

UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
CENTRO DE CIÊNCIAS HUMANAS E NATURAIS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA VEGETAL

EMERSON CAMPOS CANAL

EFEITO DA ADUBAÇÃO INORGÂNICA NA
FISIOLOGIA E NA ANATOMIA DO PAU-BRASIL
(*Caesalpinia echinata* Lam.)

VITÓRIA
2010

EMERSON CAMPOS CANAL

EFEITO DA ADUBAÇÃO INORGÂNICA NA FISIOLOGIA E NA
ANATOMIA DO PAU-BRASIL (*Caesalpinia echinata* Lam.)

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Biologia Vegetal do Centro de Ciências Humanas e Naturais da Universidade Federal do Espírito Santo, como requisito para obtenção do título de Mestre em Biologia Vegetal, na área de concentração Fisiologia Vegetal.

Orientador: Prf^o. Dr^o. Geraldo Rogério Faustini Cuzzuol.

VITÓRIA

2010

Dados Internacionais de Catalogação-na-publicação (CIP)
(Biblioteca Central da Universidade Federal do Espírito Santo, ES, Brasil)

Canal, Emerson Campos, 1985-
C212e Efeito da adubação inorgânica na fisiologia e na anatomia do
pau-brasil (*Caesalpinia echinata* Lam.) / Emerson Campos Canal.
– 2010.
56 f. : il.

Orientador: Geraldo Rogério Faustini Cuzzuol.
Co-Orientador: Aureliano Nogueira da Costa.
Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Espírito
Santo, Centro de Ciências Humanas e Naturais.

1. Fisiologia vegetal. 2. Adubação. 3. Pau-brasil. 4. Anatomia
vegetal. 5. Mudanças. 6. Mata Atlântica. I. Cuzzuol, Geraldo Rogério
Faustini. II. Costa, Aureliano Nogueira da, 1956-. III. Universidade
Federal do Espírito Santo. Centro de Ciências Humanas e
Naturais. III. Título.

CDU: 57

AGRADECIMENTOS

Ao Programa de Pós-graduação em Biologia Vegetal e a UFES pelo aprendizado e pelo apoio a realização do estudo.

Ao Prof^o. Dr^o. Geraldo Rogério Faustini Cuzzuol pela orientação;

À Liana, Fred e os demais companheiros e ex-companheiros de laboratório pela ajuda em todas as etapas de realização do projeto;

Ao Dr^o. José Manuel pelo apoio no desenvolvimento do projeto.

Ao Laboratório de Citologia e Histologia Vegetal da UFES e à Prof^a Dr^a. Camilla Rozindo Dias Milanez pelo apoio nas análises anatômicas do caule;

Ao Núcleo de Estudos Fisiológicos da UFES que possibilitou as análises de fluorescência;

Ao Laboratório de Química de Proteínas da UFES pela liofilização das amostras de caule;

Ao Laboratório Max Feffer de Genética de Plantas da ESALQ/USP pelas análises de carboidratos e de lignina do caule;

À Biodiversitas e ao Ipema que financiaram as análises de solo e de nutrientes das folhas;

A CAPES pela bolsa de mestrado;

Aos todos os colegas de mestrado das turmas de 2007, 2008 e 2009, pela companhia e ajuda;

Ao secretário do PPGBV Ricardo por resolver diversos problemas;

À Bete pela companhia divertida e pelos cafezinhos nos intervalos;

À família pelo apoio.

RESUMO

O pau-brasil (*Caesalpinia echinata* Lam.) era amplamente distribuído na costa brasileira, na época da colonização portuguesa. O risco da extinção da espécie e a crescente demanda de mudas de espécies florestais nativas têm exigido pesquisas para proporcionar mudas que apresentem crescimento inicial elevado e boa sobrevivência após o plantio. Este trabalho tem como objetivo avaliar o efeito da adubação mineral na fisiologia e na anatomia do pau-brasil. As adubações foram feitas entre o período de Janeiro de 2008 e Abril de 2009 utilizando as seguintes formulações: $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (N), P_2O_5 (P), KCl (K), NPK 04:14:08 e NPK 10:10:10. Foram feitas medidas de crescimento aos 240 e 450 dias após o início da adubação. Mediu-se altura, diâmetro do caule, área foliar e a matéria seca da planta. A partir dessas medidas foram calculadas a partição de biomassa e a taxa de crescimento relativo. Aos 450 dias também foram analisados as concentrações de nutrientes foliares, clorofilas *a* e *b*, carotenóides, fluorescência da clorofila *a*, carboidratos estruturais do caule, lignina do caule e anatomia do xilema. Não houve diferença significativa para a taxa de crescimento relativo e para massa seca total. Os tratamentos com N, NPK 04:14:08 e NPK 10:10:10 estimularam maior desenvolvimento da parte aérea e do caule apresentado maiores valores para a razão de massa do caule. As formulações à base de N proporcionaram também maiores concentrações de N, manganês e pigmentos nas folhas, além, de maiores concentrações de fucose e lignina no caule. O controle e os tratamentos P e K, por outro lado, mostraram maiores valores para a razão de massa da raiz/massa da parte aérea (R/PA); maiores concentrações de glicose estrutural e maior proporção de lignina insolúvel. O tratamento NPK 10:10:10 destacou-se pela menor quantidade de amido, menor quantidade de cristais e menor espessura da parede da fibra. O controle teve maiores valores de comprimento de vasos, fibras do xilema e espessura da parede da fibra. Conclui-se que as mudas desenvolvidas sem adubação são adequadas, uma vez que possui características como maior R/PA, menor custo de produção, melhores qualidade da madeira e maiores concentrações de glicose estrutural no xilema.

Palavras-chave: Mata Atlântica - arbórea. Crescimento. Fertilização. Xilema.

ABSTRACT

Brazilwood (*Caesalpinia echinata* Lam) was widely distributed in the Brazilian coast at the time of Portuguese colonization. The risk of species extinction requires and the crescent demand for seedlings of native species had required research to provide seedlings with high initial growth and good survival after planting. This study aims to evaluate the effect of mineral fertilization on the physiology and anatomy of brazilwood. The fertilizations were made between the period of January 2008 and April 2009 using the following formulations: $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (N), P_2O_5 (P), KCl (K), NPK 04:14:08 and NPK 10:10:10. Growth measurements were made at 240 and 450 days after the first fertilization. Was measured stem height, stem diameter, leaf area and plant dry weight. From these measures were calculated biomass partitioning and relative growth rate. At 450 days were also analyzed the concentrations of foliar nutrients, chlorophylls *a* and *b*, carotenoids, chlorophyll *a* fluorescence, structural carbohydrates of the stem, stem lignin, and xylem anatomy. There was no significant difference in relative growth rate and total dry mass. The N treatment, NPK 04:14:08 and NPK 10:10:10 stimulated further development of shoot and stem shown higher values for the stem mass ratio. Formulations based on N also provided higher concentrations of N, manganese, leaf pigments, higher concentrations of fucose and stem lignin. The control and treatments with P and K, on the other hand, showed higher values for the ratio of root mass/shoot mass (R/PA), higher concentrations of glucose (resulting from acid hydrolysis) and a higher proportion of insoluble lignin. NPK 10:10:10 treatment stood out to lower amount of starch, lower amount of crystals and lower fiber wall thickness. The control had higher values for vessels length, xylem fibers length and fiber wall thickness. It is concluded that the seedlings grown without fertilization are appropriate, since it has features like greater R/PA, lower production cost, best results related to wood density and higher concentrations of structural glucose in xylem.

Key words: Atlantic Forest - trees. Plant growth. Fertilization. Xylem.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	8
2 OBJETIVOS	13
2.1 GERAL	13
2.2 ESPECÍFICOS	13
3 MATERIAIS E MÉTODOS	14
3.1 MATERIAL BIOLÓGICO E DELINEAMENTO EXPERIMENTAL	14
3.2 ANÁLISES DE CRESCIMENTO	16
3.3 DIAGNOSE FOLIAR	17
3.4 PIGMENTOS FOTOSSINTETIZANTES	17
3.5 ANÁLISE DA FLUORESCÊNCIA DA CLOROFILA <i>a</i>	18
3.6 ANÁLISE ANATOMICA DO CAULE	19
3.7 ANÁLISE DE CARBOIDRATOS E LIGNINA DO CAULE	20
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	23
4.1 ANÁLISE DE CRESCIMENTO	23
4.2 DIAGNOSE FOLIAR	29
4.3 PIGMENTOS FOTOSSINTETIZANTES	31
4.4 FLUORESCÊNCIA DA CLOROFILA <i>a</i>	32
4.5 ANATOMIA DO CAULE	35
4.6 CARBOIDRATOS E LIGNINA DO CAULE	40
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS	47
6 REFERÊNCIAS	48

1 INTRODUÇÃO

O processo de ocupação desordenada das terras e a exploração indevida de seus recursos naturais, nos vários ciclos econômicos que se sucederam, levaram a uma drástica redução da cobertura vegetal original do Bioma Mata Atlântica. Apesar do acentuado processo de intervenção, a Mata Atlântica ainda abriga uma parcela significativa da diversidade biológica do Brasil (LEDERMAN; PADOVAN, 2005).

Contudo, o desmatamento causado pela ação antrópica dos últimos anos tem colocado em risco a sobrevivência de diversas espécies vegetais, inclusive a daquela que é considerada a árvore símbolo do Brasil: o pau-brasil (*Caesalpinia echinata* Lam.) (LEDERMAN; PADOVAN, 2005). Essa espécie corre sério risco de erosão genética (Portaria IBAMA n.37-N, de 03 de abril de 1992), como consequência do extrativismo e falta de informações relativa à sua propagação (CORSON, 2002).

A *Caesalpinia echinata* Lam., também conhecida como pau-brasil, pertencente à família *Fabaceae* (MEJÍA e BUITRÓN, 2008), era amplamente distribuída na costa brasileira, especialmente entre Rio de Janeiro e Rio Grande do Norte na época da colonização portuguesa (LIMA, 1992). Segundo o artigo 1º da lei nº 6.607, de 7 de Dezembro de 1978, é declarada Árvore Nacional (BRASIL, 1978).

O pau-brasil é considerado uma planta semidecídua, podendo ser classificado como heliófila ou tolerante ao sombreamento moderado, típica de terrenos secos em florestas primárias densas (LORENZI, 2002; AGUIAR et al., 2005; MENGARDA et al., 2009) com crescimento moderado com cerca de 8 a 12 m de altura, mas podendo alcançar até 30 m (LORENZI, 2002; LIMA; LEWIS; BUENO, 2002).

A *C. echinata* possui flores amarelas em inflorescências localizadas em ramos terminais. Os frutos são deiscentes do tipo vagem recobertos por acúleos contendo sementes chatas, redondas e castanhas (LIMA; LEWIS; BUENO, 2002). Suas folhas são compostas e bipinadas (LORENZI, 2002).

Possui caule espinhento e sua madeira foi explorada desde a chegada dos portugueses ao Brasil, principalmente para o uso da tintura vermelha extraída do cerne da madeira denominado brasileína (LORENZI, 2002). Atualmente é utilizada principalmente como planta ornamental (LORENZI, 2002; AGUIAR et al., 2005) e para a produção de arcos de violino sendo considerada ideal para esta finalidade (ANGYALOSSY, AMANO e ALVES, 2005). Algumas propriedades vibracionais, alta densidade e rigidez são importantes para a boa qualidade de instrumentos de corda e estão presentes unicamente em madeiras de origem tropical e de pau-brasil (ANGYALOSSY, AMANO e ALVES, 2005; BRÉMAUD et al., 2008; SCHIMLECK et al., 2009).

Apesar de sua importância a fisiologia do pau-brasil ainda é pouco conhecida, sendo que as pesquisas realizadas são mais concentradas na fisiologia de sementes e efeitos da luminosidade no crescimento inicial (AGUIAR et al., 2005; GARCIA et al., 2006; RONDON et al., 2006; MELLO; BARBEDO, 2007; MENGARDA et al., 2009).

O risco de extinção de espécies ameaçadas exige ações imediatas para a conservação tanto *in situ* quanto *ex situ*. A conservação *in situ* consiste em manter as espécies escolhidas em seu habitat natural, parques, reservas biológicas ou reservas ecológicas (PRIMACK; RODRIGUES, 2001) e a conservação *ex situ* consiste na conservação da diversidade biológica fora do seu ambiente natural (CONVENTION ON BIOLOGICAL DIVERSITY, 1993). Dessa forma, a silvicultura e o reflorestamento podem contribuir para a diminuição das pressões sobre as florestas nativas e manutenção das condições naturais do ambiente (SCARPINELLA, 2002, LEDERMAN; PADOVAN, 2005).

Devido ao pouco conhecimento das condições nutricionais das florestas tropicais e da grande diversidade de espécies vegetais nativas (BOEGER; WISNIEWSKI; REISSMANN, 2005; SOUZA et al., 2006), torna-se necessário o conhecimento dos diferentes aspectos fisiológicos em respostas a nutrição e as práticas silviculturais das plantas. Braga et al. (2007) concluíram que a adubação foi fundamental para o crescimento de mudas de espécies nativas para a recuperação de área degradadas.

A crescente demanda por mudas de espécies florestais nativas tem exigido pesquisas relacionadas com o uso de substratos e recipientes, capazes de proporcionar mudas que apresentem elevadas taxas de crescimento inicial e de sobrevivência após o plantio (CUNHA et al., 2005). O plantio de mudas é feito utilizando-se basicamente substratos, recipientes para acondicioná-lo e fertilizantes (MORAES NETO et. al., 2003), e verifica-se em algumas espécies arbóreas a necessidade de adubação complementar para a produção de mudas de boa qualidade (VANDRESEN et. al., 2007).

Os elementos minerais presentes no solo são considerados essenciais quando: a deficiência impede o desenvolvimento completo da planta, seja específica ao elemento e esteja envolvido diretamente na nutrição da planta. (EPSTEIN; BLOOM, 2006).

Os nutrientes podem ser classificados de acordo com sua concentração no tecido vegetal como macro e micronutrientes, ou de acordo com a sua função (TAIZ; ZEIGER, 2009) como apresentado na tabela 1.

Tabela 1: Classificação de alguns nutrientes minerais das plantas segundo suas funções.

Nutriente	Função (exemplos)	Grupo
N	- Aminoácido, amidas e ácidos nucleicos	Constituintes de compostos de carbono
S	- Cisteína, metionina e coenzima A.	
P	- Ácidos nucleicos, fosfolípidios e ATP.	Armazenagem de energia ou integridade estrutural
B	- Constituinte de parede celular.	
K	- Co-fator de enzimas e turgidez celular.	Permanecem na forma iônica
Ca	- Constituinte da lamela média da parede celular e mensageiro secundário.	
Mg	- Constituinte da clorofila e co-fator de enzimas.	
Mn	- Formação de O ₂ na fotossíntese e requerido por algumas enzimas.	
Fe	- Citocromo e ferro-proteínas.	
Zn	- Álcool desidrogenase e desidrogenase glutâmica	Envolvidos em reações redox
Cu	- Plastocianina e ácido ascórbico oxigenase.	

Fonte: adaptado de Taiz e Zeiger (2009).

Segundo a lei dos mínimos de Sprengel-Liebig, o crescimento das plantas pode ser limitado pela quantidade do nutriente mais escasso (EPSTEIN; BLOOM, 2006). Dessa forma a suplementação de nutrientes para a planta através da adubação via solo pode ter efeito no crescimento da parte aérea, no sistema radicular e na tolerância a pragas e doenças (HOPPE, et. al. 2004). Contudo a necessidade e dosagem empregadas dependem do substrato e das espécies vegetais utilizadas. Em estudo com espécies nativas do Brasil, Resende et al. (2000) verificaram que a adição de fósforo (P) teve maior efeito no crescimento em espécies pioneiras, por outro lado, as espécies clímax foram menos sensíveis a adição de P devido a sua menor taxa de crescimento.

Em mudas de *Samanea inopinata* (nativa da Mata Atlântica) foi observado efeito da aplicação de nitrogênio (N) no seu crescimento (CRUZ, PAIVA e GERRERO, 2006) e a aplicação de N também proporcionou um aumento no diâmetro da copa das mudas da espécie *Tapirira guianensis* (nativa do Cerrado e da Mata de Galeria) que apresentou elevado requerimento para este nutriente (DUBOC; GUERRINI, 2006). Por outro lado, a adubação nitrogenada em mudas de *Apuleia leiocarpa* teve efeito somente com aplicação conjunta de potássio (K) nas condições estudadas por Nicoloso et al. (2001)

O nitrogênio (N), o fósforo (P) e o potássio (K) são nutrientes utilizados em grande quantidade na adubação de plantas (MARCHNER, 1995). Do mesmo modo, solos brasileiros e de regiões tropicais são considerados solos ácidos e com elevada quantidade de alumínio ocasionando uma baixa fertilidade (ABREU JUNIOR; MURAOKA; LAVORANTE, 2003), o que demonstra a necessidade de adição de adubos contendo os nutrientes N, P e K nos plantios.

Com relação ao pau-brasil, Aguiar et al. (1997) verificaram que o nitrogênio (N) é um nutriente importante para o seu crescimento inicial, com efeito principal no aumento da altura da planta. As mudas adubadas com N ou potássio K apresentaram recuperação mais rápida após uma geada, contudo não foram avaliados os efeitos da adubação na partição de biomassa e em outros aspectos da fisiologia da planta.

Dessa forma espera-se que a adubação promova alterações nas plantas de pau-brasil beneficiando o crescimento e vigor das plantas, melhorando as características fotossintéticas e da estrutura do caule.

2 OBJETIVOS

2.1 GERAL

Avaliar o efeito da adubação inorgânica na fisiologia e na anatomia de pau-brasil.

2.2 ESPECÍFICOS

- Definir o adubo mais adequado para o crescimento de plantas de pau-brasil;
- Analisar o efeito dos fertilizantes na partição de biomassa das plantas;
- Analisar as concentrações de nutrientes foliares;
- Avaliar o efeito da adubação na concentração dos pigmentos foliares;
- Relacionar a adubação inorgânica com a fluorescência da clorofila *a*;
- Observar mudanças na composição de açúcares e lignina do caule;
- Caracterizar as mudanças na estrutura anatômica do caule de pau-brasil.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 MATERIAL BIOLÓGICO E DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

Utilizou-se mudas propagadas de sementes. As sementes foram colhidas em maio de 2006 no bosque de pau-brasil da FUNBRASIL (Km 14 da PE 50, Glória do Goitá – PE), germinadas em placas de petri sobre papel de filtro umedecido com água destilada, segundo Mello e Barbedo (2007), e cultivadas em tubetes contendo terra preta sem adubo. Em novembro de 2007, com aproximadamente 1,5 anos de idade, as plantas foram transferidas para vasos plásticos com capacidade de 8L contendo terra preta comercial sem adubo. Após 60 dias de adaptação foram iniciados os tratamentos com adubação.

Uma amostra de terra de aproximadamente 1 kg foi retirada para análise e determinação das propriedades químicas do solo. A amostra foi seca e enviada ao laboratório para análise.

A extração de P, K, Fe, Zn, Cu, Mn e Na foi realizada utilizando o extrator Mehlich 1; para a extração de Ca, Mg e Al utilizou-se o extrator KCl a 1M; o B foi extraído em água quente e o S em solução de fosfato monocálcico em ácido acético. A determinação do pH do solo foi feita em água com KCl e CaCl (relação 1:2,5) e a acidez potencial (H+Al) foi realizada pelo método SMP de extração. A matéria orgânica (M.O.) foi analisada através da oxidação por $\text{Na}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ H_2SO_4 10N. Os métodos de análise descritos acima foram feitos segundo Embrapa (1997).

Na tabela 3 estão representadas as propriedades do solo utilizado para o plantio das mudas de pau-brasil. Não foram feitas análises de solo após as adubações.

Tabela 3: Propriedades e classificação do solo utilizado no início do experimento: Fósforo (P); potássio (K); cálcio (Ca); magnésio (Mg); ferro (Fe); zinco (Zn); cobre (Cu); manganês (Mn); boro (B); enxofre (S); sódio (Na); alumínio (Al); acidez potencial (H+Al); Soma de bases (SB); capacidade de troca de cátions (CTC); Saturação de bases (V) e matéria orgânica (MO).

PROPRIEDADES			CLASSIFICAÇÃO*			PROPRIEDADES			CLASSIFICAÇÃO*		
P (mg/dm ³)	12,3	Médio	S (mg/dm ³)	38,3	Alto	Na (mg/dm ³)	32	–	Al (cmol _c /dm ³)	<0,1	Baixo
K (mg/dm ³)	177	Alto	pH	5,9	Acidez média	H+Al (cmol _c /dm ³)	2,0	Baixa	SB (cmol _c /dm ³)	6,7	Alta
Ca (cmol _c /dm ³)	4,6	Alto	CTC (cmol _c /dm ³)	8,8	Média	V (%)	76,8	Alta	MO (dag/dm ³)	2,2	Média
Mg (cmol _c /dm ³)	1,7	Alto									
Fe (mg/dm ³)	74,6	Médio									
Zn (mg/dm ³)	3,2	Muito baixo									
Cu (mg/dm ³)	0,1	Muito baixo									
Mn (mg/dm ³)	29,1	Médio									
B (mg/dm ³)	0,7	Alto									

*Classificação segundo INCAPER (2001)

O experimento foi realizado em casa de vegetação do Departamento de Ciências Biológicas no campus da Universidade Federal do Espírito Santo. As plantas foram mantidas em casa de vegetação, com sombrite de 50% de luminosidade entre os períodos de Janeiro de 2008 a Abril de 2009, sob condições de luminosidade, umidade do ar e temperatura ambientes. A irrigação foi realizada a cada dois dias ou de acordo com a necessidade.

O delineamento experimental foi organizado em blocos casualizados com quatro blocos e 6 tratamentos. Para todos os dados foram feitas análises de variância ANOVA a 5% de significância e o teste de Tukey utilizando o programa ASSISTAT versão 7.5 beta (Silva, 2009).

Para o experimento foram utilizados 5 tipos de fertilizantes nas seguintes quantidades: 5g/vaso de sulfato de amônio ((NH₄)₂SO₄); 5g/vaso de superfosfato simples (P₂O₅); 1,7g/vaso de cloreto de potássio (KCl), 12g/vaso de NPK 10:10:10 e 12g/vaso de NPK 04:14:08. O tipo de adubação aplicado foi a de cobertura (sobre a terra do vaso) seguido de irrigação. As aplicações foram repetidas a cada 90 dias durante 450 dias, entre janeiro de 2008 e abril de 2009.

Na tabela 2 estão representadas as medidas iniciais das plantas de pau-brasil usadas para os tratamentos com adubação.

Tabela 2: Características das plantas de pau-brasil no início dos tratamentos. Massa seca total (MST); altura e diâmetro do caule (Alt. e D) e número de folhas (Nº folhas). Média \pm desvio padrão (n=8).

MST (g)	Alt. (cm)	D (mm)	Nº folhas
3,63 \pm 0,99	16,2 \pm 3,3	3,9 \pm 0,3	8 \pm 2

3.2 ANÁLISES DE CRESCIMENTO

As análises de crescimento foram realizadas medindo-se a altura da planta (Alt.) e o diâmetro da base (D) do caule com o auxílio de trena milimetrada e com paquímetro de precisão de 0,05 mm, respectivamente.

Para a análise de biomassa, as plantas foram retiradas do vaso e suas raízes foram lavadas para a remoção da terra. Em laboratório, as plantas foram divididas em raiz, caule, pecíolo e foliólulos. Cada parte da planta foi pesada para obtenção da massa fresca e levada para estufa a 60°C para secagem. Após nove dias, repetiu-se a pesagem para obtenção de massa seca da raiz (MSR), massa seca do caule (MSC), massa seca do pecíolo e massa seca dos foliólulos (MSF). A massa seca da parte aérea (MSPA) foi determinada pela soma das massas secas do caule, dos pecíolos e dos folíolos e massa seca total (MST) foi determinada pela soma da MSPA e da MSR.

Através das medidas de crescimento foram calculados, segundo Hunt (1982):

- a razão de área foliar (RAF), pela relação AF/MST;
- massa foliar específica (MFE) dada pela divisão da MSF/AF;
- a área foliar específica (AFE) dada pelo divisão da AF/MSF;
- razão entre MSR/MSPA (R/PA);
- razão de massa dos foliólulos (RMF), dada pela divisão entre MSF/ MST;
- razão de massa do caule (RMC), dada por MSC/MST;
- razão de massa da parte aérea (RMPA), relação entre MSPA/MST;
- razão de massa da raiz (RMR), dada por MSR/MST;
- e taxa de crescimento relativo (TCR), com a equação $(\ln M_2 - \ln M_1)/\Delta t$;

Onde,

M_1 = massa seca total no tempo inicial, M_2 = massa seca total no tempo final; Δt = dias passados entre as duas coletas (t_2-t_1); \ln = logaritmo natural.

A área foliar (AF) foi estimada pelo método do disco. Para isto foram utilizados 30 discos foliares com área de 4,77 cm²/disco (0,45 cm de diâmetro) amostrados da planta. Os discos foram pesados para a obtenção da massa fresca. Deste modo, através da área (AD) e da massa fresca dos discos (MFD) e da massa fresca total dos foliólulos (MFF) foi calculado, por regra de três, a área foliar total da planta:

$$\begin{array}{l} \text{AD} \text{ ————— } \text{MFD} \\ \text{AF} \text{ ————— } \text{MFF} \end{array} \longrightarrow \text{AF} = (\text{MFF} \times \text{AD}) / \text{MFD}$$

As análises de crescimento e biomassa foram realizadas no início do experimento (0 dias – tabela 1), aos 240 dias (8 meses) e aos 450 dias (15 meses).

3.3 DIAGNOSE FOLIAR

Nas análises de nutrientes foliares, foram utilizados foliólulos de duas plantas para obtenção de quantidade suficiente de massa seca. Os foliólulos foram secos em estufa e enviados ao laboratório de análise química de solos e plantas, onde foram analisados segundo Embrapa (1999). As coletas foram feitas em plantas aos 450 dias após o início das adubações.

3.4 PIGMENTOS FOTOSSINTETIZANTES

Os pigmentos foram extraídos a partir de foliólulos da região mediana de folhas completamente expandidas, nas mesmas folhas utilizadas para a avaliação de fluorescência aos 450 dias após o início da adubação. Para isso retirou-se quatro discos foliares de 0,45 cm de diâmetro com o auxílio de um perfurador de rolha e pesados para a obtenção da massa fresca. Os discos foram imediatamente

colocados em tubos de ensaio contendo 5 mL de dimetil sulfóxido (DMSO) e incubados no escuro a $\pm 25^{\circ}\text{C}$ (adaptado de Zanella; Soncela; Lima, 2006). Após sete dias (para a extração completa dos pigmentos) foram feitas as leituras das absorvâncias nos comprimentos de onda de 470, 645, 663 nm e calculados segundo Lichtenthaler e Welbum (1983) pelas seguintes fórmulas:

$$\text{Chl } a = [(12,7.A_{663}) - (2,69.A_{645})].V/(1000.M)$$

$$\text{Chl } b = [(22,9.A_{645}) - (4,68.A_{663})].V/(1000.M)$$

$$\text{Chl. total} = [(20,2.A_{663}) - (2,69.A_{645})].V/(1000.M)$$

$$\text{Carot} = [(1000.A_{470}) - (1,82.\text{Chl } a - 85,02.\text{Chl } b)].V/(198.1000.M)$$

Onde,

Chl e Carot. significam clorofila e carotenóides respectivamente. A_{663} , A_{645} e A_{470} representam os valores das absorvâncias; V é o volume de DMSO (em mL) utilizado para a extração e M é a massa fresca dos discos.

3.5 ANÁLISE DA FLUORESCÊNCIA DA CLOROFILA *a*

Para as medidas de fluorescência foram utilizados folíolos da região mediana da primeira folha madura e completamente expandida das plantas aos 450 dias. A fluorescência da clorofila *a* foi medida utilizando-se um fluorômetro portátil Plant Efficiency Analyzer (Handy-PEA) (Hanstech, King's Lynn, Norkfolk, UK). As medidas foram realizadas aos 240 e 450 dias (8 e 15 meses) entre 8:00 e 10:00 da manhã com adaptação das folhas por 30 min. no escuro. A fluorescência transitória foi induzida com luz vermelha de cerca de $3000 \text{ mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ (máximo de 650 nm), aplicado sobre a superfície foliar (seção transversal – CS) de 4 mm de diâmetro.

Os dados obtidos pelo fluorômetro são analisados pelo software PEA Plus versão 1.01. O software, a partir do teste JIP da fluorescência (STRASSER, SRIVASATAVA e GOVINDJEE; 1995) calcula diversos parâmetros sobre o funcionamento do fotossistema II (FSII) descritos na tabela 4 baseados nas definições de Christen et al. (2007).

Tabela 4: Parâmetros da fluorescência da clorofila *a*.

PARÂMETRO	SIGNIFICADO
F_0	– Fluorescência aos 50 us (fluorescência inicial)
F_M	– Fluorescência máxima
F_V	– Fluorescência variável ($F_M - F_0$)
F_V/F_M	– Rendimento quântico máximo potencial do FSII
ABS/CS	– Fluxo de absorvância de fótons nos complexos das antenas por seção transversal.
TR_0/CS	– Fluxo de energia capturada por seção transversal
ET_0/CS	– Fluxo de transporte de elétrons por seção transversal
DI_0/CS	– Fluxo de dissipação de energia por seção transversal
RC/CS_0	– Densidade de centros de reação por seção transversal
PI_{ABS}	– Índice de desempenho
F_V/F_0	– Rendimento quântico máximo efetivo do FSII
RC/ABS	– Número de centros de reação ativos do FSII por quantidade de luz absorvida pela antena
ET_0/TR_0	– Probabilidade de um elétron da Q_A reduzida mover para a cadeia transportadora de elétrons.

Após a análise estatística, a média dos tratamentos foi dividida pela média do controle e sobre os valores obtidos foi calculado o logaritmo de base 10 (\log_{10}) obtendo, dessa forma, valores relativos ao controle.

3.6 ANÁLISE ANATÔMICA DO CAULE

Para as análises anatômicas foram utilizados materiais para a maceração do xilema e cortes transversais e longitudinais. A maceração consiste em dissolver a lamela média para obtenção de células dissociadas. O método utilizado foi o de Franklin modificado por Kraus e Arduin (1997). Dessa forma, retirou-se seguimentos de 1 cm de caule a uma distância aproximada de 3 cm da base do caule. Os seguimentos foram fixados em FAA 50% durante 48h (JOHANSEN, 1940) e armazenados em álcool 70% até o início da maceração.

Com o auxílio de uma lâmina retirou-se a casca e utilizou-se somente o xilema. O xilema foi fragmentado formando tiras no sentido longitudinal do caule. Posteriormente os fragmentos foram colocados em tubos de ensaio com tampa contendo 10 mL de solução de água oxigenada e ácido acético na proporção de 1:1 e levados a estufa a 60°C por 5 dias para a dissociação completa. O material foi lavado em água comum, colorido com safrablau e armazenado em geladeira.

Para os cortes transversais e longitudinais, foram retirados seguimentos de caule de aproximadamente 0,5 cm de comprimento e a uma distância aproximada de 2 cm da base do caule. O material foi fixado em FAA 50% por 48 h (JOHANSEN, 1940) e conservado em álcool 70% até o início da desidratação.

As amostras foram desidratadas em séries alcoólicas (70%, 90%, 95% e 100%) e incluídas em historresina glicol-metacrilato (Leica Microsystems, DE), segundo Gerrits (1964). Foram feitos cortes transversais entre 10 e 8 μm de espessura, com micrótomo rotativo Jung e corados com azul de toluidina, segundo O'Brien, Feder e McCully (1964) e lugol para evidenciar amido (JOHANSEN, 1940).

A partir do material macerado foram feitas 30 medidas/tratamento do comprimento do elemento de vaso (CEV), diâmetro do lúmen do elemento de vaso (DEV), comprimento da fibra (CFI) e espessura da parede da fibra (EPF). A frequência de vaso (FV) foi medida através dos cortes transversais com 16 medidas/tratamento.

Todos as medidas foram realizadas em fotomicroscópio Nikon E200 com analisador semi-automático Nikon com o uso do software TSVIEW v.6.1.3.2 (Tucsen Imaging Technology Co. Limited).

3.7 ANÁLISE DE CARBOIDRATOS E LIGNINA DO CAULE

Foram retirados seguimentos de caule de duas plantas por bloco de aproximadamente 5 cm de distância da base do caule com massa fresca entre 0,5 e 1,0 g (± 1 cm de comprimento). As duas amostras de cada bloco foram unidas para a obtenção de massa em quantidade suficiente. Os seguimentos foram congelados em nitrogênio líquido e conservados em ultra freezer -70°C . Posteriormente as amostras foram liofilizadas em liofilizador (Terrone modelo LS 3000), no Laboratório de Química de Proteínas do Centro de Ciências da Saúde – UFES.

A extração e quantificação dos carboidratos foram realizadas no laboratório Max Feffer de Genética de Plantas do Departamento de Genética da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”/USP, Piracicaba – SP.

Uma vez liofilizadas, separou-se manualmente a casca do xilema. Ambos foram moídos separadamente em moinho (tipo micro-wiley) (AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS, 2001c). Devido a pouca quantidade, as quatro amostras de cascas foram unidas formando apenas duas amostras por tratamentos.

Após a moagem do material foram realizadas as extrações de açúcares solúveis, seguida da hidrólise de parede e quantificação de açúcares estruturais e lignina

Os açúcares solúveis (glicose, frutose e sacarose) foram extraídos em etanol 80% a 60°C durante 1h. O material foi filtrado com auxílio de bomba a vácuo e a fase líquida resultante do processo foi diluída até 100 mL para posterior análise. Os açúcares foram determinados pela cromatografia de troca aniônica de alta eficiência com detector de pulso amperométrico (HPEA-PAD) através do HPLC Dionex ICS 2500 com uma coluna CarboPac PA1 (4x250mm) e uma coluna guarda CarboPac PA1 (4x50mm). A concentração para cada monossacarídeo foi construída de acordo com a cromatografia das amostras com os padrões: glicose frutose, sacarose e rafinose todos da Sigma[®]. A fase sólida livre de extrativos foi seca e reservada para a composição química da parede celular via hidrólise ácida (H₂SO₄ 72%).

Os carboidratos (fucose, arabinose, galactose, glicose, xilose e manose), foram determinados via HPAE-PAD (*High Performance Anion Exchange – Pulsed Amperometric Detection*) (AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS, 2001b). E componentes como, as ligninas klason e solúvel, foram determinadas por análise gravimétrica e por espectrofotometria, respectivamente de acordo com as normas ASTM E 1721-91 (AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS, 2001a) e TAPPI T 222 om 88 (TECHNICAL ASSOCIATION OF THE PULP AND PAPER INDUSTRY, 1998).

A partir do material livre de extrativos pesou-se 100 mg da amostra para hidrólise dos açúcares. A hidrólise foi realizada com solução 72% de H₂SO₄ a 30°C por 1 h.

Após 1 h, a solução foi diluída até a concentração aproximada de 2,5% de ácido H_2SO_4 , transferida para o autoclave e mantida a 121°C por 1 h. As amostras foram rapidamente resfriadas para temperatura ambiente e filtradas a vácuo em membrana 47 mm. O líquido resultante da filtração foi utilizado para a determinação dos açúcares e lignina solúvel. O sólido remanescente foi seco e utilizado para a obtenção da lignina insolúvel.

A lignina insolúvel foi determinada gravimetricamente através do peso seco do resíduo da hidrólise ácida. A quantificação de lignina solúvel foi determinada espectrofotometricamente e calculadas a partir das medidas de absorbância nos comprimentos de onda de 215 e 280 nm.

A quantidade dos açúcares fucose, arabinose, galactose, glicose, xilose e manose foram determinadas seguindo o protocolo padrão para análise em HPEA-PAD. As concentrações dos monossacarídeos foram convertidas usando a equação padrão apuradas com padrões dos açúcares (fucose, arabinose, galactose, glicose, xilose e manose da Sigma[®]).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 ANÁLISE DE CRESCIMENTO

As plantas, aos 240 dias após a primeira dose de adubação, tiveram diferentes respostas à adubação, a qual mostrou maior efeito sobre o crescimento da parte aérea.

A MSR e a MSC não apresentaram diferenças significativas entre os tratamentos. As plantas possuíam, em média, uma MST de 46,5 g, sem diferença entre os tratamentos. Houve diferença significativa para a MSF e AF com tendência de maiores valores para os tratamentos à base de N, NPK 04:14:08 e NPK 10:10:10, com os respectivos valores médios de 21,1 g e 3382 cm². O menor valor de MSF e AF foi observado nas plantas tratadas com P. Os tratamentos à base de NPK também apresentaram maior MSPA (43,2 g), enquanto a adubação com P obteve menor valor (24,7 g). Não houve diferença significativa para a Alt., com média de 72,9 cm, e para o D, com média de 11,0 (tabela 5).

Tabela 5: Medidas de crescimento de plantas de pau-brasil aos 240 dias após a primeira adubação. Massa seca da raiz (MSR), do caule (MSC), dos foliólulos (MSF), da parte aérea (MSPA) e total (MST); área foliar (AF); altura e diâmetro do caule (Alt. e D). Médias com mesma letra não mostram diferenças significativas pelo teste de Tukey a 5% (n=4).

Tratamentos	MSR	MSC	MSF	MSPA	MST	AF	Alt.	D
	g					cm ²	cm	mm
Controle	13,2 a	12,0 a	12,7 ab	27,0 ab	40,2 a	2228 ab	62,9 a	10,6 a
N	11,3 a	13,7 a	19,9 a	38,8 ab	50,1 a	3255 a	84,4 a	10,7 a
P	13,1 a	12,0 a	9,6 b	24,7 b	37,8 a	1784 b	65,5 a	11,1 a
K	11,8 a	10,3 a	13,5 ab	27,8 ab	39,5 a	2136 ab	63,0 a	10,2 a
NPK (04:14:08)	13,4 a	16,5 a	21,1 a	43,3 a	56,7 a	3276 a	83,6 a	11,8 a
NPK (10:10:10)	11,8 a	17,2 a	22,2 a	43,1 a	54,9 a	3614 a	78,2 a	11,5 a

6

Aos 240 dias após o início dos tratamentos observou-se diferença significativa apenas para a RMR e RMF. A RMR foi maior para o tratamento com adição de P (0,35) e menor para os tratamentos com N e NPK 10:10:10 (média de 0,21). Por outro lado, a adubação com N proporcionou maior RMF (0,41) e a adubação com P

proporcionou o menor valor (0,25). Os tratamentos não apresentam diferença significativa para a RMC, RMPA, R/PA, RAF, MFE e AFE (tabela 6).

Tabela 6: Resultados da alocação de biomassa de mudas de pau-brasil aos 240 dias após a primeira adubação. Razões de massa da raiz (RMR), do caule (RMC), dos foliólulos (RMF) e da parte aérea (RMPA); razão Raiz/Parte aérea (R/PA); razão de área foliar (RAF); massa foliar específica (MFE) e área foliar específica (AFE). Médias com mesma letra não mostram diferenças significativas pelo teste de Tukey a 5% (n=4).

Tratamentos	RMR	RMC	RMF	RMPA	R/PA	RAF	MFE	AFE
	g.g ⁻¹					cm ² .g ⁻¹	g.cm ⁻²	cm ² .g ⁻¹
Controle	0,31 ab	0,27 a	0,33 ab	0,69 a	0,47 a	57 a	5,9 a	180 a
N	0,21 b	0,27 a	0,41 a	0,79 a	0,28 a	67 a	6,3 a	165 a
P	0,35 a	0,32 a	0,25 b	0,69 a	0,55 a	47 a	5,3 a	194 a
K	0,29 ab	0,26 a	0,35 ab	0,71 a	0,43 a	56 a	6,4 a	161 a
NPK (04:14:08)	0,23 ab	0,29 a	0,38 ab	0,77 a	0,30 a	60 a	6,5 a	161 a
NPK (10:10:10)	0,20 b	0,31 a	0,37 ab	0,80 a	0,26 a	61 a	6,4 a	165 a

Os resultados aos 450 dias apresentaram diferenças para as medidas de MSC, MSPA e Alt. Os maiores valores de MSC foram apresentados pelos tratamentos com NPK 04:14:08 e com NPK 10:10:10 (média de 30,3 g) seguidos do controle e do tratamento com N, e os menores valores são encontrados para P e K (média de 18,5 g). A MSPA foi maior no tratamento com NPK 04:14:08, ao passo que a adubação com K apresentou o menor valor. Semelhante a MSC, a Alt. foi maior para 10:10:10 e menor para P (tabela 7).

Tabela 7: Crescimento de mudas de pau-brasil aos 450 dias de adubação. Massa seca da raiz (MSR), do caule (MSC), dos foliólulos (MSF), da parte aérea (MSPA) e total (MST); área foliar (AF) e altura e diâmetro do caule (Alt. e D). Médias com mesma letra não mostram diferenças significativas pelo teste de Tukey a 5% (n=4).

Tratamentos	MSR	MSC	MSF	MSPA	MST	AF	Alt.	D
	g					cm ²	cm	mm
Controle	32,7 a	24,1 ab	12,1 a	40,3 ab	73,0 a	2175 a	86,7 ab	12,7 a
N	21,3 a	22,5 ab	20,0 a	47,9 ab	69,2 a	2269 a	92,6 ab	12,1 a
P	33,0 a	17,8 b	16,3 a	38,4 ab	71,3 a	2217 a	74,0 b	12,1 a
K	30,2 a	19,2 b	13,2 a	36,0 b	66,2 a	1698 a	78,8 ab	12,4 a
NPK (04:14:08)	27,0 a	29,6 a	21,4 a	57,1 a	84,1 a	2751 a	97,1 ab	12,8 a
NPK (10:10:10)	20,3 a	30,9 a	12,3 a	46,3 ab	66,6 a	2040 a	103,6 a	13,4 a

Aos 450 a adubação com NPK 10:10:10 favoreceu menor alocação de massa para a raiz mostradas pela menor RMR (0,30). A maior RMR foi observada para as plantas controle (0,45). A menor RMC foi obtida pelo tratamento com adubação fosfatada (0,26), seguido pelo controle e os tratamentos com N e K (com média de 0,32) e o tratamento com NPK 04:14:08 (0,37). A maior RMC foi obtido pelo tratamento com NPK 10:10:10 (0,48). A maior RMF foi obtida pelo tratamento N (0,29). O controle e o tratamento NPK 10:10:10 apresentaram a menor RMF com média de 0,17. A média para a RMPA foi de 0,62 não havendo diferença entre os tratamentos (tabela 8).

Tabela 8: A alocação de biomassa de mudas de pau-brasil aos 450 dias de adubação. Razões de massa da raiz (RMR), do caule (RMC), dos foliólulos (RMF) e da parte aérea (RMPA); razão Raiz/Parte aérea (R/PA); razão de área foliar (RAF); massa foliar específica (MFE) e área foliar específica (AFE). Médias com mesma letra não mostram diferenças significativas pelo teste de Tukey a 5% (n=4).

Tratamentos	RMR	RMC	RMF	RMPA	R/PA	RAF	MFE	AFE
	g.g ⁻¹					cm ² .g ⁻¹	g.cm ⁻²	cm ² .g ⁻¹
Controle	0,45 a	0,33 bc	0,17 b	0,55 a	0,86 ab	30 a	5,8 a	180 a
N	0,31 ab	0,32 bc	0,29 a	0,69 a	0,46 bc	34 a	8,9 a	122 a
P	0,43 ab	0,26 c	0,25 ab	0,57 a	0,86 ab	36 a	7,4 a	154 a
K	0,44 ab	0,31 bc	0,19 ab	0,55 a	0,90 a	30 a	8,9 a	214 a
NPK (04:14:08)	0,32 ab	0,37 ab	0,24 ab	0,68 a	0,47 bc	30 a	11,2 a	185 a
NPK (10:10:10)	0,30 b	0,48 a	0,17 b	0,70 a	0,44 c	26 a	9,5 a	215 a

A R/PA foi maior para adubação à base de K com o valor de 0,90 seguido pelo controle e o tratamento com P, cada um obtendo o valor de 0,86. O tratamento com NPK 10:10:10 apresentou menor R/PA, com o valor de 0,46. A R/PA das adubações com N e com NPK 04:14:08, com valor médio de 0,47, foram ligeiramente superior ao tratamento com NPK 10:10:10. O uso de adubos não alterou os valores de RAF, MFE e AFE; apresentando médias de 31 cm².g⁻¹, 8,6 mg.cm⁻² e 178 cm².g⁻¹, respectivamente (tabela 8).

Como observado nos resultados descritos, os tratamentos que apresentam nitrogênio em sua formulação, estimularam maiores valores de Alt., MSC, MSF, RMC, RMF (tabelas 5 a 8) e menores valores de RMR e R/PA. Aguiar et al. (1997) também observaram maior efeito do nitrogênio no crescimento de mudas de pau-brasil tanto aplicado de forma isolada quanto em conjunto com P e K.

Resultados semelhantes foram obtidos com mudas de *Dalbergia nigra* que mostrou maior MSPA com a adição de nitrogênio (MARQUES et al., 2006). Em árvores de *Cercis siliquastrum* (leguminosa da região do mar Mediterrâneo) a porcentagem de massa do caule e das folhas aumentou com adubação a base de N (ZAHREDDINE; STRUVE; TALHOUK, 2007).

Segundo Schumacher, Ceconi e Santana (2004), é comum o aumento de MSPA, e consequente redução na relação R/PA, na maioria das plantas com suprimento adequado de nutrientes. Por outro lado, solos com baixa fertilidade apresentam plantas com maiores valores de R/PA (SOUZA; VENTURIN; MACEDO, 2006). Maiores valores de R/PA proporciona a planta a capacidade de explorar maior volume de solo, qualidade importante no início do desenvolvimento (RAMOS et al., 2000). Enquanto, a redução da R/PA pode prejudicar o desempenho das mudas em campo (HOQUE et al., 2004).

A diminuição da razão entre a massa da raiz e parte aérea ocorre como resultado do aumento do suprimento de nitrogênio tanto em espécies perenes quanto para espécies anuais (MARSCHNER, 1995; ERICSSON; RYTTER; VAPAAVUORI, 1996). Venturin et. al. (1999) observou em *Peltophorum dubioum* (arbórea de floresta estacional semidecidual) que os nutrientes que alteram a produção de matéria seca das plantas, modificam o fracionamento de assimilados aumentando a razão R/PA na deficiência de nutrientes, principalmente N, P e S.

Para *Samanea inopinata* (arbórea da Mata Atlântica) foi observado aumento na altura, massa seca total e da parte aérea, contudo não houve mudança na razão R/PA em mudas adubadas com sulfato de amônio como fonte de N (CRUZ; PAIVA; GUERRERO, 2006). Por outro lado, os resultados apresentados para *C. echinata* estão em contradição com o estudo de Nicoloso et. al. (2001) para *Apuleia leiocarpa* (arbórea da Mata Atlântica), que somente respondeu ao tratamento nitrogenado quando associado ao K aumentando a massa seca da folha, MST, altura da planta e o comprimento do sistema radicular.

Cruz, Paiva e Guerrero (2006), citam a altura e o diâmetro do caule como medidas importantes para a avaliação potencial do desempenho e sobrevivência das mudas o que as torna importantes para a determinação da qualidade de mudas arbóreas. No entanto, para as plantas de pau-brasil, somente a altura do caule respondeu aos diferentes tipos de adubos utilizados (tabela 7), resultado observado também por Aguiar et al. (1997) tanto para mudas de pau-brasil em sacos plásticos quanto para as mudas transplantadas em campo.

O tratamento NPK 10:10:10 apresentou menor MSF aos 450 dias de tratamento após o início da adubação (tabela 6) em comparação com o valor encontrado aos 240 dias (tabela 4). Entre os dois períodos de análise foram verificados seca e perda de foliólulos e de folhas principalmente para os tratamentos com NPK (figura 1).



Figura 1: Folha de pau-brasil com foliólulos e folíolos secos.

A *C. echinata* é considerada uma planta semidecídua (LORENZI, 2002; AGUIAR, 2001) e a perda de suas folhas foi registrada por Aguiar (2001) ocorrendo no inverno (de julho a agosto) em um arboreto localizado em Mogi-Guaçu – SP. No presente trabalho, entretanto, a perda de folhas foi observada entre a primavera e o verão.

Não houve diferença na TCR entre os tratamentos, tanto aos 240 quanto aos 450 dias após o início das adubações (figura 2). Segundo Lambers, Chapin III e Pons

(1998), a TCR está mais associada à AFE. Esta afirmação está de acordo com os resultados obtidos, uma vez que não houve diferença entre a AFE (e MFE) para os tratamentos (tabelas 6 e 8).

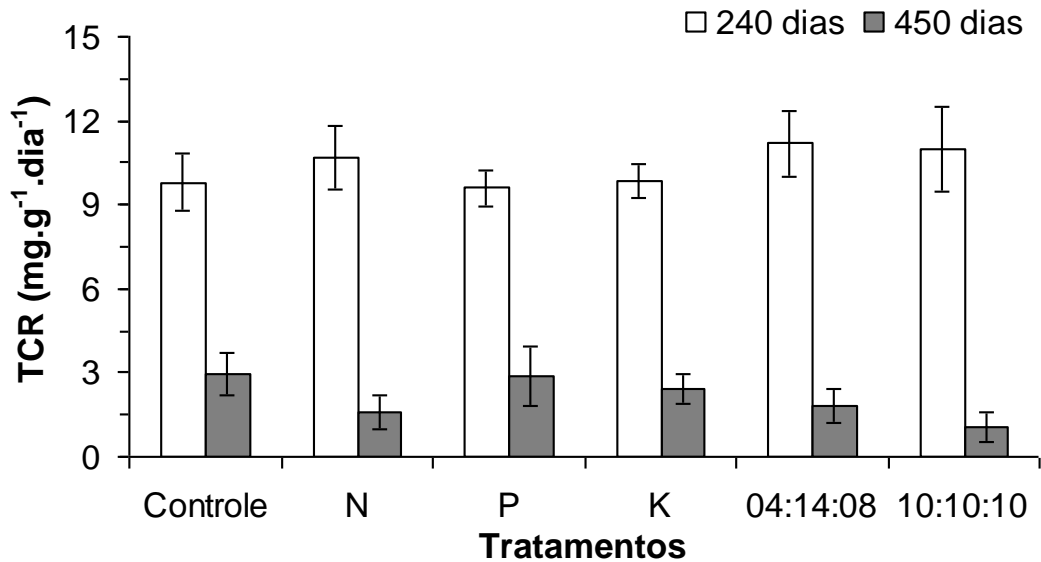


Figura 2: Taxa de crescimento relativo (TCR) (\pm desvio padrão) de pau-brasil aos 240 e 450 dias após o início dos tratamentos com adubação. Houve diferença significativa, a 5%, somente entre os períodos ($n=4$).

Entretanto, houve diferença entre os períodos, sendo que, durante os primeiros 240 dias, as plantas apresentaram uma TCR média de $10,4 \pm 1,1 \text{ mg.g}^{-1}.\text{dia}^{-1}$. Por outro lado, aos 450 dias, as mudas apresentaram TCR média de $2,1 \pm 1,4 \text{ mg.g}^{-1}.\text{dia}^{-1}$ (figura 2). Segundo Walters, Kruger e Reich (1993) e Larcher (2000), a TCR reduz com a idade da planta como resultado da diminuição RMF e aumento da RMC durante o crescimento.

Resende et. al. (2000) observaram que plantas com crescimento lento são menos influenciadas pela adubação. Do mesmo modo, Singh, Jha e Singh (2000) concluíram que as espécies leguminosas (arbóreas tropicais) estudadas por eles responderam com menor intensidade a adubação que espécies não leguminosas. Ainda, na análise realizada por Lawrence (2003), cerca de dois terços das espécies tolerantes à sombra que foram fertilizadas não apresentaram diferença na TCR em comparação ao controle.

As características de crescimento moderado (LORENZI, 2002) e tolerância ao sombreamento (AGUIAR et al., 2005; MENGARDA et al., 2009) foram observadas em pau-brasil e poderiam, dessa forma, influenciar na resposta à adubação.

4.2 DIAGNOSE FOLIAR

A análise de nutrientes foliares mostrou diferenças significativas para as concentrações de nitrogênio, fósforo, potássio, manganês, cobre, boro e sódio (tabela 9).

Tabela 9: Concentrações de nutrientes nos foliólulos de pau-brasil tratados com diferentes adubos. As unidades dadas em peso do nutriente/ peso de massa seca de foliólulos. Médias com mesma letra não mostram diferenças significativas pelo teste de Tukey a 5% (n=4).

Tratamentos	N	P	K	S	Fe	Zn	Mn	Cu	B
	dag/Kg				mg/Kg				
Controle	1,35 b	0,18 bc	0,99 b	0,50 a	810 a	37,0 a	71 b	3,75 a	72,4 a
N	3,09 a	0,09 c	0,89 b	0,47 a	514 a	25,8 a	314 a	3,50 ab	25,8 d
P	1,39 b	0,49 a	1,25 ab	0,73 a	623 a	23,5 a	67 b	3,00 abc	58,2 ab
K	1,49 b	0,13 bc	1,46 a	0,49 a	696 a	23,0 a	82 b	4,25 a	48,8 bc
NPK (04:14:08)	3,62 a	0,27 ab	1,45 a	0,43 a	615 a	35,0 a	370 a	2,00 bc	32,5 cd
NPK (10:10:10)	3,98 a	0,18 bc	1,63 a	0,39 a	495 a	36,0 a	410 a	1,75 c	24,1 d

Os tratamentos com N, NPK 04:14:08 e NPK 10:10:10 apresentaram concentrações 2,6 e 5,1 vezes maiores de N e Mn na folha. Foi observada, também, redução mais acentuada na concentração de boro nestes mesmos tratamentos. Os tratamentos com NPK elevaram também as concentrações de K e reduziram as concentrações de Cu (Tabela 9).

O aumento das concentrações de Mn na folha pode estar relacionada com a maior disponibilidade de Mn no solo devido à adubação nitrogenada e com NPK. A adubação com $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ e NPK aumenta a acidez do solo podendo elevar a disponibilidade de Mn até níveis tóxicos (MORAES et al., 1979; PRIMAVESI, 1981). Aumento da concentração de Mn também foi observado por Nicoloso et al. (2007) em folhas de *Apuleia leiocarpa* (nativa da Mata Atlântica) em função da adubação e do baixo pH do substrato.

A aplicação de P proporcionou maiores concentrações de fósforo seguido pelo tratamento com NPK 04:14:08. O tratamento com NPK 10:10:10 apesar de possuir P na formulação, reduziu a concentração foliar desse elemento, juntamente com o controle e o tratamento com N. Resultado semelhante foi observado por Lawrence (2001) para algumas espécies de árvores tropicais, de modo que a concentração de P na folha foi reduzida quando suplementadas com nitrogênio enquanto a adição conjunta de P e N não alterou a concentração de fósforo.

Portanto, a adição de nitrogênio no solo (isolado ou na forma de NPK) interferiu na concentração de alguns nutrientes foliares em *C. echinata*. Estes resultados são conflitantes com as observações feitas em *Swietenia macrophylla* (arbórea amazônica) adubadas com NPK e em *Averrhoa carambola* (arbórea tropical) adubadas com N, uma vez que, não apresentaram efeitos significativos sobre os teores de nutrientes nas folhas, com exceção da concentração de N (LEAL et al., 2007; TUCCI et al., 2007).

Outros fatores podem estar limitando o crescimento da planta mesmo com a adição dos nutrientes. Em *Swietenia macrophylla* foi observado que a associação de adubação com calagem e fosfatagem corretiva demonstrou-se mais eficiente, ocasionando maiores conteúdos de nutrientes e maiores taxas de crescimento (TUCCI et al., 2007). Da mesma forma, verificou-se para *Caesalpinia ferrea* (arbórea da Mata Atlântica) que a adubação sem micronutrientes foi limitante ao seu crescimento (RENÓ et al. 1997). Mudanças no pH do solo também podem influenciar na disponibilidade e absorção dos nutrientes pelo pau-brasil.

Além disso, algumas espécies são adaptadas a baixa fertilidade do solo apresentando consumo de luxo. Dessa forma, essas plantas acumulam os nutrientes sem alterar a taxa de crescimento mesmo havendo uma maior disponibilidade de elementos minerais no solo (CHAPIN III; SCHULZE; MOONEY, 1990; MARSCHNER, 1995; CUZZUOL et al., 2005).

4.3 PIGMENTOS FOTOSSINTETIZANTES

As plantas de pau-brasil submetidas aos tratamentos com NPK apresentaram maiores concentrações de clorofila *a* e total e as concentrações de clorofila *b* e carotenóides foram maiores nas plantas adubadas com N e com NPK. Já, a adubação com P resultou em menores concentrações de clorofila *a*, clorofila *b*, clorofila total e carotenóides. O uso dos fertilizantes aumentou as relações clorofila *a/b* e a relação clorofila/carotenóide, especialmente quando cultivadas com NPK (Tabela 10).

Tabela 10: Concentrações de pigmentos fotossintetizantes em mg.gMF⁻¹. Clorofila *a* (Chl *a*); clorofila *b* (Chl *b*); clorofila total (Chl total); carotenóides (Carot.); relação entre clorofila *a* e clorofila *b* (Chl. *a/b*) e relação entre clorofila total e carotenóide (Chl/Carot.). Médias com mesma letra não mostram diferenças significativas pelo teste de Tukey a 5% (n=4).

Tratamentos	Chl <i>a</i>	Chl <i>b</i>	Chl total	Chl. <i>a/b</i>	Carot	Chl/Carot.
Controle	1,25 bc	1,37 ab	2,12 bc	0,91 b	0,88 ab	2,40 c
N	1,82 abc	1,77 a	3,07 abc	1,01 ab	1,15 a	2,63 abc
P	1,03 c	0,99 b	1,74 c	1,00 ab	0,66 b	2,53 bc
K	1,47 abc	1,50 ab	2,48 abc	0,97 ab	0,94 ab	2,64 abc
NPK (04:14:08)	2,27 a	1,97 a	3,81 a	1,15 a	1,28 a	2,97 ab
NPK (10:10:10)	2,03 a	1,78 a	3,42 ab	1,15 a	1,14 a	3,00 a

Resultados semelhantes foram observados em tomateiros (Ferreira et al., 2006) e em espécies da família *Bignoniácea* (KITAJIMA; HOGAN, 2003), havendo um aumento da concentração de clorofila com a adubação nitrogenada, ou seja, uma correlação positiva entre o conteúdo de nitrogênio foliar e o conteúdo de clorofila. A adubação com N pode levar, segundo Marschner (1995), a um aumento no número de cloroplastos e, conseqüentemente, ao aumento na proporção dos seus constituintes, como os pigmentos.

Kitajima e Hogan (2003), fundamentados no modelo de Hikosaka e Terashima, evidenciam que a relação chl *a/b* deve aumentar com a menor disponibilidade de N. Menores valores de chl *a/b* foram observados para *Fagus sylvatica* (espécie de regiões temperadas) em solos mais férteis (MINOTTA; PINZAUTI, 1996).

Contudo, em pau-brasil a menor razão chl *a/b* foi observada no controle (sem adubação) e tanto as adubações com N quanto sem N apresentaram tendência a uma maior chl *a/b*. Em *Tabebuia rosea*, uma espécie arbórea da Mata Atlântica, a chl *a/b* diminuiu com o aumento de nitrogênio foliar somente em ambiente com alta luminosidade. Plantas sob menor luminosidade, por outro lado, não tiveram esta resposta (KITAJIMA; HOGAN, 2003).

4.4 FLUORESCÊNCIA DA CLORIFILA *a*

Recentemente a técnica para medição da fluorescência da clorofila tem sido bastante usada para a análise fisiológica e ecofisiológica de plantas (MAXWELL; JOHNSON, 2000). Segundo Baker (2008), a luz que chega ao fotossistema II pode seguir três possíveis caminhos que competem entre si: a fotoquímica, a fluorescência e perda por calor (figura 3A). Apesar disso, a análise da fluorescência pode fornecer característica das moléculas de clorofilas e do seu ambiente (PERCIVAL; FRASER; OXENHAM, 2003). Na figura 3B é apresentado o modelo simplificado dos parâmetros calculados a partir do padrão de emissão da fluorescência (HERMANS et. al., 2003).

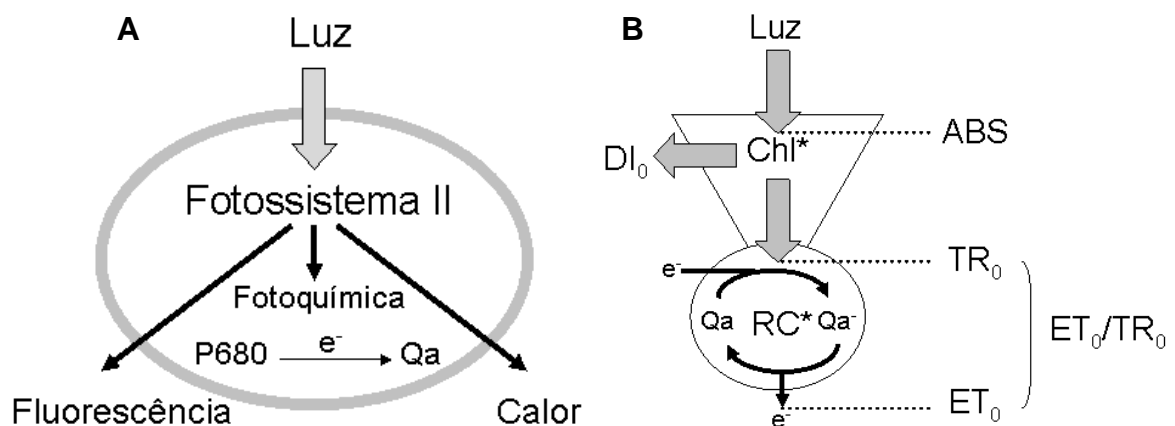


Figura 3: Modelo da emissão de fluorescência e dos seus parâmetros. A – possíveis direções da luz após ser absorvida pelo fotossistema II. B – fluxo de fótons da luz absorvidos (ABS) pela clorofila da antena (Chl^*) do fotossistema II. Parte da energia é dissipada (DI_0). Outra parte é dirigida para o centro de reação (RC) como fluxo de captura (TR_0). No RC, a energia de excitação é utilizada na redução do aceptor de elétrons (e^-) $Qa \rightarrow Qa^-$ que é reoxidada em Qa criando um transporte de elétrons (ET_0). O ET_0/TR_0 representa a eficiência da energia que foi capturada para mover um elétron para além de Qa^- .

Fonte: adaptado de Hermans et al. (2003) e Baker (2008).

O valor médio de F_V/F_M encontrado no presente trabalho (tabela 11) foi semelhante ao encontrado por Geßler et al. (2005) para árvores adultas de *C. echinata* em ambiente natural ($0,73 \pm 0,02$). Similar aos resultados encontrados para pau-brasil, também não foi observado efeito da adubação na relação F_V/F_M em *Tabebuia rosea* (KITAJIMA; HOGAN, 2003). Na erva da espécie *Heuchera americana* foi observado que plantas tratadas com maior concentração de N possuíam maiores valores de F_V/F_M e melhor recuperação das plantas quando submetidas à fotoinibição (SKILLMAN; OSMOND, 1998), contudo, não foi descrito nenhum efeito da adubação anterior à fotoinibição.

Tabela 11: Média dos parâmetros da fluorescência da clorofila *a* aos 450 dias (n=4). Coeficiente de variação (CV), significativo a 5% pelo teste de Tuke (*) e não significativo (ns).

PARÂMETROS	Média	CV	
PI	281	31%	ns
F_V/F_0	396	18%	ns
RC/ABS	0,39	21%	ns
ET_0/TR_0	0,46	17%	ns
ABS/CS	2,88	15%	ns
TR_0/CS	1,12	10%	ns
ET_0/CS	1048	6%	*
DI_0/CS	766	30%	ns
RC/CS_0	346	10%	*
F_0	1048	15%	ns
F_M	3988	1%	*
F_V	2941	6%	*
F_V/F_M	0,74	5%	ns

O tratamento com P apresentou menores valores de F_V e F_M (figura 4a) e menor RC/CS_0 (figura 4b). Em *Hakea prostrata* níveis tóxicos de P causaram uma redução na taxa fotossintética líquida (SHANE; MCCULLY; LAMBERS, 2004), contudo, o tratamento com P em pau-brasil não alterou significativamente os principais parâmetros utilizados como indicativo de mudanças no funcionamento do fotossistema e alterações na fotossíntese, como o PI_{ABS} e o F_V/F_M (tabela 11 e figuras 4a e 4c).

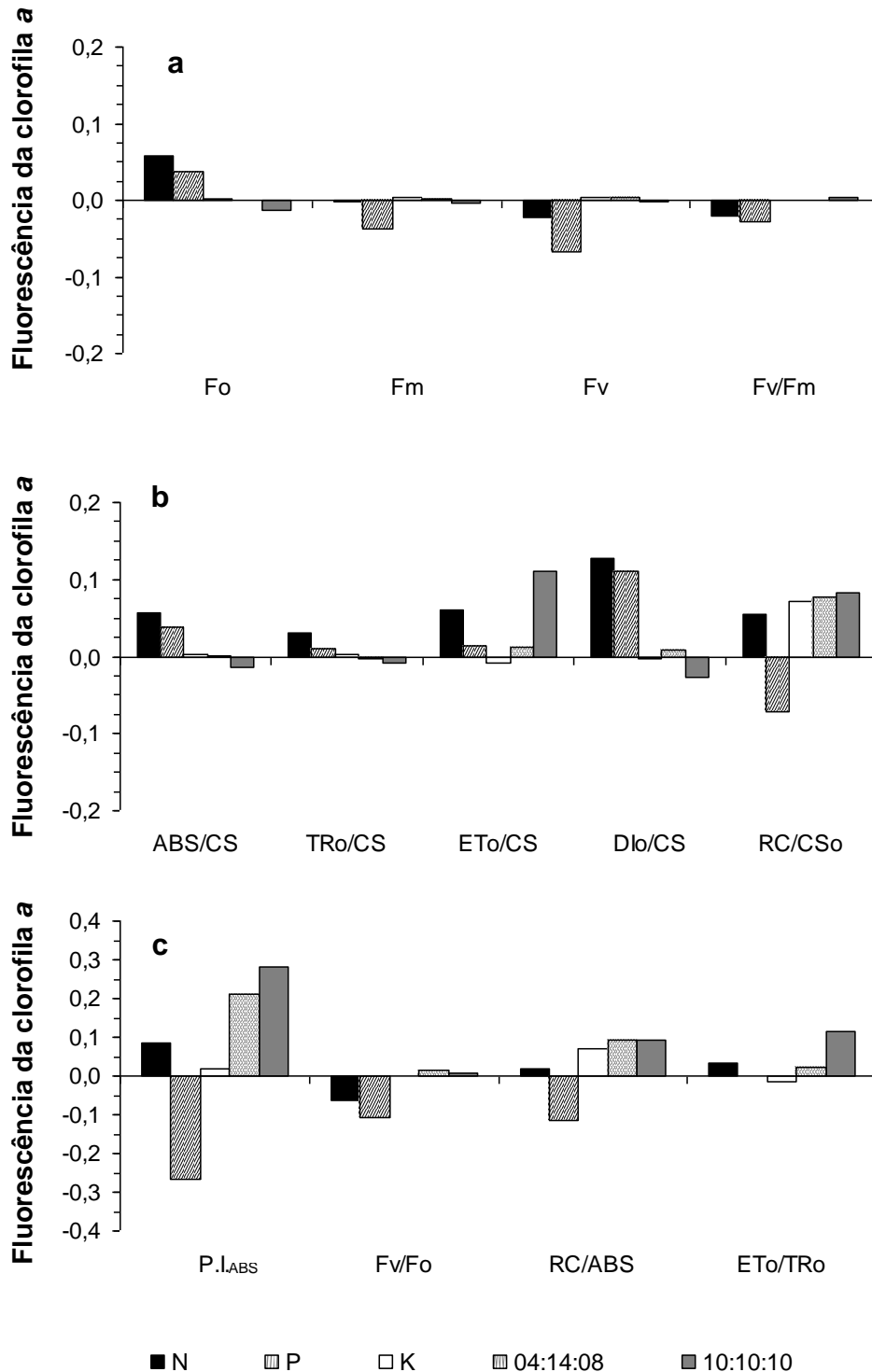


Figura 4: Parâmetros da fluorescência da clorofila *a*. Valores apresentados em relação ao controle (ver material e métodos). Análises feitas aos 450 dias após o início da adubação. Fluorescência inicial (F_0); fluorescência máxima (F_m); fluorescência variável (F_v); rendimento quântico máximo potencial do FSII (F_v/F_m); absorvância de fótons (ABS/CS); transporte de elétrons (ETo/CS); fluxo de energia capturada (TRo/CS); dissipação de energia (Dlo/CS); densidade de centros de reação por seção transversal (RC/CS₀); índice de desempenho (PI_{ABS}); rendimento quântico máximo efetivo do FSII (F_v/F_0); centros de reação ativos por quantidade de luz absorvida (RC/ABS); Probabilidade de um elétron da Q_A reduzida mover para a cadeia transportadora de elétrons (ET_0/TR_0).

O ET_0/CS apresentou diferença significativa entre os tratamentos, sendo que as adubações com N e NPK 10:10:10 apresentaram os maiores valores. Os tratamentos com P, K e NPK 04:14:08 ficaram próximos ao valor apresentado pelo controle (figura 4b e tabela 11).

O PI_{ABS} é um indicador da vitalidade da planta permitindo uma análise mais ampla do fotossistema II, em comparação ao F_V/F_M , relacionando a eficiência de absorção de fótons, a captura de energia de excitação, a densidade de centros de reação ativos e a probabilidade da energia de excitação mover um elétron para além de Q_a (GONÇALVES; SANTOS JÚNIOR, 2005). Segundo Hermans et. al. (2003), esse parâmetro é importante para distinguir o comportamento fotossintético em árvores.

Foi observado neste trabalho menor valor de PI_{ABS} para a adubação com P. Contudo, essa diferença não foi significativa. Os parâmetros F_V/F_0 , RC/ABS e ET_0/TR_0 , que são parâmetros relacionados ao cálculo do PI_{ABS} , também não apresentaram diferença significativa (tabela 11 e figura 4c).

Coste et al. (2005), estudando a relação entre a concentração de N na folha com características fotossintéticas de 14 espécies de árvores tropicais, observou uma fraca correlação entre o aumento da concentração de N com a capacidade fotossintética e concluiu que a variação na fotossíntese está mais relacionada com o N alocado para esta função do que sua concentração foliar. Nos tratamentos com N em sua formulação apresentaram uma concentração foliar de N, 2,6 vezes maior que o controle; por outro lado a concentração de chl total foi 1,6 vezes maior (tabela 10), evidenciando uma menor alocação para componentes fotossintéticos.

4.5 ANATOMIA DO CAULE

Todos os tratamentos apresentam vasos solitários a múltiplos, fibras espessas a muito espessas e fibras gelatinosas e presença de parênquima aliforme (figura 5a, 5b e 5c). Foi observado presença de parênquima aliforme confluyente formando faixas mais finas no controle (figura 5a) e faixas mais largas no tratamento com NPK

10:10:10 (figura 5c). Os demais tratamentos (N, P e K) apresentam parênquima aliforme formando faixas menos evidentes e mais estreitas que o controle (figura 5b).

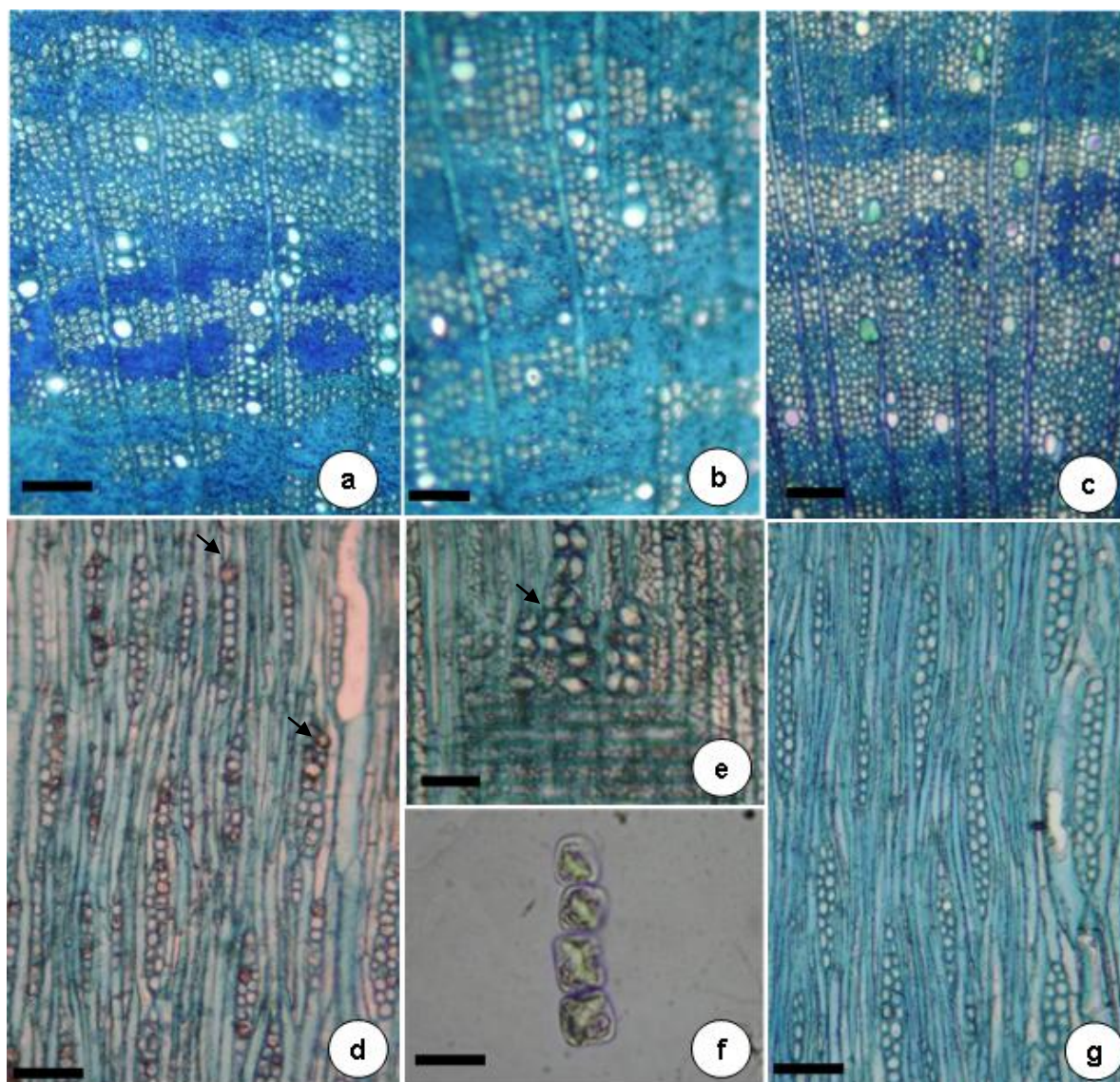


Figura 5: Estrutura anatômica do xilema de pau-brasil aos 450 dias após o início do tratamento com adubação. Seção transversal do xilema, corados com azul de toluidina, do controle (a); do tratamento com N (b) e do tratamento com NPK 10:10:10 (c). Seção longitudinal tangencial (d) e corte longitudinal radial (e) com células contendo cristais (coloração: azul de toluidina). Célula parenquimática do xilema com cristal (f). Corte longitudinal tangencial do tratamento com NPK 10:10:10 (g). Setas indicam cristais. Barras: 100 μ m.

Nos cortes longitudinais são evidenciadas a presença de raios unisseriados e bisseriados (figura 5d e 5g) com células contendo cristais (figura 5d, 5e e 5f). Diferenças foram observadas na presença de cristais entre o tratamento com NPK 10:10:10, com menor quantidade (figura 5g), e os demais tratamentos

(representados pela figura 5d). A presença de cristais de oxalato de cálcio é comum em espécies leguminosas (BRANDES; BARROS, 2008).

Ilarlans et al. (1997), em estudos com feijão, sugerem que a formação de cristais de oxalato de cálcio possuem função de reserva de cálcio (Ca). Do mesmo modo, Gourlay e Grime (1994), observaram elementos importantes associados aos cristais encontrados no caule de espécies do gênero *Acacia*, sugerindo que, além do cálcio, diversos outros nutrientes são concentrados nos tecidos da madeira.

Foi observado em *Ilex paraguayensis* (espécie da região sul e sudeste do Brasil) que a quantidade de cristais pode estar relacionada com a disponibilidade de Ca (LIBARDONI et al., 2007). Já, a redução do pH no solo pode ocasionar uma redução na disponibilidade de Ca^{+2} para a absorção pela planta (MARSCHNER, 1995). Uma possível redução de pH do solo e interação com os nutrientes do adubo pode ter levado a menores absorção e acúmulo de Ca e menor formação dos cristais pelo tratamento com NPK 10:10:10.

No xilema de pau-brasil foi observada a presença de amido (figura 6a a 6c) encontrado tanto em células parenquimáticas (figura 6f) quanto no interior de fibras (figura 6d e 6e). No tratamento com NPK 10:10:10 foi observado presença de amido em menor quantidade (figura 6c) em comparação aos demais tratamentos representados pela figura 6a. Maiores acúmulos de carboidratos podem levar a uma maior sobrevivência das plantas em períodos de estresse e para a recuperação de injúrias (PALLARDY, 2008).

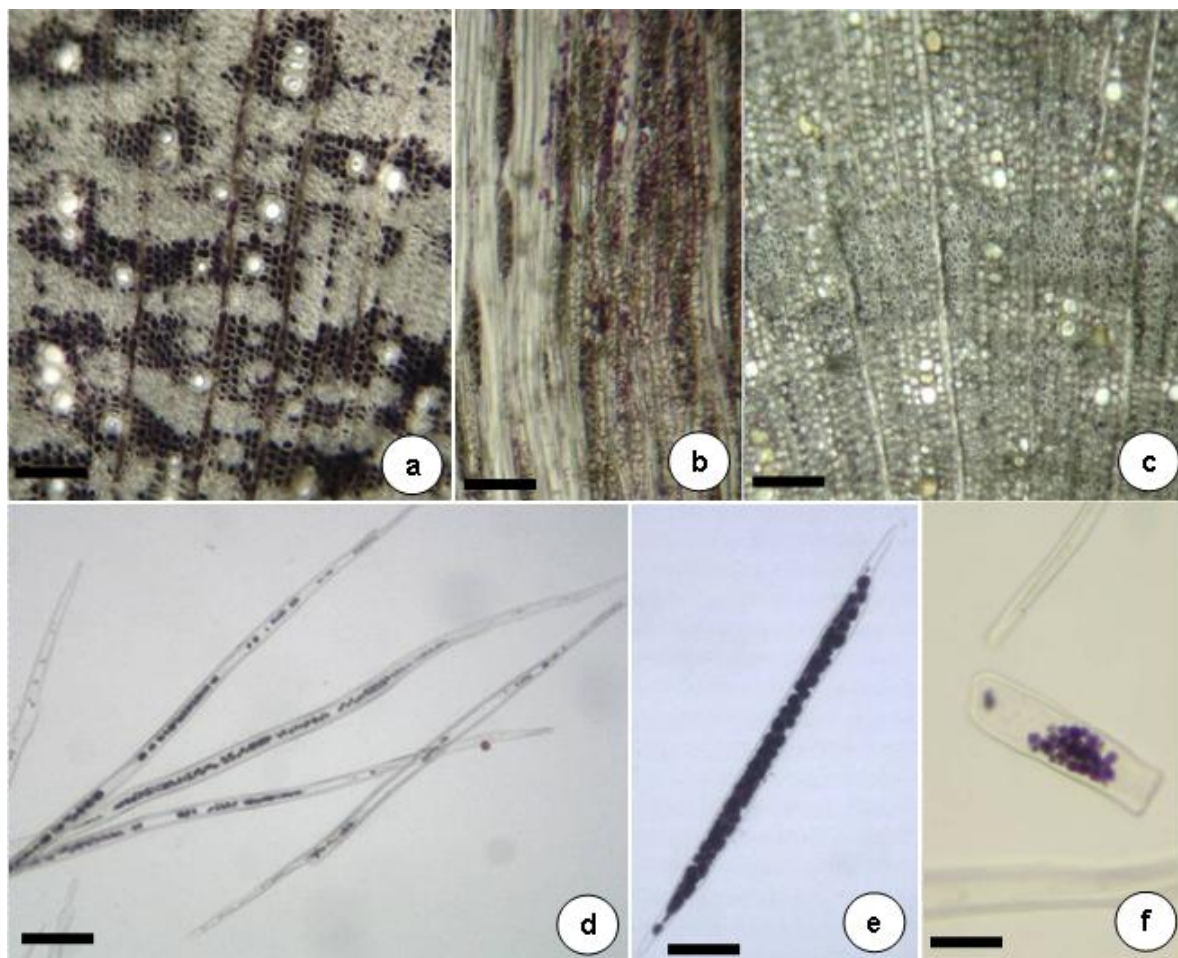


Figura 6: Presença de amido no xilema do caule de pau-brasil aos 450 dias após o início do tratamento com adubação. Seção transversal do xilema (a). Seção longitudinal tangencial (b). Seção transversal do tratamento com NPK 10:10:10 (c). Fibras com amido ((d) e (e)). Célula parenquimática com amido (f). Barras: 100 μm .

A frequência de vasos (FV) foi maior para tratamento com P e menor para a adubação com K (tabela 12). Os demais tratamentos apresentaram uma FV média de 43 vasos. mm^2 . Aumento na condutância estimada do xilema foi observado em *Cereus tetraganus* (cacto) com aplicação de P (ARNOLD; MAUSETH, 1999) evidenciando um efeito da aplicação de P sobre as células condutoras do xilema.

Tabela 12: Características quantitativas da madeira de pau-brasil sob diferentes adubações. Frequência de vaso (FV), comprimento do elemento de vaso (CEV), diâmetro do lúmen do elemento de vaso (DEV) comprimento da fibra (CFI), espessura da parede da fibra (EPF). Médias com mesma letra não mostram diferenças significativas pelo teste de Tukey a 5% (*n=16 e **n=30).

Tratamentos	FV (vasos.mm ⁻²)*	CEV (um)**	DEV (um)**	CFI (um)**	EPF (um)**
Controle	42 ab	196 a	22,6 b	827 a	6,37 a
N	44 ab	190 ab	26,2 ab	685 b	5,66 ab
P	51 a	190 ab	24,5 ab	766 ab	5,47 bc
K	41 b	187 ab	22,8 b	747 ab	5,35 bc
NPK (04:14:08)	43 ab	178 ab	29,2 a	676 c	5,27 bc
NPK (10:10:10)	44 ab	169 b	27,8 ab	587 c	4,72 c

Observou-se uma tendência da adubação em reduzir os valores de CEV, de CFI e da EPF, com os maiores valores apresentados pelo controle e os menores valores encontrados no tratamento com NPK 10:10:10. De modo contrário o DEV apresentou-se maior com a adubação, principalmente para o tratamento com NPK 04:14:08, e menor para o controle e o tratamento com K. O tratamento com NPK 04:14:08 também apresentou um baixo valor para CFI (tabela 12).

O menor crescimento e menor atividade cambial do caule podem aumentar a proporção de fotoassimilados disponíveis para o espessamento da parede da fibra e para a acumulação de amido (THOMAS; MONTAGU; CONROY, 2005; VIZOSO et al., 2008).

No presente trabalho pode-se observar que os maiores valores MSC, RMC e Alt. (tabela 5) ocorreram no tratamento 10:10:10 e, este resultado, coincide com o menor valor para EPF (tabela 12) e na presença de amido acumulado no xilema (figura 6c). Segundo Cannell (1989), a produção de madeira é custoso para a planta devido à grande quantidade de constituintes para a sua formação.

O maior crescimento do caule em massa, em altura e a maior concentração de nitrogênio (tabela 9) podem ter contribuído para a redução da espessura da parede e das reservas de amido em pau-brasil adubado com NPK 10:10:10. Segundo Vizoso et al. (2008), o menor acúmulo de amido pode estar relacionado tanto à

maior demanda de carbono para a assimilação de nutrientes, como o nitrogênio, quanto para maior consumo de componentes estruturais.

Do mesmo modo, a redução na MSF, entre os períodos de 240 e 450 dias (tabelas 5, tabela 7 e figura 1), pode ter colaborado para a uma menor assimilação de carbono. Thomas, Montagu e Conroy (2006) observaram em mudas de *Eucalipitus grandis* uma redução na densidade da madeira em decorrência da poda das árvores. Segundo os autores a menor densidade pode ser associada com uma menor espessura da parede celular da fibra em função de uma menor disponibilidade de fotoassimilados para o espessamento da parede.

4.6 CARBOIDRATOS E LIGNINA DO CAULE

As concentrações de açúcares solúveis na casca não apresentaram diferença significativa (tabela 13), apresentando concentrações médias de 0,46; 0,15 e 45,1 mg/g para glicose, frutose e sacarose, respectivamente. Segundo Geßler et al. (2005) o pau-brasil apresenta uma tendência de acumular mais açúcares na copa (folhas e galhos), contudo, os mesmos autores encontraram no exudado do floema, maiores concentrações para sacarose seguido de glicose e frutose, semelhante ao que foi encontrado na casca das plantas adubadas no presente estudo.

Tabela 13: Concentração de carboidratos solúveis na casca do caule de plantas de pau-brasil aos 450 dias após o início da adubação. Valores em mg.g^{-1} MS. Médias com mesma letra não mostram diferenças significativas pelo teste de Tukey a 5% (n=4).

Tratamentos	GLICOSE	FRUTOSE	SACAROSE
Controle	0,52 a	0,21 a	44,0 a
N	0,21 a	0,11 a	39,0 a
P	0,40 a	0,15 a	61,8 a
K	0,33 a	0,13 a	39,2 a
NPK (04:14:08)	0,67 a	0,17 a	51,7 a
NPK (10:10:10)	0,45 a	0,11 a	35,0 a

A parede celular é composta principalmente por celulose, hemicelulose e lignina (RAMOS, 2003; CARVALHO et al., 2009). A celulose é um homopolissacarídeo

composto por unidades de glicose e constitui o principal componente das madeiras (SJÖNSTRÖN, 1993). As hemiceluloses são um grupo de polissacarídeos constituídos por açúcares como xilose, arabinose, glicose, manose e galactose, sendo facilmente hidrolisadas aos seus monômeros (SJÖNSTRÖN, 1993; CARVALHO et al., 2009). A principal hemicelulose presente na parede celular das dicotiledôneas são os xiloglucanos constituídos, principalmente, por xilose e glicose podendo conter resíduos de galactose e fucose (SJÖNSTRÖN, 1993; LIMA, 2002)

Nos açúcares estruturais da casca de pau-brasil foi observada diferença significativa para a fucose, glicose e xilose resultantes da hidrólise ácida dos carboidratos, sendo que a xilose foi o açúcar mais modificado pela adubação, com variação de $\pm 28\%$ (tabela 14). Os tratamentos com adubação a base de NPK elevaram os valores de fucose, seguidos pelos tratamentos com N e K. O tratamento P apresentou concentração semelhante ao controle.

Tabela 14: Concentração de carboidratos da hidrólise ácida da casca do caule de plantas de pau-brasil. Valores em mg.g^{-1} MS. Médias com mesma letra não mostram diferenças significativas pelo teste de Tukey a 5% ($n=4$).

Tratamentos	FUCOSE	ARABINOSE	GALACTOSE	GLICOSE	XILOSE	MANOSE
Controle	1,81 b	57,1 a	18,9 a	189 b	94,6 a	4,13 a
N	2,09 ab	56,9 a	16,3 a	212 b	58,0 bc	3,67 a
P	1,82 b	59,0 a	20,9 a	250 ab	77,9 ab	5,21 a
K	2,03 ab	70,0 a	22,4 a	317 a	79,7 ab	6,47 a
NPK (04:14:08)	2,45 a	66,2 a	18,4 a	201 b	47,8 c	4,42 a
NPK (10:10:10)	2,62 a	60,8 a	18,5 a	178 b	46,0 c	5,66 a

O maior valor de glicose foi observado no tratamento com K seguido pelo tratamento com P. Os tratamentos com N e NPK não diferiram estatisticamente do controle, possuindo as menores concentrações de carboidratos. As maiores concentrações de xilose foram encontradas no controle. Entre os tratamentos, as adubações com P e K apresentaram, de maneira geral, maiores valores de xilose, seguidos pelo tratamento com N e os tratamentos com NPK (tabela 14).

Na análise das concentrações de lignina na casca, os tratamentos com NPK apresentaram menores valores para a LIG. INS. e concentrações de LIG. SOL. 3,4

vezes maior que o controle. As adubações com N e NPK apresentaram em de 2,3 a 3,4 vezes mais LIG. SOL. Como consequência, a relação LIG INS/SOL foi menor nas formulações com N (tabela 15).

Tabela 15: Teores de lignina insolúvel (LIG. INS.), solúvel (LIG.SOL) e total (LIG. TOTAL) na casca do caule em plantas de pau-brasil. Valores em %MS. Médias com mesma letra não mostram diferenças significativas pelo teste de Tukey a 5% (n=4).

Tratamentos	LIG. INS.	LIG. SOL.	LIG. TOTAL	LIG INS/SOL
Controle	32,1 a	1,41 c	33,5 a	22,9 a
N	28,0 abc	3,31 b	31,3 a	8,5 b
P	30,7 ab	1,45 c	32,2 a	21,6 a
K	30,6 ab	1,70 c	32,3 a	18,3 a
NPK (04:14:08)	22,0 c	4,75 a	26,8 a	4,8 b
NPK (10:10:10)	23,6 bc	4,96 a	28,5 a	4,8 b

Os tratamentos com P e K apresentaram concentrações semelhantes ao controle para LIG INS, LIG SOL e para a relação LIG INS/SOL. As adubações não tiveram efeito sobre a concentração total de lignina na casca (tabela 15).

Reduções nas concentrações de açúcares solúveis na casca foram observadas para *Populus sp.* (nativa de florestas boreais) adubado com N (LUO et al., 2006) e reduções de açúcares solúveis e aumento de compostos fenólicos (fenóis e lignina) também foram observados no floema de *Pinus taeda* adubados com NPK (WARREN; ALLEN; BOOKER, 1999), conflitando com os resultados observados para pau-brasil onde não houve mudanças nas concentrações de carboidratos solúveis e ligninas totais.

A adição de adubo no solo, de maneira geral, provocou uma redução nas concentrações de glicose no xilema, sendo menor para os tratamentos com P, K e NPK 04:14:08, com média de 0,10 mg/g. A concentração de frutose foi maior para o tratamento com N e menor para o tratamento P. Os teores de sacarose, com média de 11,8 mg/g, não apresentaram diferença estatística entre as adubações (tabela 16).

Tabela 16: Carboidratos solúveis do xilema do caule de plantas de pau-brasil tratadas com diferentes adubos. Valores em mg.g^{-1} MS. Médias com mesma letra não mostram diferenças significativas pelo teste de Tukey a 5% ($n=4$).

Tratamentos	GLICOSE	FRUTOSE	SACAROSE
Controle	0,79 a	0,29 ab	16,2 a
N	0,26 ab	0,44 a	11,2 a
P	0,11 b	0,03 b	12,3 a
K	0,11 b	0,06 ab	7,3 a
NPK (04:14:08)	0,08 b	0,05 ab	12,3 a
NPK (10:10:10)	0,25 ab	0,13 ab	11,6 a

Os resultados obtidos para os carboidratos solúveis apresentaram concentrações maiores aos encontrados por Silva (2007) para o alburno e cerne de *C. echinata*, com 25 anos de idade. Contudo foi observado por Kaakinen et al. (2004) que a diferença de idade entre plantas jovens e adultas pode resultar em diferenças na química da madeira. Segundo os mesmos autores, mudas de *Picea abies* apresentavam maiores concentração de extrativos na madeira que as plantas adultas.

A fucose resultante da hidrólise do xilema apresentou maior variação entre as médias dos tratamentos (16 %), sendo que a aplicação de N proporcionou o maior valor deste açúcar, seguida pelos tratamentos com NPK, o controle e os menores valores foram observados nos tratamentos com P e K (tabela 17).

Tabela 17: Composição de carboidratos da hidrólise ácida do xilema de plantas de pau-brasil aos 450 dias de tratamento. Valores em mg.g^{-1} MS. Médias com mesma letra não mostram diferenças significativas pelo teste de Tukey a 5% ($n=4$).

Tratamentos	FUCOSE	ARABINOSE	GALACTOSE	GLICOSE	XILOSE	MANOSE
Controle	0,37 bc	8,1 b	16,4 a	553 a	212 b	1,63 a
N	0,48 a	10,0 ab	15,5 a	535 ab	242 ab	2,18 a
P	0,33 c	8,1 b	14,1 a	556 a	222 b	1,67 a
K	0,35 c	8,0 b	14,4 a	543 a	223 b	2,12 a
NPK (04:14:08)	0,46 ab	10,9 a	20,9 a	533 ab	245 ab	1,28 a
NPK (10:10:10)	0,46 ab	9,1 ab	17,5 a	518 b	263 a	2,76 a

O controle e os tratamentos com P e K apresentaram as menores concentrações de arabinose e xilose. A maior concentração de arabinose foi encontrada nas plantas com a adubação com NPK 04:14:08. Não houve diferença significativa entre os tratamentos para as concentrações de galactose e manose. O tratamento com NPK 10:10:10 apresentou menores valores de glicose e as maiores concentrações foram observadas no controle e nas adubações com P e K. As maiores concentrações de xilose foram encontradas no tratamento com NPK 10:10:10 (tabela 17).

No presente trabalho foi verificado para a madeira de *C. echinata* médias de 539 e 236 mg.g⁻¹ de glicose e xilose (aproximadamente 54 e 24%). Entretanto, Silva (2007) observou 23 e 54% de glicose e xilose em hidrolisados de madeira de pau-brasil. A autora cita, contudo, que elevadas proporções de glicose podem indicar contaminação por amido, comum nos tecidos vivos de troncos.

Presença de amido na madeira das mudas de pau-brasil foi confirmada na análise anatômica do caule (figura 6). Na figura 6c observa-se que a adubação com NPK 10:10:10 possui menor quantidade de amido armazenado no xilema, esta diferença pode ter ocasionado os menores valores de glicose encontrados para este tratamento, embora a idade também possa causar diferenças na composição da madeira (PLOMION; LEPROVOST; STOKES, 2001; KAAKINEN, 2004)

Na madeira de *Pinus sylvestris* foi observado aumento na concentração de celulose com a adubação nitrogenada, contudo, de acordo com o local de estudo não foi observado diferenças entre os tratamentos (HEIJARI et al., 2005). Aumento na concentração de celulose levaria a um aumento na concentração de glicose, contudo, as plantas de pau-brasil tratadas com N e NPK apresentaram menores valores de glicose.

Em *Eucalyptus grandis* adubados com lodo de esgoto foi verificado um aumento na concentração de hemiceluloses (BARREIROS et al., 2007). Este aumento pode estar relacionado a uma diminuição na concentração de celulose (BARREIROS et al., 2007). Resultado semelhante foi observado para pau-brasil de modo que os tratamentos que apresentaram os menores valores para a glicose possuíam maiores valores de xilose, arabinose e fucose, açúcares componentes da hemicelulose.

As mudanças na composição da parede celular podem estar relacionadas às mudanças ocorridas na anatomia do xilema (tópico 4.5) como espessura de parede (tabela 12) e na proporção de células componentes do xilema. Maior proporção de parênquima foi observada no xilema do tratamento com NPK 10:10:10. Segundo Zhong e Ye (2007) as células parenquimáticas possuem somente parede primária e, de acordo com Raven, Evert e Echhorn (2001), a celulose é menos abundante neste tipo de parede o que possibilitaria uma menor proporção de glicose no tratamento NPK 10:10:10.

Os teores de lignina no xilema apresentaram diferenças significativas entre os tratamentos (tabela 18). O maior valor de lignina insolúvel no xilema foi observado para o tratamento com NPK 10:10:10, que também apresentou maior porcentagem de lignina total. As menores porcentagens de lignina insolúvel foram observadas nos tratamentos P e NPK 04:14:08.

Tabela 18: Teores de lignina insolúvel (LIG. INS.), solúvel (LIG.SOL) e total (LIG. TOTAL) no xilema de plantas de pau-brasil aos 450 dias do início das adubações. Valores em %MS. Médias com mesma letra não mostram diferenças significativas pelo teste de Tukey a 5% (n=4).

Tratamentos	LIG. INS.	LIG. SOL.	LIG. TOTAL	LIG INS/SOL
Controle	20,8 ab	2,04 c	22,9 b	10,33 a
N	21,0 ab	2,46 ab	23,5 ab	8,55 abc
P	20,3 b	2,12 bc	22,4 b	9,65 a
K	20,7 ab	2,31 bc	23,0 b	9,04 ab
NPK (04:14:08)	20,0 b	2,82 a	22,8 b	7,09 c
NPK (10:10:10)	21,6 a	2,80 a	24,4 a	7,72 c

As adubações, de maneira geral, aumentaram a porcentagem de lignina solúvel. Contudo os tratamentos com NPK apresentaram as maiores porcentagens (média de 2,81%). A relação entre lignina insolúvel/ solúvel foi maior no controle e no tratamento com P e menor nos tratamentos com NPK (tabela 18), no entanto com menor intensidade em comparação com as variações observadas na casca (tabela 15).

A lignina é um polímero derivado de alcoóis genericamente denominados de fenilpropanol e possui como precursor o aminoácido fenilalanina. Os componentes formadores das ligninas são unidos por diferentes tipos de ligações (SJÖNSTRÖN, 1993; CARVALHO et al., 2009) e, segundo Pitre et al. (2007), a lignina pode sofrer hidrólise quando aquecida em meio ácido, principalmente nas ligações éter β -O-4. Dessa forma percebe-se uma mudança na qualidade da lignina causada pelos adubos com N na formulação que proporcionou maior proporção de lignina solúvel resultante da hidrólise.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os tratamentos com N e NPK apresentaram maior concentração de N e pigmentos foliares, menor concentração de glicose estrutural e menor R/PA. Contudo, não foi observada influência significativa sobre a MST e a TCR.

O tratamento com NPK 10:10:10 destacou-se por apresentar maiores diferenças em relação ao controle sobretudo nas características avaliadas para o caule, como menor presença de amido e cristais, redução nas dimensões das fibras e aumento da concentração de açúcares componentes de hemicelulose.

Através dos resultados obtidos no presente trabalho pode-se concluir que a adubação provocou alterações na composição de nutrientes, na bioquímica da folha e do caule e na alocação e biomassa entre a raiz e a parte aérea.

Dessa forma o cultivo sem adição de adubos nas condições apresentadas neste trabalho é indicado como sendo adequada para a produção de mudas, uma vez que estimulou maior rustificação das plantas (maiores RMR, R/PA e maior presença de amido), possui menor custo e melhores características para a formação de madeira. A adição de N e NPK proporcionaram maior desenvolvimento da parte aérea podendo ser mais indicado para uso em plantas com fim paisagístico.

6 REFERÊNCIAS

ABREU JUNIOR, C. H.; MURAOKA, T.; LAVORANTE, A. F. Relationship between acidity and chemical properties of Brazilian soils. **Scientia Agricola**, v. 60, n. 2, p. 337-343, 2003.

AGUIAR, F. F. A. Fenologia do pau-brasil (*Caesalpinia echinata* Lam.) em Moji-Guaçu, SP. **Revista Ecosistema**, v. 26, n. 1, 2001.

AGUIAR, F. F. A.; KANASHIRO, S.; TAVARES, A. R.; PINTO, M. M.; STANCATO, G. C.; AGUIAR, J. de; NASCIMENTO, T. D. R. do. Germinação de sementes e formação de mudas de *Caesalpinia echinata* Lam. (pau-brasil): efeito de sombreamento. **Revista Árvore**, v. 29, n. 6, p. 871-875, 2005.

AGUIAR, F. F. A.; PINTO, M. M.; GIUDICE NETO, J. D.; BARBEDO, C. J. Influência da adubação no crescimento de mudas de pau-brasil. (*Caesalpinia echinata* Lam.). **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**, v. 3, n. 2, p. 42-49, 1997.

AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS. **E 1721-01**: standard test method for acid insoluble residue in biomass. [S.I.], 2001a.

AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS. **E 1757-01**: standard test method for determination of carbohydrates in biomass by high performance liquid chromatography. [S.I.], 2001b.

AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS. **E 1758-01**: standard practice for preparation of biomass for compositional analysis. [S.I.], 2001c.

ANGYALOSSY, V.; AMANO, E.; ALVES, E. S. Madeiras utilizadas na fabricação de arcos para instrumentos de corda: aspectos anatômicos. **Acta Botânica Brasílica**, v. 19, n. 4, p. 819-834, 2005.

ARNOLD, D. H.; MAUSETH J. D. Effects of environmental factors on development of wood. **American Journal of Botany**, v. 86, p. 367-371, 1999.

BAKER, N. R. Chlorophyll fluorescence: a probe of photosynthesis in vivo. **Annual Review of Plant Biology**, n. 59, p. 89–113, 2008.

BARREIROS, R. M.; GONÇALVES, J. L. de M.; SANSÍGOLO, C. A.; POGGIANI, F. Modificações na produtividade e nas características físicas e químicas da madeira de *Eucalyptus grandis* causadas pela adubação com lodo de esgoto tratado. **Revista Árvore**, v.31, n.1, p.103-111, 2007.

BOEGER, M. R. T.; WISNIEWSKI, C.; REISSMANN, C. B. Nutrientes foliares de espécies arbóreas de três estádios sucessionais de floresta ombrófila densa no sul do Brasil. **Acta Botanica Brasílica**, v.19, n.1, p.167-168, 2005.

BRAGA, A. J. T.; GRIFFITH, J. J.; PAIVA, H. N. de; SILVA, F. C. da; CORTE, V. B.; MEIRA NETO, J. A. A. Enriquecimento do sistema solo-serrapilheira com espécies

arbóreas aptas para a recuperação de áreas degradadas. **Revista Árvore**, v.31, n.6, p.1145-1154, 2007.

BRANDES, A. F. das N.; BARROS, C. F. Anatomia do lenho de oito espécies de lianas da família Leguminosae ocorrentes na Floresta Atlântica. **Acta Botânica Brasilica**, v. 22, n. 2, p. 465-480, 2008.

BRASIL. Lei nº 6.607 de 07 de dezembro de 1978. Dispõe sobre o pau-brasil como a Árvore Nacional, e institui o dia 03 de maio como o dia do pau-brasil. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, 12 dez. 1978. Disponível em: <http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/Leis/L6607.htm> Acesso em: dez. 2009.

BRÉMAUD, I.; CABROLIER, P.; MINATO, K.; GÉRARD, J.; THIBAUT, B. **Vibrational properties of tropical woods with historical uses in musical instruments**. International conference on wood science for preservation of cultural heritage: mechanical and biological factors. Braga, 2008. Disponível em: <http://www.woodculther.com/wp-content/uploads/2009/03/bremaud_rev1.pdf> Acesso em: dez. 2009

CANNELL, M. G. R.; Physiological basis of wood production: a review. **Scandinavian Journal of Forest Research**, v. 4, p. 459-490, 1989.

CARVALHO, W.; CANILHA, L.; FERRAZ, A.; MILAGRES, A. M. F. Uma visão sobre a estrutura, composição e biodegradação da madeira. **Química Nova**, v. 32; n. 8, p. 2191-2195, 2009.

CHAPIN III, F. S.; SCHULZE, E.; MOONEY, H. A. The ecology and economics of storage in plants. **Annual Review of Ecology and Systematics**, v. 21, p. 423-447, 1990.

CHRISTEN, D.; SCHÖNMANN, S.; JERMINI, M.; STRASSER, R. J.; DÉFAGO, G. Characterization and early detection of grapevine (*Vitis vinifera*) stress responses to esca disease by *situ* chlorophyll fluorescence and comparison with drought stress. **Environmental and Experimental Botany**, v. 60, p. 504-514, 2007.

CONVENTION on biological diversity. **UNEP**, v.1760, n.30619, p.142 – 382, 1993.

CORSON, W.H. **Manual Global de Ecologia**. Editora Augustus, 4ª edição, São Paulo, 2002.

COSTE, S.; ROGGY, J.; IMBERT, P; BORN, C.; BONAL, D.; DREYER, E. Leaf photosynthetic traits of 14 tropical rain forest species in relation to leaf nitrogen concentration and shade tolerance. **Tree Physiology**, v. 25, p. 1127-1137, 2005.

CRUZ, C. A. F. e; PAIVA, H. N. de; GUERRERO, C. R. A. Efeito da adubação nitrogenada na produção de mudas de sete-cascas (*Samanea inopinata* (Harms) Ducke). **Revista árvore**, v. 30, n. 4, p. 537-546, 2006.

CUNHA, A. O.; ANDRADE, L. A. de; BRUNO, R. de L. A.; SILVA, J. A. L. da; SOUZA, V. C. de. Efeitos de substratos e das dimensões dos recipientes na

qualidade das mudas de *Tabebuia impetiginosa* (Mart. Ex D.D.) Standl. **Revista árvore**, v. 29, n. 4, p. 507-516, 2005.

CUZZUOL G. R. F.; CARVALHO, M. A. M.; ZAIDAN, L. B. P.; FURLANI, P. R. Soluções nutritivas para cultivo e produção de frutanos em plantas de *Vernonia herbácea*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 40, n. 9, p. 911-917, 2005.

DUBOC, E.; GUERRINI, I. A. Desenvolvimento inicial e nutrição do pau-pombo em resposta à fertilização com nitrogênio e fósforo. **Boletim de pesquisa e desenvolvimento 163**. Embrapa, ISSN 1676-918X, 18 p., 2006.

EMBRAPA. **Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes**. Brasília, 1999.

EMBRAPA. **Manual de métodos de análise de solo**. 2ed. Brasília, 1997.

EPSTEIN, E.; BLOOM, A. J. **Nutrição mineral de plantas**: princípios e perspectivas. 2 ed. Londrina: Planta, 2006, 403 p.

ERICSSON, T.; RYTTER, L.; VAPAAVUORI, E. Physiology of carbon allocation in trees. **Biomass and Bioenergy**, v. 11, n. 2/3, p.115-127, 1996.

FERREIRA, M. M. M.; FERREIRA, G. B.; FONTES, P. C. R.; DANTAS, J. P. Índice SPAD e teor de clorofila no limbo foliar do tomateiro em função de doses de nitrogênio e da adubação orgânica, em duas épocas de cultivo. **Ceres**, v. 53, n. 305, p. 83-92, 2006.

GARCIA, I. S.; SOUZA, A.; BARBEDO, C. J.; DIETRICH, S. M.; FIGUEIREDO-RIBEIRO, R. C. L. Changes in soluble carbohydrates during storage of *Caesalpinia echinata* Lam. (brazilwood) seeds, an endangered leguminous tree from the brazilian atlantic forest. **Brazilian Journal of Biology**, v.66, n.2B, p.739-745, 2006.

GEBLER, A.; DUARTE, H. M.; FRANCO, A. C.; LÜTTGE, U.; MATTOS, E. A. de; NAHM, M.; RODRIGUES, P. J. F. P.; SCARANO, F. R.; RENNENBERG, H. Ecophysiology of selected tree species in different plant communities at the periphery of the Atlantic Forest of SE - Brazil III. Three legume trees in a semi-deciduous dry forest. **Trees**, v.19, p.523-530, 2005.

GERRITS, P.O. The application of glycol metacrylate histotechnology: some fundamental principles. **Leica Gmbh**, Germany. 1964.

GONÇALVES, J. F. de C.; SANTOS JÚNIOR, U. M. dos. Utilization of the chlorophyll a fluorescence technique as a tool for selecting tolerant species to environments of high irradiance. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, v.17, n.3, p. 307-313, 2005.

GOURLAY, I. D. GRIME, G. W. Calcium oxalate crystals in African acacia species and their analysis by scanning proton microprobe (spm). **IAWA Journal**, v. 15, n. 2, p. 137-148, 1994

HEIJARI, J.; NERG, A.; KAAKINEN, S.; VAPAAVUORI, E.; RAITIO, H.; LEVULA, T.; VIITANEN, H.; HOLOPAINEN, J. K.; KAINULAINEN, P. Resistance of Scots pine

wood to Brown-rot fungi after long-term forest fertilization. **Trees**, v.19, p.728-734, 2005.

HERMANS, C.; SMEYERS, M.; RODRIGEZ, R. M.; EYLETTERS, M.; STRASSER, R. J.; DELHAYE, J. Quality assessment of urban trees: A comparative study of physiological characterization, airborne imaging and on site fluorescence monitoring by the OJIP-test. **Journal of Plant Physiology**, v. 160, p. 81-90, 2003.

HOPPE, J. M.; GENRO, C. J. M.; VARGAS, C. O. FLORIANO, E. P.; REIS, E. R. dos; FORTES, F. de O.; MÜLLER, I.; FARIAS, J. A. de; CALEGARI, L.; DACOSTA, L. P. E. **Produção de sementes e mudas florestais**. Santa Maria: Universidade Federal de Santa Maria, 2 ed., 388 p., 2004.

HOQUE, A. T. M.; HOSSAIN, M. K.; MOHIUDDINN, M.; HOQUE, M. M. Effect of inorganic fertilizers on the initial growth performance of *Anthocephalus chinenses* (Lam.) Rich. Ex. Walp. seedlings in the nursery. **Journal of Applied Sciences**, v. 4, n. 3, p. 477-485, 2004.

HUNT, R. **Plant growth curves**: the functional approach to plant growth analysis. London: Edward Arnold Publishers, 1982, 80 p.

IBAMA (Brasil). Portaria nº 37-N, de 3 de abril de 1992. **Lesgilação ambiental**. 3 abr. 1992. Licenciamento ambiental. Disponível em: <<http://www.ibama.gov.br/licenciamento/index.php>>. Acesso em: dez. 2009.

ILLARSLAN, H.; PALMER, R. G.; IMSANDE, J.; HORNER, H. T. Quantitative determination of calcium oxalate and oxalate in developing seeds of soybean (Leguminosae). **American Journal of Botany**, v. 84, n. 9, p. 1042-1046, 1997.

INCAPER. Manual de recomendação de calagem e adubação para o estado do Espírito Santo. 4ª aproximação. Vitória, 2001.

JOHANSEN, D.A. **Plant Microtechnique**. New York: McGraw-Hill Co., 1940.

KAAKINEN, S.; JOLKKONEN, A.; IIVONEN, S.; VAPAAVUORI, E. Growth, allocation and tissue chemistry of *Picea abies* seedlings affected by nutrient supply during the second growing season. **Tree Physiology**, v. 24, p. 707-719, 2004.

KITAJIMA, K.; HOGAN, K. P. Increases of chlorophyll *a/b* ratios during acclimation of tropical woody seedlings to nitrogen limitation and high light. **Plant, Cell and Environment**, v. 26, p. 857-865, 2003.

KRAUS, J. E.; ARDUIN, M. **Manual básico de métodos em morfologia vegetal**. Seropédica: EDUR, 198 p., 1997.

LAMBERS, H; CHAPIN III, F. S.; PONS, L. T. **Plant physiological ecology**. New York: Springer-Verlag, 1998.

LARCHER, W. O balanço de carbono das plantas. In:_____. **Ecofisiologia Vegetal**. São Carlos: RiMa, 2000. p. 69-182.

LAWRENCE, D. Nitrogen and phosphorus enhance growth and luxury consumption of four secondary forest tree species in Borneo. **Journal of Tropical Ecology**, v. 17, p. 859-869, 2001.

LAWRENCE, D. The response of tropical tree seedlings to nutrient supply: meta-analysis for understanding a changing tropical landscape. **Journal of Tropical Ecology**, v. 19, p. 239-250, 2003.

LEAL, R. M.; NATALE, W.; PRADO, R. de M.; ZACCARO, R. P. Adubação nitrogenada na implantação e na formação de pomares de caramboleira. **Pesquisa agropecuária brasileira**, v. 42, n. 8, p. 1111-1119, 2007.

LEDERMAN, M. R.; PADOVAN, M. P. **Conservação da Mata Atlântica no Espírito Santo**: cobertura florestal e unidades de conservação. Vitória: IPEMA, 152 p. 2005.

LIBARDONI, J. B.; ADAMSKI, J. M.; FERNANDES, S. V.; COELHO, G. C. Crescimento inicial e abundância de cristais de oxalato em erva-mate (*Ilex paraguayensis* A. St. Hil.) sob efeito de diferentes métodos de calagem e fertilização. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 5, n. 2, p. 390-392, 2007.

LICHTENTHALER, H.K.; WELBURN, A. R. Determination of total carotenoids and chlorophylls *a* and *b* of leaf extracts in different solvents. **Biochemical Society Transactions**, v.11, p.591-592, 1983.

LIMA, D. U. de. **Interação molecular entre celulose e hemiceluloses e suas implicações biológicas e tecnológicas**. 2002. 110f. Tese (Doutorado em Biologia Vegetal) – Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2002.

LIMA, H.C. Aspectos botânicos do pau-brasil. In: CUNHA, M. W.; LIMA, H. C. (Eds.). **Viagem à terra do pau-brasil**. Rio de Janeiro: Agência Brasileira de Cultura. p. 23-38, 1992.

LIMA, H. C.; LEWIS, G. P.; BUENO, E. Pau-brasil: uma biografia. In: BUENO, E. **Eduardo Bueno Pau-brasil**. São Paulo: Axis Mundi, 2002, p.48-50.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras**: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil. 4 ed. v.1. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2002.

LUO, Z.; CALFAPIETRA, C.; LIBERLOO, M.; SCARASCIA-MUGNOZZA, G.; POLLE, A. Carbon partitioning to mobile and structural fractions in poplar wood under elevated CO₂ (EUROFACE) and N fertilization. **Global Change Biology**, v.12, p.172-283, 2006.

MARQUES, V. B.; PAIVA, H. N. de; GOMES, J. M.; NEVES, J. C. L.; BERNARDINO, D. C. de S. Efeito de fontes e doses de nitrogênio sobre o crescimento inicial e qualidade de mudas de jacarandá-da-bahia (*Dalbergia nigra* (Vell.) Fr. All. ex Benth.). **Revista Árvore**. V. 30, n. 5, p. 725-735, 2006.

MARSCHNER, H. **Mineral nutrition of higher plants**. 2 ed. San Diego: Academic press, 1995.

MAXWELL, K.; JOHNSON, G. N. Chlorophyll fluorescence – a practical guide. **Journal of Experimental Botany**, v. 51, n. 345, p. 659-668, 2000.

MELLO, J. I. de O.; BARBEDO, C. J. Temperatura, luz e substrato para a germinação de sementes de pau-brasil (*Caesalpinia echinata* Lam., Leguminosae – Caesalpinioideae). **Revista Árvore**, v.31, n.4, p.645-655, 2007.

MENGARDA, L. H. G.; SOUZA, R. L. F.; COMPOSTRINI, E.; REIS, F. O.; VENDRAME, W. A.; CUZZUOL, G. R. F. Light as an indicator of ecological succession in brazilwood (*Caesalpinia echinata* Lam.). **Brazilian Journal of Plant Physiology**, v.21, n.1, p.55-64, 2009.

MEJÍA, E.; BUITRÓN, X. **Brazilwood (*Caesalpinia echinata*) in Brazil**. In: NDF WORKSHOP CASE STUDIES, WG1, Case Study 5, 2008, México. 10p. 2008.

MINOTTA, G.; PINZAUTI, S. Effects of light and soil fertility on growth, leaf chlorophyll content and nutrient use efficiency of beech (*Fagus sylvatica* L.) seedlings. **Forest Ecology and Management**, v. 86, p. 61-71, 1996.

MORAES, F. R. P. de; GALLO, J. R.; IGUE, T.; FIGUEIREDO, J. I. de. Efeito de três fertilizantes acidificantes sobre a concentração de alumínio e de manganês em folhas e raízes de cafeeiros. **Bragantia**, v. 38, n. 2, 1979.

MORAES NETO, S. P. de; GONÇALVES, J. L. de M.; ARTHUR Jr., J. C.; DUCATTI, F.; AGUIRRE Jr., J. H. Fertilização de mudas de espécies arbóreas nativas e exóticas. **Revista Árvore**, v. 27, n. 2, p. 129-137, 2003.

NICOLOSO, F. T.; FOGAÇA, M. A. de F.; ZANCHETTI, F.; FORTUNATO, R. P.; MISSIO, E. Exigências nutricionais da grápia em Argissolo Vermelho distrófico arênico: (II) Efeito da adubação NPK no teor de nutrientes nos tecidos. **Ciência Rural**, v. 37, n. 2, p. 372-380, 2007.

NICOLOSO, F. T.; FOGAÇA, M. A. de F.; ZANCHETTI, F.; MISSIO, E. Nutrição mineral de mudas de grápia (*Apuleia leiocarpa*) em argissolo vermelho distrófico arênico: (1) efeito da adubação NPK no crescimento. **Ciência Rural**, v. 31, n. 6, 2001.

O'BRIEN, T.P.; FEDER, N.; MCCULLY, M.E. Polychromatic staining of plant cell walls by toluidine blue O. **Protoplasma**, v. 59, p. 368-373, 1964.

PALLARDY, S. G. Carbohydrates. In_____. **Physiology of woody plants**. 3 ed. San Diego: Academic Press, 2008, cap. 7, p.199 - 215.

PERCIVAL, G. C.; FRASER, G. A.; OXENHAM, G. Foliar salt tolerance of *Acer* genotypes using chlorophyll fluorescence. **Journal of Arboriculture**, v. 29, n. 2, p. 61-65, 2003.

PITRE, F. E.; POLLET, B.; LAFARGUETTE, F.; COOKE, J. E. K.; MACKAY, J. J.; LAPIERRE, C. Effects of increased nitrogen supply on lignification of poplar wood. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 55, p. 10306-10314, 2007.

PLOMION, C.; LEPROVOST, G.; STOKES, A. Wood formation in trees. **Plant Physiology**, v. 127, p. 1513-1523, 2001.

PRIMACK, R. B.; RODRIGUES, E. **Biologia da conservação**. Londrina, E. Rodrigues, 328 p. 2001.

PRIMAVESI, A. **O manejo ecológico do solo: a agricultura em regiões tropicais**. 3 ed. São Paulo: Nobel, 1981.

RAMOS, L. P. The chemistry involved in the steam treatment of lignocellulosic materials. **Química Nova**, v.26, n.6, p.863-871, 2003.

RAMOS, M. R. C.; PINTO, J. E. P. B.; FURTINI NETO, A. E.; DAVIDE, A. C. Influência da aplicação de nitrogênio, fósforo e potássio no crescimento e composição mineral de mudas de pata-de-vaca (*Bauhinia forticata* Link). **Revista Brasileira de Plantas Medicináveis**, v.3, n.1, p. 79-86, 2000.

RAVEN, P. H.; EVERT R. F. E.; ECHHORN, S. E. Introdução à célula vegetal. In:_____. **Biologia Vegetal**. 6 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001, cap. 3, p. 40-72.

RENÓ, N. B.; SIQUEIRA, J. O.; CURI, N.; VALE, F. R. do. Limitações nutricionais ao crescimento inicial de quatro espécies arbóreas nativas em latossolo vermelho-amarelo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 32, n. 1, p. 17-25, 1997.

RESENDE, A. V. de; FURTINI NETO, A. E.; CURI, N.; MUNIZ, J. A.; FARIA, M. R. de. Acúmulo e eficiência nutricional de macronutrientes por espécies florestais de diferentes grupos sucessionais em resposta à fertilização fosfatada. **Ciência Agrotécnica**, v. 24, n. 1, p. 160-173, 2000.

RONDON, J. N.; ZAIDAN, L. B. P.; DOMINGOS, M.; BARBEDO, C. J.; FIGUEIREDO-RIBEIRO, R. de C. L. Vegetative responses to temperature and photoperiod in saplings of brazilwood (*Caesalpinia echinata* Lam., Leguminosae). **Brazilian Journal of Plant Physiology**, v. 18, n. 4, p. 467-474, 2006.

SCARPINELLA, G. d'A. **Reflorestamento no Brasil e o protocolo de Quioto**. 2002. 181f. Dissertação (Pós-graduação em Energia) – Programa Interunidades de Pós-graduação em Energia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2002.

SCHIMLECK, L. R.; ESPEY, C.; CHRISTIAN, R. M.; EVANS, R.; TAYLOR, A.; MUNIZ, G. Characterization of the wood quality of pernambuco (*Caesalpinia echinata* Lam) by measurements of density, extractives content, microfibril angle, stiffness, color, and NIR spectroscopy. **Holzforschung**, v. 63, p. 457-463, 2009.

SCHUMACHER, M. V.; CECONI, D. E.; SANTANA, C. A. Influência de diferentes doses de fósforo no crescimento de mudas de angico-vermelho (*Parapiptadenia rigida* (Bentham) Brenan). **Revista Árvore**, v. 28, n. 1, p. 149,155, 2004.

SHANE, M. W.; McCULLY, M. E.; LAMBERS, H. Tissue and cellular phosphorus storage during development of phosphorus toxicity in *Hadea protrata* (Proteaceae). **Journal of Experimental Botany**, v. 55, n. 399, p. 1033-1044, 2004.

SILVA, C. A. da. **Análise da composição da madeira de *Caesalpinia echinata* Lam. (Pau-brasil)**: subsídios para o entendimento de sua estrutura e resistência a organismos xilófagos. 2007. 132f. Tese (Doutorado em Biologia Celular e Estrutural) – Programa de Pós-graduação em Biologia Celular e Estrutural, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2007.

SILVA, F. A. S. **ASSISTAT.exe**: assistência estatística. v.7.5 beta. Campina Grande: UFCG, 2009. Download.

SINGH, A.; JHA, A. K.; SINGH, J. S. Effect of nutrient enrichment on native tropical trees planted on Singrauli coalfields, India. **Restoration Ecology**, v.8, n.1, p. 80-86, 2000.

SJÖNSTRÖN, E. **Wood chemistry**: fundamentals and applications. 2 ed. San Diego: Academic Press, 1993.

SKILLMAN, J. B.; OSMOND, C. B. Influence of nitrogen supply and growth irradiance on photoinhibition and recovery in *Heuchera americana* (Saxifragaceae). **Physiologia Plantarum**, v. 103, p. 567-573, 1998.

SOUZA, C. A.; OLIVEIRA, R. B. de; MARTINS FILHO, S.; LIMA, J. S. de S. Crescimento em campo de espécies florestais em diferentes condições de adubações. **Ciência Florestal**, v. 16, n. 3, p. 243-249. 2006.

SOUZA, P. A. de; VENTURIN, N.; MACEDO, R. L. G. de. Adubação mineral do ipê-roxo (*Tabebuia impetiginosa*). **Ciência florestal**, v.16, n.3, p.261-270. 2006.

STRASSER, R.J.; SRIVASATAVA, A.; GOVINDJEE. Polyphasic chlorophyll a fluorescence transient in plants and cyanobacteria. **Photochemistry and Photobiology**, v.61, p.32-34, 1995.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. Nutrição mineral. In:_____. Fisiologia Vegetal. 4 ed. Porto Alegre: Artmed, 2009. p. 95-116.

TECHNICAL ASSOCIATION OF THE PULP AND PAPER INDUSTRY. **Test method T222 om-88**. Test method T222 om-98: Acid Insoluble Lignin Wood and Pulp. Atlanta, 1v, 1998

THOMAS, D. S.; MONTAGU, K. D.; CONROY, J. P. Why does phosphorus limitation increase wood density in *Eucalyptus grandis* seedlings? **Tree Physiology**, v. 26, p. 35-42, 2005.

THOMAS, D. S.; MONTAGU, K. D.; CONROY, J. P. Effects of leaf and branch removal on carbon assimilation and stem wood density of *Eucalyptus grandis* seedlings. **Trees**, v.20, p.725-733, 2006.

TUCCI, C. A. F.; SOUZA, P. A. de; VENTURIM, N.; BARROS, J. G. Calagem e adubação para a produção de mudas de mogno (*Swietenia macrophylla* King). **Cerne**. v. 13; n. 3, p. 299-307, 2007.

VANDRESEN, J.; NISHIDATE, F. R.; TOREZAN, J. M. D.; ZANGARO, W. Inoculação de fungos micorrízicos arbusculares e adubação na formação e pós-transplante de mudas de cinco espécies arbóreas nativas do sul do Brasil. **Acta Botanica Brasilica**. v. 21, n. 4, p. 753-765, 2007.

VENTURIN, N.; DUBOC, E.; VALE, F. R. do; DAVIDE, A. C. Adubação mineral do angico-amarelo (*Peltophorum dubium* (SPRENG.) TAUB.). **Pesquisa agropecuária brasileira**, v.34, n.3, p.441-448, 1999.

VIZOSO, S.; GERANT, D.; GUEHL, J. M.; JOFFRE, R.; CHALOT, M.; GROSS, P.; MAILLARD, P. Do elevation of CO₂ concentration and nitrogen fertilization alter storage and remobilization of carbon and nitrogen in pedunculate oak saplings? **Tree Physiology**, v. 28, p. 1729-1739, 2008.

WALTERS, M. B.; KRUGER, E. L.; REICH, P. B. Relative growth rate in relation to physiological and morphological traits for northern hardwood tree seedlings: species, light environment and ontogenetic considerations. **Oecologia**, v. 96, p. 219-231, 1993.

WARREN, J. M.; ALLEN, H. L.; BOOKER, F. L.; Mineral nutrition, resin flow and phloem phytochemistry in loblolly pine. **Tree physiology**, v. 19, p. 655-663, 1999.

ZAHREDDINE, H. G.; STRUVE, D. K.; TALHOUK, S. N. Growth and nutrient partitioning of containerized *Cercis siliquastrum* L. under two fertilizer regimes. **Scientia horticulturae**, v. 112, p. 80-88, 2007.

ZANELLA, F.; SONCELA, R.; LIMA, A. L. Da S. Formação de mudas de maracujazeiro “amarelo” sob níveis de sombreamento em Ji-Paraná/RO. **Ciência agrotecnica**, v.30, n.5, p.880-884, 2006.

ZHONG, R.; YE, Z. Regulation of cell wall biosynthesis. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 10, p. 564-572, 2007.