechanisms of flood tolerance in plants. **Acta Botanica Neerlandica** 43: 307-358.
- ARNON, D.I. 1949. Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidases in *Beta vulgaris*. **Plant Physiology** 24:1-15.
- ASSIS, M. A. 1999. **Florística e caracterização das comunidades vegetais da Planície Costeira de Picinguaba, Ubatuba/SP**. Tese de doutorado, Instituto de Biologia, UNICAMP.
- BLOM, C.W.P.M. & VOESENEK, L.A.C.J. 1996. Flooding: the survival strategies of plants. **Trends in Ecology and Evolution** 11: 290-295.
- BLOM, C.W.; VOESENEK, L.A.C.J.; BANGA, M.; ENGELAAR, W.M.H.G.; RIJNDERS, J.H.G.M.; VAN DE STEEG, H.M. & VISSER, E.J.W. 1994. Physiological ecology of riverside species: adaptive responses of plants to submergence. **Annals of Botany** 74:253-263.
- BOTELHO, M.N.; OLIVEIRA, L.E.M.; OLIVEIRA, M.L. & CARVALHO, C.J.R. 1998. Inhibition by silver ions of gas space (aerenchyma) formation in adventitious roots of *Zea mays* L. subjected to exogenous ethylene or to oxygen deficiency. **Planta** 153:217-224.
- CHAPIN, F.S.; BLOOM, A.J.; FIELD, C.B. & WARING, R.H. 1987. Plants-responses to multiple environmental-factors. **Bioscience** 37:49-57.
- CHAVES, M.M.; PEREIRA, J.S.; MAROCO, J.; RODRIGUES, M.L.; RICARDO, C.P.P.P.; OSORIO, 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.
- CLARCK, D.B. & CLARCK, D.A. 1987. Population ecology and microhabitat distribution of *Dipteryx panamensis*, a neotropical rain forest emergent tree. **Biotropica** 19:236-244.

- CORNIC, G.; LeGOUALLEC, J.L.; BRIANTAIS, J.M. & HODGES, M. 1989. Effect of dehydration and high light on photosynthesis of two C₃ plants (*Phaseolus vulgaris* L. and *Elastotema repens* (hour.) Hall f.). **Planta** 177:84-90.
- CRAWFORD, R.M.M. 1978. Metabolic adaptation to anoxia. In: HOOK, D.D. & CRAWFORD, R.M.M. (Orgs.). **Plant life in anaerobic environments**. Ann Arbor Science, p. 116-136.
- CRAWFORD, R.M.M. 1989. **Studies in plant survival: Ecological case histories of plant adaptation to adversity**. Oxford: Blackwell Scientific. p. 117-129.
- CRAWFORD, R.M.M. & BRÄNDLE, R. 1996. Oxygen deprivation stress in a changing environment. **Journal of Experimental Botany** 47:145-159.
- CRAWLEY, M.J. 1997. Life history and environment. In: CARWLEY, M.J. (Org.). **Plant Ecology**. Blackwell Science, p. 73-113.
- DAVANSO, V.M.; SOUZA, L.A.; MEDRI, M.E.; PIMENTA, J.A. & BIANCHINI, E. 2002. Photosynthesis, growth and development of *Tabebuia avellanedae* Lor. ex Griseb. (Bignoniaceae) in flooded soil. **Brazilian Archives of Biology and Technology** 45:375-384.
- DAVANSO-FABRO, V.M.; MEDRI, M.E.; BIANCHINI, E. & PIMENTA, J.A. 1998. Tolerância a inundação: aspectos da anatomia ecológica e do desenvolvimento de *Sesbania virgata* (Cav.) Pers. (Fabaceae). **Brazilian Archives of Biology and Technology** 41:475-482.
- DELL-AMICO, J.; MORALES, D.; JEREZ, E.; TORRES, W.; SANCHEZ-BLANCO, M. J. & RUIZ -SANCHEZ, M. C. 1994. Response of different tomato cultivars to flooding. **Agricultura Mediterranea** 124: 21-28.
- DE MATTOS, E.A. 1998. Perspectives on comparative ecophysiology of some Brazilian vegetation types: leaf CO₂ and H₂O gas exchange, chlorophyll a fluorescence and carbon isotope discrimination. In: SCARANO, F.R. & FRANCO, A.C. (Orgs.) **Ecophysiological strategies of xerophytic and amphibious plants in the neotropics**. Rio de Janeiro: PPGE-UFRJ. p. 1-13. (Series Oecologia Brasiliensis IV).
- DE MATTOS, E.A.; BRAZ, M.I.G.; CAVALIN, P.O.; ROSADO, B.H.P.; GOMES, J.M.; MARTINS, L.S.T. & ARRUDA, R.C.O. 2004. Variação espacial e temporal em parâmetros fisiocológicos de plantas. In: **Pesquisas de Longa Duração na Restinga de Jurubatiba: Ecologia, história natural e conservação**. ROCHA, C.F.D.; ESTEVES, F.A. & SCARANO, F.R. (Orgs.) São Carlos: Rima, p. 99-116.
- DREW, M.C. 1992. Soil aeration and plant metabolism. **Soil Science** 154: 259-268.

- DREW, M.C. 1997. Oxygen deficiency and root metabolism: injury and acclimation under hypoxia and anoxia. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology** 48:223-250.
- DUARTE, H.M.; GEßLER, A.; SCARANO, F.R.; FRANCO, A.C.; DE MATTOS, E.A.; NAHM, M.; RENNENBERG, H.; ROFRIGUES, P.J.F.P.; ZALUAR, H.L.T. & LÜTGE, U. 2005. Ecophysiology of six selected shrub species in different plant communities at the periphery of the Atlantic Forest of SE-Brazil. **Flora** 200: 456-476.
- FAHN, A. 1990. **Plant anatomy**. 4. ed. Oxford: Pergamon Press.
- FERNÁNDEZ, M.D. 2006. Changes in photosynthesis and fluorescence in response to flooding in emerged and submerged leaves of *Pouteria orinoensis*. **Photosynthetica** 44:32-38.
- FISCHER, E. & DOS SANTOS, F.A.M. 2001. Demography, phenology and sex of *Calophyllum brasiliense* (Clusiaceae) trees in the Atlantic forest. **Journal of Tropical Ecology** 17:903-909.
- FRYE, J. & GROSSE, W. 1992. Growth response to flooding and recovery of deciduous trees. **Zeitschrift für Naturforschung** 47:683-689.
- GARWOOD, N.C. 1983. Seed germination in a seasonal tropical Forest in Panamá: A community study. **Ecological Monographs** 53:159-181.
- GARWOOD, N. C. 1995. Functional morphology of tropical tree seedlings. In: ALEXANDER, M.D. & HADLEY, I.J. (Orgs.) **The ecology of tropical forest tree seedlings Swaine**. Paris: UNESCO and Carnforth, UK: Parthenon.
- GRAVATT, D.A. & KIRBY, C.J. 1998. Patterns of photosynthesis and starch allocation in seedlings of four bottomland hardwood tree species subjected to flooding. **Tree Physiology** 18: 411-417.
- GENTY, B.; BRIANTAIS, J.V. & BAKER, N. R. 1989. The relationship between the quantum yield of photosynthetic electron transport and quenching of chlorophyll fluorescence. **Biochimica Biophysica Acta** 990:87-92.
- GLENS, C.; SCHLAEPFER, R.; IORGULESCU, I. & KIENAST, F. 2006. Flooding tolerance of Central European tree and shrub species. **Forest Ecology and Management** 235:1-13.
- GUIDI, L. & SOLDATINI, G.F. 1997. Chlorophyll fluorescence and gas exchanges in flooded soybean and sunflower plants. **Plant Physiology and Biochemistry** 35:713-717.

- HALDIMANN, P. & STRASSER, R.J. 1999. Effects of anaerobiosis as probed by the polyphasic chlorophyll a fluorescence rise kinetic in pea (*Pisum sativum* L.). **Photosynthesis Research** 62:67-83.
- HALL, T.F. & SMITH, G.E. 1955. Effect of flooding on woody plants, West sandy dewatering project, Kentucky Reservoir. **Journal of Forestry** 53:281-285.
- HEIDEMAN, P.D. 1989. Temporal and spatial variation in the phenology of flowering and fruiting in a tropical rainforest. **Journal of Ecology** 77:1059-1079.
- HENRIQUES, R.P.B.; ARAUJO, D.S.D. & HAY, J.D. 1986. Descrição e classificação dos tipos de vegetação da restinga de Carapebus, Rio de Janeiro. **Revista Brasileira de Botânica** 9:173-189.
- HISCOX, J.D. & ISRAELSTAM, G.F. 1979. A method for the extraction of chlorophyll from leaf tissue without maceration. **Canadian Journal of Botany** 57: 1332-1334.
- HOOKE, D.D. 1984. Adaptation to flooding with fresh water. In: **Flooding and Plant Growth**. (Kozlowski, T.T. ed.) London: Academic Press, p. 265-294.
- HOOKE, D.D. & BROWNE, C.L. 1973. Root adaptations and relative flood tolerance of five hardwood species. **Forest Science** 19: 225-229.
- HOOKE, D.D.; BROWNE, C.L. & KORMANIK, P.P. 1970. Lenticel and water root development of swamp tupelo under various flooding conditions. **Botanical Gazette** 131: 217-224.
- HSIAO, T.C. 1973. Plant responses to water stress. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology** 24:519-570.
- HUNT, R. 1978. **Plant Growth Analysis**. Studies in Biology n° 96, Edward Arnold, London, 67p.
- JOHANSEN, D.A. 1940. **Plant microtechnique**. New York: McGraw-Hill.
- JOLY, C.A. 1991. Flooding tolerance in tropical trees. In: JACKSON, M.B.; DAVIES, D.D. & LAMBERS, H. (Eds.). **Plant life under oxygen deprivation** The Netherlands: Academic Publishing, p. 23-34.
- JOLY, C.A. 1994. Flooding tolerance: a reinterpretation of Crawford's metabolic theory. **Proceedings of the Royal Society Edinburgh** 102B: 343-354.
- JOLY, C.A. & CRAWFORD, R.M.M. 1982. Variation in tolerance and metabolic responses to flooding in some tropical trees. **Journal of Experimental Botany** 33: 799-809.

- KAMELI, A. & LÖSEL, D.M. 1996. Growth and sugar accumulation in durum wheat plants under water stress. **New Phytologist** 132: 57-62.
- KAWASE, M. 1981. Effect of ethylene on aerenchyma formation. **American Journal of Botany** 68:651-658.
- KLAR, A.E. 1984. **A água no sistema solo-planta-atmosfera**. São Paulo: Nobel.
- KOEPPEN, W. 1948. **Climatologia: con un estudio de los climas de la tierra**. México.
- KOLB, R.M. 1998. **Respostas metabólicas e morfo-anatômicas de sementes e plantas de *Tabebuia cassinoides* (Lam.) DC (Bignoniaceae) à hipóxia**. Tese de mestrado, Instituto de Biologia, UNICAMP.
- KOLB, R.M.; MEDRI, M.E.; BIANCHINI, E.; PIMENTA, J.A.; GILONI, P.A. & CORREA, G.T. 1998. Anatomia ecológica de *Sebastiania commersoniana* (Baillon) Smith & Downs (Euphorbiaceae) submetida ao alagamento. **Revista Brasileira de Botânica** 21(3): 305-312.
- KOZLOWSKI, T.T. 1982. Water supply and tree growth. Part II. Flooding. **Forestry Abstracts** 43: 145-161.
- KOZLOWSKI, T.T. 1984. Responses of woody plants to flooding. In: KOZLOWSKI, T.T. Koslowski (Org.). **Flooding and Plant Growth**. London: Academic Press. p129-163.
- KOZLOWSKI, T.T. 1997. Responses of woody plants to flooding and salinity. **Tree Physiology Monograph** 1: 1-29.
- KOZLOWSKI, T.T. 2002. Acclimation and adaptive responses of woody plants to environmental stress. **The Botanical Review** 68: 270-334.
- KOZLOWSKI, T.T. & PALLARDY, S.G. 1984. Effect of flooding on water, carbohydrate, and mineral relations. In: KOZLOWSKI, T.T. (Org.). **Flooding and Plant Growth**. Orlando: Academic Press. p.165-193
- KOZLOWSKI, T.T. & PALLARDY, S.G. 1997. **Growth control in woody plants**. San Diego: Academic Press, USA. 641p.
- LAMBERS, H; CHAPIN III, F.S & PONS, T.L. 1998. **Plant Physiological Ecology**. Springer-Verlag, Berlin.
- LANG, G.E. & KNIGHT, D.H. 1983. Tree growth, mortality, recruitment, and canopy gap formation during a 10-year period in a tropical moist forest. **Ecology** 64: 1075-1080.

- LARCHER, W. 2004. **Ecofisiologia Vegetal**. Tradução Carlos Henrique Britto de Assis Prado. 2. ed. Rima, São Carlos.531p.
- LI, S.; PEZESHKI, S.R. & GOODWIN, S. 2004. Effects of soil moisture regimes on photosynthesis and growth in cattail (*Typha latifolia*). **Acta Oecologica** 25:17-22.
- LICHTENTHALER, K.H. 1987. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. **Methods in Enzymology** 148:350-382.
- LOBO-FARIA, P.C. 1998. **Estratégias adaptativas de espécies arbóreas típicas de ambientes de solo hidricamente saturado: uma abordagem morfológica, bioquímica e ecofisiológica**. Tese de doutorado, Instituto de Biologia, UNICAMP.
- LOBO, P.C. & JOLY, C.A. 1995. Mecanismos de tolerância a inundações de plantas de *Talauma ovata* St. Hil. (Magnoliaceae), uma espécie típica de matas de brejo. **Revista Brasileira de Botânica** 18:177-183.
- LOBO, P.C. & JOLY, C.A. 2000. Aspectos ecofisiológicos da vegetação de mata ciliar do sudeste do Brasil. In: RODRIGUES, R.R. & LEITÃO-FILHO, H.F. (Orgs.). **Matas Ciliares: conservação e recuperação**. São Paulo: Editora da universidade de São Paulo: Fapesp, p. 143-157.
- LOPEZ, O.R. & KURSAR, T.A. 2003. Does flood tolerance explain tree species distribution in tropical seasonally flooded habitats? **Oecologia** 136:193-204.
- LOPEZ, O.R. & KURSAR, T.A. 1999. Flood tolerance of four tropical tree species. **Tree Physiology** 19: 925-932.
- LORENZI, H. 1992. **Árvores brasileiras**. Editora Plantarum. Nova Odessa. p.116.
- LORETI, E.; ALPI, A. & PERATA, P. 2003. Alpha-amylase expression under anoxia in rice seedlings: A update. **Russian Journal of Plant Physiology** 50:737-742.
- MARQUES, M.C.M. 1994. **Estudos auto-ecológicos do Guanandi (*Calophyllum brasiliense* Camb. (Clusiaceae) em uma mata ciliar do município de Brotas, SP**. Tese de Mestrado. UNICAMP.
- MARQUES, M.C.M. & JOLY, C. A. 2000. Germinação e crescimento de *Calophyllum brasiliense* (Clusiaceae), uma espécie típica de florestas inundadas. **Acta Botanica Brasilica** 14(1): 113-20.
- MAXWELL, K. & JOHNSON, G.N. 2000. Chlorophyll fluorescence – a practical guide. **Journal of Experimental Botany** 51: 659-668.

- MAZZONI-VIVEIROS, S.C. & COSTA, C.G. 2003. Periderme. In: APPEZZATO-DA-GLÓRIA, B. & CARMELLO-GUEREIRO, S.M. (Orgs.). **Anatomia vegetal**. Viçosa: UFV, p. 237-263.
- McKLEVIN, M.R.; HOOK, D.D. & MCKEE, W.H. 1995. Growth and nutrient use efficiency of water tupelo seedlings in flooded and well-drained soils. **Tree Physiology** 15: 753-758.
- MEDRI, M.E.; BIANCHINI, E.; PIMENTA, J.A.; DELGADO, M.F. & CORREA, G.T. 1998. Aspectos morfo-anatômicos e fisiológicos de *Peltophorum dubium* (Spr.) Taub. submetida ao alagamento e a aplicação de ethrel. **Revista Brasileira de Botânica** 21:261-267.
- MIELKE, M.S.; ALMEIDA, A.F.; GOMES, F.P.; AGUILAR, M.A.G. & MANGABEIRA, P.A.O. 2003. Leaf gas exchange, chlorophyll fluorescence and growth responses of *Genipa americana* seedlings to soil flooding. **Environmental and Experimental Botany** 50:221-231.
- MIELKE, M.S.; ALMEIDA, A.F.; GOMES, F.P.; MANGABEIRA, P.A.O. & SILVA, D.C. 2005. Effects of soil flooding on leaf gas exchange and growth of two neotropical pioneer tree species. **New Forest** 29: 161-168.
- MOMMER, L.; LENSSEN, J.P.M.; HUBER, H.; VISSER, E.J. & KROON, H. 2006. Ecophysiological determinants of plant performance under flooding: a comparative study of seven plant families. **Journal of Ecology** 94:1117-1129.
- MYERS, N.; MITTERMEIER, R.A.; MITTERMEIER, C.G.; FONSECA, G. B. & KENT, J. 2000. Biodiversity hotspots for conservation priorities. **Nature** 403: 852-858.
- NAIDOO, G. & NAIDOO, S. 1992. Waterlogging responses of *Sporobolus virginicus* (L.) Kunth. **Oecologia** 90:445-450.
- NEWSOME, R.D.; KOZLOWSKI, T.T. & TANG, Z.C. 1982. Responses of *Ulmus americana* seedlings to flooding of soil. **Canadian Journal of Botany** 60: 1688-1695.
- NÚÑEZ-ELISEA, R.; SCHAFFER, B.; FISHER, J.B.; COLLS, A.M. & CRANE, J.H. 1999. Influence of flooding on net CO₂ assimilation, growth and stem anatomy of *Annona* species. **Annals of Botany** 84: 771-780.
- OLIVEIRA-FILHO, A.T. & RATTER, J.A. 1995. A study of the origin of central brasilian forest by the analysis of plant species distribution patterns. **Edinburg Journal of Botany** 52:141-194.
- PANKOVIC, D.; SAKAC, A.; KEVRESAN, S. & PLESNICAR, M. 1999. Acclimation to long-term water deficit in the leaves of two sunflower hybrids:

- photosynthesis, electron transport and carbon metabolism. **Journal of Experimental Botany** 50:127-138.
- PAROLIN, P. 2000. Phenology and CO₂ assimilation of trees in Central Amazonian floodplains. **Journal of Tropical Ecology** 16:465-473.
- PAROLIN, P. 2001. Morphological and physiological adjustments to waterlogging and drought in seedlings of Amazonian floodplain trees. **Oecologia** 128: 326-335.
- PEZESHKI, S.R. 1993. Differences in patterns of photosynthetic responses to hypoxia in flood-tolerant and flood-sensitive tree species. **Photosynthetica** 28: 423-430.
- PEZESHKI, S.R. 1994. Plant responses to flooding. In: WILKINSON, R.E. (Org.). **Plant environment interactions**. New York: Dekker, p. 289-321.
- PEZESHKI, S.R. 1991. Root responses of flood-tolerant and flood-sensitive tree species to soil redox conditions. **Trees** 5: 180-186.
- PEZESHKI, S.R. 2001. Wetland plant responses to soil flooding. **Environmental and Experimental Botany** 46: 299-312.
- PEZESHKI, S.R. & ANDERSON, P.A. 1997. Responses of three bottomland woody species with different flood-tolerance capabilities to various flooding regimes. **Wetland Ecology and Management** 4: 245-256.
- PEZESHKI, S.R. & DELAUNE, R.D. 1990. Influence of sediment oxidation-reduction potential on root elongation in *Spartina patens*. **Acta Oecologia** 11: 377-383.
- PEZESHKI, S.R.; PARDUE, J.H. & DELAUNE, R.D. 1996. Leaf gas exchange and growth of flood-tolerant and flood-sensitive tree species under low soil redox conditions. **Tree Physiology** 16:453-458.
- PIMENTA, J.A.; ORSI, M.M. & MEDRI, M.E. 1994. Aspectos morfológicos e fisiológicos de *Coleus blumei* Benth. Submetido à inundação e   aplicação de cobalto. **Revista Brasileira de Biologia** 53:427-433.
- PIMENTA, J. A.; MEDRI, M.E.; BIANCHINI, E.; MULLER, C.; OKAMOTO, J. M.; FRANCISCONI, L. M. J. & CORREA, G. T. 1996. Aspectos da morfoanatomia e fisiologia de *Jacaranda puberula* Cham. (Bignoniaceae) em condições de hipóxia. **Revista Brasileira de Botânica** 19: 215-220.
- PONAMPERUMA, F.H. 1984. Effects of flooding on soil. In: KOZLOWSKI, T.T. (Org.). **Flooding and Plant Growth** Orlando: Academic Press, p. 9-45.

- REITZ, R.; KLEIN, R.M. & REIS, A. 1978. Projeto Madeira de Santa Catarina. **Sellowia** 28-30:218-224.
- RENOU, J.L.; GERBAUD, A.; JUST, D. & ANDRÉ, M. 1990. Differing substomatal and chloroplastic CO₂ concentrations in water-stressed wheat. **Planta** 182:415-419.
- RODRIGUES, M.L.; PACHECO, C.M.A. & CHAVES, M.M. 1995. Soil-plant water relations, root distribution and biomass partitioning in *Lipinus albus* L. under drought conditions. **Journal of Experimental Botany** 46:947-956.
- ROGGE, G.D.; PIMENTA, J.A.; BIANCHINI, E.; MEDRI, M.E.; COLLI, S. & ALVES, L.M.T. 1998. Metabolismo respiratório de raízes de espécies arbóreas tropicais submetidas à inundação. **Revista Brasileira de Botânica** 21: 153-158.
- SANCHES, M.C.; MEDINA, C. L.; SOUSA, C.A.F.; MOREIRA, A. L. & JOLY, C.A. 2006. Fotossíntese, crescimento e adaptações morfológicas de *Erythrina speciosa* Andr. (Fabaceae) submetida à saturação hídrica do solo. **Em preparação**.
- SAZIMA, I.; FISCHER, W.A.; SAZIMA, M. & FISCHER, E.A. 1994. The fruit bat *Artibeus lituralus* as a forest and city dweller. **Ciência e Cultura** 46:164-168.
- SCARANO, F.R.; RIBEIRO, K.T.; MORAES, L.F.D. & LIMA, H.C. 1997. Plant establishment on flooded and unflooded patches of a freshwater swamp forest in southeaster Brazil. **Journal of Tropical Ecology** 14:793-803.
- SCHIAVINI, I. 1992. **Estrutura das comunidades arbóreas de Mata de Galeria da Estação do Panga (Uberlândia, MG)**. Tese de Doutorado, Instituto de Biologia, UNICAMP.
- SCHLÜTER, U.B.; FURCH, B. & JOLY, C.A. 1993. Physiological and Anatomical adaptations by young *Astrocaryum jauari* Mart. (Arecaceae) in periodically inundated biotopes of Central Amazonian. **Biotropica** 25:384-396.
- SENA GOMES, A.R. & KOZLOWSKI, T.T. 1980. Growth responses and adaptations of *Fraxinus pennsylvanica* seedlings to flooding. **Plant Physiology** 66:267-271.
- SENA GOMES, A. R. & KOZLOWSKI, T. T. 1988. Physiological and growth responses to flooding of seedlings of *Hevea brasiliensis*. **Biotropica** 20: 286-293.

- SINGH, H.P.; SINGH, B.B. & RAM, P. 2001. Submergence tolerance of rainfed lowland rice: search for physiological marker traits. **Journal Plant Physiology** 158: 883-889.
- SMETHURST, C.; GARNETT, T. & SERGEY, S. 2005. Nutritional and chlorophyll fluorescence responses of lucern (*Medicago sativa*) to waterlogging and subsequent recovery. **Plant and Soil** 270:31-45.
- SOKAL, R.R. & ROHLF, F.J. 1995. **Biometry: the principles and practice of statistics in biological research**. 3. ed. New York: W.H. Freeman.
- SOS MATA ATLÂNTICA. 1993. **Evolução dos remanescentes florestais e ecossistemas associados do domínio da Mata Atlântica no período 1985-1990**. São Paulo. Fundação SOS Mata Atlântica & Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais.
- SOUZA, C.R.; SOARES, A.M. & REGINA, M.A. 2001. Trocas gasosas de mudas de videira, obtidas por dois porta-enxertos, submetidas a deficiência hídrica. **Pesquisa Agropecuária Brasileira** 36: 1221-1230.
- TEIXEIRA, M.; OKAMOTO, J.M. & JOLY, C.A. 2001. **Tolerância de plântulas de uma população de *Inga vera* subsp. *affinis* (DC) T.D. Penn.(Mimosaceae) do Pantanal à saturação hídrica do solo**. Relatório FAPESP.
- TSUKAHARA, H. & KOZLOWSKI, T.T. 1985. Importance of adventitious roots to growth of flooded *Platanus occidentalis* seedlings. **Plant and Soil** 88: 123-132.
- VOESENEK, L.A.C.J.; COLMER, T.D.; PIERICK, R.; MILLENAAR, F.F. & PEETERS, A.J.M. 2006. How plants cope with complete submergence. **New Phytologist** 170:213-226.
- VON CAEMMERER, S. & FARQUHAR, G.D. 1981. Some relationships between the biochemistry of photosynthesis and gas exchange of leaves. **Planta** 153: 376-378.
- WALDHOFF, D.; JUNK, W.J. & FURCH, B. 1998. Responses of three Central Amazonian tree species to drought and flooding under controlled conditions. **International Journal of Ecology and Environmental Sciences** 24: 237-252.
- WITKOWSKI, E.T.F. & LAMONT, B.B. 1991. Leaf specific mass confounds leaf density and thickness. **Oecologia** 88: 486-493.

- YAMAMOTO, F. & KOZLOWSKI, T. T 1987a. Effects of flooding, tilting of stems, and ethrel application on growth, stem anatomy and ethylene production of *Pinus densiflora* seedlings. **Journal of Experimental Botany** 38: 293-310.
- YAMAMOTO, F. & KOZLOWSKI, T. T 1987b. Regulation by auxin and ethylene of responses of *Acer negundo* seedlings to flooding of soil. **Journal of Experimental Botany** 27:329-340.
- YAMAMOTO, F.; SAKATA, T. & TERAZAWA, K. 1995. Physiological, morphological and anatomical responses of *Fraxinus mandshurica* seedlings to flooding. **Tree Physiology** 15: 793-719.
- ZAR, J.H. 1999. **Biostatistical Analysis**, 4. ed. New Jersey: Prentice Hall.
- ZOTZ, G.; TYREE, M.T. & PATINO, S. 1997. Hydraulic architecture and water relations of a flood-tolerant tropical tree, *Annona glabra*. **Tree Physiology** 17: 359-365.