

Leandro da Silva Duarte

Universidade Federal do Rio Grande
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
Departamento de Estatística
BIBLIOTECA

M 2

**Respostas Ecofisiológicas de Plântulas do
Pinheiro Brasileiro (*Araucaria angustifolia*
[Bert.] O. Ktze.) a Diferentes Níveis de
Irradiância**

Dissertação apresentada como um dos
requisitos para a obtenção do Título de
Bacharel em Ciências Biológicas na
Universidade Federal do Rio Grande do
Sul

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Lúcia Rebello Dillenburg

Universidade Federal do Rio Grande
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
Departamento de Estatística
BIBLIOTECA

**Porto Alegre
1997**

*“Dorme. Viveu na terra em luta contra a sorte
Mal seu anjo voou, pediu refúgio à morte.
O caso aconteceu por essa lei sombria
Que faz que a noite chegue, apenas foge o dia.”*

VICTOR HUGO - OS MISERÁVEIS

Para Olga

Sumário

Agradecimentos.....	iv
Resumo.....	v
<i>Abstract</i>	vii
Introdução	1
Justificativa e Objetivos	9
Material e Métodos	11
Cultivo.....	11
Exposição à Luz.....	11
Delineamento Experimental.....	14
Parâmetros Analisados.....	14
1. Altura da Parte Aérea.....	14
2. Biomassa.....	14
3. Área Foliar Específica.....	15
4. Conteúdo de Clorofilas.....	15
5. Atividade <i>in vivo</i> das enzimas nitrato redutases.....	17
Análise Estatística.....	18
Resultados	20
Discussão	31
Padrão de crescimento.....	31
Conteúdo de clorofilas.....	36
Taxa de redução de nitrato.....	39
Aspectos ecológicos.....	42
Considerações Finais	45
Bibliografia	48

Agradecimentos

À Prof.^a Dr.^a Lúcia Rebello Dillenburg pela orientação, no seu sentido mais especial, pela confiança, e pela amizade dispensada.

Aos demais professores do Laboratório de Fisiologia Vegetal da UFRGS pela acolhida, pelo respeito e, principalmente, por sua preocupação sincera em formar profissionais da Ciência.

Aos colegas de laboratório, especialmente à Morgana Mósená, sem cuja ajuda seria praticamente impossível realizar parte das análises de laboratório.

Ao Biólogo Msc. Armando Molina Divan Jr. pela paciência em ensinar, pela generosidade de ter-me aberto as portas do Centro de Ecologia da UFRGS, e pela amizade.

Ao Centro de Ecologia da UFRGS pelo espaço e material cedido para a realização deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Luís Mauro Rosa pela ajuda com o radiômetro, pelas conversas, e por viabilizar o meu ingresso como Bolsista no Laboratório de Fisiologia Vegetal.

À FAPERGS pela Bolsa de Iniciação Científica.

Aos meus amigos e colegas pela paciência.

Aos meus pais, João e Antonia, pela vida.

Resumo

O pinheiro brasileiro é uma conífera nativa da região meridional da América do Sul de ampla distribuição nos três Estados do sul do Brasil. Além de apresentar grande importância ecológica nas formações em que ocorre, esta espécie também possui uma potencialidade econômica acentuada, o que justifica a busca de conhecimento a seu respeito. Grande parte da literatura classifica o pinheiro brasileiro como uma espécie pioneira e heliófila, apesar de algumas de suas características estruturais e fisiológicas contrariarem tal classificação. O objetivo do presente trabalho foi observar as respostas ecofisiológicas do pinheiro brasileiro frente a diferentes níveis de irradiância.

Foram cultivadas 45 plântulas, em vasos, sob três níveis de irradiância: 100, 45 e 10% da radiação solar total. Após 5 meses de cultivo, foram analisados diferentes parâmetros de crescimento (altura da parte aérea, biomassa e alocação de biomassa), o conteúdo de clorofilas nas folhas e a atividade *in vivo* das enzimas nitrato redutases, em folhas e raízes.

Quando comparadas às plântulas não sombreadas, observou-se uma redução da biomassa total nas plântulas submetidas a sombreamento; apesar disso, estas não alocaram mais biomassa para a parte aérea, contrariando os resultados de outros trabalhos. Somente as plântulas submetidas a sombreamento severo (10% da irradiância total) apresentaram aumento significativo em área foliar específica, bem como na razão entre altura final e biomassa da parte aérea, indicando o seu estiolamento. Os conteúdos de clorofila a, b e total, assim como a razão entre o conteúdo de clorofila a e b, não variaram entre os tratamentos. A atividade das nitrato redutases foi detectada somente nas raízes, tendo havido uma redução significativa da atividade destas enzimas em plântulas severamente sombreadas.

A análise conjunta dos resultados indica que plântulas de pinheiro brasileiro moderadamente sombreadas podem estabelecer-se normalmente, ao

menos em seus estágios iniciais de desenvolvimento. Estes resultados, aliados a outras características da espécie relatadas na literatura, contrariam a classificação proposta por alguns autores. Com base nisto, sugere-se que *Araucaria angustifolia* constitui, em suas formações mais puras, ou seja, onde o clima o favorece, uma espécie clímax. Nas áreas onde o clima é mais ameno, a espécie estaria sendo substituída por outras mais competitivas.

Abstract

Brazilian pine is an indigenous conifer in the meridional region of South America, with large distribution in the southern states of Brazil. Studies focusing on this species are of great relevance because, besides its large ecological importance in the plant communities where it occurs, this species shows a pronounced economic potential. Most of the literature regards brazilian pine as a pioneer and heliophytic species, although some of its structural and physiological characteristics do not support this classification. The purpose of this work was to observe the ecophysiological responses of brazilian pine seedlings exposed to three irradiance levels.

Forty five seedlings were cultivated in pots under three irradiance levels: 100, 45 e 10% of full sun. After 5 months, different growth parameters (shoot height, biomass and biomass allocation), chlorophyll content of leaves and *in vivo* nitrate reductase activity, both in leaves and roots, were analyzed.

We found a reduction in total biomass of shaded seedlings when compared to unshaded controls. However, there was no increase in shoot biomass allocation, contrasting to the results from other shading experiments. Only severely shaded seedlings (10% full sun) showed significant increase in specific leaf area, as well as in height to shoot biomass ratio, suggesting an etiolation response. Chlorophyll content (total, a and b) and chlorophyll a:b ratio did not vary among treatments. Nitrate reductase activity was detected only in roots and a significant reduction in enzymatic activity occurred in severely shaded seedlings.

An overall analysis of the results points to a normal growth of brazilian pine seedlings at moderate-shade sites, at least on its initial stages of development. These results, together with other characteristics of this species, are in conflict with the classification proposed by several authors. Thus, is suggested

here that *Araucaria angustifolia* is a climax species, at its more pure formations, that is, where climate favours its dominance. In sites where the climate is milder, the species would tend to be replaced by more competitive ones.

Introdução

A área de distribuição de *Araucaria angustifolia* no Brasil inclui as partes mais altas do planalto sul-brasileiro. No Rio Grande do Sul, a sua ocorrência inicia ao norte dos rios Vacacaí e Jacuí, onde o planalto atinge rapidamente altitudes médias de 600 a 800 metros, em alguns lugares ultrapassando os 1000 metros. Os pinhais se estendem pelos Estados de Santa Catarina, Paraná e São Paulo. No Rio de Janeiro e em Minas Gerais, as araucárias surgem isoladamente, em altitudes superiores a 1000 metros. Na Argentina, há uma pequena área de ocorrência de *A. angustifolia* na Província de Misiones. O limite altitudinal inferior dos pinhais localiza-se entre 500 e 600 metros nos Estados do sul do Brasil e aumenta rumo ao norte, atingindo 1200 metros em Itatiaia, no Rio de Janeiro (29).

RAMBO (68) estabelece três formações típicas dentro da vegetação planáltica rio-grandense: os pinhais, os campos de altitude e a mata pluvial latifoliada. Segundo MAACK *apud* MACHADO *et. al.* (54), a formação da mata de araucárias constitui uma parte especial da mata ombrófila (pluvial) subtropical, cujo desenvolvimento se relaciona intimamente à altitude. Os campos de altitude são, por diversos autores, considerados uma formação primitiva e pioneira, remanescente de uma paisagem atualmente em regressão, devido a uma variação climática, de um clima de estepes antigo para outro, mais regular, de matas (29). O pinhal se sobrepõe aos campos, apresentando, portanto, capacidade de concorrência com este (26). Segundo REITZ *et. al.* (71), a irradiação dos pinheiros como elementos isolados por sobre os campos limpos do planalto, formando agrupamentos de início esparsos, tornando-se densos sob a forma de capões distribuídos preferencialmente nas depressões dos campos e cursos d'água, evidencia o seu caráter heliófilo e pioneiro, apesar de

ainda apresentar-se como a espécie mais importante e expressiva em sua área de ocorrência, além de demonstrar o início de uma série sucessional, tendente ao clímax. No que tange, porém, às relações entre os pinhais e a mata pluvial latifoliada, parece clara a desvantagem dos primeiros em relação à segunda (26). Da mesma maneira que penetra nos campos, a mata de araucária é invadida, em sua área de ocorrência altitudinal mais baixa, pela floresta latifoliada, de extrema vitalidade (29). O mesmo autor credita a vantagem competitiva da mata latifoliada à estrutura do estrato inferior desta, através do qual pouca luz penetra. Desta forma, as plântulas e pinheiros jovens não conseguiriam concorrer com as espécies das matas latifoliadas, já que, para a sua germinação, eles necessitariam de locais abertos e claros, condições estas que não encontram na mata latifoliada. Mesmo que fosse intensificada a germinação, os pinheiros jovens seriam ultrapassados pelas espécies de crescimento rápido, perecendo nos limites com a mata latifoliada, sendo assim a sua regeneração natural impedida (29, 71). Deve-se, contudo, ressaltar que a adaptação das espécies à sombra pode estar relacionada não apenas à tolerância destas à baixa irradiância, mas também a outros fatores, como a pobreza mineral do solo, causada, possivelmente, pela intensa absorção destes pelo estrato arbóreo dominante (27). CLARK *et. al.* (14) consideram árvores pioneiras aquelas que dependem de condições de alta irradiância, as quais são comuns em sítios desmatados ou em clareiras naturais extensas. Ainda segundo os autores, seriam características típicas de plantas pioneiras: a) produção de sementes pequenas e em grandes quantidades; b) crescimento bastante rápido; c) longevidade relativamente curta da planta. BAZZAZ (5) acrescenta a estas características a alta longevidade das sementes de plantas pioneiras e a ocorrência nestas de fotoblastismo positivo. Nenhuma das características citadas se aplica à *Araucaria angustifolia*.

As evidências quanto à vantagem competitiva da mata latifoliada em relação ao pinhal na zona limite entre as duas formações parecem ser convincentes. Deve-se, contudo, estabelecer muito claramente os limites de interação entre elas. Para GOERGEN *et. al.* (26), as áreas de ocorrência de várias espécies de coníferas geneticamente antigas, como *Araucaria angustifolia*, principalmente no Hemisfério Sul, constituem *habitats* onde as demais espécies arbóreas, atualmente constituintes da parte dominante das florestas, encontram-se nos limites de sua capacidade de existência por motivos ecológicos destes *habitats*. No caso em questão, a limitação ao avanço da mata latifoliada parece ser a altitude, e as condições climáticas por ela geradas ou influenciadas, tal como a ocorrência de geadas noturnas intensas na região dos pinhais.

Desta forma, enquanto a mata do Alto Uruguai penetra na zona da araucária através dos vales de seus afluentes (logo, nas altitudes mais baixas), a araucária domina as regiões orientais, mais altas, do planalto do RS (29). Para RAMBO (68), se comparar-se as cotas altimétricas da ocorrência do pinheiro, veremos que elas oscilam entre 500 metros a oeste e 1000 a leste, nunca descendo, a não ser em manchas ocasionais, até a mata virgem da fralda da Serra. Invariavelmente, os pinhais assinalam a linha horizontal de altura.

A distribuição atual de *Araucaria angustifolia*, leia-se, a sua limitação às partes altas do planalto sul-brasileiro, é função do avanço da mata latifoliada. Não parece haver restrições ao desenvolvimento do pinheiro em baixas altitudes, visto que o cultivo deste na região metropolitana de Porto Alegre, por exemplo, se faz sem maiores impedimentos. GOERGEN *et. al.* (26) fazem referência semelhante a outras coníferas relictas, cujas distribuições são determinadas por fatores análogos aos da araucária brasileira (*e.g.*, *Araucaria araucana*, no Chile).

As considerações feitas (tanto a expansão do pinhal sobre os campos de altitude, quanto a sua restrição gerada pelo sub-bosque esciófilo da mata latifoliada) permitiriam-nos classificar o pinheiro do Paraná como heliófilo, ou seja, uma planta que se desenvolve melhor sob sol pleno (73), ao menos em seus estágios iniciais de desenvolvimento. Não obstante, diversas características estruturais e fisiológicas do pinhão (22, 23 e 32) e o crescimento relativamente lento das plântulas de pinheiro (69) tornam tal caracterização até certo ponto temerária. As observações feitas por MATTOS (58) contrariam a idéia de irremediabilidade proposta por outros autores (*e.g.* 77). Segundo MATTOS (58), ao entrarmos numa floresta fechada de *A. angustifolia*, veremos muitos pinheirinhos recém emergidos e outros de diferentes tamanhos, oriundos do plantio por gralhas ou da queda de pinhões da planta-mãe. Aqueles que germinam em locais onde as copas deixam passar razoável luminosidade, sobrevivem. Cabe ressaltar que, na análise das exigências requeridas para a regeneração natural de uma espécie, o fator "presença ou ausência de clareiras" pode nos levar a conclusões equivocadas acerca das reais necessidades de estabelecimento desta espécie. Seria, neste caso, mais útil identificar os fatores ambientais específicos que influem na regeneração da espécie, entre os quais se incluem a quantidade e qualidade de luz, o nível de competência das raízes, o conteúdo de nutrientes do solo, assim como a textura deste, e a proteção contra predadores e patógenos. Quaisquer relações entre os fatores e a necessidade de clareiras deve ser documentada e apresentar forte correlação (14).

BARRETT *et. al.* (4) sugerem, com base em diversos trabalhos realizados com espécies de diferentes famílias (inclusive coníferas), que algumas características, como menor área foliar, folhas espessas, e maior conteúdo de clorofilas tendem a estar associadas a irradiâncias elevadas, apesar de qualquer generalização neste sentido ser temerária, já que exceções são

conhecidas. Folhas desenvolvidas em altos níveis luminosos têm camadas adicionais de mesófilo, o que as torna mais robustas e reduz a sua área foliar específica (SLA, *specific leaf area*, em $\text{cm}^2 \text{g}^{-2}$). Considera-se, por isto, a SLA como inversamente proporcional à taxa de fotossíntese líquida por área foliar (18). O decréscimo na relação raiz/parte aérea em plantas adaptadas à sombra, devido a amplas observações registradas, pode ser considerado uma resposta universal, e reflete, provavelmente, o fato de as plantas de sombra apresentarem uma menor demanda transpiratória, e, portanto, menor desenvolvimento de superfície de absorção de água, como observado em *Alocasia macrorrhiza* (ARACEAE) (65).

O conteúdo de clorofilas também pode variar como uma resposta ao nível de irradiância. Folhas de espécies adaptadas à sombra geralmente contêm mais clorofila por peso seco, e menos por área foliar (4, 7, 43). A relação entre o conteúdo de clorofila a e b tende a diminuir com o sombreamento crescente (4, 7, 18, 43).

As taxas fotossintéticas e, conseqüentemente, o acúmulo de biomassa são, geralmente, maiores em plantas de sol em relação às de sombra, pois, nas primeiras, a saturação fotossintética ocorre em irradiâncias elevadas, ao contrário do que ocorre nas últimas (5, 7). Em vários trabalhos citados por BROOKS *et. al.* (9), observa-se uma diminuição da capacidade fotossintética em plantas adaptadas à sombra, devido tanto a uma menor concentração de enzimas fotossintéticas em relação ao volume celular, quanto à diminuição do mesmo. Além disso, observa-se nestas plantas uma menor capacidade dos seus sistemas de transporte de elétrons (46). Por outro lado, as plantas de sombra são mais eficientes na assimilação de carbono em baixas irradiâncias do que as de sol (5). Isto se dá porque as plantas adaptadas à sombra investem prioritariamente na absorção de luz, em detrimento dos componentes da rota de

fixação de CO₂, ao contrário das plantas adaptadas a altas irradiâncias, que priorizam o aparato enzimático assimilatório (7, 65). Por outro lado, as últimas costumam apresentar maiores taxas respiratórias, tanto para a manutenção da capacidade fotossintética elevada, através da acelerada renovação protéica e constantes reparos a danos causados pela fotoinibição, quanto pelo alto custo de processamento dos fotossintatos produzidos (75). No experimento feito por INOUE *et. al.* (32), os autores mediram a capacidade fotossintética e a produção fotossintética diária em plântulas de *Araucaria angustifolia* cultivadas sob diferentes níveis de irradiâncias e observaram que, sob o ponto de vista da capacidade fotossintética, plântulas de pinheiro podem se adaptar às condições de luminosidade do ambiente, uma vez que indivíduos cultivados sob condições crescentes de sombreamento apresentaram proporcionalmente as maiores capacidades fotossintéticas. Os autores concluem que “condições de plena luz são incompatíveis, pelo menos na fase juvenil do Pinheiro, com suas características de capacidade e produção fotossintética”, e que “a regeneração do Pinheiro deve ser conduzida no estágio inicial, sob determinado grau de sombra, objetivando assim um melhor aproveitamento da luz para o crescimento.”

O processo de assimilação de nitrogênio em geral, e a redução de nitrato, em especial, estão intimamente relacionados à atividade fotossintética. Até 25% da energia produzida na fotossíntese é consumida na assimilação de nitrato (78). Os fotoassimilados produzidos pelas folhas suprem as raízes com carbono e energia para a assimilação de nitrogênio (59). Quando a taxa metabólica de nitrogênio é reduzida, seja pela baixa disponibilidade deste, seja pela diminuição da quantidade de nitrato redutase, o acúmulo de compostos de reserva pode levar a uma diminuição da taxa fotossintética. Inversamente, a redução da irradiância ou da disponibilidade de CO₂ inibe a assimilação de

nitrogênio (17, 83). A assimilação de nitrato pelas plantas constitui, para muitos autores, a principal rota através da qual nitrogênio inorgânico é convertido em formas orgânicas, os aminoácidos (31, 78). A redução de nitrato consome dois elétrons doados por redutores citoplasmáticos, NADH ou NADPH (2, 78), e pode ocorrer tanto nas raízes quanto nas folhas, ou em ambos, dependendo da espécie (46). A rota de assimilação inclui a redução de nitrato a nitrito, através das enzimas nitrato redutases, NADH- ou NADPH-dependentes, conforme a isoenzima envolvida, seguindo-se a redução de nitrito a amônia e a posterior fixação desta na forma de aminoácidos (46, 78, 83). Os principais fatores envolvidos na regulação das nitrato redutases são luz, O₂, CO₂, NO₃, nitrogênio fixado e outros metabólitos, como cianeto, e hormônios (2, 78). Tal reação é considerada limitante para o crescimento e desenvolvimento, e, por isto, é regulada por múltiplos fatores. A intersecção entre o metabolismo do carbono (fundamentalmente, fotossíntese, respiração e ciclo das pentoses) e o do nitrogênio se dá primariamente pela doação de redutores (NAD[P]H) para a assimilação primária de nitrogênio, ou seja, a formação de nitrito a partir de nitrato, através da ação das nitrato redutases.

As plantas têm dois mecanismos para responder a alterações no seu ambiente, uma a longo prazo, a diferenciação genética, e outra de curto prazo, a plasticidade fenotípica, cuja expressão é dada através do grau em que o fenótipo de cada genótipo varia em resposta a mudanças ambientais, através de alterações morfológicas e/ou fisiológicas no organismo (45, 74, 81). STRAUSS-DEBENEDETTI & BAZZAZ (79) fazem uma clara distinção entre plasticidade fenotípica, caracterizada como a expressão de diferentes fenótipos de um genótipo sob diferentes condições ambientais, e aclimação, ou seja, mudanças que ocorrem em fenótipos já expressos quando estes são submetidos a variações ambientais no decorrer do seu desenvolvimento. A aclimação

seria, desta forma, um tipo especial de plasticidade fenotípica. Cabe ressaltar que, em alguns casos, apesar do organismo não apresentar qualquer variação fenotípica, ele mantém uma alta *performance* sob condições ambientais variáveis, por apresentar uma alta capacidade de tamponamento em relação ao estresse a que é submetido (homeostase) (81). Apesar dos resultados de diversos trabalhos sugerirem os padrões de aclimatação à variação luminosa anteriormente citados, deve-se sempre levar em consideração que as espécies diferem tanto no padrão quanto no grau de plasticidade fenotípica em resposta à luz, ou no intervalo de luminosidade dentro do qual elas são plásticas, antes que generalizações sejam feitas (15).

Justificativa e Objetivos

O pinheiro brasileiro é uma das espécies arbóreas brasileiras de maior potencialidade econômica. Sua madeira, denominada pinho-do-brasil ou pinho-do-paraná, tem várias utilidades, desde a fabricação de móveis até a de papel. Os seus pinhões são uma excelente fonte de alimento, tanto para o homem quanto para animais domésticos e selvagens (3, 71). Da fração não-utilizável no aproveitamento de madeira, os chamados resíduos, obtém-se carvão vegetal de alta qualidade e alcatrão vegetal, extrai-se acetato de cálcio, metil acetona e resinas, e produzem-se chapas compensadas de aplicações variadas (57). Além disso, cabe ressaltar o potencial paisagístico da espécie, tão pouco explorado em nosso país (3, 71). Diante da sua importância econômica e ecológica, e da carência de trabalhos sobre a ecofisiologia do pinheiro brasileiro, torna-se imprescindível a execução de projetos de pesquisa básica acerca da espécie. O objetivo geral do presente trabalho foi observar as respostas ecofisiológicas no que diz respeito à tolerância de plântulas de pinheiro brasileiro à diferentes condições de irradiância, visando a melhor compreensão do caráter ecológico da espécie, bem como a geração de conhecimentos necessários à condução de projetos de manejo sustentável e de reflorestamento com espécies nativas. Os objetivos específicos propostos neste trabalho são os seguintes:

1- Analisar as respostas de plântulas de *A. angustifolia* ao sombreamento no que diz respeito ao acúmulo e alocação de biomassa, altura da parte aérea e estiolamento.

2- Analisar o conteúdo de pigmentos fotossintéticos (clorofila a, b e total) e a razão entre os conteúdos de clorofila a e b (razão Cla:Clb), visando observar possíveis variações nas características fotossintéticas de plântulas submetidas a diferentes condições de irradiância.

3- Comparar a atividade de redução de nitrato, tanto em folhas quanto em raízes, em função da disponibilidade luminosa, visando relacionar a variação na atividade de fixação de carbono (através do acúmulo de biomassa seca) com a variação na atividade de fixação de nitrogênio, e destas com o desenvolvimento geral das plântulas.

Material e Métodos

Cultivo

Germinação: As sementes (pinhões), obtidas no comércio, foram desinfestadas com hipoclorito de sódio comercial, solução 20%, durante 8 minutos, e enxaguadas em água corrente por mais 20 minutos. A sementeira foi feita numa bandeja de isopor forrada com papel filtro e vermiculita, posteriormente coberta com plástico.

Após a sementeira os pinhões permaneceram numa sala com temperatura variando entre 20 e 24°C e iluminação (lâmpadas fluorescentes) constante, sendo irrigadas sempre que necessário. A quase totalidade dos pinhões germinou ao final da primeira semana.

Plantio: O plantio foi feito assim que a maioria dos pinhões havia emitido a radícula (uma semana após a sementeira), totalizando 45 vasos (15 vasos por tratamento). Os vasos utilizados consistiram de garrafas plásticas de 2 litros, cortadas logo abaixo do gargalo e perfuradas na base. O substrato de cultivo foi preparado a partir da mistura de partes iguais (1:1-v/v) de areia média lavada e terra preta comercial. As plantas emitiram as suas partes aéreas aproximadamente 6 semanas após a germinação. Uma vez por semana as plantas foram irrigadas com água destilada, de maneira que o suprimento hídrico não limitasse o seu desenvolvimento.

Exposição à luz

O período de exposição das plantas iniciou no dia 25 de junho e terminou no dia 26 de novembro de 1996 (153 dias).

A exposição das plantas aos diferentes tratamentos foi feita na casa de vegetação do Centro de Ecologia da UFRGS, coberta com plástico. Foram utilizadas 45 plantas, divididas em 3 tratamentos luminosos (fluxo fotônico fotossintético, PPF [*photosynthetic photon flux*], medido com radiômetro Li-Cor Li-185B, Quantum Sensor Li-190SB):

a) Controle -C- (100% da radiação total) - Exposição solar total sob o plástico da casa de vegetação (Fig. 1.a); PPF: $1245 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (*).

b) Tratamento I -T₁- (45% da radiação total) - Exposição solar em câmara com aproximadamente 1 m^3 de volume coberta com uma camada de sombrite 50% (Fig. 1.b); PPF: $560,5 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (*).

c) Tratamento II -T₂- (10% da radiação total) - Exposição solar em câmara com aproximadamente 1 m^3 de volume coberta com duas camadas de sombrite 50%, sob uma camada extra de sombrite que cobria parte da casa de vegetação (Fig. 1.c); PPF: $116,7 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (*).

(*) Valores médios de três medições feitas em dias com baixa nebulosidade, no período de maior irradiância luminosa (entre 11 e 14 horas), nos meses de junho, julho e setembro, dentro de cada câmara.



Figura 1a - Plântulas controle expostas na casa de vegetação.



Figura 1b - Plântulas T_1 sob gaiola coberta com 1 camada de sombrite.



Figura 1c - Plântulas T_2 sob gaiola coberta com 2 camadas de sombrite.

Delineamento experimental

Dos 45 vasos inicialmente utilizados, apenas 30 foram monitorados, eliminando-se 5 plantas de cada tratamento, através do critério de altura final da parte aérea e presença ou ausência de cotilédones após o segundo mês de exposição. As 30 plântulas utilizadas foram organizadas em 10 blocos, cada um contendo 1 planta de cada tratamento. O critério de bloqueamento utilizado foi a altura final da parte aérea e presença ou não de cotilédones após o segundo mês de exposição, de modo que os blocos 1, 3, 5, 7 e 9 continham os indivíduos mais altos e ainda com cotilédones de cada tratamento, e os blocos 2, 4, 6, 8 e 10 os indivíduos mais altos já sem os cotilédones. O critério do cotilédone foi utilizado porque as plântulas que os mantiveram funcionais além do segundo mês de exposição aos tratamentos apresentaram um desenvolvimento muito superior ao daquelas cujos cotilédones secaram até o segundo mês.

Parâmetros analisados

Os parâmetros analisados no experimento foram:

1. Altura da parte aérea: A altura das plantas passou a ser medida semanalmente a partir do 45º dia de exposição aos tratamentos, até o fim do experimento.

2. Biomassa: As 30 plântulas foram separadas em parte aérea e raízes, sendo cada parte colocada em potes de vidro sem tampa e levadas à estufa ($T \cong 60^\circ\text{C}$) até atingirem massa constante. Foram então pesadas sobre folha de papel alumínio (Balança Analítica Sartorius 2842). Ao peso seco obtido da parte aérea, acrescentou-se o das acículas utilizadas para determinação do conteúdo de clorofilas. Os parâmetros de biomassa medidos foram os seguintes:

* Biomassa total;

- * Biomassa da parte aérea;
- * Biomassa das raízes;
- * Alocação de biomassa, dada pela razão entre as biomassas da parte aérea e das raízes;
- * Altura final / Biomassa da parte aérea (parâmetro este usado para avaliar o grau de estiolamento).

3. Área foliar específica (SLA): A área foliar específica foi obtida através da razão entre a área de um certo número de acículas (em média 3) (Medidor de Área Portátil Li-Cor LI-3000) e o peso seco das mesmas ($\text{m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$), para cada plântula.

4. Conteúdo de clorofilas: O conteúdo de clorofilas foi obtido através do método de KNUDSON *et. al.* (42), modificado. Para a análise do conteúdo de clorofilas foram sorteados 6 blocos (1, 2, 3, 4, 7 e 8), totalizando 18 amostras de plantas. De cada planta foi retirada 1 subamostra constituída de 3 acículas, em média. As acículas selecionadas (as medianas, preferencialmente) foram lixadas com lixa de unha para que a penetração do etanol (etanol absoluto P.A.) através da cutícula fosse facilitada. Após este procedimento, a área das acículas foi obtida através do medidor de área (Medidor de Área Portátil Li-Cor LI-3000), e estas recolhidas a frascos de vidro cobertos com papel alumínio e contendo um determinado volume de etanol (18 ml). Para *Araucaria angustifolia*, a relação entre a área das acículas e o volume ideal correspondente de etanol indicou que para uma área aproximada de $3,5 \text{ cm}^2$, um volume de 18 ml de etanol possibilita melhores resultados na análise espectrofotométrica, já que a leitura de absorbância deve situar-se entre os valores 0,2 e 0,8 (20). O tempo necessário para a extração máxima, nesta espécie, é de, no mínimo, uma semana em temperatura ambiente. Segundo KNUDSON *et. al.* (42), o armazenamento das amostras por 6 semanas no escuro gera uma perda de clorofila inferior a 3%.

Após a extração, o volume do extrato foi medido numa proveta, e a leitura de absorbância no espectrofotômetro (Espectrofotômetros Zeiss PM 2K e Dourado 2D) feita nos comprimentos de onda 649 e 665 nm, contra um branco contendo etanol puro. Uma leitura adicional, em 710 nm, foi feita para descartar qualquer dúvida quanto à pureza do extrato. Realizada a leitura espectrofotométrica, as acículas foram secadas e pesadas em balança analítica (Balança analítica Sartorius 2842).

A concentração de clorofilas em $\mu\text{g ml}^{-1}$ do extrato foi obtida através das equações de WINTERMANS *et. al.* (90):

$$\text{Cla } (\mu\text{g ml}^{-1} \text{ solução}) = 13,7 A_{665} - 5,76 A_{649}$$

$$\text{Clb } (\mu\text{g ml}^{-1} \text{ solução}) = 25,8 A_{649} - 7,6 A_{665}$$

$$\text{Cl}_{\text{tot}} (\mu\text{g ml}^{-1} \text{ solução}) = 6,1 A_{665} + 20,04 A_{649},$$

onde Cla, Clb e Cl_{tot} são, respectivamente, a concentração de clorofilas a, b e total, em $\mu\text{g.ml}^{-1}$, e A₆₆₅ e A₆₄₉ são as absorbâncias em 665 e 649 nm, respectivamente.

A concentração de clorofilas (C_{clor}) em mg m^{-2} de área foliar foi calculada através da seguinte equação:

$$\text{C}_{\text{clor}} (\text{mg m}^{-2}) = \text{Cl (a, b ou tot)} V_{\text{ext}} 10^{-3} / A 10^{-4}$$

Cl = concentração de clorofila no extrato, em $\mu\text{g ml}^{-1}$;

V_{ext} = volume do extrato, em ml;

A = área foliar, em cm^2 .

A concentração de clorofilas (C_{clor}) em mg g^{-1} de peso seco da amostra foi calculada pela seguinte equação:

$$\text{C}_{\text{clor}} (\text{mg g}^{-1}) = \text{Cl (a, b ou tot)} V_{\text{ext}} 10^{-3} / \text{PS}$$

PS = peso seco, em g.

5. Atividade *in vivo* das enzimas nitrato redutases: A determinação da atividade das nitrato redutases foi feita segundo o método de KLUMPP *et. al.* (41).

Foram utilizadas as 30 plantas, retirando-se 3 subamostras de raízes e 3 subamostras de folhas por planta. O material de cada subamostra foi pesado (0,4 g de folhas; 0,2 g de raízes) e colocado em tubos de ensaio. Nestes foram pipetados 5 ml da solução tampão (tampão fosfato de Sørensen pH 7,5 em KNO_3 0,1 M e isopropanol 1%). As amostras foram incubadas em estufa a 27°C com vácuo (Estufa com vácuo Heraeus VT 5042 EK). Após 1 hora de incubação, as amostras de raízes foram retiradas da estufa e delas foi extraída uma alíquota de 1 ml, à qual foi acrescentado 1 ml de sulfonilamida (Sulfonilamida 1% em HCl 1 N) e 1 ml da solução de dihidroclorato de N-(1-naphtyl) etilenodiamina 0,01%. Após 30 min, foi feita a leitura de absorbância no espectrofotômetro (Espectrofotômetro Zeiss PM 2K) em 540 nm. O restante das amostras contidas nos tubos foi reincubado e o procedimento repetido após mais 1 hora de incubação. O mesmo procedimento foi realizado com as amostras de folhas, porém o tempo de incubação foi de 2 e 3 horas.

A determinação da atividade enzimática foi feita através da quantificação do nitrito formado pela reação de redução de nitrato. Para tal fim, foi feita uma curva padrão de nitrito (solução 1 ppm), através da qual obteve-se um fator de calibração médio (FCM) utilizado no cálculo de determinação de atividade enzimática (Fig. 2), através da seguinte fórmula:

$$AT(f \text{ ou } r) = (\text{FCM } A_{540}'' 5 / \text{Pam}) - (\text{FCM } A_{540}' 4 / \text{Pam}) T$$

AT=Atividade enzimática em folhas (f) ou raízes (r), em $\text{nmol NO}_2 \text{ g}^{-1} \text{h}^{-1}$;

FCM = Fator de calibração médio;

A_{540}'' e A_{540}' = Absorbância na segunda e na primeira leitura, respectivamente, de 1 ml da amostra;

Pam = Peso da amostra, em g;

T = Intervalo de tempo entre a primeira e a segunda leitura, ou seja, 1 h.

Análise estatística

Os resultados foram analisados estatisticamente no pacote estatístico NCSS (versão 5.01), através de análise de variância (ANOVA) e Teste de Fischer de separação de médias. Adotou-se como critério de significância valores de $\alpha \leq 0,05$.

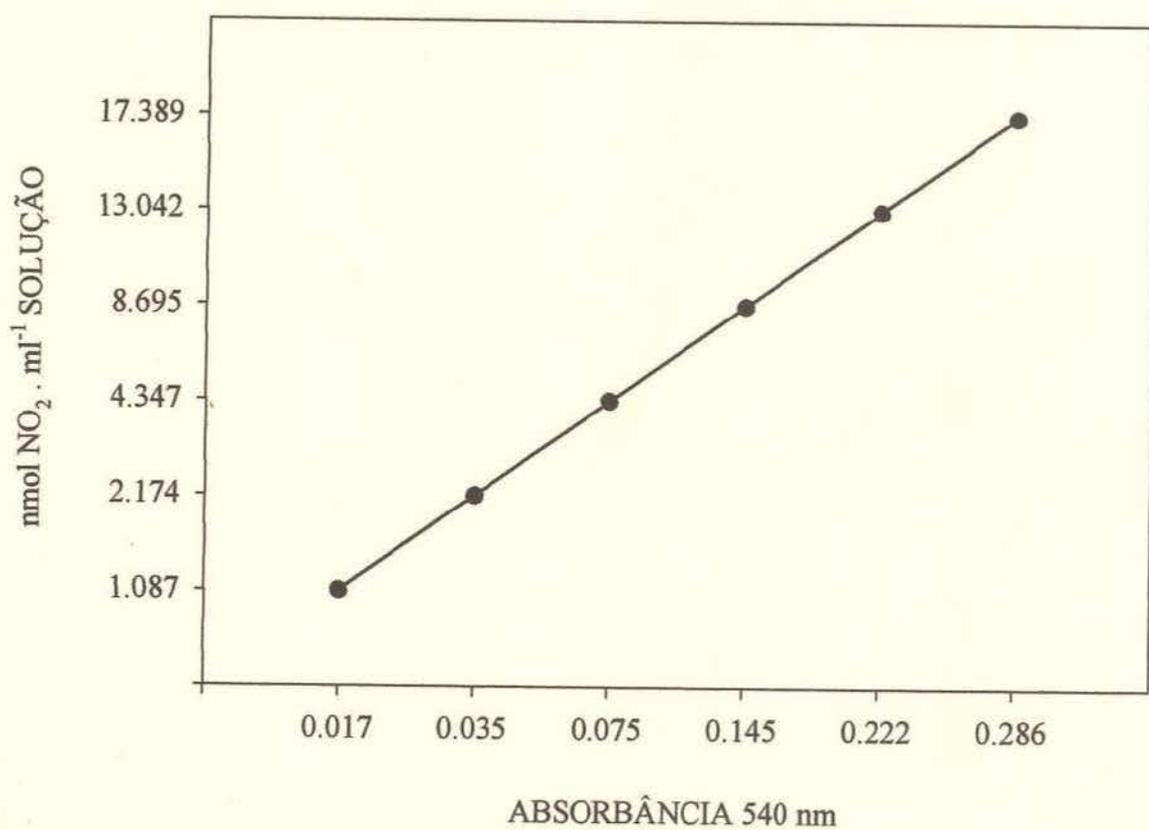


Figura 2 - Curva padrão de nitrito. Fator de calibração médio (FCM) dado através da razão entre a concentração de nitrito formado nas soluções padrão e a correspondente absorbância em 540 nm. FCM = 50,588.

Resultados

O crescimento em altura das plântulas foi desigual até a metade do período de medida, ou seja, até aproximadamente o 50.º dia (sétima semana) de mensuração do parâmetro. Na 1.ª e 3.ª medidas houve variação significativa entre os 3 tratamentos ($\alpha = 0,05$). Na 2.ª, 4.ª e 5.ª medidas houve variação significativa apenas entre o tratamento T_1 e T_2 ($\alpha = 0,05$). Na 6.ª medida o tratamento T_2 variou em relação aos outros dois tratamentos ($\alpha = 0,05$). Da 7.ª medida em diante não houve mais variação significativa entre os tratamentos ($\alpha = 0,05$) (Fig. 3). As biomassas total, da parte aérea e das raízes variaram significativamente entre os três tratamentos (Fig. 4), sendo que as plântulas C acumularam mais biomassa do que as plântulas T_1 , e estas mais do que as T_2 (nas plântulas T_2 observou-se uma redução acentuada no desenvolvimento do sistema radicular, evidenciado pela quase ausência neste de raízes terciárias, ao contrário do observado nos outros dois tratamentos); porém, a relação entre biomassa da parte aérea e das raízes permaneceu estatisticamente inalterada (Fig. 5). A razão entre a altura final e a biomassa da parte aérea (estiolamento), medida ao final do experimento, aumentou significativamente em relação ao controle apenas no tratamento de sombra severa (T_2), onde observou-se um estiolamento acentuado (Fig. 6). O mesmo resultado foi obtido em relação à área foliar específica (SLA), a qual aumentou significativamente nas plântulas severamente sombreadas (T_2), permanecendo estatisticamente constante entre os tratamentos controle e T_1 (Fig. 7). As concentrações de clorofilas a, b e total não diferiram entre os tratamentos luminosos, sejam elas expressas por unidade de área foliar, sejam por unidade de massa seca (Figs. 8 e 9); a mesma resposta foi observada em relação à razão entre as concentrações de clorofila a e b, onde não

houve variação significativa entre os três tratamentos (Fig. 10). Em relação à atividade das enzimas nitrato redutases (detectada somente nas raízes), os resultados mostram que apenas no tratamento de sombreamento severo (T₂) houve redução significativa em relação ao controle na atividade enzimática (Fig. 11).

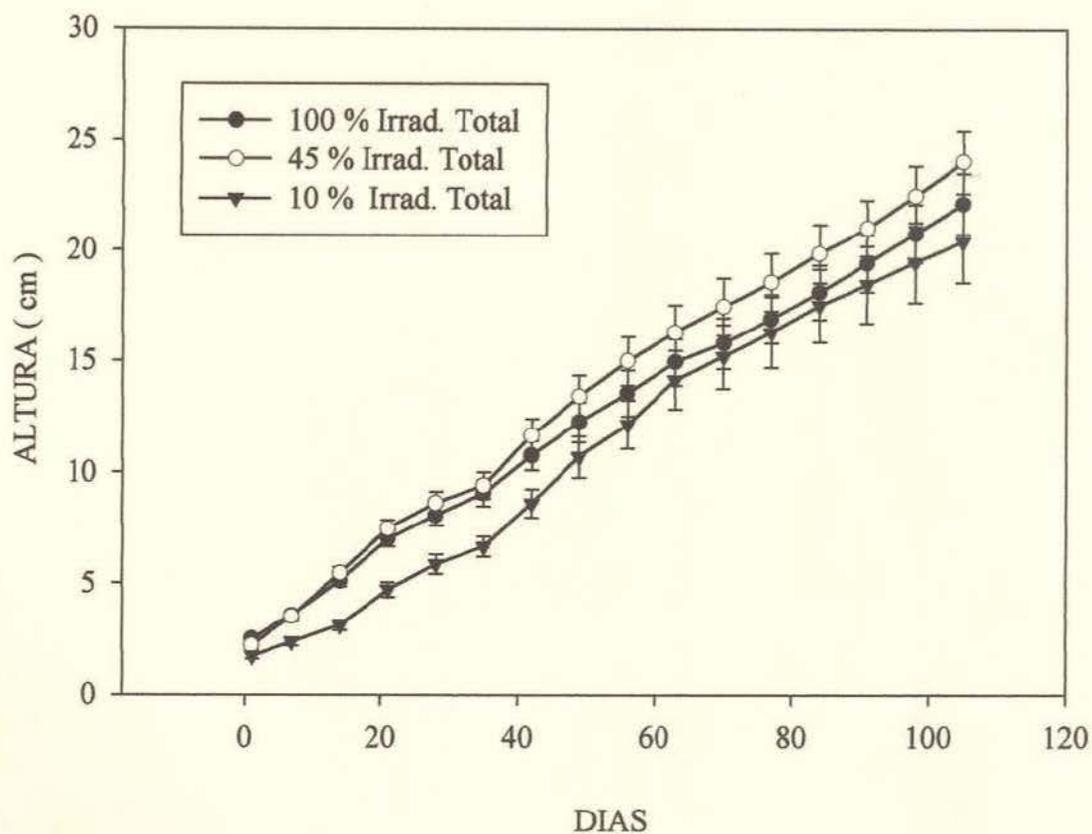


Figura 3 - Altura das plântulas de *A. angustifolia* sob diferentes níveis de irradiância. Barras verticais indicam erro padrão da média.

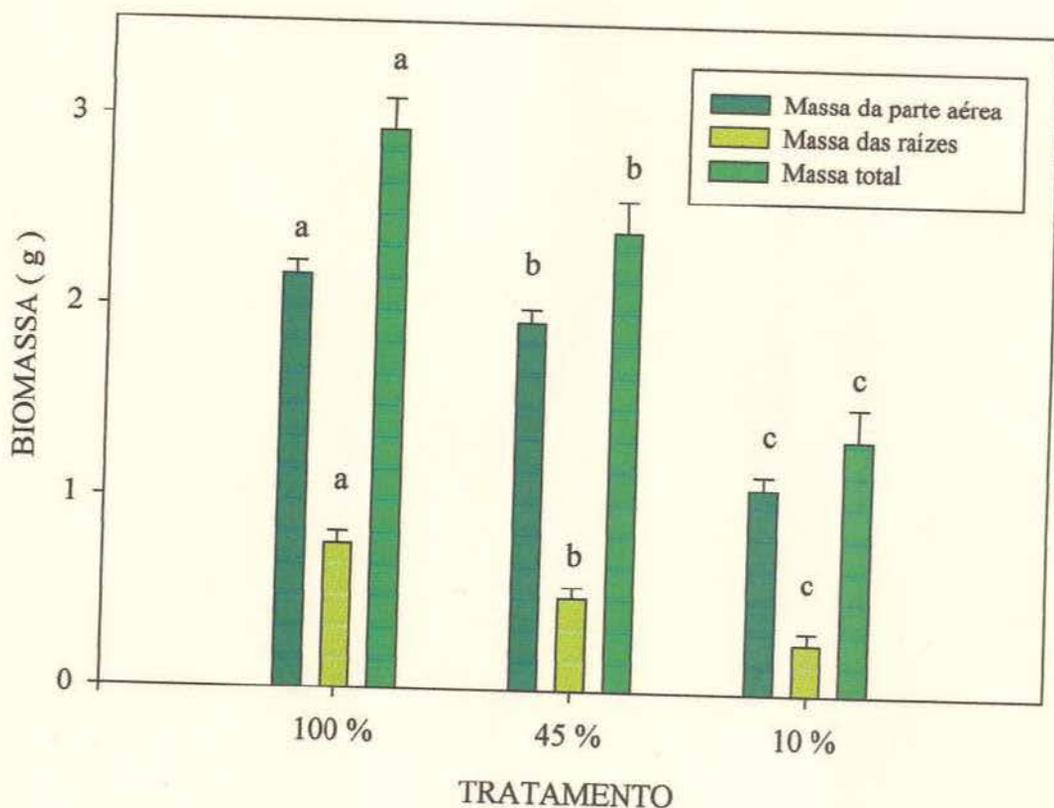


Figura 4 - Conteúdo de biomassa de plântulas de *A. angustifolia* sob diferentes níveis de irradiância. As linhas verticais sobre as barras indicam o erro padrão da média. Letras diferentes sobre as barras indicam diferença significativa entre os tratamentos ($\alpha=0,01$ para biomassa total; $\alpha=0,05$ para biomassa da parte aérea e das raízes).

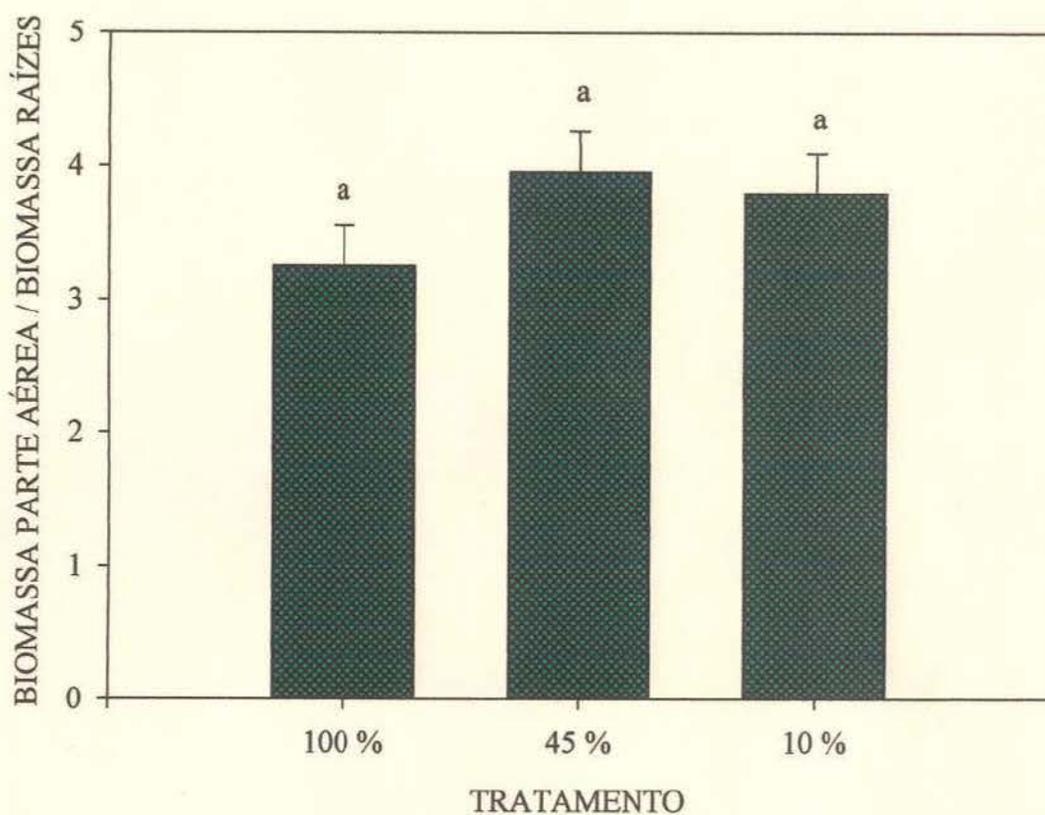


Figura 5 - Relação entre o conteúdo de biomassa da parte aérea e das raízes de plântulas de *A. angustifolia* sob diferentes níveis de irradiância. Linhas verticais sobre as barras indicam o erro padrão da média. Letras diferentes sobre as barras indicam variação significativa entre os tratamentos. ($\alpha=0,05$).

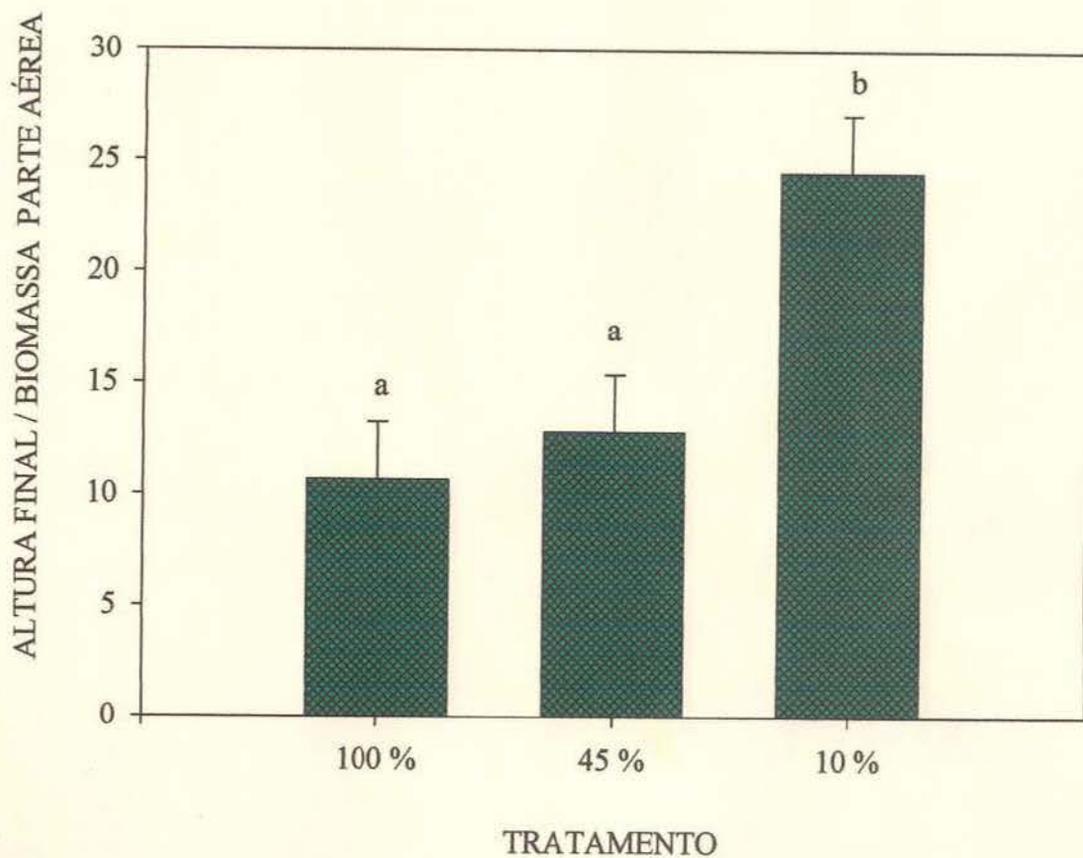


Figura 6 - Relação entre a altura final e a biomassa da parte aérea (estiolamento) de plântulas de *A. angustifolia* sob diferentes níveis de irradiância. Linhas verticais sobre as barras indicam o erro padrão da média. Letras diferentes sobre as barras indicam variação significativa entre os tratamentos ($\alpha = 0,05$).

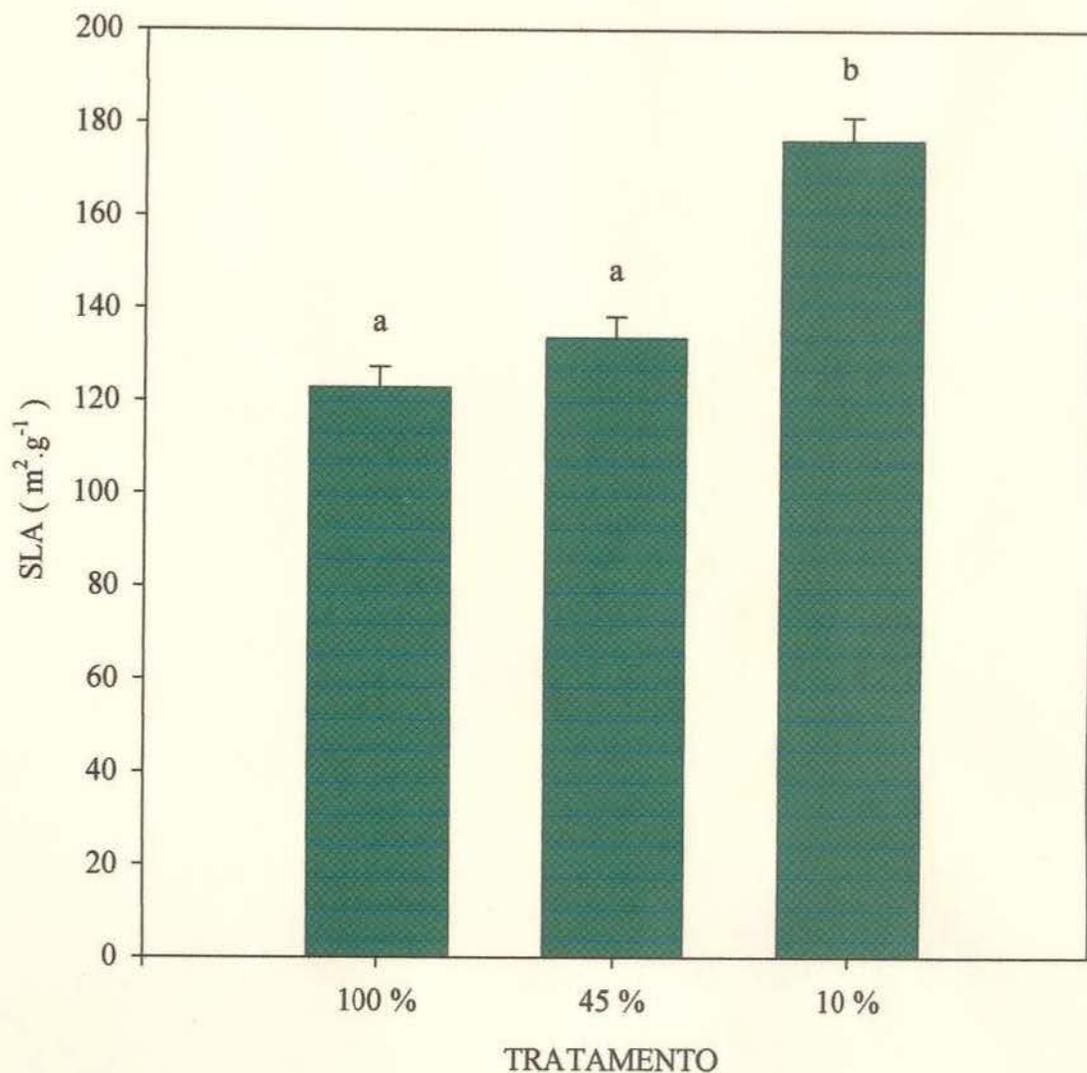


Figura 7 - Área foliar específica (SLA) de plântulas de *A. angustifolia* sob diferentes níveis de irradiância. Linhas verticais sobre as barras indicam o erro padrão da média. Letras diferentes sobre as barras indicam variação significativa entre os tratamentos ($\alpha = 0,01$).

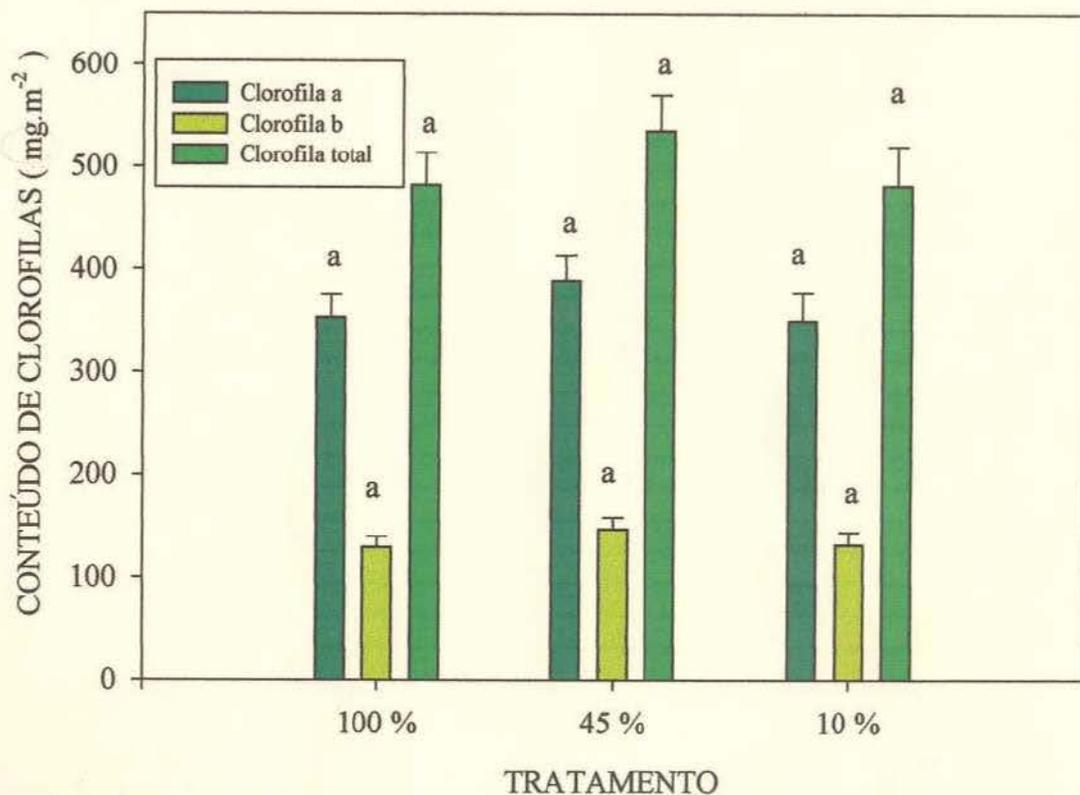


Figura 8 - Conteúdo de clorofilas por área foliar de plântulas de *A. angustifolia* sob diferentes níveis de irradiância. Linhas verticais sobre as barras indicam o erro padrão da média. Letras diferentes sobre as barras indicam variação significativa entre os tratamentos ($\alpha = 0,05$).

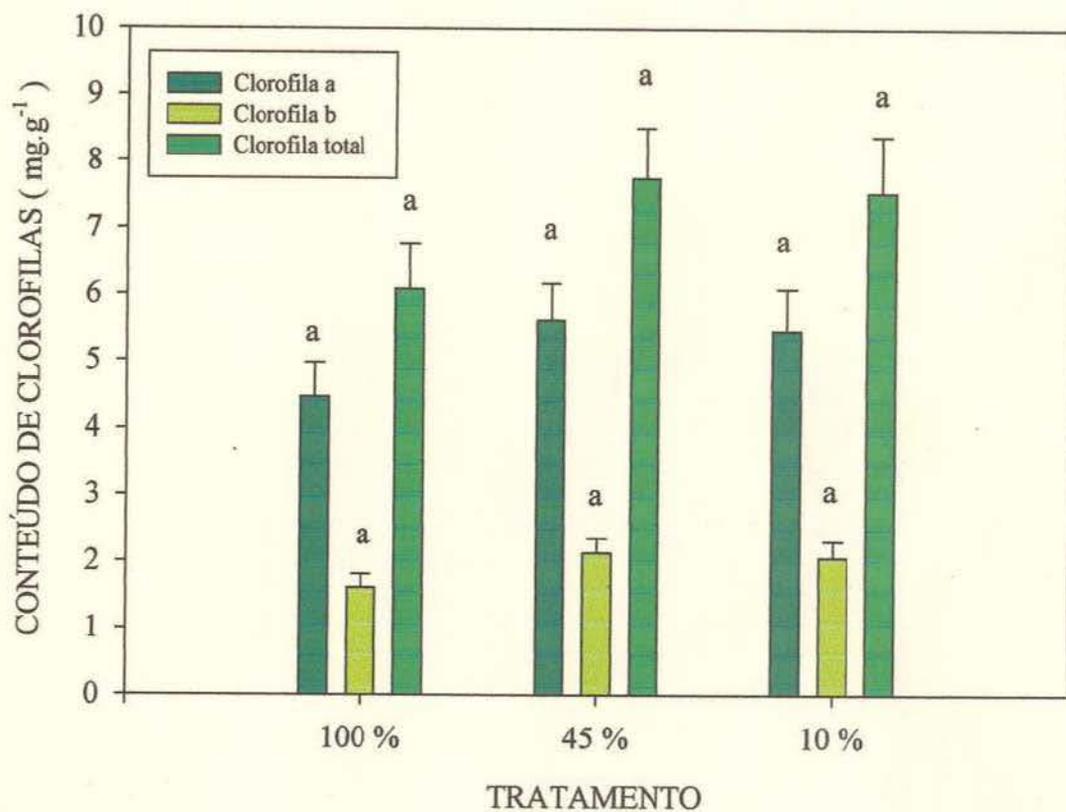


Figura 9 - Conteúdo de clorofilas por massa seca de plântulas de *A. angustifolia* sob diferentes níveis de irradiância. Linhas verticais sobre as barras indicam o erro padrão da média. Letras diferentes sobre as barras indicam variação significativa entre os tratamentos ($\alpha = 0,05$).

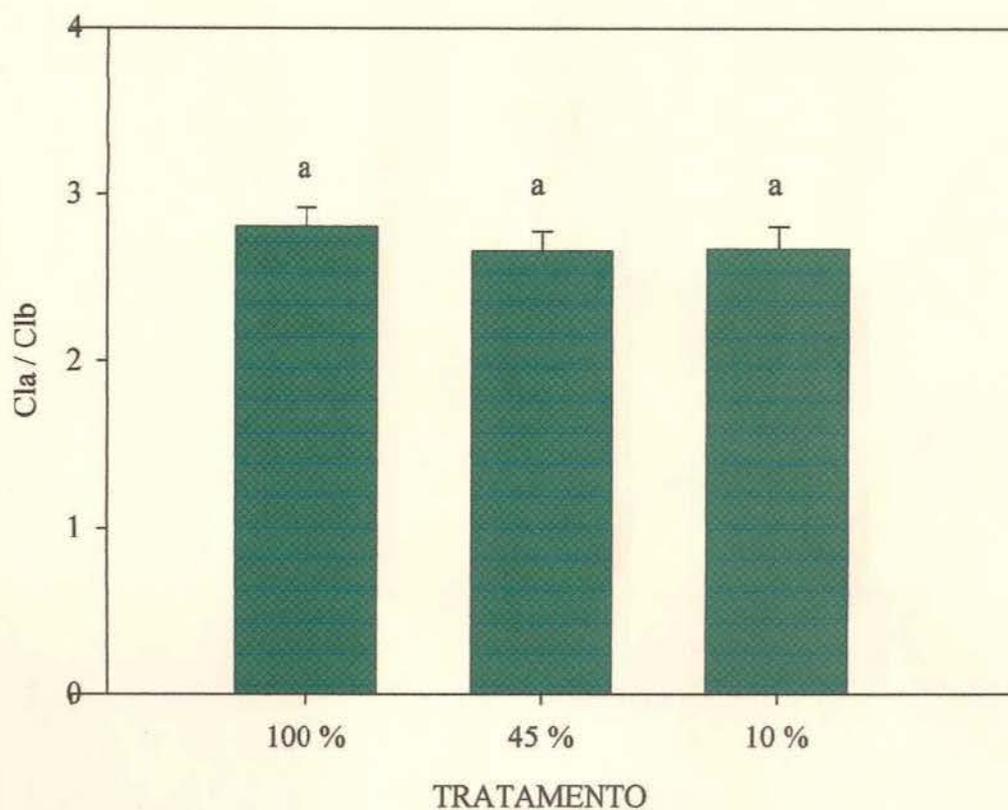


Figura 10 - Relação entre os conteúdos de clorofila a e b de plântulas de *A. angustifolia* sob diferentes níveis de irradiância. Linhas verticais sobre as barras indicam o erro padrão da média. Letras diferentes sobre as barras indicam variação significativa entre os tratamentos ($\alpha = 0,05$).

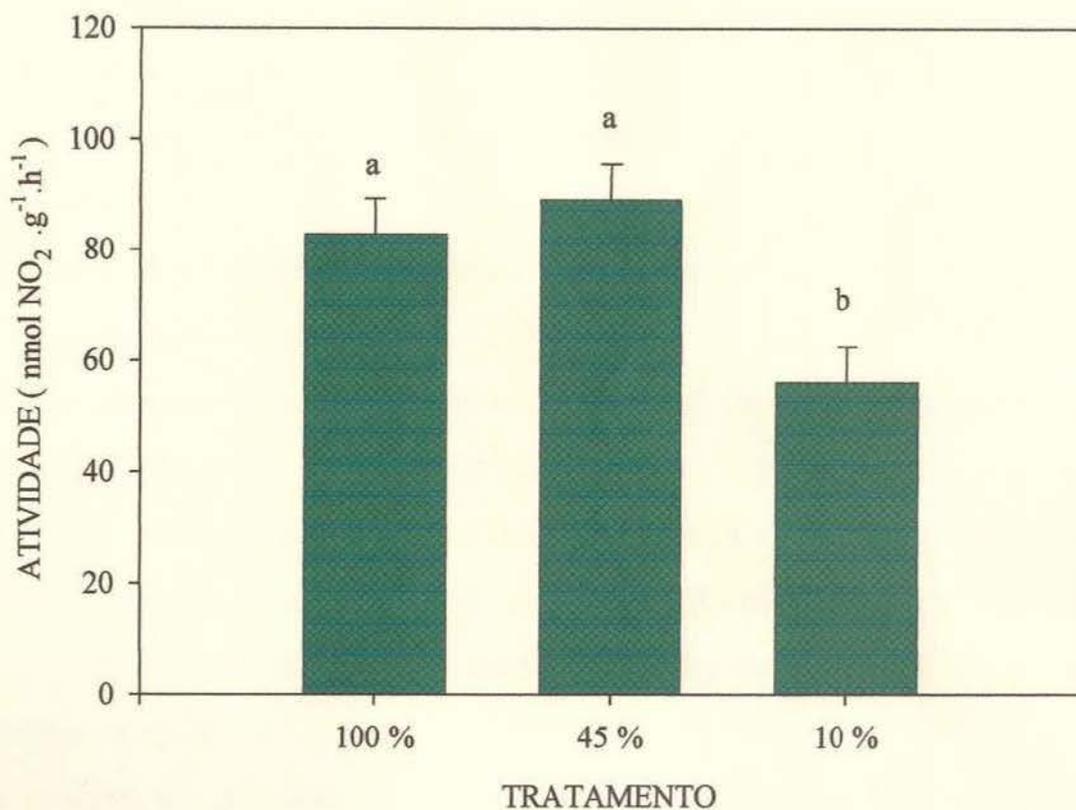


Figura 11 - Atividade *in vivo* de nitrato redutases em raízes de plântulas de *A. angustifolia* sob diferentes níveis de irradiância. Linhas verticais sobre as barras indicam o erro padrão da média. Letras diferentes sobre as barras indicam variação significativa entre os tratamentos ($\alpha = 0,05$).

Discussão

Padrão de crescimento

O maior acúmulo de biomassa em plantas cultivadas sob altas irradiâncias em relação àquelas cultivadas em sítios sombreados pode ser considerado uma resposta de ocorrência generalizada, tendo sido encontrada em diversos trabalhos realizados, tanto com espécies consideradas tolerantes quanto com aquelas consideradas intolerantes ao sombreamento (15, 28, 30, 33, 37, 53, 62, 63, 80, 86). De todos os trabalhos analisados, num total de 34 espécies de 19 famílias diferentes, 17 espécies foram consideradas intolerantes e 15 tolerantes ao sombreamento. Apenas *Ostrya virginiana* (BETULACEAE) (86) e *Castanospermum australe* (LEGUMINOSAE - FABOIDAE) (63), espécies estritamente umbrófitas, cujos ciclos de vida desenvolvem-se totalmente no sub-bosque (*understory*), não apresentaram variação significativa no acúmulo de biomassa total entre ambientes de alta e baixa irradiância. A resposta obtida no presente trabalho está de acordo com os resultados obtidos por INOUE & TORRES (33) no seu trabalho com *A. angustifolia* e confirma a tendência observada na literatura, apesar de não parecer indicar *per se* qualquer padrão adaptativo de plântulas de *Araucaria angustifolia* a diferentes níveis de irradiância.

Os resultados obtidos em relação à alocação de biomassa contrariam as informações obtidas na literatura consultada, segundo a qual o sombreamento induziria uma maior alocação de biomassa para a parte aérea em relação às raízes (17, 25, 33, 62, 65, 80, 85, 86, 89). Segundo PEARCY & SIMS (65) e WALTERS *et. al.* (86), o aumento na alocação de biomassa para a parte aérea em resposta ao sombreamento é tida como uma resposta universal; porém, para

WALTERS *et. al.* (86), apesar deste padrão de alocação permitir uma maior superfície de captura de luz, portanto otimizando a capacidade de fixação de CO₂ num ambiente onde a luz limita a fotossíntese, e ser, à primeira vista, adaptativo, ele pode trazer desvantagens competitivas às plantas por reduzir a capacidade de exploração radicular, tanto na busca por nutrientes quanto por água. Este aspecto é geralmente desconsiderado em estudos conduzidos em vasos, onde a competição radicular interespecífica não pode ser avaliada (27, 37, 43). Apesar da universalidade dos padrões de alocação de biomassa propostos por PEARCY & SIMS (65) ser baseada na observação dos resultados de inúmeros trabalhos onde estes padrões realmente ocorreram, há outros em que esta resposta não é tão clara. No experimento feito por LUKEN *et. al.* (53) com o arbusto *Lonicera maackii* (CAPRIFOLIACEAE), plantas expostas a 100% e 5% da radiação total não diferiram significativamente na alocação de biomassa entre parte aérea e raízes. Porém, houve variação entre as plantas expostas a 100% e 25% da radiação total, o que pode indicar a existência de um valor crítico para esta relação, devido, provavelmente, a um comprometimento das funções radiculares em níveis severos de sombreamento. Desta forma, a restrição do crescimento radicular, e não apenas a baixa disponibilidade de luz, poderia influenciar na distribuição de recursos entre parte aérea e raízes em plantas submetidas a sombreamento. Resultados semelhantes aos do presente trabalho foram obtidos por CALLAWAY (10), onde não foram observadas diferenças em alocação de biomassa para três espécies de carvalho (*Quercus* spp. - FAGACEAE) submetidas a três tratamentos luminosos cada. As respostas obtidas no presente trabalho talvez sejam o reflexo da importância do sistema radicular, ao menos em sua fase inicial, para o desenvolvimento de plântulas de *A. angustifolia*. Segundo BLUM (6), uma das características da família ARAUCARIACEAE é justamente a grande dependência de um

suprimento rápido, eficiente e contínuo de nutrientes assimilados pelas raízes, e do transporte destes para os órgãos em constante crescimento, já que nesta família ocorre pouca ou nenhuma transferência de nutrientes entre outros órgãos vegetativos, como ramos. Outra forma de interpretar os resultados obtidos é que o tempo de condução do experimento pode ter sido insuficiente para que se observasse alguma resposta significativa na alocação de biomassa. O trabalho de INOUE & TORRES com *A. angustifolia* (33), onde observou-se que plântulas sombreadas tenderam a alocar mais biomassa para a parte aérea, teve uma duração maior do que a do presente experimento. Finalmente, é possível que o pinheiro brasileiro não apresente respostas plásticas na alocação de biomassa por limitações fisiológicas, e.g., metabolismo hormonal, o qual dirige os processos de alocação de recursos entre parte aérea e raízes (85).

Em diversos trabalhos analisados, o aumento de SLA (área foliar específica) em plantas submetidas a sombreamento demonstrou ser uma resposta relativamente comum em várias espécies de diferentes famílias e hábitos de vida (10, 15, 16, 28, 49, 53, 64, 80). Em outros trabalhos, onde, ao invés da área, determinou-se a massa foliar específica ($SLM = 1 / SLA$), observou-se uma redução desta em tratamentos de baixa irradiância, o que equivale a um aumento em SLA (4, 11, 19, 47, 48, 56, 86). Apesar da constância da resposta na SLA em função do sombreamento, a caracterização do valor adaptativo desta não demonstra ser tão simples, visto que, nos trabalhos analisados, a resposta seguiu padrões bastante diversos em relação às espécies (como tipos ecológicos) estudadas. DALE & CAUSTON (16) observaram o efeito do sombreamento sobre a SLA em três espécies do gênero *Veronica* (SCROPHULARIACEAE), uma tolerante ao sombreamento (*V. montana*), uma intolerante (*V. officinalis*), e uma terceira (*V. chamaedrys*) intermediária; todas elas aumentaram significativamente a SLA em função do

crescente sombreamento, apesar de *V. officinalis* apresentar uma menor SLA absoluta em relação às outras duas espécies, mais tolerantes ao sombreamento. Um experimento semelhante foi feito por CALLAWAY (10), com três espécies de carvalho (*Quercus lobata*, *Q. douglasii* e *Q. agrifolia*), sendo que somente a última, a única tolerante à sombra, aumentou a SLA em função do sombreamento. Nos trabalhos de LATHAM (47), WALTERS *et. al.*(86), GRUBB *et. al.* (28) e TANOUCI (80), a SLA aumentou significativamente, tanto para espécies tolerantes quanto para intolerantes à sombra, sendo que no trabalho de GRUBB *et. al.*(28) observou-se uma razão $SLA_{\text{sombra}} / SLA_{\text{sol}}$ maior nas plantas intolerantes do que nas tolerantes à sombra, tendo este autor sugerido que este parâmetro varia mais pronunciadamente em espécies heliófitas, quando submetidas a sombreamento.

Houve um aumento na SLA nas plântulas de *A. angustifolia* submetidas a sombreamento severo (T_2), indicando ou uma redução de camadas de células mesofilicas (18) ou do volume celular por área foliar (65). Infelizmente, não foi possível analisar anatomicamente as acículas das plântulas nos diferentes tratamentos luminosos, não sendo, assim, possível determinar a causa exata do aumento de SLA nas plântulas sombreadas. Apesar da maior SLA nas plântulas severamente sombreadas, estas apresentaram, em termos absolutos, uma redução da área foliar, o que coincide com os resultados obtidos por LEVERENZ & JARVIS (49) com *Picea sitchensis* (PINACEAE). Os tratamentos de alta irradiância (C) e sombreamento moderado (T_1) não apresentaram diferença significativa em SLA; considerando que houve redução no acúmulo de biomassa da parte aérea nas últimas em relação às primeiras, pode-se inferir que houve também uma redução da área foliar nas plantas T_1 , proporcional ao menor acúmulo de biomassa por estas, admitindo-se que o número de acículas permaneceu constante. Isto sugere que o sombreamento

moderado não induz a expansão da superfície de captação de luz em plântulas de *A. angustifolia*, indicando uma certa rigidez fisiológica destas, a semelhança do que foi observado na resposta da alocação de biomassa. Note-se que o aumento de SLA nas plantas T₂ ocorreu pela redução drástica de biomassa nas acículas, e não pelo aumento absoluto da superfície foliar, o que corrobora a idéia de rigidez fisiológica proposta. Por outro lado, a ausência de respostas específicas ao sombreamento nas plântulas T₁ em relação às controle poderia ser interpretada não como uma baixa plasticidade fenotípica daquelas, e sim como um indicativo da ausência de estresse luminoso efetivo nas plântulas de pinheiro moderadamente sombreadas.

Houve um aumento da relação entre a altura final das plântulas e a biomassa da parte aérea (estiolamento) nas plântulas submetidas a sombreamento severo. Utilizando-se os dados obtidos por WALTERS *et. al.* (86) (relação entre altura e razão de massa do caule), observa-se esta mesma resposta em duas espécies consideradas intolerantes ao sombreamento (*Betula papyrifera* e *B. alleghaniensis* - BETULACEAE). Por outro lado, ao relacionar-se os dados obtidos por BARRETT *et. al.* (4) (altura/diâmetro do caule) observa-se o mesmo padrão para uma planta típica de interior de mata, intolerante a altas irradiâncias (*Santalum album* - SANTALACEAE), o que sugere que a estratégia de alongamento do caule, visando uma melhor exploração do ambiente no que concerne a captura de luz, pode ser simplesmente uma consequência fisiológica da exposição a um meio que estimula uma maior elongação do caule. O quão adaptativo é a resposta de estiolamento em relação ao hábito de vida das espécies, da mesma forma que a SLA e o acúmulo de biomassa, somente poderá ser determinado conjuntamente entre estes e outros parâmetros.

Conteúdo de clorofilas

A resposta das plantas ao sombreamento no que concerne a concentração total de clorofilas tem sido amplamente discutida na literatura, por vezes, contraditoriamente. Alguns autores consideram o aumento da concentração total de clorofilas por massa seca e a sua redução por área foliar em plantas expostas a baixas irradiâncias como uma resposta esperada (4, 7, 18, 43). Por outro lado, CHAZDON *et. al.* (13) sugerem que o conteúdo de clorofilas por área foliar não varia significativamente entre plantas de sol e de sombra, pois não haveria nesta variação um ganho energético considerável (segundo os autores, dobrando-se a concentração média natural de clorofilas de uma folha obtem-se um aumento na absorção de luz de apenas 3-6 %). Além disso, um trabalho feito com *Pinus radiata* (PINACEAE) demonstrou não haver variação no conteúdo de clorofila total por massa seca em plantas submetidas a diferentes irradiâncias (18). Os trabalhos analisados indicam que as respostas das plantas em termos de conteúdo de clorofilas varia bastante entre as espécies, tornando as generalizações sujeitas a críticas (4, 9, 63, 64, 79). No trabalho realizado por STRAUSS-DEBENEDETTI & BAZZAZ (79), as respostas das plantas variaram tanto em relação ao tratamento luminoso quanto aos hábitos de vida das espécies estudadas, todas pertencentes à família MORACEAE. Nas duas espécies consideradas pioneiras e heliófitas (*Cecropia obtusifolia* e *Ficus insipida*), o conteúdo de clorofila total por área foliar aumentou nas plantas expostas a sombreamento médio, permanecendo semelhante tanto em plantas submetidas à sombreamento severo quanto em plantas sob sol pleno. Já nas espécies consideradas clímax e tolerantes ao sol (*Poulsenia armata* e *Brosimum alicastrum*), observou-se um aumento do conteúdo de clorofilas nos dois tratamentos de sombra em relação ao sol pleno. Finalmente, na espécie considerada clímax e intolerante a altos níveis de irradiância (*Pseudolmedia*

oxyphyllaria), o conteúdo de clorofilas diminuiu nos tratamentos de sombra. Em outros trabalhos analisados, as respostas variaram grandemente; num, o conteúdo de clorofilas por área foliar aumentou com o sombreamento (4); em outro, diminuiu (9), permanecendo inalterado num terceiro (64), o que demonstra a variabilidade de respostas possíveis e a consequente dificuldade de interpretação destas.

No presente trabalho, nenhuma variação entre os três tratamentos em relação ao conteúdo de clorofila a, b e total, tanto por área quanto por massa seca, foi observada, padrão este mencionado em alguns dos trabalhos previamente mencionados (18, 64). Dada a grande variabilidade de respostas observadas em diferentes espécies, a aparente baixa plasticidade em relação ao parâmetro clorofila nas plântulas de *A. angustifolia* não chega a ser algo fora do esperado. Se for verdadeira a proposição feita por CHAZDON *et. al.* (13), a qual sugere não haver um ganho energético significativo no aumento da concentração de clorofilas, a ausência de variação na resposta nas plântulas de pinheiro poderia significar uma economia de recursos frente à limitação luminosa. Uma segunda possibilidade, também levantada na análise da alocação de biomassa, é que não houve tempo suficiente para que se observasse uma variação significativa no conteúdo de clorofilas entre os diferentes tratamentos luminosos. Também é possível que a hipótese proposta por CHAZDON *et. al.* (13), anteriormente discutida, não seja verdadeira, e, neste caso, a incapacidade de incremento de pigmentos captadores de luz pode ter sido uma das causas da acentuada redução no acúmulo de biomassa observado no experimento, especialmente no tratamento de sombreamento severo (T_2).

Contrariamente às divergências observadas na discussão da resposta das plantas ao sombreamento em relação à concentração de clorofilas, há uma certa concordância na literatura em relação ao decréscimo da relação entre o conteúdo

de clorofila a e b (razão Cla/Clb) como uma resposta das plantas a baixas irradiâncias (7, 13, 18, 43, 50). Segundo LICHTENTHALER (50), condições de crescimento e fatores ambientais podem alterar a razão Cla/Clb; desta forma, plantas de sol exibiriam razões Cla/Clb num intervalo entre 3,2 e 4, enquanto em plantas de sombra esta razão estaria entre 2,5 e 2,9. Vários trabalhos corroboram este padrão de resposta, reforçando a proposição feita pelos autores acima citados (9, 63, 79). BOARDMAN (7) propõe que a redução na razão entre o conteúdo de clorofila a e b pode ser devido a maior formação de pilhas de *grana* (*grana stacks*) em plantas sombreadas; segundo o autor, a disposição irregular dos *grana* nestas plantas aumentaria a eficiência de captação de luz difusa pelos cloroplastos. Já que se acredita que os *grana* sejam as regiões dos tilacóides mais ricas em clorofila b, a redução da razão entre clorofila a e b em plantas de sombra seria uma resposta adaptativa destas. Contudo, no trabalho de BARRETT & FOX (4), não observou-se uma grande variação na razão Cla/Clb entre os diferentes tratamentos luminosos. Igualmente ao observado neste último trabalho, nenhuma variação na razão Cla/Clb foi encontrada nas plântulas de *A. angustifolia* submetidas às condições de sombreamento determinadas no experimento, o que, até certo ponto, foi surpreendente, pois poucos resultados semelhantes foram encontrados na literatura consultada. Este padrão observado indica que o estímulo que induz a alteração na razão Cla/Clb na maioria das espécies até agora estudadas não o faz em plântulas de *Araucaria angustifolia*, talvez por uma característica intrínseca da espécie. Os valores de Cla/Clb encontrados em plântulas de *A. angustifolia* (entre 2,66 e 2,81) situaram-se no extremo da faixa que LICHTENTHALER (50) propõe para plântulas de sombra (2,5 e 2,9).

Taxa de redução de nitrato

Embora alguns autores (31, 78) considerem o nitrato como a principal fonte de nitrogênio para as plantas, existem fortes evidências (experimentais, inclusive - *e. g.*, 55) que indicam que, para determinadas espécies, o amônio é a principal fonte de nitrogênio (44, 61, 84). Para VÉZINA *et. al.* (84), o fato de a maior parte da pesquisa básica ser feita com plantas cultivadas, geralmente adaptadas a utilizar nitrato como fonte de nitrogênio, em muito contribui para a generalização do uso do nitrato pelas plantas feita por alguns autores. Contudo, sabe-se hoje que diversas coníferas do Hemisfério Norte, distribuídas em ambientes onde a lenta degradação da matéria orgânica, pH baixos, e lenta atividade de nitrificação dificultam a produção de NO_3 , absorvem preferencialmente amônio em relação a nitrato (61, 84). A baixa capacidade de certas coníferas em utilizar nitrato como fonte nitrogenada pode ser devida a vários fatores, e para explicá-la, algumas hipóteses têm sido propostas: 1) baixa capacidade de transportar nitrato no xilema (44, 84); 2) sistema enzimático menos eficiente para a redução e assimilação de nitrato pelas raízes; 3) maior custo energético necessário para a assimilação de nitrato quando comparado ao amônio (84). Além destes fatores intrínsecos, evidentemente relacionados à história evolutiva destas plantas, as variações microambientais podem também influenciar na maior ou menor afinidade de uma espécie a um ou outro tipo de fonte nitrogenada. No trabalho de MARGOLIS & VÉZINA (55), feito com *Betula aleghaniensis* (BETULACEAE), plântulas foram submetidas a diferentes fontes nitrogenadas e regimes luminosos, e os resultados obtidos demonstraram que as amostras expostas à alta irradiância desenvolveram-se melhor quando a fonte nitrogenada era nitrato; ao contrário destas, as plântulas submetidas a sombreamento obtiveram maior sucesso quando nutridas com amônio. Uma das possíveis explicações para estes resultados seria a de que,

quando não há limitação energética (nas plantas de sol), o nitrato, por apresentar sítios de assimilação tanto nas folhas quanto nas raízes, é a forma mais utilizável; quando, porém, existe a limitação fotossintética (nas plantas de sombra), o processo mais barato energeticamente é o mais vantajoso (no caso, a assimilação de amônio). A partir dos exemplos acima citados, pode-se ter uma idéia do quão difícil é definir a maior ou menor afinidade de uma espécie a um fator específico, sem considerarem-se outras variáveis envolvidas.

As plântulas de *Araucaria angustifolia* quando submetidas a sombreamento moderado (T_1), não mostraram uma redução significativa na taxa de fixação de nitrato nas raízes, determinada pela atividade total das enzimas nitrato redutases, em relação às plantas de sol (C), o que sugere que não houve restrição energética, tanto de redutores citoplasmáticos quanto de esqueletos carbonados, para a rota de redução e assimilação de nitrogênio-nitrato nas plântulas moderadamente sombreadas, apesar do crescimento em biomassa ter sido afetado nestas. Assumindo que a taxa de fixação de nitrato pelas raízes é representativa em relação à taxa total de assimilação de nitrogênio pelas raízes, e seguindo o modelo de THORNLEY (82), o qual pode ser resumido na equação

$$K_N fr \cong \lambda K_C fs,$$

onde

K_N = atividade específica de fixação de nitrogênio das raízes (e.g., em mol de N por g de massa seca total);

fr = razão de massa das raízes (relação entre a massa das raízes e a massa total);

λ = relação N : C;

K_C = atividade específica de fixação de carbono da parte aérea (e.g., em mol de C por g de massa seca total);

f_s = razão de massa da parte aérea (relação entre a massa da parte aérea e a massa total),

pode-se inferir que o fato de K_N , f_r e f_s (já que não houve variação na alocação de biomassa) não variarem entre as plântulas C e T_1 , e de haver uma redução na K_C nas plântulas T_1 em relação às C, determina um aumento no fator λ , ou seja, um aumento da razão N : C nas plântulas T_1 , sugerindo que plântulas de *A. angustifolia* expostas a sol pleno (plântulas C) apresentam um maior grau de escleromorfia (o que foi realmente observado), possivelmente por não haver, nestas condições, uma taxa de assimilação de nitrogênio pelas raízes alta o suficiente para contrabalançar o maior acúmulo de carbono observado. Já nas plântulas submetidas a sombreamento severo (T_2), observou-se uma redução na atividade das nitrato redutases nas raízes em relação aos outros tratamentos, o que indica que houve limitações energéticas para a redução de nitrato, certamente ocasionadas pela restrição fotossintética causada pelo sombreamento excessivo. As plântulas apresentavam nitidamente uma carência de tecidos de sustentação, constatada pelo seu aspecto frágil, no qual o caule dificilmente se mantinha ereto.

Além dos aspectos já discutidos acerca das relações entre o sombreamento e a atividade de fixação de nitrato pelas raízes nas plântulas de pinheiro utilizadas no experimento em questão, é necessário ressaltar que, em relação a outros trabalhos, nos quais este parâmetro foi utilizado com espécies sistematicamente distintas, os índices de atividade das nitrato redutases aqui obtidos foram sempre bem mais baixos, tanto em folhas quanto em raízes (1, 8, 36, 41, 60, 88). Esta baixa atividade de fixação de nitrato nas raízes de plântulas de *A. angustifolia*, associada à ausência de resposta significativa nas acículas, sugere uma semelhança fisiológica do pinheiro brasileiro com determinadas coníferas boreais em relação à preferência por certas fontes

nitrogenadas (amônio) em detrimento de outras. Para que estas relações sejam esclarecidas, é importante que trabalhos específicos a respeito sejam realizados com a espécie em questão.

Aspectos ecológicos

Ao longo das últimas décadas, diversos trabalhos tratando das características ecológicas do pinheiro têm sido publicados (3, 26, 29, 38, 39, 67, 69). Alguns autores consideram o pinhal uma formação atualmente em regressão em baixas altitudes, sendo substituída pela mata subtropical latifoliada. WOMERSLEY *apud* ENRIGHT (21) observa o mesmo processo em relação às espécies de *Araucaria* da Austrália e Nova Guiné. RAMBO (67) cita a infiltração da mata latifoliada no pinhal, mas ressalta a dominância deste, *e. g.*, na região dos Aparados da Serra (nordeste do RS), onde o clima temperado impossibilita a invasão da mata latifoliada. GOERGEN & SCHMITHUSEN (26) apontam a ocorrência de geadas fortes na região como uma das causas dessa limitação. A semelhança florística entre a formação do pinhal andino e a do pinhal brasileiro também evidencia o caráter temperado da formação, especialmente na sua forma mais pura, *e. g.*, nos Aparados (66). BACKES (3) menciona um aumento de heterogeneidade no pinhal à medida em que diminui a altitude, evidenciando o contato entre este e a mata latifoliada.

Estes trabalhos permitem interpretar a presença de *Araucaria angustifolia* no sul do Brasil como a de uma espécie em regressão nas altitudes mais baixas, onde está ocorrendo o avanço de uma formação vinda da região tropical, a mata latifoliada subtropical. Porém, nas áreas onde o clima temperado impossibilita o avanço atual da formação latifoliada, o pinhal demonstra ser uma formação dominante, onde o pinheiro representa a espécie arbórea principal e com plena capacidade regenerativa, como observa MATTOS (58), além de estar em

constante expansão sobre os campos de altitude, seguindo a disseminação das espécies arbóreas pioneiras, e. g., *Myrceugenia euosma* e *Siphoneugenia reitzii* (MYRTACEAE) (38, 67, 71).

KLEIN (38) afirma ser o pinheiro uma espécie pioneira e heliófila, caracterização esta reproduzida por diversos autores (12, 34, 40, 52, 70, 71, 72, 76), com raras exceções (51). Tais conclusões foram tiradas através de observações feitas pelo autor, especialmente em algumas regiões de Santa Catarina. Na região de Lages, Curitibanos e São Joaquim, a presença de *Araucaria angustifolia*, segundo o autor, encontra-se em associação com a canela-lageana (*Ocotea pulchella* - LAURACEAE), sendo que os pinheiros são quase todos adultos ou velhos. Já na região de Porto União, Mafra e Caçador, tal associação inclui a imbuia (*Ocotea porosa* - LAURACEAE), estando os pinheiros já em fase de envelhecimento, e as canelas-lageanas em estágio adulto. Na primeira associação, KLEIN (38) observou uma baixa regeneração do pinheiro, evidenciada pela pouca quantidade de elementos jovens deste; na segunda, a ausência de exemplares jovens de pinheiro, a baixa regenerabilidade de *O. pulchella* e a implantação crescente de *O. porosa* fez o autor concluir que *Araucaria angustifolia* é uma espécie pioneira e heliófila, iniciando uma série sucessional que terminaria numa formação latifoliada dominada no estrato arbóreo por *O. porosa*, ao menos na região em questão. O fato das observações terem sido feitas em regiões diferentes, sem que se considerassem variáveis como altitude e história da vegetação, além da ausência de qualquer análise da dinâmica do pinheiro em suas formações mais puras (ou seja, nas altitudes mais elevadas, as quais constituem as regiões temperadas do sul do Brasil e, portanto, distintas da faixa subtropical onde a mata latifoliada se estabelece) tornam temerária a caracterização feita pelo autor. Em nenhum dos trabalhos daquele autor analisados foi citada a realização de qualquer tipo de experimento que

sugerisse a intolerância do pinheiro ao sombreamento, estando a sua conclusão baseada no conceito implícito de que toda espécie pioneira é heliófila (39). Apesar da ausência de um estudo experimental que sustentasse as conclusões intuitivas (e não menos importantes por isso) do autor, a caracterização do pinheiro como pioneiro e heliófilo permaneceu desde então, sem que se questionasse a fundamentação desta afirmação.

Considerações finais

Apesar do presente trabalho não pretender caracterizar ecologicamente o pinheiro de forma definitiva e generalizada (se é que isso seja possível), ele nos dá algumas indicações do comportamento da espécie perante as condições de sombreamento utilizadas, o que pode confirmar ou não algumas das idéias existentes a respeito da ecologia do pinheiro brasileiro. Os resultados obtidos neste trabalho sugerem, de forma geral, que condições moderadas de sombreamento (no caso, T_1 - 45 % da radiação total) não afetam o desenvolvimento inicial normal de plântulas de *Araucaria angustifolia*, visto que, em relação às plântulas controle, aquelas submetidas à sombra moderada não apresentaram grande alteração no desenvolvimento, corroborando as conclusões de INOUE *et. al.* (32). O fato de as plântulas controle terem acumulado mais biomassa do que as moderadamente sombreadas não significa necessariamente uma vantagem das primeiras, já que este maior acúmulo de biomassa, como já discutido anteriormente, pode ser uma expressão da maior escleromorfia (alta relação C : N) destas, visto que a taxa de redução de nitrato nas plântulas C não foi superior a das plântulas T_1 , o que sugere uma limitação fisiológica radicular das plântulas controle em relação à absorção de nitrogênio mesmo sob uma situação de saturação fotossintética das folhas. Além disso, o fato de as plântulas moderadamente sombreadas não apresentarem sinais de estiolamento indica que a redução da disponibilidade luminosa à qual foram submetidas estas plântulas (55%) não foi suficiente para induzir nestas o alongamento caulinar, também sugerindo a sua adaptação à sombra moderada.

Se o sombreamento moderado demonstrou não representar uma restrição ao desenvolvimento inicial do pinheiro, o mesmo não se aplica em relação às plântulas submetidas ao sombreamento severo, já que estas, além de terem

sofrido uma grande redução no acúmulo de biomassa, demonstraram uma grande fragilidade na sustentação, expressa no estiolamento observado (o que resultou em tombamento nas plântulas mais altas), bem como pelo pouco desenvolvimento radicular, evidenciado pela ausência de raízes terciárias nestas plântulas (ao contrário do que ocorreu nos outros dois tratamentos). A partir destes resultados, poder-se-ia sugerir a tolerância das plântulas de pinheiro a condições moderadas de sombreamento, contrariando a caracterização de KLEIN (38) no que diz respeito à heliofilia da espécie, ao menos em seus estágios iniciais de desenvolvimento.

O presente trabalho não apresenta evidências a respeito da posição ecológica do pinheiro nas formações em que ele ocorre. Contudo, a indicação de tolerância à sombra de plântulas de *A. angustifolia* obtida pelo presente trabalho, bem como determinadas características estruturais e fisiológicas do pinhão, quais sejam: 1) dimensões avantajadas, 2) curto período de viabilidade (23), 3) ausência de fotoblastismo (indicada pelo trabalho de FERREIRA [22]), e 4) aclimatação das características fotossintéticas a diferentes níveis de sombreamento (32), além do fato das plântulas de pinheiro crescerem lentamente se comparadas à outras coníferas exóticas, e.g., *Pinus elliottii* (69), e das observações à respeito da regenerabilidade (58) e da dominância da espécie onde o clima favorece o desenvolvimento de uma vegetação temperada do tipo andino (66), sugerem a impossibilidade de caracterizar o pinheiro brasileiro como espécie pioneira (5, 14). Seguindo a definição de espécie clímax proposta por WHITMORE (87), ou seja, uma espécie cujas sementes podem germinar sob o dossel da floresta, e cujas plântulas são aptas a estabelecer-se no sub-bosque, aí desenvolvendo-se até alcançar o dossel, parece ser mais adequado situar *Araucaria angustifolia* como uma espécie dominante ou clímax de uma vegetação atualmente em regressão frente a uma formação mais competitiva por

diversos fatores (a mata subtropical latifoliada), mas que ainda se mantém como tal onde o clima temperado o permite.

Bibliografia

1. AGRAWAL, M. & AGRAWAL, S.B. (1990). Effects of ozone exposure on enzymes and metabolites of nitrogen metabolism. *Sci. Horticult.* 43 : 169-177.
2. BACHMANN, M.; McMICHAEL J.R., R.W.; HUBER, J.L.; KAISER, W.M. & HUBER, S.C. (1995). Partial purification and characterization of a calcium dependent protein kinase and a inhibitor protein required to inactivation of spinach leaf nitrate reductase. *Plant Physiol.* 108 : 1083-1091.
3. BACKES, A. (1988). Condicionamento climático e distribuição geográfica de *A. angustifolia* (Bert.) O. Ktze. no Brasil. *Pesquisas (Botânica)* 39 : 5-39.
4. BARRETT, D.R. & FOX, J.E.D. (1994). Early growth of *Santalum album* in relation to shade. *Aust. J. Bot.* 42 : 83-93.
5. BAZZAZ, F.A. (1979). The physiological ecology of plant succession. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 10 : 351-371.
6. BLUM, W. E. H. (1980). Ecophysiological and phylogenetic aspects of Araucariaceae with special consideration of *Araucaria angustifolia* (Bert.) O. Ktze. Em: Problemas Florestais do Gênero *Araucaria*, pg. 71-74. FUFEP.
7. BOARDMAN, N.K. (1977). Comparative photosynthesis of sun and shade plants. *Annu. Rev. Plant Physiol.* 28 : 355-377.
8. BORLAND, A.M. & LEA, P.J. (1991). The response of enzymes of nitrogen and sulphur metabolism in barley to low doses of sulphur dioxide. *Agricult., Ecosys. and Environ.* 33, 281-292.

9. BROOKS, J.R.; SPRUGEL, D.G. & HINCKLEY, T.M. (1996). The effects of light acclimation during and after foliage expansion on photosynthesis of *Abies amabilis* foliage within the canopy. *Oecologia* 107 : 21-32.
10. CALLAWAY, R.M. (1992). Morphological and physiological responses of three California oak species to shade. *Int. J. Plant Sci.* 153 (3) : 434-441.
11. CAMACHO, M. & BELLEFLEUR, P. (1996). Aclimatación morfológica a la luz en seis especies arbóreas de los bosques montañosos de Costa Rica. *Rev. Biol. Trop.* 44 (1) : 71-79.
12. CARVALHO, P.E.R. (1994). Espécies Florestais Brasileiras. Recomendações Silviculturais, Potencialidades e Uso da Madeira, pg. 72. EMBRAPA - PR.
13. CHAZDON, R.L.; PEARCY, R.W.; LEE, D.W. & FETCHER, N. (1996). Photosynthetic responses of tropical forest plants to contrasting light environments. Em: *Tropical Forest Plant Ecophysiology* (Eds. S.S. Mulkey; R.L. Chazdon; A.P. Smith), pg. 5-55. Chapman & Hall.
14. CLARK, D.A. & CLARK, D.B. (1987). Análisis de la regeneración de árboles del dosel en bosque muy húmedo tropical: aspectos teóricos y prácticos. *Rev. Biol. Trop.* 35 (supl. 1) : 41-54.
15. CORNELISSEN, J.H.C. (1993). Aboveground morphology of shade tolerant *Castanopsis fargesii* saplings in response to light environment. *Int. J. Plant Sci.* 154 (4) : 481-495.
16. DALE, M.P. & CAUSTON, D.R. (1992). The ecophysiology of *Veronica chamaedrys*, *V. montana* and *V. officinalis*. I. Light quality and light quantity. *J. Ecol.* 80, 483-492.
17. DALE, M.P. & CAUSTON, D.R. (1992). The ecophysiology of *Veronica chamaedrys*, *V. montana* and *V. officinalis*. III. Effects of shading on the

- phenology of biomass allocation - a field experiment. *J. Ecol.* 80, 505-515.
18. DE LUCIA, E.H.; SCHOETTLE, A.W.; SMOLANDER, H. & STENBERG, P. (1995). Photosynthetic light capture and processing from cell to canopy. Em: Resource Physiology of Conifers - Acquisition, Allocation and Utilization (Eds. W.K. Smith & T.M. Hinckley), pg. 3-36. Academic Press.
19. DENSLOW, J.S.; SCHULTZ, J.C.; VITOUSEK, P.M. & STRAIN, B.R. (1990). Growth responses of tropical shrubs to treefall gap environments. *Ecology* 71 (1), 165-179.
20. DIVAN J.R., A. M. (1994). Uso de *Lolium multiflorum* LAM. (GRAMINAE) como bioacumulador de enxofre a partir das imissões de SO₂ atmosférico provenientes de uma refinaria de petróleo. Dissertação de Mestrado. UFRGS. Porto Alegre. Pg. 40.
21. ENRIGHT, N.J. (1982). The ecology of *Araucaria* species in New Guinea. I. Ordination studies of forest types and environments. *Aust. J. Ecol.* 7, 23-38.
22. FERREIRA, A.G. (1977). *Araucaria angustifolia* (Bert.) O. Ktze.: Germinação da Semente e Desenvolvimento da Plântula. Tese de Doutorado. USP - São Paulo. Pg. 45-46.
23. FERREIRA, A.G. & HANDRO, W. (1979). Aspects of seed germination in *Araucaria angustifolia* (Bert.) O. Ktze.. *Rev. Bras. Bot.* 2 (1) : 7-13.
24. FOYER, C.H.; LESCURE, J.C.; LEFEBVRE, C.; MOROT-GAUDRY, J.F.; VINCENZ, M. & VAUCHERET, H. (1994). Adaptations of photosynthetic electron transport, carbon assimilation, and carbon partitioning in transgenic *Nicotiana plumbaginifolia* plants to changes in nitrate reductase activity. *Plant Physiol.* 104 : 171-178.

24. GIVNISH, T.J. (1988). Adaptation to sun and shade: a whole-plant perspective. *Aust. J. Plant Physiol.* 15, 63-92.
26. GOERGEN, J. & SCHMITHUSEN, J. (1980). Concorrência, um fator de limitação em áreas relictas de arcaicos táxons de coníferas com a indicação das consequências ecológicas. Em: Problemas Florestais do Gênero *Araucaria* (Forestry Problems of Genus *Araucaria*), pg. 364-366. Fundação de Pesquisas Florestais do Paraná (FUPEF).
27. GRIME, J.P. (1994). The role of plasticity in exploiting environmental heterogeneity. Em: Exploitation of Environmental Heterogeneity by Plants. Eds. M.M. Caldwell & R.H. Pearcy, pg. 1-19. Academic Press.
28. GRUBB, P.J.; LEE, W.G.; KOLLMANN, J. & WILSON, J.B. (1996). Interaction of irradiance and soil nutrient supply on growth of seedlings of ten european tall-shrub species and *Fagus sylvatica*. *J. Ecol.* 84, 827-840.
29. HUECK, H. (1972). As Florestas da América do Sul - Ecologia, Composição, e Importância Econômica, pg. 206-227. Ed. Polígono - São Paulo.
30. IASON, G.R. & HESTER, A.J. (1993). The response of heather (*Calluna vulgaris*) to shade and nutrients - predictions of the carbon-nutrient balance hypothesis. *J. Ecol.* 81, 75-80.
31. IMSANDE, J. & TOURAINÉ, B. (1994). N demand and the regulation of nitrate uptake. *Plant Physiol.* 105 : 3-7.
32. INOUE, M.T.; GALVÃO, F.; TORRES, D.V. (1979). Estudo ecofisiológico sobre *Araucaria angustifolia* (Bert.) O. Ktze.: Fotossíntese em dependência à luz no estágio juvenil. *Floresta* Vol. 10 (1) : 5-9.

33. INOUE, M.T. & TORRES, D.V. (1980). Comportamento do crescimento de mudas de *Araucaria angustifolia* (Bert.) O. Ktze. em dependência da intensidade luminosa. *Floresta* 11 (1) : 7-11.
34. INOUE, M.T., RODERJAN C.V. & KUNIYOSHI, Y.S. (1984). Projeto Madeira do Paraná, pg. 192-193. FUPEF - Curitiba, PR.
35. JARVIS, P.G. (1964). The adaptability to light intensity of seedlings of *Quercus petraea* (MATT.) LIEBL.. *J. Ecol.* 52 (3) : 545-571.
36. JAWORSKI, E.G. (1971). Nitrate reductase assay in intact plant tissues. *Biochem. Biophys. Res. Com.* 43 (6) : 1274-1279.
37. JONES, R.H. & McLEOD, K.W. (1989). Shade tolerance in seedlings of chinese tallow tree, american sycamore, and cherrybark oak. *Bull. Torr. Bot. Club.* 116 (4) : 371-377.
38. KLEIN, R.M. (1960). O aspeto dinâmico do pinheiro brasileiro. *Sellowia - Anais Botânicos do HBR* 12, 17-51.
39. KLEIN, R.M. (1963). Observações e considerações sobre a vegetação do Planalto Nordeste catarinense. *Sellowia - Anais Botânicos do HBR* 15, 39-56.
40. KLEIN, R.M. (1980). Aspectos ecológicos do pinheiro brasileiro. Em: Problemas Florestais do Gênero *Araucaria* (Forestry Problems of Genus *Araucaria*), pg. 70. Fundação de Pesquisas Florestais do Paraná (FUPEF).
41. KLUMPP, A.; KUPPERS, K. & GUDERIAN, R. (1989). Nitrate reductase activity of needles of norway spruce fumigated with different mixture of ozone, sulfur dioxide, and nitrogen dioxide. *Environ. Pollut.* 58 : 268-271.

42. KNUDSON, L.L.; TIBBILIS, T.W. & EDWARDS, G.E. (1977). Measurement of ozone injury by determination of leaf chlorophyll concentration. *Plant Physiol.* 60 : 606-608.
43. KOZLOWSKI, T.T.; KRAMER, P.J. & PALLARDY, S.G. (1991). The Physiological Ecology of Woody Plants, pg. 135-142. Academic Press.
44. KRONZUCKER, H.J.; SIDDIQI, M.Y. & GLASS, A.D.M. (1995). Kinetics of NO_3^- influx in spruce. *Plant Physiol.* 109 : 319-326.
45. KUIPER, D. & KUIPER, P.J.C. (1988). Phenotypic plasticity in a physiological perspective. *Acta Oecol. (Oecol. Plant.)* 9 (1), 46-59.
46. LARCHER, W. (1995). Physiological Plant Ecology. 3.^a ed., pg. 189-192. Springer-Verlag.
47. LATHAM, R.E. (1992). Co-occurring tree species change rank in seedling performance with resources varied experimentally. *Ecology* 73 (6) : 2129-2144.
48. LEI, T.T. & LECHOWICZ, M.J. (1990). Shade adaptation and shade tolerance in saplings of three *Acer* species from eastern North America. *Oecologia* 84 : 224-228.
49. LEVERENZ, J.W. & JARVIS, P.G. (1980). Photosynthesis in sitka spruce (*Picea sitchensis* [Bong] Carr.). X. Acclimation to quantum flux density within and between trees. *J. Appl. Ecol.* 17 : 697-708.
50. LICHTENTHALER, H.K. (1987). Chlorophylls and carotenoids pigments of photosynthetic biomembranes. *Methods Enzimol.* 148 : 350-382.
51. LONGHI, R.A. (1995). Livro das Árvores - Árvores e Arvoretas do Sul. 2.^a ed., pg. 133-134. L & PM - Porto Alegre, RS.
52. LORENZI, H. (1992). Árvores Brasileiras - Manual de Identificação e Cultivo de Plantas Arbóreas Nativas do Brasil, pg. 35. Ed. Plantarum - SP.

53. LUKEN, J.O.; THOLEMEIER, T.C.; KUDDES, L.M. & KUNKEL, B.A. (1995). Performance, plasticity, and acclimation of the non-indigenous shrub *Lonicera maackii* (CAPRIFOLIACEAE) in contrasting light environments. *Can. J. Bot.* 73 : 1953-1961.
54. MACHADO, S.A. & SIQUEIRA, J.D.P. (1980). Distribuição natural da *Araucaria angustifolia* (Bert.) O. Ktze. Em: Problemas Florestais do Gênero *Araucaria* (Forestry Problems of Genus *Araucaria*), Pg. 4-9. Fundação de Pesquisas Florestais do Paraná (FUPEF).
55. MARGOLIS, H.A. & VÉZINA, L.P. (1988). Nitrate content, amino acid composition and growth of yellow birch seedlings in response to light and nitrogen source. *Tree Physiol.* 4, 245-253.
56. MARINI, R.P. & SOWERS, D.L. (1990). Net photosynthesis, specific leaf weight, and flowering of peach as influenced by shade. *HortScience* 25 (3) : 331-334.
57. MARTINO, S. (1970). O Pinheiro Brasileiro. 2.^a ed., pg. 63-64. Instituto Brasileiro de Desenvolvimento Florestal (IBDF), Ministério da Agricultura.
58. MATTOS, J.R. (1994). O Pinheiro Brasileiro, Vol. 1, 2.^a ed., pg. 220. Lages - SC.
59. OAKS, A. & HIREL, B. (1985). Nitrogen metabolism in roots. *Annu. Rev. Plant Physiol.* 36 : 345-365.
60. OHLSON, M. & HOGBOM, L. (1993). Species-specific dynamics in nitrate reductase activity in coexisting swamp forest plants. *J. Ecol.* 81, 739-744.
61. OREN, R. & SHERIFF, D.W. (1995). Water and nutrient acquisition by roots and canopies. Em : Resource Physiology of Conifers - Acquisition, Allocation, and Utilization (Eds. W.K. Smith & T.M. Hinckley), pg. 39-74. Academic Press.

- 62.OSUNKOYA, O.O. (1991). Acclimation to a change in light regime in seedlings of six australian rainforest tree species. *Aust. J. Bot.* 39 : 591-605.
- 63.OSUNKOYA, O.O.; ASH, J.E.; HOPKINS, M.S. & GRAHAM, A.W. (1994). Influence of seed size and seedling ecological attributes on shade-tolerance of rain-forest tree species in northern Queensland. *J. Ecol.* 82, 149-163.
- 64.PACKHAM, J.R. & WILLIS, A.J. (1982). The influence of shading and of soil type on the growth of *Galeobdolon luteum*. *J. Ecol.* 70, 491-512.
- 65.PEARCY, R.W. & SIMS, D.A. (1994). Photosynthetic acclimation to changing light environments. Em: Exploitation of Environmental Heterogeneity by Plants - Ecophysiological Processes Above- and Belowground (Eds. M.M. Caldwell & R.W. Pearcy), pg. 145-174. Academic Press.
- 66.RAMBO, B. (1951). O elemento andino no pinhal riograndense. *Anais Botânicos do HBR* 3, 7-39.
- 67.RAMBO, B. (1956). A flora fanerogâmica dos Aparados riograndenses. *Sellowia - Anais Botânicos do HBR* 7, 235-298.
- 68.RAMBO, B. (1994). A Fisionomia do Rio Grande do Sul. 3.^a ed., pg. 255-281. Ed. Unisinos.
- 69.REITZ, R. & KLEIN, R.M. (1966). Araucariáceas. *Flora Ilustrada Catarinense*, pg. 27; 48-55. Itajaí - SC.
- 70.REITZ, R.; KLEIN, R.M. & REIS, A. (1978). Projeto Madeira de Santa Catarina, pg. 248-250. Herbário Barbosa Rodrigues. Itajaí - SC.
- 71.REITZ, R.; KLEIN, R.M. & REIS, A. (1988). Projeto Madeira do Rio Grande do Sul, pg. 400-404. SUDESUL, Governo do Estado do Rio Grande do Sul e Herbário Barbosa Rodrigues.

- 72.RIZZINI, C.T. (1971). Árvores e Madeiras Úteis do Brasil - Manual de Dendrologia Brasileira, pg. 33. Ed. Edgard Blucher - SP.
- 73.RIZZINI, C.T. (1976). Tratado de Fitogeografia do Brasil - Aspectos Ecológicos, pg. 244-257. HUCITEC, EDUSP -SP.
- 74.SCHLICHTING, C.D. (1989). Phenotypic integration and environmental change. *BioScience* 39 (7) : 460-464.
- 75.SIMS, D.A. & PEARCY, R.W. (1991). Photosynthesis and respiration in *Alocasia macrorrhiza* following transfers to high and low light . *Oecologia* 86 : 447-453.
- 76.SIQUEIRA, J.D.P. & PÉLLICO NETTO, S. (1978). Inventário Florestal do Pinheiro no Sul do Brasil, pg. 44. FUPEF - PR & IBDF.
- 77.SOARES, R.V. (1980). Considerações sobre a regeneração natural da *Araucaria angustifolia*. Em: Problemas Florestais do Gênero *Araucaria* (Forestry Problems of Genus *Araucaria*), pg. 173-176 Fundação de Pesquisas Florestais do Paraná (FUPEF).
- 78.SOLOMONSON, L.P. & BARBER, M.J. (1990). Assimilatory nitrate reductase: functional properties and regulation. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Molec. Biol.* 41 : 225-253.
- 79.STRAUSS-DEBENEDETTI, S. & BAZZAZ, F.A. (1991). Plasticity and acclimation to light in tropical Moraceae of different successional positions. *Oecologia* 87 : 377-387.
- 80.TANOUCI, H. (1996). Survival and growth of two coexisting evergreen oak species after germination under different light conditions. *Int. J. Plant Sci.* 157 (4) : 516-522.
- 81.THOMPSON, J.D. (1991). Phenotypic plasticity as a component of evolutionary change. *TREE* 6 (8) : 246-249.

82. THORNLEY, J.H.M. (1972). A balanced quantitative model for root : shoot ratios in vegetative plants. *Ann. Bot.* 36, 431-441.
83. TURPIN, D.H. & HUPPE, H.C. (1994). Integration of carbon and nitrogen metabolism in plant and algal cells. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Molec. Biol.* 45 : 577-607.
84. VÉZINA, L.P.; LAVOIE, N.; JOY, K.W. & MARGOLIS, H.A. (1992). The fate of newly absorbed ammonium and nitrate ions in roots of jack pine seedlings. *J. Plant Physiol.* 141 : 61-67.
85. VOESENEK, L.A.C.J. & BLOM, C.W.P.M. (1996). Plant and hormones: an ecophysiological view on timing and plasticity. *J. Ecol.* 84, 111-119.
86. WALTERS, M.B.; KRUGER, E.L. & REICH, P.B. (1993). Growth, biomass distribution and CO₂ exchange of northern hardwood seedlings in high and low light: relationships with successional status and shade tolerance. *Oecologia* 94 : 7-16.
87. WHITMORE, T.C. (1989). Canopy gaps and the two major groups of forest trees. *Ecology* 70 (3), 536-538.
88. WIDMANN, K.; GEBAUER, G.; REHDER, H. & ZIEGLER, H. (1993). Fluctuations in nitrate reductase activity, and nitrate and organic nitrogen concentrations of succulent plants under different nitrogen and water regimes. *Oecologia* 94 : 146-152.
89. WILSON, J.B. (1988). A review of evidence on the control of shoot : root ratio, in relation to models. *Ann. Bot.* 61, 433-449.
90. WINTERMANS, J.F.G.M. & DeMOIS, A. (1965). Spectrofotometric characteristics of chlorophylls a and b and their pheophytins in ethanol. *Biochim. Biophys. Acta* 109 : 448-453.