



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

BERNARDO PRETTI BECACICI MACIEIRA

**ATRIBUTOS QUANTITATIVOS DE ESPÉCIES ARBÓREAS
PIONEIRAS E NÃO PIONEIRAS DA FLORESTA ATLÂNTICA**

**VITÓRIA
2015**

BERNARDO PRETTI BECACICI MACIEIRA

**ATRIBUTOS QUANTITATIVOS DE ESPÉCIES ARBÓREAS
PIONEIRAS E NÃO PIONEIRAS DA FLORESTA ATLÂNTICA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal do Centro de Ciências Humanas e Naturais da Universidade Federal do Espírito Santo, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Biologia Vegetal, Área de Concentração: Fisiologia Vegetal.

Orientador: Prof. Dr. Geraldo Rogério Faustini Cuzzuol.

**VITÓRIA
2015**

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

M152a Macieira, Bernardo Pretti Becacici, 1986-
Atributos quantitativos de espécies arbóreas pioneiras e não pioneiras da Floresta Atlântica / Bernardo Pretti Becacici
Macieira. – 2015.
100 f. : il.

Orientador: Geraldo Rogério Faustini Cuzzuol.
Dissertação (Mestrado em Biologia Vegetal) – Universidade Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências Humanas e Naturais.

1. Ecofisiologia vegetal. 2. Sucessão ecológica. 3. Carboidratos. 4. Bioquímica. 5. Anatomia vegetal. 6. Mata Atlântica. I. Cuzzuol, Geraldo Rogério Faustini. II. Universidade Federal do Espírito Santo. Centro de Ciências Humanas e Naturais. III. Título.

CDU: 57

BERNARDO PRETTI BECACICI MACIEIRA

**ATRIBUTOS QUANTITATIVOS DE ESPÉCIES ARBÓREAS
PIONEIRAS E NÃO PIONEIRAS DA FLORESTA ATLÂNTICA**

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 parcial para obtenção do título de Mestre em Biologia Vegetal, Área de Concentração: Fisiologia Vegetal.

Aprovada em 25 de fevereiro de 2015.

COMISSÃO EXAMINADORA

Prof. Dr. Geraldo Rogério Faustini Cuzzuol
Programa de Pós-graduação em Biologia Vegetal - UFES
Orientador

Prof. Dr. Antelmo Ralph Falqueto
Programa de Pós-graduação em Biologia Vegetal - UFES
Universidade Federal do Espírito Santo

Dr.^a Bruna Cersózimo Arenque Musa
Universidade Estadual de Campinas - UNICAMP
Examinador Externo

AGRADECIMENTOS

A realização do presente trabalho não seria possível sem a ajuda direta e/ou indireta de muitas pessoas, a quem dedico os meus sinceros agradecimentos. Certamente esquecerei de alguns nomes, no entanto os que cito marcaram de forma especial estes últimos anos.

A Deus que sempre está ao meu lado, colocando pessoas e oportunidades especiais em minha vida.

Aos meus pais, em especial à minha mãe, e também a minha irmã por sempre estarem ao meu lado em todas as horas em que eu mais precisei e por terem auxiliado incondicionalmente o meu caminho para chegar até este presente momento.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Geraldo Rogério Faustini Cuzzuol, profissional de alta capacidade intelectual e bom coração, que me ensinou muito sobre Fisiologia Vegetal e por idealizar este projeto. Obrigado por ter acreditado em mim e por me aceitar em seu laboratório.

À todos os professores do Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal, pelos ensinamentos transmitidos, dedicação e essenciais contribuições.

À Universidade Federal do Espírito Santo pelo ensino, infraestrutura disponibilizada e pela oportunidade de fazer esta pós-graduação.

À Fundação de Amparo à Pesquisa e Inovação do Espírito Santo através da bolsa de estudos.

Ao Plano Nacional de Apoio ao Desenvolvimento da Botânica – CAPES pelo apoio financeiro e por ter proporcionado o intercâmbio técnico-científico com o Programa de Pós-Graduação em Botânica da Universidade de São Paulo onde foi realizada parte das análises de carboidratos.

Ao Laboratório de Fisiologia Ecológica de Plantas da Universidade de São Paulo, pelo estágio e realização das análises de carboidratos não estruturais, estruturais e lignina. Agradeço ao Prof. Dr. Marcos Silvério Buckeridge, pelo ensinamento e tempo disponibilizado dentro de sua escassa agenda para me

receber em seu laboratório. Às técnicas Eglee Igarashi e Eveline Tavares pela constante ajuda e contribuição para a realização destas análises. Obrigado Amanda Souza e Adriana Grandis pelos auxílios na interpretação dos dados obtidos de amido e monossacarídeos de parede celular.

Ao Laboratório de Anatomia Vegetal do Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo, em especial ao Prof. Dr. Gregório Cardoso Tápias Ceccantini, pelo aprendizado e espaço cedido para a realização das análises anatômicas caulinares.

Ao Laboratório de Anatomia Vegetal da Universidade Federal do Espírito Santo, especialmente à Prof. Dra. Camilla Rozindo Dias Milanez e ao Doutorando Leonardo Valandro, pelas contribuições e disponibilidade de equipamentos para a realização das análises anatômicas foliares.

À Reserva Natural Vale, pela disponibilização da área de estudo e por possibilitar o desenvolvimento da pesquisa em campo, principalmente ao técnico do herbário biólogo Geovane Siqueira. Agradeço à equipe de consultoria ambiental Nova Floresta que auxiliou nas coletas foliares.

Ao companheiro de laboratório, o Doutorando Vinícius Gama, pela contribuição em campo e em laboratório, ensinamentos e pela amizade.

À todos os colegas do Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal, pelo apoio e por todos os momentos vividos juntos. Agradeço aos funcionários, Ricardo Celestino e Elizabete Santos, pela paciência, dedicação e eficiência.

Aos meus amigos, que a sua maneira, menos ou mais, estiveram presentes manifestando carinho e apoio nos momentos mais difíceis e, pela certeza que tenho pessoas com quem sempre poderei contar, por mais distante que estejamos. Em especial: Giovani Olmo, Fernanda Brêda, Lívia Dorsch e Jéssica Altoé.

Aos membros da banca, que aceitaram corrigir este trabalho e por todas as essenciais contribuições para a melhoria do estudo.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 01:** Estrutura química de alguns dos principais carboidratos não estruturais encontrados em plantas superiores (adaptado; SOUZA *et al.* 2005).....28
- Figura 02:** Arquitetura da parede celular vegetal (adaptado; RITTER, 2008).....31
- Figura 03:** Estrutura da fração celulósica (adaptado; FENGEL e WEGENER, 1989).....34
- Figura 04:** Estrutura química de alguns monossacarídeos constituintes das hemiceluloses (SJÖBERG, 2002).....36
- Figura 05:** Estrutura química dos xilanos (adaptado; GOMES *et al.* 2007).....37
- Figura 06:** Oligossacarídeos típicos obtidos através da hidrólise enzimática de xiloglucanos com celulase. Cadeia de glicoses (esferas azuis), com ramificações com xiloses (esferas vermelhas) e estas com galactoses terminais (esferas verdes). A nomenclatura do oligossacarídeo sempre se dá pelo último sacarídeo em cada subunidade, ou seja, (A) XXXG, (B) XLXG, (C) XXLG e por fim (D) XLLG, respectivamente (FRY *et al.*, 1993)..... 38
- Figura 07:** Esquema estrutural para a lignina da madeira moída de *Eucalyptus grandis* (a); estruturas dos álcoois precursores das unidades fenilpropanóides guaiacila (G), siringila (S) e *p*-hidroxifenila (H) (b) (adaptado; PILÓ-VELOSO *et al.*, 1993).....40
- Figura 08:** Reserva Natural Vale, município de Sooretama – ES, Brasil (Paralelos 19° 06' 18" S e 39° 45' 19" O) (adaptado; NEMÉSIO, 2013). 42
- Figura 09:** Espécies arbóreas pioneiras demarcadas na Reserva Natural Vale neste estudo. (A) *Senna multijuga* var. *verrucosa* (Vogel) H.S. Irwin & Barneby – Caesalpinaceae, (B) *Miconia cinnamomifolia* (DC.) Naudin – Melastomataceae, (C) *Bixa arborea* Huber – Bixaceae (adaptado; LORENZI, 1992; 2002; 2008).....44

Figura 10: Espécies arbóreas não pioneiras demarcadas na Reserva Natural Vale neste estudo. (A) *Melanoxylon brauna* Schott – Caesalpinaceae, (B) *Carpotroche brasiliensis* (Raddi) Endl. – Achariaceae, (C) *Neoraputia alba* (Nees & Mart.) Emmerich – Rutaceae (adaptado; LORENZI, 1992; 2002; 2008).....45

Figura 11: Teores de glicose, frutose e sacarose em caule de espécies arbóreas pioneiras e não pioneiras da Floresta Atlântica. Barras representam a média aritmética e o erro padrão da média (n=7 para cada espécie e n=21 por grupo ecológico). Dois asteriscos representam diferenças significativas entre as duas classes sucessionais ($P<0.01$)..... 60

Figura 12: Teores de glicose, frutose e sacarose em folhas de espécies arbóreas pioneiras e não pioneiras da Floresta Atlântica. Barras representam a média aritmética e o erro padrão da média (n=7 para cada espécie e n=21 por grupo ecológico).....61

Figura 13: Teor de amido em caule e folhas de espécies arbóreas pioneiras e não pioneiras da Floresta Atlântica. Barras representam a média aritmética e o erro padrão da média (n=7 para cada espécie e n=21 por grupo ecológico). Dois asteriscos representam diferenças significativas entre as duas classes sucessionais ($P<0.01$).....63

Figura 14: Conteúdo de celulose presente no caule e nas folhas de espécies arbóreas pioneiras e não pioneiras da Floresta Atlântica. Barras representam a média aritmética e o erro padrão da média (n=7 para cada espécie e n=21 por grupo ecológico). Dois asteriscos representam diferenças significativas entre as duas classes sucessionais ($P<0.01$).....65

Figura 15: Conteúdo de hemicelulose presente no caule e nas folhas de espécies arbóreas pioneiras e não pioneiras da Floresta Atlântica. Barras representam a média aritmética e o erro padrão da média (n=7 para cada espécie e n=21 por grupo ecológico). Dois asteriscos representam diferenças significativas entre as duas classes sucessionais ($P<0.01$).....66

Figura 16: Conteúdo de lignina presente no caule e nas folhas de espécies arbóreas pioneiras e não pioneiras da Floresta Atlântica. Barras representam a média aritmética e o erro padrão da média ($n=7$ para cada espécie e $n=21$ por grupo ecológico). Dois asteriscos representam diferenças significativas entre as duas classes sucessionais ($P<0.01$).....67

Figura 17: Proporção de lignina para biomassa celulósica (celulose e hemicelulose) presente no caule e nas folhas de espécies arbóreas pioneiras e não pioneiras da Floresta Atlântica. Barras representam a média aritmética e o erro padrão da média ($n=7$ para cada espécie e $n=21$ por grupo ecológico). Dois asteriscos representam diferenças significativas entre as duas classes sucessionais ($P<0.01$).....69

Figura 18: Proporções dos monossacarídeos estruturais das hemiceluloses da parede celular do xilema secundário caulinar de espécies arbóreas pioneiras e não pioneiras da Floresta Atlântica. Média aritmética de $n=7$ para cada espécie e $n=21$ por grupo ecológico. Asteriscos representam diferenças significativas entre as duas classes sucessionais ($0.01\leq P<0.05$).....71

Figura 19: Proporções dos monossacarídeos estruturais das hemiceluloses da parede celular de folhas de espécies arbóreas pioneiras e não pioneiras da Floresta Atlântica. Média aritmética de $n=7$ para cada espécie e $n=21$ por grupo ecológico. (*) diferenças significativas entre as duas classes sucessionais ($0.01\leq P<0.05$) e (**) diferenças significativas entre as duas classes sucessionais ($P<0.01$).....72

LISTA DE TABELAS

- Tabela 01:** Atributos qualitativos de espécies arbóreas pioneiras e não pioneiras (adaptado; BUDOWSKI, 1965; FINEGAN, 1984; WHITMORE, 1990)..... 17
- Tabela 02:** Conteúdo dos polímeros de parede celular (celulose, hemicelulose e lignina) em resíduos agrícolas (SUN e CHENG; 2002).....32
- Tabela 03:** Lista de soluções utilizadas na sequência de lavagens para extração de lignina..... 53
- Tabela 04:** Variáveis biométricas de espécies arbóreas pioneiras e não pioneiras da Floresta Atlântica. Medidas de altura, diâmetro do caule, teor de água foliar, área foliar unitária (AFU) e massa foliar específica (MFE).....55
- Tabela 05:** Concentrações de pigmentos cloroplastídicos nas folhas de espécies arbóreas pioneiras e não pioneiras da Floresta Atlântica. Medidas de clorofila *a*; clorofila *b*; clorofila total; carotenoides; relação entre clorofila *a* e clorofila *b* e relação entre clorofila total e carotenoides.....56
- Tabela 06:** Variáveis anatômicas foliares de espécies arbóreas pioneiras e não pioneiras da Floresta Atlântica. Medidas de espessuras do limbo, epiderme adaxial, parênquima paliçádico, parênquima lacunoso, epiderme abaxial, razão entre as espessuras dos parênquimas lacunoso e paliçádico e densidade estomática.....58
- Tabela 07:** Variáveis anatômicas do xilema secundário caulinar de espécies arbóreas pioneiras e não pioneiras da Floresta Atlântica. Medidas de comprimento do elemento de vaso, diâmetro do elemento de vaso, diâmetro do lúmen do elemento de vaso, parede do elemento de vaso, comprimento da fibra e diâmetro da fibra.....58
- Tabela 08:** Atributos quantitativos foliares de espécies arbóreas pioneiras e não pioneiras da Floresta Atlântica. Média aritmética de $n=7$ para cada espécie e $n=21$ por grupo ecológico.....73

Tabela 09: Atributos quantitativos caulinares de espécies arbóreas pioneiras e não pioneiras da Floresta Atlântica. Média aritmética de $n=7$ para cada espécie e $n=21$ por grupo ecológico.....	74
--	----

RESUMO

A classificação sucessional é baseada em critérios qualitativos bastante inconsistentes. O presente estudo foi realizado com o objetivo de quantificar alguns aspectos fenotípicos em arbóreas pioneiras e não pioneiras da Floresta Atlântica do Espírito Santo. Foram realizadas análises anatômicas, de pigmentos cloroplastídicos e de carboidratos solúveis e estruturais em folhas e caule de três espécies arbóreas pioneiras (*Senna multijuga* var. *verrucosa*, *Miconia cinnamomifolia* e *Bixa arborea*) e três não pioneiras (*Melanoxylon brauna*, *Carpotroche brasiliensis* e *Neoraputia alba*). As espécies pioneiras mostraram maior teor de pigmentos cloroplastídicos, densidade estomática, diâmetro dos elementos de vaso e de glicose (6% da massa seca – MS), frutose (2,3% da MS) e sacarose (7,9% da MS) do caule. As espécies não pioneiras se destacaram pela maior espessura do limbo foliar, maior teor de amido (2,8% da MS) e polímeros de parede celular foliar (10% de celulose, 15% de hemicelulose e 4% de lignina da MS). No caule, o teor desses polímeros em não pioneiras (33% de celulose, 24% de hemicelulose e 22% de lignina da MS) foram superiores em relação às pioneiras. As hemiceluloses dos dois grupos funcionais sugerem ser do tipo xilano (caule) e arabinogalactano (folhas). Considerando que os carboidratos solúveis, o amido e os pigmentos são moléculas instáveis sujeitas às variações ambientais, concluímos que os polímeros de parede celular sejam os mais seguros para caracterizar as classes funcionais. Contudo, a lignina foi o composto que mais variou entre os dois grupos funcionais (>100%) indicando que o teor desse polímero seja o atributo quantitativo mais confiável para identificar espécies pioneiras e não pioneiras da Floresta Atlântica.

Palavras-chave: Sucessão florestal, pioneiras, não pioneiras, atributos quantitativos, carboidratos não estruturais, polímeros de parede celular.

ABSTRACT

The succession classification is based on very inconsistent quality attributes. The present study aimed to quantify some phenotypic aspects in pioneer and non-pioneer tree species of the Atlantic Forest in the state of Espírito Santo. Leaves and stem segments of three pioneer species (*Senna multijuga* var. *verrucosa*, *Miconia cinnamomifolia* and *Bixa arborea*) and three non-pioneer species (*Melanoxylon brauna*, *Carpotroche brasiliensis* and *Neoraputia alba*) were analyzed. The pioneer species showed higher chloroplastid pigments; higher stomatal density and vessels elements diameters; higher glucose (6% of the dry mass – DM), fructose (2.3% DM) and sucrose contents (7.9% DM) found on the stem. Non-pioneer species showed higher leaf thickness, higher starch (2.8% DM) and cell wall polymers contents in their leaves (10% cellulose, 15% hemicellulose and 4% lignin DM). In the stem, the wall cell polymers contents in non-pioneer species (33% cellulose, 24% hemicellulose and 22% lignin DM) were higher than the pioneer species. The hemicellulose for both functional groups suggest that xylan (stem) and arabinogalactan (leaves) type. Whereas the soluble carbohydrates, starch and pigments are unstable molecules subject to environmental variations, we conclude that cell wall polymers are safer to characterize the functional classes. However, the lignin compound that was more varied between two functional groups (>100%) indicating that the content of polymer is more reliable quantitative attribute to identify pioneer and non-pioneer species from Atlantic Forest.

Keywords: Forest succession, pioneer, non-pioneer, quantitative attributes, non-structural carbohydrates, cell wall polymers.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	16
2. OBJETIVOS.....	21
2.1 Objetivo Geral.....	21
2.2 Objetivos Específicos.....	21
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	22
3.1 – Sucessão Ecológica	22
3.2 – Relação da Luminosidade com as Características Ecofisiológicas de Espécies Arbóreas.....	23
3.2.1 <i>Morfologia Foliar e Caulinar.....</i>	23
3.2.2 <i>Pigmentos Cloroplastídicos</i>	25
3.2.3 <i>Carboidratos Não Estruturais.....</i>	27
3.2.4 <i>Polímeros de Parede Celular.....</i>	30
4. MATERIAIS E MÉTODOS.....	42
4.1 – Área de Estudo.....	42
4.2 – Delineamento Experimental.....	43
4.3 – Biometria Foliar.....	46
4.4 – Pigmentos Cloroplastídicos.....	46
4.5 – Anatomia Foliar e Caulinar.....	47
4.6 – Carboidratos Não Estruturais	48
4.6.1 <i>Carboidratos Solúveis.....</i>	48
4.6.2 <i>Amido.....</i>	49
4.7 – Carboidratos Estruturais e Lignina	50
4.7.1 <i>Celulose.....</i>	50
4.7.2 <i>Hemicelulose</i>	51

4.7.3 <i>Lignina</i>	53
4.8 – Análises Estatísticas	54
5. RESULTADOS	55
5.1 – Análises Biométricas	55
5.2 – Pigmentos Cloroplastídicos.....	56
5.3 – Anatomia Foliar e Caulinar.....	57
5.4 – Carboidratos Não Estruturais.....	59
5.4.1 <i>Carboidratos Solúveis</i>	59
5.4.2 <i>Amido</i>	62
5.5 – Carboidratos Estruturais e Lignina	64
5.5.1 <i>Celulose</i>	64
5.5.2 <i>Hemicelulose</i>	64
5.5.3 <i>Lignina</i>	64
5.5.4 <i>Proporção de Lignina para Biomassa Celulósica</i>	68
5.5.5 <i>Monossacarídeos das Hemiceluloses de Parede Celular</i>	70
5.6 – Atributos Quantitativos de Espécies Arbóreas	73
6. DISCUSSÃO	75
7. CONCLUSÃO E CONSIDERAÇÃO FINAL	82
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	83

1. INTRODUÇÃO

A conservação da biodiversidade dos ecossistemas florestais tem sido uma das principais preocupações da humanidade nas últimas décadas. O plantio de arbóreas nativas tropicais encontra-se em ascensão e essa atividade depende de informações sobre a aptidão ecológica das espécies florestais em suas diferentes classes funcionais (DUZ *et al.*, 2004).

No entanto, a caracterização das espécies pioneiras, não pioneiras e as intermediárias não é tarefa tão simples, pois essa classificação leva em consideração apenas os atributos qualitativos pouco precisos (Tabela 01). A falta de atributos quantitativos tem criado muitas contradições de informações pois, nem sempre a posição das espécies na floresta é confirmada pelos resultados em condições de irradiância controlada. Dessa forma, algumas espécies consideradas ombrófitas da floresta tropical mostraram elevada sobrevivência e capacidade de crescer em pleno sol na fase juvenil (FRIGERI, 2007; MENGARDA *et al.*, 2009). Tais contradições podem ser atribuídas à grande plasticidade fenotípica de algumas espécies possibilitando que ela mesma seja incluída em mais de uma classe ecológica (MACIEL *et al.*, 2003, PAULA *et al.*, 2004).

Existem várias propostas para definir as classes sucessionais. De maneira geral, dois grupos extremos são distinguidos: a) espécies da categoria inicial de sucessão (pioneiras), que germinam, sobrevivem e crescem somente em clareiras e são, portanto, mais tolerantes à intensa irradiância e, b) espécies da categoria final ou tardia de sucessão (não pioneiras), que exigem ambientes sombreados do sub-bosque para se estabelecer (FINEGAN, 1984). Entretanto, entre essas duas classes, já se reconhece um grande número de espécies ocupando posições intermediárias. Budowski (1965) propôs uma divisão baseado nos locais de preferência para crescimento, adotando a seguinte terminologia: pioneiras, secundárias iniciais, secundárias tardias e climácicas.

Tabela 01: Atributos qualitativos de espécies arbóreas pioneiras e não pioneiras (adaptado; BUDOWSKI, 1965; FINEGAN, 1984; WHITMORE, 1990).

Atributos (funções)	Pioneiras	Não Pioneiras
Semente		
Amplitude da dispersão	Longas distâncias	Curtas distâncias
Vetores de dispersão	Vento, aves	Roedores, aves, nenhum
Massa	Leve, pesada	Pesada
Germinação		
Estímulos pela luz	Sim	Não
Inibição por vermelho extremo	Sim	Não
Planta		
Longevidade	Baixa (<10 anos)	Alta (>100 anos)
Tempo para maturidade reprodutiva	Curto	Longo
Crescimento	Muito rápido	Lento ou muito lento
Madeira	Baixa densidade	Alta densidade
Folhas	Vida curta	Vida longa
Raízes	Superficiais	Algumas profundas
Altura na maturidade	Baixa	Alta
Taxas de aquisição de recursos	Alta	Baixa
Taxa fotossintética	Alta	Baixa
Recuperação após escassez de recursos	Rápida	Lenta
Platicidade fenotípica	Alta	Baixa

A distinção mais concisa entre as classes sucessionais deve levar em consideração características ecofisiológicas que permitam ou não as espécies ocuparem um determinado ambiente (LÜTTGE e SCARANO, 2007; RIBEIRO *et al.*, 2009). Um dos aspectos mais importantes sobre a ecofisiologia das espécies florestais está na sua capacidade de responder às variações da luminosidade. A disponibilidade de luz é uma das condicionantes ambientais mais importantes no estabelecimento da vegetação e na sucessão florestal (GONÇALVES *et al.*, 2005), pois regula desde os processos morfogénéticos da germinação, até os padrões morfofisiológicos do crescimento vegetal nas diferentes classes funcionais (CUZZUOL e MILANEZ, 2012).

As análises ecofisiológicas mais utilizadas para a distinção das espécies quanto ao seu posicionamento na dinâmica florestal são as medidas de crescimento. No entanto, ainda não há um critério confiável que estabeleça um consenso da relação das análises de crescimento com as classes sucessionais (ELLIS *et al.*, 2000). Buscando relacionar espécies tropicais de diferentes classes sucessionais com as medidas de crescimento, Souza e Válio (2003) constataram que as pioneiras apresentam maior taxa de crescimento tanto em pleno sol como na sombra. No entanto, Mengarda *et al.* (2009) verificaram que a espécie *Caesalpinia echinata* Lam. (Leguminosae - Caesalpinioideae) considerada moderadamente tolerante à sombra (intermediária inicial) de floresta tropical, apresenta maior velocidade de crescimento em pleno sol. Somado a isso, Frigeri (2007), trabalhando com espécies tropicais de diferentes classes funcionais, observou maiores taxas de crescimento em sombreamento intermediário. Isso mostra que nem sempre as taxas de crescimento seguem valores decrescentes das espécies pioneiras para as não pioneiras na fase de crescimento inicial. Essa falta de consistência nos padrões de crescimento com a posição da sucessão florestal tem sido atribuída à ontogenia. Daí o cuidado em não extrapolar os resultados obtidos na fase juvenil para a fase adulta (CUZZUOL e MILANEZ, 2012; ZANI, 2014).

As análises ecofisiológicas com espécies arbóreas sob influência de baixa e elevada irradiância têm se concentrado na fase juvenil do desenvolvimento e em condições ambientais controladas, havendo poucas informações sobre as características ecofisiológicas na fase adulta e *in loco*. Os fatores mais estudados *in loco* com espécies tropicais é a sazonalidade da precipitação (VIEIRA *et al.*, 2005). A precipitação é a variável climatológica mais importante na região tropical e fundamental para a caracterização climática. Conhecer a sua distribuição sazonal é essencial para a compreensão da dinâmica florestal (BRITTO *et al.*, 2006). O estudo da distribuição sazonal da precipitação se torna interessante sob diversos aspectos, mas principalmente àqueles relacionados à gestão e planejamento dos recursos hídricos e a dinâmica ambiental (ANDRADE e NERY, 2011). Uma caracterização precisa das espécies florestais e sua relação com os principais fatores do ambiente são essenciais para a construção de modelos que permitam prognosticar com precisão a dinâmica florestal. Isto

demonstra a importância dos trabalhos realizados com espécies *in loco*, compreendendo medições e análises em árvores individuais, nos estudos ecofisiológicos que visam avaliar os efeitos dos fatores ambientais na fisiologia da planta (MENDES, 2009).

Diante do exposto, foi elaborado esse estudo visando determinar valores quantitativos de algumas características ecofisiológicas como dados biométricos, anatomia foliar e caulinar, quantificação de pigmentos e concentração de carboidratos não estruturais, estruturais e lignina em folhas e caule de algumas espécies pioneiras e não pioneiras bem representativas na Floresta Atlântica da Reserva Natural Vale, localizada no norte do Espírito Santo. A Reserva Natural Vale está inserida em uma das áreas mais importantes à conservação da biodiversidade da Floresta Atlântica, fazendo parte do Corredor Central da Floresta Atlântica, representando uma parcela significativa da Floresta Atlântica Primária remanescentes do estado do Espírito Santo (JESUS e ROLIM, 2005). Neste contexto, a realização da caracterização ecofisiológica destas arbóreas pioneiras e não pioneiras da Floresta Atlântica em condições naturais torna-se necessária para que seja proposto atributos quantitativos que permitam identificar, com maior precisão, as espécies em suas respectivas classes funcionais.

Baseando-se nos atributos qualitativos da Tabela 01 propostos pelos autores Budowski (1965), Finegan (1984) e Whitmore (1990) e em trabalhos de ecofisiologia já realizados com espécies arbóreas tropicais em condições de campo e de irradiâncias contrastantes, estabeleceram-se as seguintes hipóteses a serem testadas neste estudo com espécies arbóreas pioneiras e não pioneiras da Floresta Atlântica:

1. Considerando que as espécies arbóreas pioneiras têm a sua parte aérea, caule e folhas, mais exposta à irradiância solar direta desde a fase inicial do seu crescimento e desenvolvimento, há indicações de que estas espécies apresentem atributos fenotípicos à esta condição ambiental imposta (POORTER e BONGERS, 2006; POORTER *et al.*, 2008; 2010; PORTES *et al.*, 2010);

2. Partindo do pressuposto de que as espécies arbóreas não pioneiras apresentam um crescimento mais lento do que as espécies arbóreas pioneiras (KING *et al.*, 2005; POORTER *et al.*, 2008; 2010), podemos especular que estas espécies exibem maior proporção de componentes estruturais de parede celular (celulose, hemiceluloses e lignina) nas folhas e células do xilema secundário caulinar.

Espera-se que a confirmação ou rejeição destas hipóteses tenham aplicação nas metodologias de classificação ecológica de espécies arbóreas tropicais, além de auxiliar na avaliação das espécies nativas tropicais úteis em projetos ambientais de reflorestamento e recuperação de áreas degradadas sob o domínio da Floresta Atlântica.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Quantificar alguns aspectos fenotípicos em algumas espécies arbóreas pioneiras e não pioneiras da Floresta Atlântica em condições naturais, visando propor atributos quantitativos que possa ser utilizado na identificação das espécies em suas diferentes classes sucessionais.

2.2 Objetivos Específicos

- 1) Determinar a biometria foliar;
- 2) Investigar a anatomia foliar e caulinar;
- 3) Calcular a concentração dos pigmentos cloroplastídicos;
- 4) Determinar os teores dos carboidratos não estruturais (glicose, frutose, sacarose e amido), os carboidratos estruturais (celulose e hemiceluloses) e lignina foliar e caulinar;
- 5) Analisar as proporções dos monossacarídeos das hemiceluloses de parede celular foliar e caulinar.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 – Sucessão Ecológica

Para Finegan (1984) a sucessão pode ser definida como uma mudança, ao longo de um período de tempo, da composição de espécies e da fisionomia da vegetação de uma determinada área onde as condições climáticas se mantêm constante. De acordo com esse autor, entender a sucessão é importante para o desenvolvimento de programas de conservação e exploração dos recursos biológicos.

A divisão das espécies em grupos sucessionais é um artifício utilizado para facilitar a compreensão sobre a dinâmica das florestas (KAGEYAMA e GANDARA, 2000). A classificação baseada na sucessão florestal foi sugerida por diversos autores. Porém, cada classificação implica em uma simplificação que reduz o grau de informações, tornando-se difícil formular um modelo de aceitação geral (FERRAZ *et al.*, 2004). Budowski (1965) propôs uma divisão das espécies para florestas tropicais baseada nos locais preferenciais para crescimento. Esse autor identificou quatro classes: pioneiras, secundárias iniciais, secundárias tardias e climáticas. Para Whitmore (1978), as espécies estão distribuídas em dois grupos ecológicos: espécies pioneiras e não pioneiras ou tardias.

A existência de grupos ecológicos baseia-se na premissa de que as características fisiológicas, morfológicas e comportamentais observadas em determinadas espécies devem ser consideradas como adaptações decorrentes de sua história evolutiva (FERRAZ *et al.*, 2004). A classificação ecológica representa uma ferramenta eficaz na descrição das características biológicas e dos mecanismos adaptativos relacionados às respostas das plantas aos diversos tipos de distúrbios, especialmente à disponibilidade de luminosidade (McINTYRE *et al.*, 1999).

O principal recurso para a determinação do comportamento das espécies na dinâmica de sucessão é a luminosidade (MACIEL *et al.*, 2003). A luz é um dos fatores físicos mais crítico no estabelecimento e crescimento de espécies arbóreas em florestas tropicais (LAMBERS *et al.*, 2008). Deste modo, a

distribuição das plantas na dinâmica florestal está relacionada à sua capacidade de sobreviver em diferentes níveis de radiação solar (OSUNKOYA *et al.*, 1994). Muitas das características adaptativas de crescimento e desenvolvimento de espécies arbóreas são influenciadas pela exposição da planta às variações da intensidade de irradiância (GONÇALVES *et al.*, 2007).

Denslow (1996), analisando a influência do dossel, observou que as espécies arbóreas com grande porte e maior sobrevivência apresentam um papel seletivo nos ambientes recobertos por elas, atuando como filtros de diversidade, de forma que a utilização fotossintética da luz é um componente fundamental para a distribuição das diferentes espécies nas florestas. Para Lüttge (1997), os feixes de luz projetam uma dinâmica dentro da floresta. A luz, ao atravessar o dossel, pode ser importante para estimular a taxa de fotossíntese para as plantas estabelecidas nos ambientes sombreados do sub-bosque.

As espécies pioneiras são definidas como espécies que germinam e se desenvolvem em clareiras e que completam seu ciclo de vida sem a interferência da luz pelas espécies arbóreas vizinhas (ACKERLY, 1996). Muitos trabalhos procuram explicar as relações de crescimento das espécies arbóreas em florestas, porém não há ainda um critério confiável que estabeleça um consenso em relação à sucessão das espécies na dinâmica de clareiras e também não é clara a maneira como as espécies de diferentes grupos sucessionais respondem às variações ambientais (ELLIS *et al.*, 2000).

3.2 – Relação da Luminosidade com as Características Ecofisiológicas de Espécies Arbóreas

3.2.1 Morfologia Foliar e Caulinar

O estudo da morfologia e anatomia vegetal é extensivamente utilizado para estudos taxonômicos e ecológicos, pois fornece informações valiosas a respeito das adaptações em função de variáveis ambientais (CUTLER *et al.*, 2011). A avaliação das alterações na morfologia foliar em resposta às variações ambientais proporciona critérios importantes para analisar a plasticidade morfológica e fisiológica em relação às adaptações ao sol ou sombra, bem como gerar informações referentes ao entendimento dos aspectos ecofisiológicos

relacionados com a regeneração natural e a reintrodução de espécies arbóreas nativas no seu habitat (SANCHES *et al.*, 2009).

A folha é o órgão vegetal de maior exposição às variações do ambiente e, por essa razão, alterações nas suas características em diversos níveis podem ser observadas (CASTRO *et al.*, 2009). Dessa forma, as características anatômicas verificadas em folhas de espécies arbóreas sujeitas à elevada irradiância, como é o caso das espécies pioneiras, podem ocorrer no sentido de reduzir os efeitos da fotoinibição que eventualmente pode causar danos as folhas pré-existentes (YAMASHITA *et al.*, 2000). As folhas dessa categoria sucessional são comumente mais espessas, possuem menor área foliar específica e maior densidade estomática (BOEGER *et al.*, 2009; MATOS *et al.*, 2009). As células epidérmicas, do mesmo modo que a cutícula, aumentam em espessura, e conseqüentemente, dificultam a perda de água e o aumento da temperatura foliar sob elevada irradiância (CASTRO *et al.*, 2009; ROSSATO e KOLB, 2010; SABBI *et al.*, 2010).

Em folhas expostas a baixas intensidades de irradiância, como é o caso das espécies não pioneiras em seu estágio inicial de crescimento, pode ocorrer alongamento significativo do parênquima lacunoso. E, também, aumento na síntese de clorofila *b* e pigmentos fotossintéticos acessórios, como os carotenoides, intensificando a capacidade de absorção de luz no ambiente sombreado (REGO e POSSAMAI, 2006; MARTINAZZO *et al.*, 2007; MENGARDA *et al.*, 2012). Estes ajustes verificados em espécies pioneiras e não pioneiras sob condições de irradiância contrastante otimizam a sobrevivência das espécies por resultarem em melhor uso da radiação disponível tanto em ambientes com elevada irradiância quanto em ambientes sombreados (ALVARENGA *et al.*, 2003; CARVALHO *et al.*, 2006).

Apesar da maioria dos estudos serem focados na estrutura foliar, a anatomia do caule tem sido utilizada para a compreensão dos efeitos dos fatores ambientais na estrutura anatômica do lenho (ALVES e ANGYALOSSY-ALFONSO, 2000; DICKISON, 2000). Fatores como intensidade luminosa, seca, inundação, altitude, latitude, constituição do solo e poluição podem alterar

significativamente a estrutura anatômica do xilema secundário (COSTA *et al.*, 2009).

O crescimento do caule de uma espécie arbórea é influenciado por dois principais fatores: o fluxo de água e a sustentação da planta (ANGYALOSSY *et al.*, 2005). De acordo com Poorter *et al.* (2010), o xilema é constituído pelo desenvolvimento de elementos de vaso que promovem o fluxo axial da água; do parênquima com células vivas que armazenam carboidratos, promovem transporte radial de substâncias; e de fibras relacionadas à sustentação. O padrão de investimento nesses três tipos de tecido pode variar de acordo com a necessidade da planta sob influência de fatores ambientais.

As respostas das espécies vegetais sujeitas a diferentes níveis de luminosidade proporcionam modificações na estrutura morfológica e anatômica do caule, especialmente no tecido xilemático (HOFFMAN e SCHWEINGRUBER, 2002; CAQUET *et al.*, 2009; RAIMONDO *et al.*, 2009). Estudos relacionados à anatomia do lenho mostram que as principais modificações ocorrem na densidade, diâmetro e comprimento de vasos, comprimento e espessura da parede das fibras e composição do parênquima axial (HOFFMAN e SCHWINGRUBER, 2002; RAIMONDO *et al.*, 2009). Como a principal função do tecido xilemático é a condução de água até as folhas, é necessário que o tecido apresente mecanismos que permitam a sua eficiência e ainda, que evitem a interrupção do fluxo por embolia (LINDORF, 1994). Plantas em ambientes secos, muito ensolarados ou muito frios são sujeitas ao embolismo, o que está diretamente relacionado à disponibilidade hídrica (COSTA *et al.*, 2009; CAQUET *et al.*, 2009; CHOAT *et al.*, 2011).

3.2.2 Pigmentos Cloroplastídicos

Os pigmentos cloroplastídicos estão relacionados com a eficiência fotossintética dos vegetais e, deste modo, são essenciais para o crescimento da planta, além de estarem envolvidos com a adaptação das plantas a diversos ambientes (SOUZA *et al.*, 2011). As concentrações de clorofila e de carotenoides, assim como a proporção entre as clorofilas *a* e *b*, podem variar significativamente em função da intensidade de irradiância (CARVALHO *et al.*,

2006; BOEGER *et al.*, 2009). No entanto, a maioria dos estudos associados com a concentração de pigmentos cloroplastídicos enfoca apenas a plasticidade das espécies de diferentes grupos funcionais quanto a aclimatação em resposta a alterações na intensidade da luz incidente (LICHTENTHALER e BABANI, 2007; LAGE-PINTO *et al.*, 2012), havendo uma certa carência de trabalhos que façam a distinção precisa das concentrações dos pigmentos cloroplastídicos entre espécies pioneiras e não pioneiras.

Rego e Possamai (2006), em um estudo do efeito do sombreamento sobre a espécie não pioneira *Cariniana estrellensis* (Raddi) Kuntze (Lecythidaceae), observaram maiores teores de clorofila *a* e *b* no sombreamento intenso. Martinazzo *et al.* (2007) verificaram na espécie não pioneira *Eugenia uniflora* L. (Myrtaceae) maiores teores de clorofila em sombreamento moderado, como um mecanismo compensatório à menor disponibilidade de luminosidade. Essa diferença na concentração desses pigmentos se deve a um ajuste fisiológico das plantas ao sombreamento intenso, o que amplia a eficiência da captura de luz (SCALON *et al.*, 2002; MARENCO e LOPES; 2009; LENHARD *et al.*, 2013). As folhas expostas à elevada disponibilidade luminosa respondem à esta condição geralmente reduzindo a quantidade de clorofila que compõe o complexo antena (LICHTENTHALER e BABANI, 2007; SARIJEVA *et al.*, 2007).

A relação entre as clorofilas *a* e *b* é amplamente utilizada na avaliação da quantidade de luz absorvida pelos complexos coletores de luz (BAOLI *et al.*, 2005) e, segundo Lichtenthaler *et al.* (1981) esta relação é um indicador de adaptação a diferentes condições de disponibilidade luminosa. Essa razão entre as clorofilas *a* e *b* é normalmente superior em folhas sujeitas à elevada irradiância (PORTES *et al.*, 2010). Respostas semelhantes foram verificadas em outros trabalhos com espécies arbóreas pioneiras e não pioneiras (MENGARDA *et al.*, 2012; SOARES, 2012; PORTELA, 2012).

Diversos trabalhos têm demonstrado aumento nos teores de carotenoides em função da elevada disponibilidade luminosa. Gonçalves *et al.* (2001) verificaram aumento dos teores de carotenoides em espécies tropicais, bem como diminuição da relação entre o teor de clorofila total e carotenoides, em ambientes sob elevada incidência luminosa. Essa resposta também foi

encontrada em outros estudos, indicando que a diminuição desta relação pode ser um indicativo de estresse (LICHTENTHALER *et al.*, 2007).

Como os pigmentos cloroplastídicos são os responsáveis em intermediar a captação de luz externa e utilizá-la como principal fonte de energia nas reações fotoquímicas primárias da fotossíntese, as diferentes condições de luminosidade podem provocar alterações desses compostos, e conseqüentemente, prejudicar ou intensificar o aproveitamento na captação de luz (MARTINAZZO *et al.*, 2007).

3.2.3 Carboidratos Não Estruturais

O ciclo de redução do carbono resulta na produção de carboidratos, que possuem diversas funções nos vegetais, como o armazenamento e translocação de carbono. Os carboidratos também exercem proteção contra vários tipos de condições ambientais adversas, como temperaturas extremas, restrição hídrica, alta salinidade (SOUZA *et al.*, 2005) e elevada irradiância (PRICE *et al.*, 2004; NISHIKAWA *et al.*, 2005; COUÉE *et al.*, 2006).

Além de compostos protetores contra diferentes estresses, quando uma planta entra em crescimento ativo, o metabolismo de carboidratos se torna mais intenso (BORBA *et al.*, 2005). Neste sentido, o aumento do conteúdo de carboidratos em espécies sujeitas a elevada disponibilidade luminosa, como é o caso das espécies pioneiras, pode acontecer pelo aspecto protetor que estes compostos exercem na planta (COUÉE *et al.*, 2006; MENGARDA *et al.*, 2012).

Os vegetais apresentam dois diferentes tipos de carboidratos não estruturais: solúveis e insolúveis. A estrutura química e a concentração desses compostos variam entre espécies, órgãos, tecidos e células, assim como ao longo do dia, e nas diferentes estações do ano (SOUZA *et al.*, 2005). Os principais carboidratos não estruturais acumulados em caules, folhas e frutos das plantas são o amido e os açúcares solúveis redutores e não redutores. Entre os açúcares redutores, os principais são a glicose e a frutose, enquanto o principal açúcar não redutor é a sacarose. Os açúcares redutores e a sacarose formam os açúcares solúveis totais. O amido, por ser um carboidrato insolúvel, é a reserva mais rica em carbono armazenada nas plantas (TAIZ e ZEIGER, 2009).

Os monossacarídeos glicose e frutose ocorrem em todas as plantas vasculares, sendo produtos de hidrólise de seus ésteres fosfato, como também do dissacarídeo sacarose, podendo ainda derivar da hidrólise de seus polímeros de glicose e frutose, dependendo da espécie. Compõem os principais esqueletos de carbono para a síntese de intermediários dessas vias, e ainda são unidades para a síntese de oligo e polissacarídeos (SOUZA *et al.*, 2005). A Figura 01 apresenta a estrutura química de alguns dos principais carboidratos não estruturais encontrados em plantas superiores.

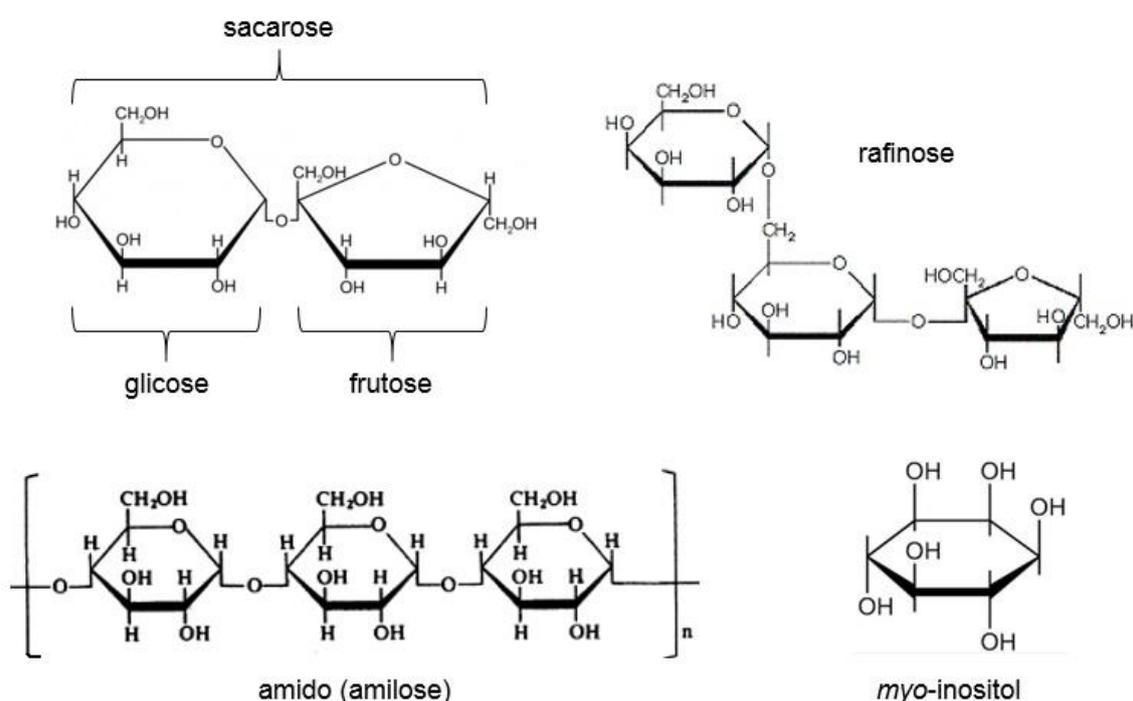


Figura 01: Estrutura química de alguns dos principais carboidratos não estruturais encontrados em plantas superiores (adaptado; SOUZA *et al.* 2005).

Os carboidratos são importantes constituintes da massa seca e substrato para a respiração (LEGROS *et al.*, 2009), e seu metabolismo exerce papel fundamental no estabelecimento das espécies (SOUZA *et al.*, 2004). Esses compostos participam intensamente do metabolismo celular, podendo ser utilizados com finalidade de reserva e de geração de energia para as plantas. Além disso, os carboidratos estão relacionados com as características do ambiente em que as plantas se estabeleceram ou com determinado tipo de estresse ocorrendo, pelo menos, em uma fase do desenvolvimento vegetal (SOUZA *et al.*, 2005).

Alguns trabalhos demonstram que a maior disponibilidade de luminosidade estimula o aumento da concentração dos carboidratos não estruturais. Nos trabalhos de Souza *et al.* (2004) e Reyes *et al.* (1996) com monocotiledôneas foi verificado aumento na concentração de amido e açúcares solúveis sob elevada irradiância. Este mesmo padrão de aumento da concentração dos carboidratos não estruturais em resposta à elevada disponibilidade luminosa foi também observado em dicotiledôneas (CASAGRANDE JR *et al.*; 1999; FRANK *et al.*, 2001).

O amido é o carboidrato de reserva mais abundante nas espécies vegetais em termos de quantidade, universalidade e distribuição em diferentes espécies. Este polissacarídeo de reserva é constituído por diferentes polímeros de glicose arranjados em uma estrutura semicristalina tridimensional, originando um grânulo. Nos cloroplastos, os substratos para a síntese de amido são a glicose 1-fosfato e o ATP, que após ação da enzima ADP glicose pirofosforilase originará ADP-glicose. Este resíduo de glicose será adicionado ao final não redutor da cadeia de glicanos via ligações α -1,4 e liberando o ADP. As ligações α -1,6 são responsáveis pela ramificação do polímero de amido e acontecem quando enzimas de ramificação do amido agem sobre a cadeia (TRETHERWEY e SMITH, 2000).

Os açúcares solúveis como glicose, frutose e sacarose são capazes de atuar com função antioxidante sob condições ambientais adversas, tais como o excesso ou escassez de luminosidade (PRICE *et al.*, 2004; NISHIKAWA *et al.*, 2005; COUÉE *et al.*, 2006). A sacarose é um carboidrato com grande facilidade de circulação entre os tecidos da planta, por ser menos susceptível à quebra enzimática devido às suas propriedades físicas (LAMBERS *et al.*, 2008). Este açúcar é composto por uma molécula de glicose e outra de frutose e, sua síntese ocorre no citosol. Esse dissacarídeo é o principal produto da fotossíntese, respondendo por boa parte do carbono que é fixado nas folhas (DENNIS e BLAKELEY, 2000).

A sacarose apresenta um importante papel como açúcar de transporte de curta e longa distância na maioria das espécies arbóreas. Isso ocorre, principalmente, pela característica não redutora que este composto apresenta.

Os átomos de carbono anomérico da glicose e da frutose estão envolvidos na ligação glicosídica, impedindo os grupos redutores destes dois açúcares de sofrerem oxidação. Duas enzimas-chaves são encontradas como principais reguladoras do fluxo de sacarose: frutose 1,6 bifosfatase atuando na formação da frutose 6-fosfato e sacarose fosfato sintase atuando na etapa final da síntese (MAGEL *et al.* 2000).

O nucleotídeo açúcar uridina difosfato glicose (UDP-glicose) é o substrato para diversas reações metabólicas na planta, como a síntese de sacarose. A reação que ocorre entre a glicose 1-fosfato e o nucleotídeo uridina trifosfato é catalisada pela enzima UDP-glicose pirofosforilase, originando a UDP-glicose e liberando fosfato inorgânico (DENNIS e BLAKELEY, 2000). A UDP-glicose e frutose 6-fosfato são convertidas em sacarose 6-fosfato através da atividade da sacarose fosfato sintase. Em seguida, a enzima sacarose fosfato fosfatase retira o fosfato do carbono 6, dando origem à sacarose (MAGEL *et al.* 2000).

Os teores e a dinâmica dos carboidratos solúveis podem ser reconhecidos como sinalizadores de uma condição de estresse ou ainda serem alterados a partir da necessidade da planta em se adaptar a uma nova condição ambiental (SMEEKENS, 2000). A variação do conteúdo caulinar dos carboidratos solúveis pode indicar que estes compostos estejam relacionados a mecanismos adaptativos em resposta a determinados tipos de estresses, além de ter o seu papel como reserva (WÜRTH *et al.*, 2005; CUZZUOL e CLIPPEL, 2009; MENGARDA *et al.*, 2012).

3.2.4 Polímeros de Parede Celular

Os polímeros de parede celular de espécies arbóreas pioneiras e não pioneiras geralmente é baseado apenas em hipóteses sobre a densidade da madeira destas espécies, faltando informações sobre a proporção da composição destes constituintes entre estas classes funcionais. Estes estudos constataam que as espécies pioneiras apresentam menores densidades associada ao seu acelerado crescimento, enquanto espécies não pioneiras apresentam maiores densidades relacionada ao seu crescimento mais lento (KING *et al.*, 2005; POORTER *et al.*, 2008; 2010).

A parede celular é uma das principais estruturas que diferencia a célula vegetal da célula animal. É composta por agrupamentos de macromoléculas de natureza heterogênea, com composição química muito diversificada (Figura 02). A combinação entre as três principais frações (celulose, hemicelulose e lignina) é tanta que impõe dificuldades para a recuperação dos açúcares constituintes na forma de monômeros. Além dos polissacarídeos, existem também substâncias fenólicas, tal como a lignina, e pequenas quantidades de proteínas, pectinas e extrativos (materiais não-estruturais solúveis). O percentual composicional dos polímeros de parede celular (Tabela 02) pode variar de espécie para espécie e são influenciados pelas diferentes fases do desenvolvimento do ciclo de vida (SUN e CHENG, 2002).

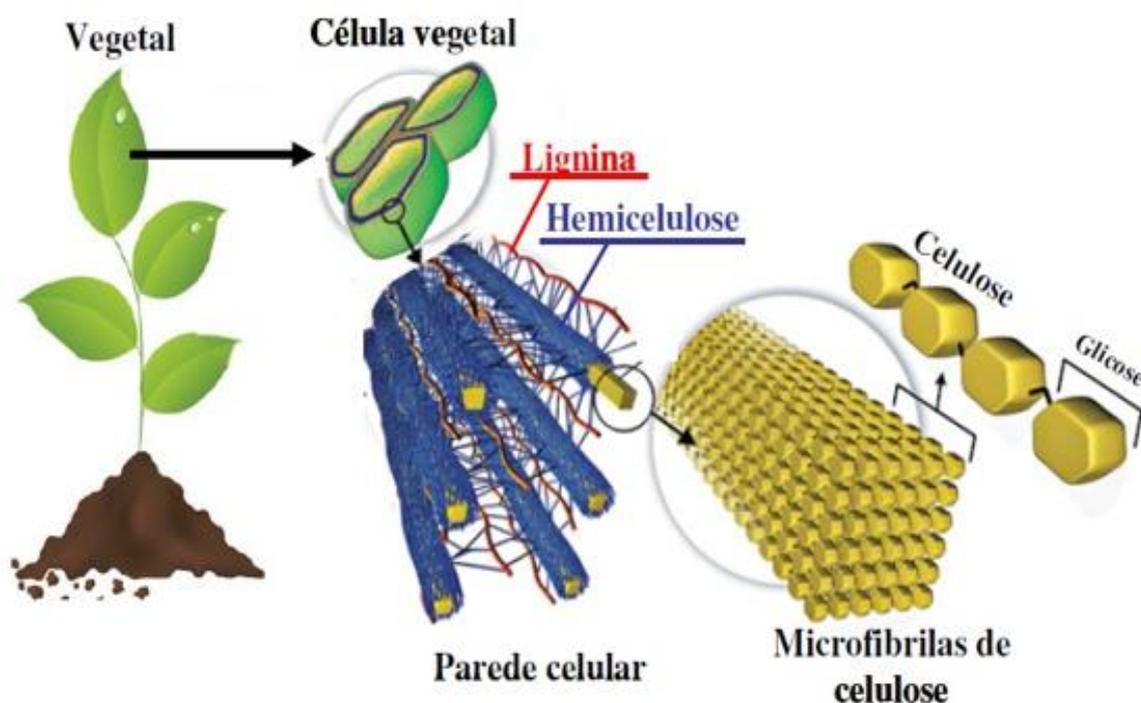


Figura 02: Arquitetura da parede celular vegetal (adaptado; RITTER, 2008).

Tabela 02: Conteúdo dos polímeros de parede celular (celulose, hemicelulose e lignina) em resíduos agrícolas (SUN e CHENG; 2002).

Material Lignocelulósico	Celulose (%)	Hemicelulose (%)	Lignina (%)
Caules de arbóreas	40 - 55	24 - 40	18 - 25
Casca de nozes	25 - 30	25 - 30	30 - 40
Espiga de milho	45	35	15
Gramíneas	25 - 40	35 - 50	10 - 30
Papel	85 - 99	0	0 - 15
Palha de trigo	30	50	15
Lixo sortido	60	20	20
Sementes de algodão	15 - 20	80 - 85	0
Jornal	80 - 95	5 - 20	0
Capim Bermuda	25	36	6
Muda de grama	45	31	12

Dois tipos diferentes de parede celular podem ser observados: a parede celular primária e a secundária, as quais se distinguem por suas composições químicas e pelo período em que surgem no decorrer do desenvolvimento celular. A parede celular primária é originada a partir da divisão celular e aumenta sua área de superfície durante a expansão da célula. A parede celular secundária é formada internamente à primária na diferenciação, proporcionando uma estrutura complexa adaptada à função da célula. A parede primária está presente em todas as células vegetais, enquanto a parede secundária, a qual se diferencia pela presença de lignina, ocorre somente em alguns tipos de células (CARPITA e McCANN, 2000).

A parede primária em grande parte dos vegetais é composta por estruturas independentes (CARPITA e GIBEAUT, 1993). A proporção de cada constituinte em uma parede celular primária de dicotiledôneas é de, aproximadamente, 25 a 40% de celulose, 15 a 25% de hemiceluloses, 15 a 40% de substâncias pécticas e 5 a 10% de proteínas e traços de compostos fenólicos. Este tipo de parede é produzida por células em expansão, podendo, assim, se alongar com crescimento difuso ou orientado (AVIGAD e DEY, 1997). A parede celular secundária encontra-se entre a primária e a membrana plasmática da

célula, conferindo rigidez aos tecidos vegetais. A conversão da parede primária em secundária ocorre após o processo de lignificação. Este processo interrompe o crescimento celular, indicando o amadurecimento celular e a diferenciação terminal da célula (PLOMION *et al.*, 2001). A constituição química deste tipo de parede, em dicotiledôneas, passa a ser de 40 a 45% de celulose, 15 a 35% de hemiceluloses e 15 a 30% de lignina e traços de pectinas (AVIGAD e DEY, 1997).

Os polissacarídeos da parede celular encontram-se localizados em duas interfases: a microfibrilar e a matricial. A fase microfibrilar diferencia-se da matricial pelo elevado grau de cristalinidade e por possuir uma composição química homogênea. Esta estrutura é composta essencialmente por microfibrilas de celulose, normalmente arranjadas em um padrão helicoidal, organizadas em estruturas longas e finas, unidas por pontes de hidrogênio (Figura 02) (ROLAND *et al.*, 1992). Ao longo das microfibrilas de celulose estão os polissacarídeos hemicelulósicos, localizados em regiões disformes sem orientação regular (Figura 02). A fase matricial é constituída de polissacarídeos, compostos pécticos, glicoproteínas e substâncias fenólicas. A composição desta estrutura varia em função dos tipos de células, camadas da parede celular e fases do ciclo celular (CARPITA e GIBEAUT, 1993).

A parede celular é uma estrutura complexa e dinâmica presente em quase todas as células vegetais. Esta estrutura está relacionada a processos fisiológicos como proporcionar forma e tamanho às células, conferir resistência mecânica aos tecidos, controlar a expansão celular, atuar sobre o transporte intercelular, participar da sinalização e do reconhecimento entre células, armazenar compostos de reserva e moléculas reguladoras e sinalizadoras que controlam variados processos fisiológicos celulares, além, também, de participar dos mecanismos de proteção contra microrganismos (BUCKERIDGE *et al.*, 2008). Nos modelos mais recentes, é proposto que os polímeros da parede celular constituem quatro domínios independentes: celulose-hemicelulose, pectinas, proteínas (CARPITA e GIBEAUT, 1993) e o complexo lignina-carboidratos (LAWOKO *et al.*, 2005; 2006). O domínio celulose-hemicelulose atua sobre a forma celular, enquanto o domínio péctico define o grau de porosidade da parede, proporcionando o fornecimento de moléculas

sinalizadoras que emitem mecanismos de defesa e armazenam cálcio ao longo da planta. O domínio proteico, por sua vez, tem um importante papel estrutural e enzimático na parede (BUCKERIDGE *et al.*, 2008). O complexo lignina-carboidratos fortalece e enrijece a parede celular, conferindo uma maior resistência mecânica (LAWOKO *et al.*, 2005; 2006).

A celulose é considerada o polímero vegetal mais abundante, representando cerca de 15 a 30% da massa seca de paredes celulares primárias e até 40% de massa seca de paredes celulares secundárias (STICKLEN, 2008). Este polissacarídeo é um glucano que apresenta longas cadeias de glicose onde os monômeros são unidos por ligações glicosídicas do tipo β -1,4 que necessitam de mais energia para serem quebradas quando comparadas as ligações α -1,4 (BUCKERIDGE *et al.*, 2008). Na estrutura química da celulose, dois monômeros de glicose adjacentes são ligados pela eliminação de uma molécula de água. Esta ligação química dá origem à molécula de celubiose, uma unidade repetitiva da celulose. A molécula de celulose pode conter até 10.000 unidades de glicose (FENGEL e WEGENER, 1989). A celulose, quando hidrolisada com ácidos ou enzimas, produz especialmente monômeros de glicose (Figura 03) (KLEMM, 2005).

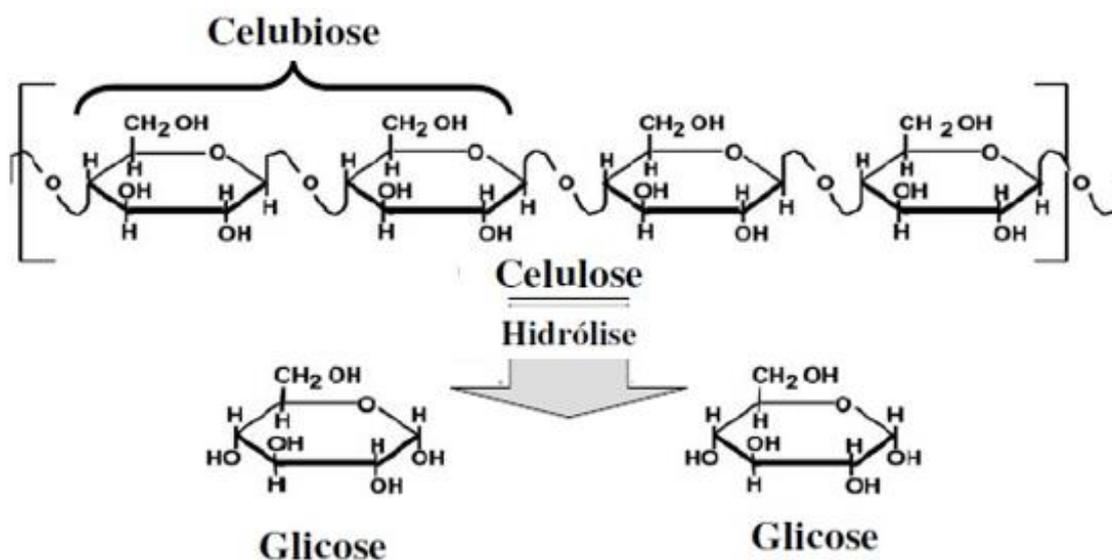


Figura 03: Estrutura da fração celulósica (adaptado; FENGEL e WEGENER, 1989).

O polímero de celulose sofre pouca degradação ao longo do ciclo de vida do vegetal, sendo mobilizado apenas em circunstâncias específicas como, por exemplo, na degradação de paredes celulares de reserva encontradas em sementes ou ainda na formação de aerênquima durante condições de alagamento (BUCKERIDGE *et al.*, 2008). De acordo com esses autores, ao contrário do amido, este polissacarídeo não apresenta ramificações em sua cadeia. A linearidade da molécula, juntamente com a disposição antiparalela de duas cadeias de celulose, facilita a formação de inúmeras pontes de hidrogênio entre as hidroxilas das moléculas de glicose, impedindo fortemente a hidratação do polissacarídeo.

A classe de glicanos que apresenta a propriedade de se ligar às microfibrilas de celulose por meio de pontes de hidrogênio é a das hemiceluloses. Os glicanos são polímeros de glicose com variáveis ligações entre as suas unidades. Estes carboidratos estruturais podem apresentar diversos níveis de ramificação, característica que influencia na solubilidade da molécula no apoplasto assim como na afinidade com as microfibrilas de celulose. As funções atribuídas às hemiceluloses são principalmente o equilíbrio das forças de tensão sofrida pelas paredes e o controle do crescimento celular (BUCKERIDGE *et al.*, 2008).

As unidades monossacarídicas constitutivas das hemiceluloses compreendem: D-xilose, D-manose, D-galactose, D-glucose, L-arabinose, ácido 4-O-metilglucurônico, ácido D-galacturônico e ácido D-glucurônico, sendo que eventualmente apresentam grupamentos O-acetil ligados às unidades pertencentes às cadeias principais e/ou laterais (Figura 04) (FENGEL e WEGNER, 1989). Estes monossacarídeos encontram-se glicosidicamente ligados, originando diferentes hemiceluloses, sendo as principais classes: arabinogalactanos, arabinoxilanos, xilanos, galactoglucomanos, glucuronoxilanos, glucomanos, mananos e xiloglucanos (KAKURÁKOVÁ *et al.*, 2000).

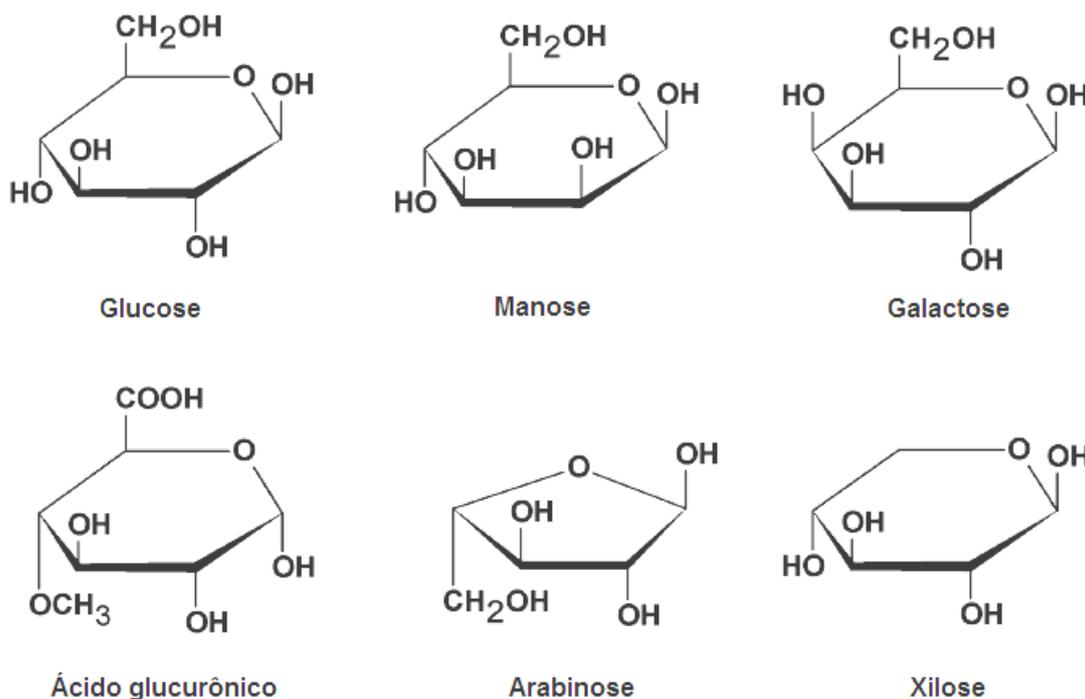


Figura 04: Estrutura química de alguns monossacarídeos constituintes das hemiceluloses (SJÖBERG, 2002).

O componente principal da fração hemicelulósica é o polímero xilano. As unidades de xilose compõem este polímero e são facilmente hidrolisadas com ácidos minerais (EBRINGEROVÁ e HEINZE, 2000). O xilano apresenta uma estrutura linear constituída de xilopiranosil unidos por ligações β -1,4 na cadeia principal e diferentes unidades monossacarídicas, como mostra a Figura 05. Esta hemicelulose une-se através de ligações cruzadas com as microfibrilas de celulose e lignina, originando o complexo lignina-carboidratos (*Lignin-Carbohydrate Complexes* – LCC) (LAWOKO *et al.*, 2005; 2006). Cerca de 5% dos componentes da parede primária e 20% da parede secundária é constituída de xilanos (AWANO *et al.*, 2001). Nas cadeias de xilanos pode ocorrer algumas substituições em determinadas ramificações com grupos de 4-O-metilglucurônico, ácido glucurônico, acetil e arabinose. A natureza desta substituição dos grupos nas cadeias de xilanos é dependente do material vegetal. Os agrupamentos com carboidratos, no caso arabinose, são preferencialmente encontrados em madeiras de coníferas, e nas madeiras de folhosas são encontrados principalmente grupos de ácidos urônicos (glucurônico) (EBRINGEROVÁ e HEINZE, 2000).

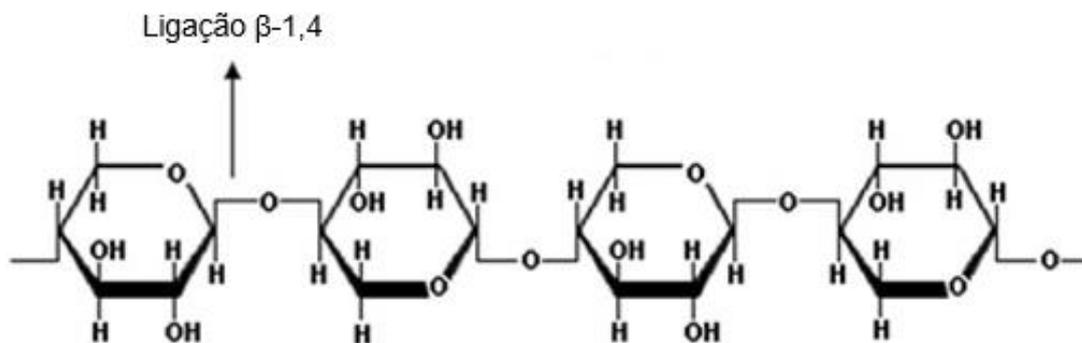


Figura 05: Estrutura química dos xilanos (adaptado; GOMES *et al.* 2007).

Na parede primária das angiospermas, as duas principais hemiceluloses encontradas são o xiloglucano (XG) e o glucoronoarabinoxilano (GAX), sendo o primeiro presente em todas as eudicotiledôneas e o segundo aparecendo na maioria das monocotiledôneas (CARPITA e McCANN, 2000). O xiloglucano é formado por uma cadeia principal de glicoses com ligação β -1,4 e ramificações de xiloses com ligação α -1,6 (FRY *et al.*, 1993). Ocorre também um outro nível de organização no polímero ao qual estudiosos da área de parede celular se referem como estrutura fina. Esta determina o padrão de distribuição das diversas ramificações, conferindo grande complexidade a alguns polissacarídeos. Estudos sobre a estrutura fina dos xiloglucanos mostram que os polímeros originados de tecidos de eudicotiledôneas possuem uma distribuição de ramificações que resultam em unidades oligossacarídicas específicas quando estes polímeros são tratados com endo- β -glucanases. A ação desta enzima resulta em quatro unidades oligossacarídicas, que por sua vez são consideradas os blocos constitutivos formadores do xiloglucano: o XXXG, XLXG, XXLG e XLLG (BUCKERIDGE *et al.*, 2000). A chave de nomenclatura destes oligossacarídeos é a seguinte: o G significa que naquela posição há uma glicose não ramificada na cadeia principal; o X significa que a glicose da cadeia principal possui ramificação de xilose e o L indica a presença de uma galactose ligada à xilose que é ramificada a partir da cadeia principal de glicose (Figura 06).

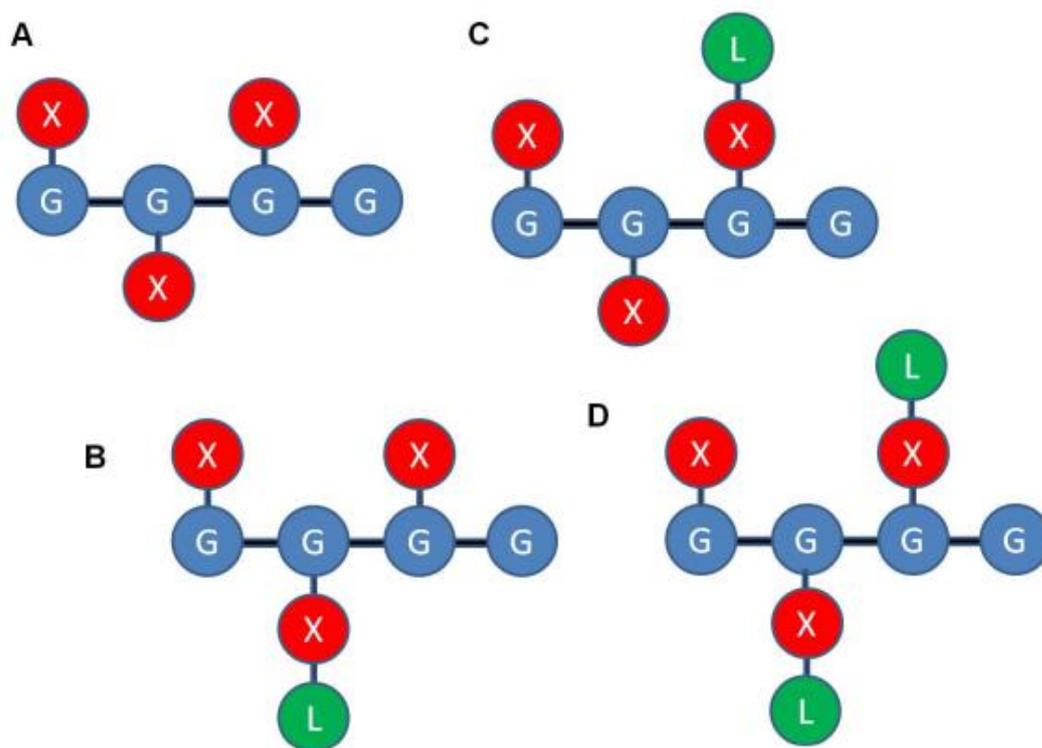


Figura 06: Oligossacarídeos típicos obtidos através da hidrólise enzimática de xiloglucanos com celulase. Cadeia de glicoses (esferas azuis), com ramificações com xiloses (esferas vermelhas) e estas com galactoses terminais (esferas verdes). A nomenclatura do oligossacarídeo sempre se dá pelo último sacarídeo em cada subunidade, ou seja, (A) XXXG, (B) XLXG, (C) XXLG e por fim (D) XLLG, respectivamente (FRY *et al.*, 1993).

As hemiceluloses estão unidas às microfibrilas de celulose através de pontes de hidrogênio e promovem a associação de microfibrilas de celulose adjacentes. Esta interação está relacionada com as propriedades mecânicas da parede celular (WHITNEY *et al.*, 1999). As cadeias de hemiceluloses expressam uma maior susceptibilidade à hidrólise ácida quando comparado com a celulose. Os polímeros de hemicelulose apresentam maior acessibilidade aos ácidos minerais. Isso se deve, principalmente, à característica disforme destas estruturas (FENGEL e WEGENER, 1989). Como as paredes celulares são compostas de polímeros que interagem entre si, originando motivos arquiteturais, é de grande importância conhecer as estruturas químicas destes polímeros. Deste modo, poderá ser compreendida melhor as suas interações e

com isto manipulá-las para a obtenção de diversos resultados tecnológicos (BUCKERIDGE *et al.*, 2008).

As pectinas são polissacarídeos ácidos exclusivamente hidratados que se apresentam embebidos às microfibrilas de celulose e hemiceluloses, no entanto, não estando ligadas covalentemente as mesmas. A cadeia central é composta por resíduos de ácido galacturônico unidos por ligações α -1,4. Unidades de ramnose podem interromper esta cadeia, dando origem a longas ramificações com galactanos e arabinanos (BUCKERIDGE *et al.*, 2008). As pectinas apresentam como principais funções a determinação da porosidade da parede, modificações de cargas que modulam o pH e o balanço de íons e ainda como moléculas que identificam a presença de patógenos, herbívoros ou de possíveis relações simbióticas (CARPITA e McCANN, 2000).

Além da presença de carboidratos e proteínas, na parede celular também podem ser encontrados compostos fenólicos, como a lignina. A lignina é encontrada nas paredes celulares de diversos tipos de tecidos de sustentação e vasculares, principalmente em traqueídes e elementos de vaso. A lignina é depositada durante o espessamento da parede secundária, mas também pode ocorrer na parede primária e lamela média, em contato com a celulose e hemiceluloses já existentes. Entretanto, a deposição deste composto que confere rigidez à parede é encontrada predominantemente em paredes secundárias (BUCKERIDGE *et al.*, 2008). Depois da celulose, a lignina é o composto orgânico mais abundante na natureza (DOS SANTOS *et al.*, 2008).

A lignina é um biopolímero complexo, com estrutura de natureza aromática e alto peso molecular. É composta por várias combinações de três tipos de resíduos: a lignina guaiacila (G), siringila (S) e *p*-hidroxifenila (H) (FENGEL e WEGENER, 1989). É originada a partir da oxidação desidrogenativa de três álcoois monolignóis (coniferílico, sinapílico e *p*-cumarílico), respectivamente (Figura 07) (RAES *et al.*, 2003). No decorrer do desenvolvimento da célula, a lignina é incorporada na célula vegetal como um dos últimos componentes da parede celular, envolvendo as microfibrilas celulósicas (Figura 02), fortalecendo e enrijecendo a parede celular, assim conferindo maior resistência mecânica da parede celular (NOVAES *et al.*, 2010).

A lignina, também, possui um papel importante, tanto no transporte de água e nutrientes das plantas, como protegendo os tecidos dos vegetais da degradação química e/ou biológica (CANILHA *et al.*, 2010).

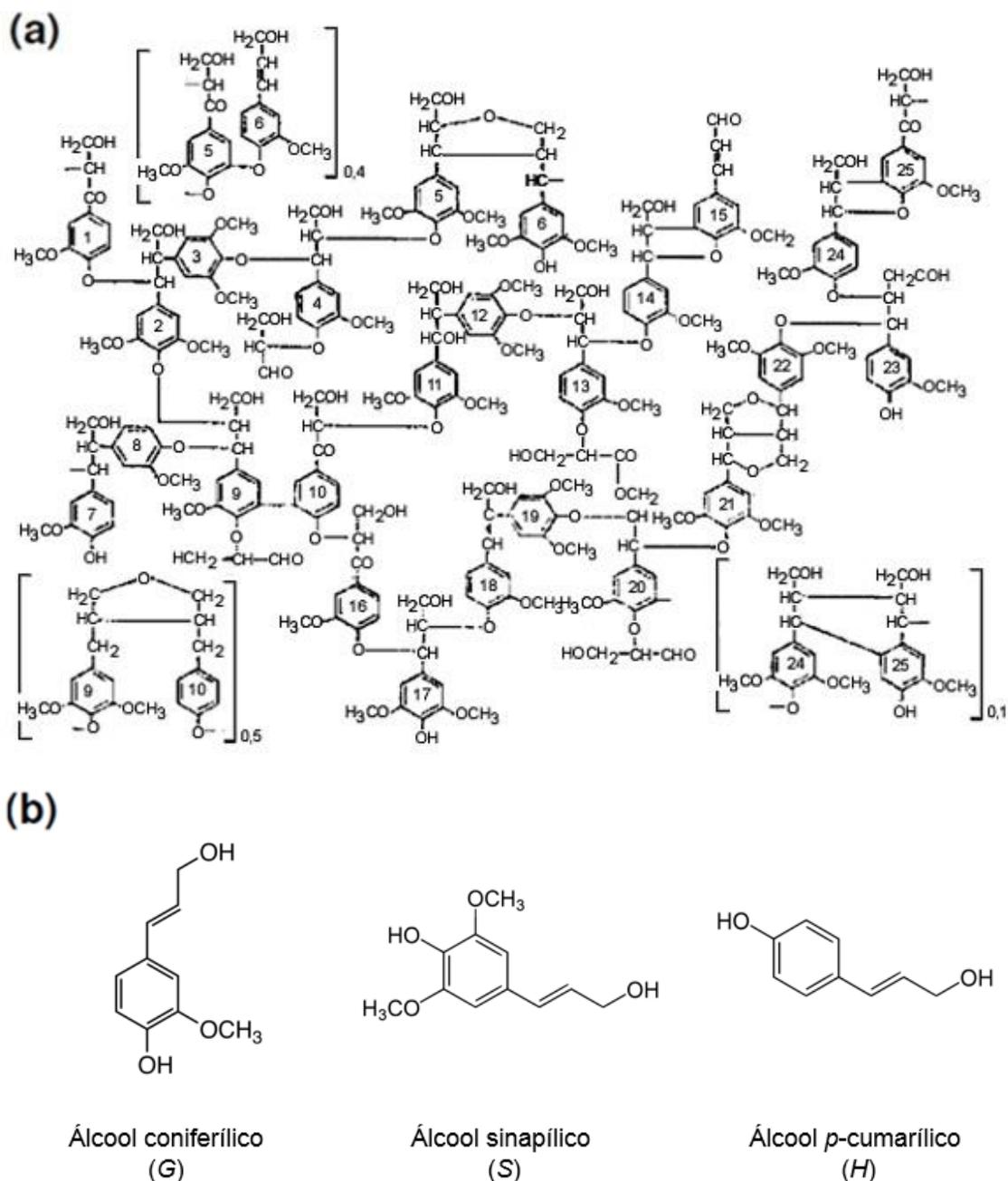


Figura 07: Esquema estrutural para a lignina da madeira moída de *Eucalyptus grandis* (a); estruturas dos álcoois precursoros das unidades fenilpropanóides guaiacila (G), siringila (S) e *p*-hidroxifenila (H) (b) (adaptado; PILÓ-VELOSO *et al.*, 1993).

A composição da lignina varia significativamente entre as espécies, dentro da espécie e também na mesma planta. Pode ocorrer variações de célula para célula de acordo com a localização da parede celular, além de variar conforme o estágio de desenvolvimento da célula e do tecido, e ainda com a influência de estresses ambientais (NOVAES *et al.*, 2010). A sua arquitetura molecular diferencia-se segundo a origem botânica dos táxons, entre células e até mesmo dentro da parede celular, respondendo aos efeitos abióticos e bióticos do ambiente (MOURA *et al.*, 2010). Este composto fenólico ocorre na parede celular de espécies arbóreas em diferentes composições, como, por exemplo: em madeiras com maior densidade, de 25 a 35% e em madeiras com menor densidade, de 18 a 25% (LARS *et al.*, 2000).

Variações nos polímeros de parede celular pode ocorrer devido estresses abióticos como: baixas temperaturas, luminosidade, radiação UV-B, CO₂, ozônio, deficiência hídrica, nutrição mineral e metais pesados. Assim como também ocorre variações associadas com estresses bióticos: bactérias, fungos e vírus (MOURA *et al.*, 2010). Há indicações de que espécies pioneiras apresentem menores proporções nos polímeros de parede celular do que espécies não pioneiras, principalmente, devido à menor densidade na madeira presente nestas espécies, proporcionada pelo seu rápido crescimento e estabelecimento na dinâmica florestal (KING *et al.*, 2005; POORTER *et al.*, 2008; 2010).

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 – Área de Estudo

Este trabalho foi realizado em um fragmento da Floresta Atlântica no tabuleiro da Reserva Natural Vale, localizado no município de Sooretama – ES, Brasil (Paralelos 19° 06 - 19° 18 de latitude sul e - entre os meridianos 39° 45 - 40° 19 de longitude W Gr.) (Figura 08).

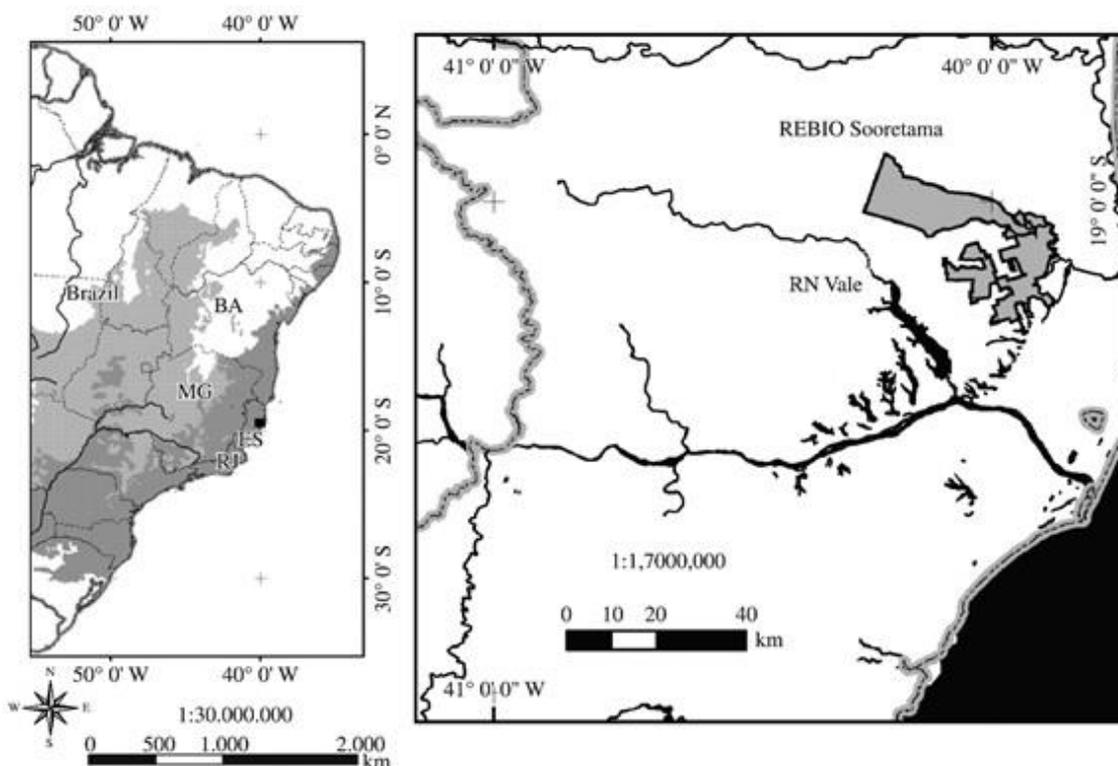


Figura 08: Reserva Natural Vale, município de Sooretama – ES, Brasil (Paralelos 19° 06' 18" S e 39° 45' 19" O) (adaptado; NEMÉSIO, 2013).

A diversidade do clima na região deve-se principalmente à grande extensão de baixadas costeiras e diferenças de relevo. De acordo com Peixoto e Gentry (1990), o clima da região é classificado como tropical úmido (Am), com precipitação pluviométrica média anual de 1.403 mm e uma estação seca de maio a setembro, chegando a apenas 33 mm de chuva nos meses correspondentes de julho e agosto. A temperatura média anual é de 23,6°C, com mínima em julho (15,6°C) e máxima em fevereiro (27,4°C). Segundo os mesmos autores, a área estudada está localizada no limite entre o úmido e o levemente sazonal.

De acordo com o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) (2004), a vegetação presente na região norte do estado do Espírito Santo ocorre sob um clima ombrófilo durante o ano, sem períodos biologicamente secos e, com até dois meses de umidade, devendo ser classificada como Floresta Ombrófila Densa. Especificamente com relação a área de estudo, a vegetação pode ser enquadrada como Floresta Ombrófila Densa de Terras Baixas. Esse tipo de vegetação é comumente chamada de *floresta dos tabuleiros*. Segundo Rizzini (1997), esta vegetação pode ser definida como o corpo florestal que ocorre desde Pernambuco até o estado do Rio de Janeiro. O autor caracteriza sua área central como grandiosa e define sua distribuição ocorrendo desde a região sul da Bahia até o norte do Espírito Santo. O nome *tabuleiro* reporta-se a topografia do lugar, já que se trata de uma faixa suavemente ondulada ou quase plana, elevando-se de 20 a 200 m acima do nível do mar.

4.2 – Delineamento Experimental

Espécies de grande interesse para o reflorestamento e bem definidas quanto à posição na sucessão florestal, conforme indicações seguras da literatura especializada (LORENZI, 1992; 2002; 2008), foram demarcadas na Reserva Natural Vale, município de Sooretama – ES, Brasil. Foram selecionadas três espécies arbóreas da classe das pioneiras (Figura 09) e três não pioneiras (Figura 10) bem representativas na Reserva e de fácil localização, sendo demarcada uma população amostral de sete indivíduos por espécie.

Em campo, foram realizadas as medições de altura das árvores e, com auxílio de uma fita métrica, a circunferência à altura do peito (CAP), para posterior cálculo do diâmetro à altura do peito (DAP) dos indivíduos. Folhas completamente expandidas do terceiro ao quarto nó apical do ramo da copa foram coletadas com o auxílio de um podão aéreo. Para as avaliações do caule, foram utilizados segmentos caulinares retirados do tronco com auxílio de um trado de incremento e manual no nível do diâmetro do peito.

As amostras foliares e caulinares foram congeladas em nitrogênio líquido e parte armazenadas em caixa térmica com gelo e transportadas para o Laboratório de Fisiologia Vegetal do Departamento de Ciências Biológicas da

Universidade Federal do Espírito Santo, onde foram armazenadas em ultrafreezer (-80°C).



Figura 09: Espécies arbóreas pioneiras demarcadas na Reserva Natural Vale neste estudo. (A) *Senna multijuga* var. *verrucosa* (Vogel) H.S. Irwin & Barneby – Caesalpiniaceae, (B) *Miconia cinnamomifolia* (DC.) Naudin – Melastomataceae, (C) *Bixa arborea* Huber – Bixaceae (adaptado; LORENZI, 1992; 2002; 2008).

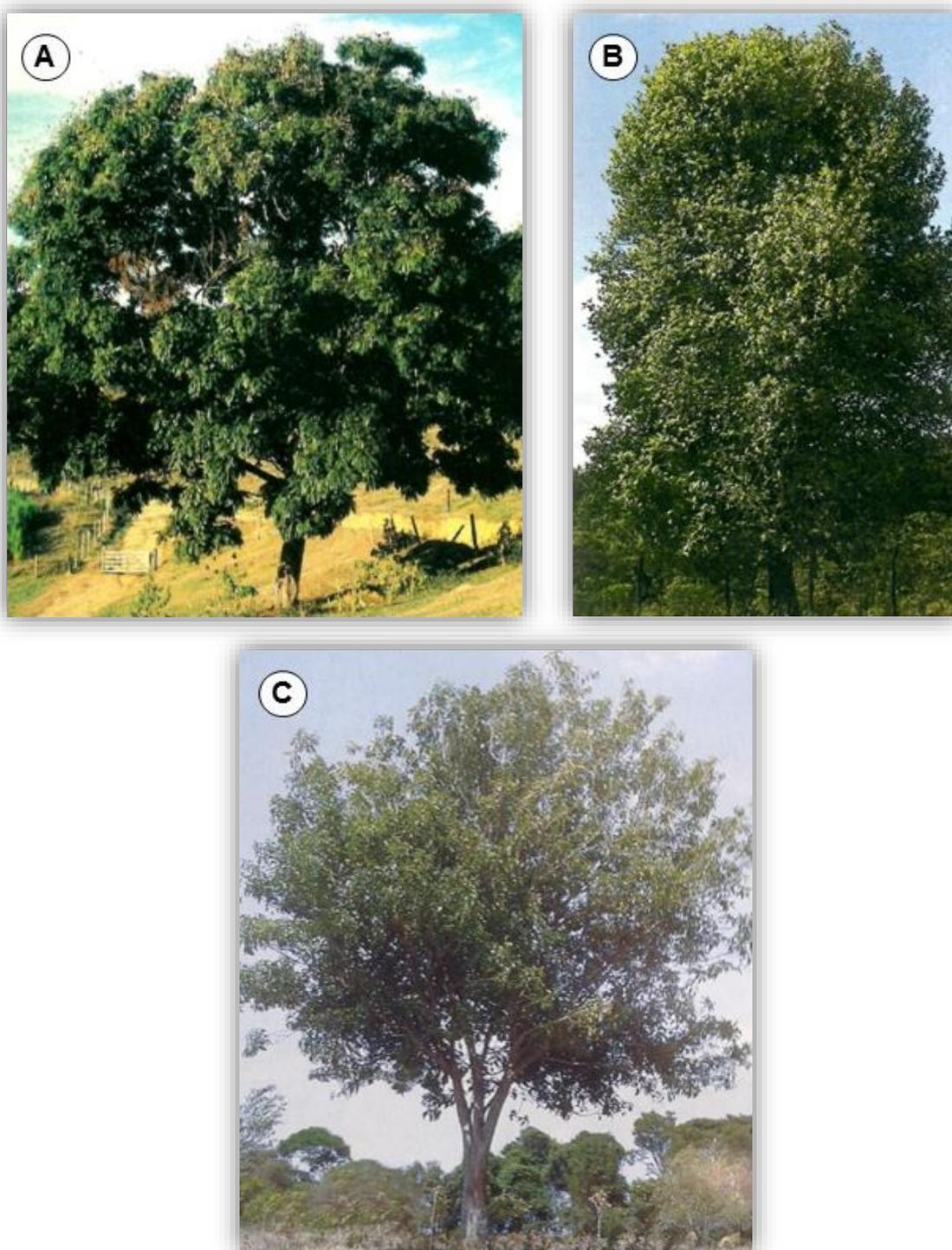


Figura 10: Espécies arbóreas não pioneiras demarcadas na Reserva Natural Vale neste estudo. (A) *Melanoxylon brauna* Schott – Caesalpiniaceae, (B) *Carpotroche brasiliensis* (Raddi) Endl. – Achariaceae, (C) *Neoraputia alba* (Nees & Mart.) Emmerich – Rutaceae (adaptado; LORENZI, 1992; 2002; 2008).

4.3 – Biometria Foliar

As folhas coletadas em campo e armazenadas em caixa térmica com gelo foram pesadas para obtenção da massa fresca e, em seguida, acondicionadas em estufa a 60°C por 4 dias, até obtenção da massa constante. Após a secagem, as folhas foram pesadas novamente para obtenção da massa seca. Para a medição da área foliar foi utilizado um scanner de geração de imagens (Area Meter, LI-COR 3100, Nebraska, EUA). Foram utilizadas 20 folhas de cada indivíduo para obtenção da massa seca e medição da área foliar, totalizando 70 folhas por espécie e 210 folhas por grupo ecológico.

Com esses dados, foram calculados a massa foliar específica (MFE = MFF/AF) segundo Hunt (1982) e o teor de água (Teor H₂O = (MFF-MSF)/AF), de acordo com Parida *et al.* (2004), sendo MFF = massa fresca da folha; AF = área da folha e MSF = massa seca da folha.

4.4 – Pigmentos Cloroplastídicos

Os teores de clorofila *a*, clorofila *b*, clorofila total, carotenoides e as razões clorofila *a/b* e clorofila total/carotenoides foram determinados utilizando 3 discos foliares (0,3 cm² de diâmetro), e para a espécie que apresentou folhas recompostas, foram utilizados três foliólulos. Os discos e foliólulos foram imediatamente colocados em tubos de vidro envoltos por papel alumínio contendo 7 mL de dimetil sulfoxido (DMSO) e incubados no escuro, em banho-maria a ±60°C por 24 horas, para a extração completa dos pigmentos. Após esse período, o volume de DMSO foi completado para 10 mL. Para a obtenção da massa seca, os discos e os foliólulos foram secados em estufa a 60°C até obtenção da massa constante.

As leituras da densidade óptica foram feitas nos comprimentos de onda de 470, 645, 663 nm em espectrofotômetro (Thermo Scientific GENESYS 10S UV-Vis Spectrophotometer, Massachusetts, EUA). As concentrações dos pigmentos foram calculadas segundo Lichtenthaler e Welburn (1983) pelas seguintes fórmulas:

$$\text{Clorofila } a = [(12,7.A_{663}) - (2,69.A_{645})].V/(1000.MS) \text{ (mg.g}^{-1} \text{ MS)};$$

$$\text{Clorofila } b = [(22,9.A_{645}) - (4,68.A_{663})].V/(1000.MS) \text{ (mg.g}^{-1} \text{ MS)};$$

Clorofila total = $[(20,2.A_{663}) - (2,69.A_{645})].V/(1000.MS)$ (mg.g⁻¹ MS);

Carotenoides = $[(1000.A_{470}) - (1,82.Chl\ a - 85,02.Chl\ b)].V/(198.1000.MS)$ (mg.g⁻¹ MS).

Onde: Chl = clorofila; A₄₇₀ = absorvância a 470 nm; A₆₆₃ = absorvância a 663 nm; A₆₄₅ = absorvância a 645 nm; V = volume da amostra (mL); MS = massa seca da amostra (g).

4.5 – Anatomia Foliar e Caulinar

Segmentos da porção mediana das folhas foram fixados em FAA 50% durante 48 horas (JOHANSEN, 1940), armazenados em álcool 70%, desidratados em série etílica crescente (70%, 80%, 90% e 100%) e incluídos em resina glicol-metacrilato (Leica Historesin®), segundo Gerrits (1991). Após secagem da resina o material incluso foi colado em blocos de madeira com o auxílio de adesivo instantâneo. Os blocos foram cortados transversalmente (10 µm de espessura) em micrótomo rotativo Jung®, com a utilização de navalhas de aço.

Foram analisadas medições da espessura total do limbo, da epiderme de ambas as faces da folha, e dos parênquimas paliçádico e lacunoso. Para a quantificação da densidade estomática (mm²) foi feita a impressão epidérmica foliar abaxial em lâminas de vidro, com o auxílio de éster de cianocrilato (Super Bonder®). As medições foram realizadas através do software analisador de imagens TSView v.6.1.3.2 (Tucsen Imaging Technology Co. Limited, Fujian, China). Os valores médios foram obtidos a partir de 20 medições para cada variável. Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) no nível de 1% de significância. As observações e a documentação fotográfica foram realizadas em fotomicroscópio (Nikon, Eclipse E200, Tóquio, Japão).

O mesmo procedimento anterior foi realizado para as amostras de segmentos caulinares. Nesse caso, o método compreende maceração do xilema (KRAUS e ARDUIN, 1997) que consiste em dissolver a lamela média para obtenção de células dissociadas do xilema secundário formando tiras no sentido longitudinal do caule, possibilitando, assim, a individualização dos diversos elementos que compõem o xilema. Os fragmentos foram transferidos para tubos

de ensaio com tampa rosqueada contendo 10 mL de solução de água oxigenada e ácido acético na proporção de 1:1 e acondicionados em estufa a 60°C por 48 horas para a dissociação completa. O material foi lavado em água comum, colorido com safrablau e armazenado em geladeira.

Foram feitas 20 medidas, por indivíduo, do comprimento do elemento de vaso, diâmetro do elemento de vaso e do lúmen do elemento de vaso, comprimento da fibra e espessura da fibra. Todas as medidas foram realizadas em fotomicroscópio (Nikon, Eclipse E200, Tóquio, Japão) com analisador semiautomático Nikon com o uso do software TSVIEW v.6.1.3.2 (Tucsen Imaging Technology Co. Limited, Fujian, China).

4.6 – Carboidratos Não Estruturais

Amostras de folhas e segmentos caulinares congeladas em ultrafreezer (-80°C) foram liofilizadas e, em seguida, pulverizadas em moinho de bola (Modelo TE-350, TECNAL, São Paulo, Brasil) e armazenadas em temperatura ambiente.

4.6.1 Carboidratos Solúveis

Para a extração de açúcares solúveis, 10 mg do pó foi pesado (Balança Analítica AB204-S/FACT Mettler Toledo, Leicester, Inglaterra) em microtubos de 2 mL e submetidos a quatro extrações subsequentes com 1,5 mL de etanol 80% em banho-maria a $\pm 80^\circ\text{C}$ durante 20 minutos e centrifugados a 13.000 rpm por 10 minutos (Eppendorf Microcentrifuge 5417R, Hamburgo, Alemanha). Repetida esta etapa por mais três vezes, o sobrenadante da quarta extração foi utilizado para determinação dos açúcares totais solúveis em fenol 5% e H_2SO_4 95-97% como descrito por Dubois *et al.* (1956) para a certificação de que todo o conteúdo de açúcar solúvel foi extraído da amostra. Os sobrenadantes foram reunidos e armazenados a -20°C . O precipitado foi transferido para estufa 50°C durante 24 horas, para completa evaporação do etanol e armazenado em temperatura ambiente para posterior análise de amido (item 4.6.2). O volume total da extração etanólica (6 mL) foi evaporado em concentrador de amostras (Thermo Scientific Express SC250EXP SpeedVac®, Massachusetts, EUA) e posteriormente ressuspendido em 1 mL com água ultrapurificada Milli-Q. Para os extratos foliares foi necessário adicionar 0,5 mL de clorofórmio 99% para o arraste de

pigmentos lipossolúveis como a clorofila. Após separação das duas fases (hidrossolúvel contendo os açúcares e lipossolúvel com pigmentos), o sobrenadante foi coletado e armazenado em microtubos congelados em -20°C .

Os extratos foram descongelados e uma alíquota de $500\ \mu\text{L}$ foi adicionada em vial para quantificação de glicose, frutose e sacarose por cromatografia líquida de troca aniônica de alta performance (HPAEC/PAD) em sistema Dionex-DX500. A coluna utilizada foi CarboPac PA1, eluída com NaOH $200\ \text{mM}$ e água ultrapurificada Milli-Q. O tempo de corrida para cada amostra foi de 25 minutos com fluxo de $1\ \text{mL}/\text{min}$, sendo que a proporção aplicada foi de 50% de cada eluente durante os primeiros 15 minutos (tempo médio para a separação de todos os picos de interesse), 100% de NaOH $200\ \text{mM}$ por 5 minutos para a limpeza da coluna e finalizando com 5 minutos com 100% de água para a regeneração. Para a curva padrão foram utilizadas concentrações de 50, 100 e $200\ \mu\text{M}$ de cada açúcar. A curva padrão foi estabelecida na sequência de corrida a cada 10 amostras a fim de evitar erros de detecção devido a variações temporais do aparelho na determinação nos tempos de retenção, bem como para detectar possíveis variações nas concentrações dos açúcares devido à degradação dos mesmos.

4.6.2 Amido

A dosagem de amido foi realizada a partir do protocolo descrito por Amaral *et al.* (2007). Após remoção dos açúcares solúveis (descrito no item 4.6.1) foram adicionados ao precipitado $0,5\ \text{mL}$ ($120\ \text{U mL}^{-1}$) de α -amilase termoestável de *Bacillus licheniformis* (cód. E-ANAAM, MEGAZYME), diluída em tampão MOPS $10\ \text{mM}$ em pH 6,5. As amostras foram incubadas a 75°C por 30 minutos. Este procedimento foi repetido mais uma vez, totalizando 120 unidades de enzima. As amostras foram resfriadas até 50°C , e então foi adicionado $0,5\ \text{mL}$ de uma solução contendo $30\ \text{U mL}^{-1}$ de amilogucosidase de *Aspergillus niger* (cód. EAMGPU, MEGAZYME) em tampão acetato de sódio $100\ \text{mM}$ em pH 4,5. As amostras foram incubadas a 50°C por 30 minutos. Este procedimento foi repetido mais uma vez.

Após as incubações descritas acima, foram acrescentados 50 µL de ácido perclórico 0,8 M para interromper a reação enzimática e precipitar as proteínas. Logo após centrifugação de 10 minutos a 13.000 rpm, prosseguiu a dosagem de amido nos extratos, por meio da quantificação de glicose liberada no processo de hidrólise do amido. Para tanto, foram utilizados 50 µL do extrato com 250 µL do reagente Glicose PAP Liquiform (CENTERLAB, Brasil), contendo as enzimas glicose-oxidase ($\sim 11.000 \text{ U mL}^{-1}$) e peroxidase ($\sim 700 \text{ U mL}^{-1}$), $290 \mu\text{mol L}^{-1}$ de 4-aminoantipirina e 50 mM de fenol pH 7,5. Nesta etapa, a glicose oxidase catalisa a oxidação da glicose. O peróxido de hidrogênio formado na reação reage com 4-aminoantipirina e fenol, sob ação catalisadora da peroxidase, através de uma reação oxidativa de acoplamento formando uma antipirilquinonimina rosa cuja intensidade é proporcional à concentração de glicose na amostra. Após incubação por 15 min a 37°C, o teor de glicose foi determinado em espectrofotômetro acoplado a leitor de ELISA (Thermo Scientific Express Multiskan FC Microplate Photometer, Massachusetts, EUA) em comprimento de onda de 490 nm. Para a elaboração da curva padrão foi utilizada solução de glicose (SIGMA), nas concentrações de 0; 2,5; 5; 7,5; 10 e 12,5 mg/mL.

4.7 – Carboidratos Estruturais e Lignina

4.7.1 Celulose

A determinação de celulose das amostras foi realizada de acordo com Brendel *et al.* (2000). Foram pesadas 100 mg de amostras pulverizadas em tubos de vidro com tampa rosqueada. Adicionou-se 2 mL de ácido acético 80% e 200 µL de ácido nítrico 69% concentrado. Os tubos foram fechados, as amostras misturadas com cuidado, e acondicionados em placa aquecedora por 1 hora a 100°C. Após esfriar, as amostras foram transferidas para tubos falcon de 15 mL, previamente pesados, e logo em seguida adicionado 2,5 mL de etanol 99%.

As amostras foram então homogeneizadas em agitador vórtex, centrifugadas a 4.500 rpm por 5 minutos (Eppendorf Centrifuge 5810R, Hamburgo, Alemanha) em temperatura ambiente e o sobrenadante descartado cuidadosamente. Em seguida, as amostras foram lavadas sequencialmente da seguinte forma: (1) 5 mL de etanol 99% para remover os produtos degradados

na extração; (2) 5 mL de água deionizada para remover os vestígios do ácido nítrico; (3) 5 mL de NaOH 17% que ficou em repouso em temperatura ambiente por 10 minutos; (4) 5 mL de água deionizada; (5) 2,2 mL de água deionizada e 600 µL de ácido acético. Foi ainda adicionado mais 2,2 mL de água deionizada para retirada de material não celulósico ainda persistente e (6) 5 mL de água deionizada. Entre cada lavagem (1 a 6), as amostras foram centrifugadas a 4.500 rpm por 5 minutos em temperatura ambiente e os sobrenadantes descartados. Por fim as amostras foram secas em estufa a 50°C por 48 horas e pesadas para posterior determinação da porcentagem de celulose.

4.7.2 Hemicelulose

A metodologia utilizada para a determinação de hemicelulose foi de Shädel *et al.* (2010) com modificações. Para cada 50 mg de massa seca das amostras pulverizadas, foi adicionado 1,5 mL de etanol 80% em microtubos de 2 mL, para retirada dos açúcares solúveis. Os tubos devidamente vedados com pregadores específicos para microtubos foram levados ao banho-maria a $\pm 80^{\circ}\text{C}$ por 20 minutos. As amostras foram centrifugadas em 13.000 rpm por 5 minutos a temperatura de 5°C e o sobrenadante descartado cuidadosamente. Esta operação foi repetida por mais três vezes, para retirada total dos resíduos de açúcares solúveis ainda presentes nas amostras. O precipitado foi seco em estufa a 50°C durante 24 horas e então pesado. Ao precipitado seco foi adicionado 1,5 mL de dimetil sulfóxido (DMSO) para extração do amido presente nas amostras e, mantido sob agitação em placa agitadora por 24 horas em temperatura ambiente. Após esse período, as amostras foram centrifugadas em 13.000 rpm por 5 minutos a 5°C e o sobrenadante descartado. Em seguida, o precipitado foi lavado em 1,5 mL de água destilada por três vezes, centrifugado e descartado o sobrenadante, para retirada total do DMSO presente nas amostras até que o pH atingisse o valor entre 6-7 aferido com fitas de pH. O precipitado foi transferido para estufa a 50°C por 24 horas e então realizada a pesagem no dia seguinte.

Acrescentou-se ao precipitado anterior 1,5 mL do detergente neutro (tetraborato de sódio decahidratado 18 mmol, ácido etilenodiaminotetracético 66 mmol, sulfato de sódio dodecil 10,4 mmol, fosfato de sódio dibásico 32 mmol e

água destilada) para extração de resíduos solúveis em água e pectinas e, adicionou-se 25 µL de solução de sulfito de sódio (10 mg/10 mL) para extração de proteínas. As amostras foram transferidas para banho-maria a $\pm 100^{\circ}\text{C}$ por 60 minutos sob agitação em placa magnética. Depois as amostras foram centrifugadas e o sobrenadante descartado. O precipitado desta etapa (celulose, hemicelulose e lignina) foi lavado sequencialmente da seguinte forma: (1) duas vezes com 1,5 mL de água deionizada quente; (2) uma vez com 1,5 mL de acetona 100% e; (3) uma vez com 1,5 mL de água deionizada. O precipitado contendo a “fração total de parede celular” foi então transferido novamente para estufa a 50°C durante 24 horas e pesado. Em seguida foi adicionado ao precipitado 1,5 mL do detergente ácido (H_2SO_4 1 N e brometo de hexadeciltrimetilamônio ácido deoxicólico sal sódico 55 mmol) e homogeneizado. Após serem transferidas novamente para banho-maria a $\pm 100^{\circ}\text{C}$ por 60 minutos, as amostras foram centrifugadas e o sobrenadante contendo hemicelulose foi descartado. O precipitado foi lavado em 1,5 mL de água deionizada por pelo menos cinco vezes, centrifugado e descartado o sobrenadante, para retirada total do detergente ácido presentes nas amostras. Por fim o precipitado contendo apenas a “fração de celulose e lignina” foi seco em estufa a 50°C durante 24 horas e pesados posteriormente.

O cálculo para a determinação da concentração das hemiceluloses presentes nas amostras foi realizado pela diferença gravimétrica entre a “fração total da parede celular” e a “fração de celulose e lignina”. As concentrações de hemiceluloses foram calculadas em % da massa seca (MS).

A proporção dos monossacarídeos das frações de parede celular das amostras foi realizada através da hidrólise com o ácido trifluoracético (TFA) 2 N. Após a remoção total dos açúcares solúveis e amido das amostras (descritos no item 4.6.1 e 4.6.2 respectivamente), foram pesados 2 mg do precipitado em microtubos de 1,5 mL e, em seguida, acrescentado 1 mL do ácido trifluoracético 2 N (Merck). Os microtubos devidamente vedados com pregadores específicos para microtubos foram submetidos ao banho seco por uma hora a $\pm 100^{\circ}\text{C}$. As amostras foram resfriadas e 1 mL foi transferido para microtubos de 2 mL com secagem em um concentrador de amostras. Os monossacarídeos foram

ressuspendidos em 500 μ L de água ultrapurificada Milli-Q e as amostras foram purificadas em filtros de HPLC.

Uma alíquota de 500 μ L das amostras foi transferida em vial e submetida a análise quantitativa das frações de xilose, galactose, arabinose, manose, glicose, ramnose e fucose. Os monossacarídeos resultantes da hidrólise ácida foram analisados por cromatografia líquida de troca aniônica de alta performance (HPAEC/PAD) com detector amperométrico (Dionex-DX500, USA) em coluna CARBOPAC PA1. A separação foi feita em 60 minutos, com água, tendo um pulso, nos primeiros dois minutos, de NaOH 20 mM e um fluxo de 1 mL/min. Foi utilizada pós-coluna com NaOH 500 mM e fluxo de 0,5 mL/min.

4.7.3 Lignina

A determinação de lignina foi realizada segundo Dos Santos *et al.* (2008). Foram pesados 150 mg de amostras pulverizadas em tubos de vidro e homogeneizado em 10 mL de tampão fosfato de sódio e potássio 50 mM em pH 7. As amostras foram transferidas para tubos falcon de 15 mL e o material foi centrifugado por 10 minutos a 6.000 rpm e o sobrenadante descartado. A partir dessa etapa o precipitado passou por 12 lavagens com diferentes soluções (Tabela 03) seguindo sempre o mesmo procedimento: a solução foi adicionada, o material foi agitado em vórtex por 5 minutos e o sobrenadante foi descartado.

Tabela 03: Lista de soluções utilizadas na sequência de lavagens para extração de lignina.

Número de lavagens	Volume (mL)	Soluções
3	7	Tampão Fosfato 50 mM – pH 7,0
3	7	Triton® x – 100 (v/v) 1% - pH 7,0 (SIGMA)
2	7	Tampão NaCl – pH 7,0
2	7	Água destilada
2	7	Acetona 100%

Após a 12^a lavagem, o precipitado foi seco em estufa a 60°C por 24 horas. Esse material resultante é o que compreende a fração de parede celular livre de proteínas. Do precipitado seco, pesou-se 50 mg em tubos de 15 mL, adicionou-

se 1,2 mL de ácido tioglicólico e 6 mL de HCl 2 M. As amostras foram incubadas a 95°C por 4 horas. Após esse tempo as mesmas foram centrifugadas por 15 minutos e lavadas três vezes com água destilada. Adicionou-se 7 mL de NaOH 0,5 M e incubou a 30°C por 18 horas sob agitação constante em agitador magnético. Depois as amostras foram centrifugadas e reservou-se o sobrenadante. O precipitado foi lavado com 3 mL de NaOH 0,5 M, e centrifugado em seguida. O sobrenadante resultante foi unido ao anterior, acidificado com 1,8 mL de HCl e deixado a 4°C por 12 horas sem agitar para precipitação. Após esse período, as amostras foram centrifugadas e lavadas duas vezes com água destilada, centrifugadas novamente em 6.000 rpm por 10 minutos em temperatura ambiente e descartado o sobrenadante. O precipitado obtido foi seco a 60°C por 24 horas e ressuspendido em 1 mL NaOH 0,5 M.

No caso das amostras da madeira que ultrapassaram o valor acima de 1,0 na leitura espectrofotométrica, as mesmas foram diluídas 50 vezes (proporção de 1:50). Nesse caso foi retirado 2,5 µL das amostras que ultrapassaram o valor acima citado e misturou-se com 2,5 mL de NaOH 0,5 M (proporção de 1:100). Como o precipitado foi inicialmente ressuspendido em 5 mL de NaOH, a diluição foi de cinco vezes. A determinação do conteúdo de lignina foi realizada através da leitura de absorbância em espectrofotômetro no comprimento de onda de 280 nm. Foi utilizada a solução de lignina (SIGMA) para construção da curva padrão, nas concentrações de 0; 10; 20; 30; 40; 50; 100; 200; 300; 400 e 500 µg/µL.

4.8 – Análises Estatísticas

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado (DIC). As médias dos dados obtidos foram comparadas aplicando-se a análise de variância (ANOVA) no nível de 1% ($P < 0.01$) de significância pelo Programa Assistat 7.7 beta (2014), UAEG-CTRN-UFCG, Campina Grande – PB e a organização e tabulação dos dados, executados pelo programa Microsoft Office Excel (2013).

5. RESULTADOS

5.1 – Análises Biométricas

Nas análises biométricas de altura, diâmetro do caule, teor de água, área foliar unitária e massa foliar específica, não foram encontradas diferenças significativas entre os dois grupos funcionais (Tabela 04).

Tabela 04: Variáveis biométricas de espécies arbóreas pioneiras e não pioneiras da Floresta Atlântica. Medidas de altura, diâmetro do caule, teor de água foliar, área foliar unitária (AFU) e massa foliar específica (MFE).

Variáveis	Classificação Ecológica	
	Pioneiras	Não Pioneiras
Altura (m)	17,2 ± 0,9	15,7 ± 1,3
Diâmetro caule (cm)	27,1 ± 2,2	24,6 ± 2,7
Teor H ₂ O (mg H ₂ O cm ²)	0,9 ± 0,04	1,3 ± 0,07
AFU (cm ²)	63,7 ± 6,1	70,2 ± 6,3
MFE (mg MF cm ²)	0,02 ± 0,002	0,02 ± 0,001

± representa o erro padrão da média (n=21).

5.2 – Pigmentos Cloroplastídicos

A concentração de pigmentos cloroplastídicos diferiu significativamente entre as duas classes sucessionais (Tabela 05). As espécies pioneiras se destacaram pelas maiores concentrações de clorofila *a* (11,9 mg.g⁻¹ MS), clorofila *b* (5,7 mg.g⁻¹ MS), clorofila total (19,8 mg.g⁻¹ MS) e de carotenoides (15,7 mg.g⁻¹ MS). No entanto, a razão clorofila total/carotenoides foi maior nas espécies não pioneiras.

Tabela 05: Concentrações de pigmentos cloroplastídicos nas folhas de espécies arbóreas pioneiras e não pioneiras da Floresta Atlântica. Medidas de clorofila *a*; clorofila *b*; clorofila total; carotenoides; relação entre clorofila *a* e clorofila *b* e relação entre clorofila total e carotenoides.

Pigmentos (mg.g ⁻¹ MS)	Classificação Ecológica	
	Pioneiras	Não Pioneiras
Clorofila <i>a</i>	11,9** ± 1,2	8,4 ± 0,6
Clorofila <i>b</i>	5,7** ± 0,5	3,5 ± 0,4
Clorofila total	19,8** ± 1,9	13,8 ± 1,1
Carotenoides	15,7** ± 1,8	7,4 ± 1,1
Clorofila <i>a</i> / Clorofila <i>b</i>	2,1 ± 0,1	2,6 ± 0,1
Clorofila total / Carotenoides	1,4 ± 0,06	2,2** ± 0,2

Dois asteriscos representam diferenças significativas entre as duas classes sucessionais ($P < 0.01$). ± representa o erro padrão da média (n=21).

5.3 – Anatomia Foliar e Caulinar

A espessura total do limbo foliar, da epiderme adaxial e dos parênquimas paliçádico e lacunoso foi maior nas espécies não pioneiras, já as espécies pioneiras apresentaram maior densidade estomática (382 mm²) (Tabela 06). Quanto a epiderme abaxial e a relação entre os parênquimas paliçádico e lacunoso, não foi encontrada diferenças significativas entre os dois grupos ecológicos.

Em relação à anatomia da madeira, foram observadas diferenças entre os grupos funcionais (Tabela 07). Os diâmetros dos elementos de vaso e do lúmen dos elementos de vaso foram maiores no xilema secundário das espécies pioneiras. Entretanto, a espessura da parede dos elementos de vaso, o diâmetro das fibras e o comprimento dos elementos de vasos e das fibras não variou significativamente entre as duas classes sucessionais.

Tabela 06: Variáveis anatômicas foliares de espécies arbóreas pioneiras e não pioneiras da Floresta Atlântica. Medidas de espessuras do limbo, epiderme adaxial, parênquima paliçádico, parênquima lacunoso, epiderme abaxial, razão entre as espessuras dos parênquimas lacunoso e paliçádico e densidade estomática.

Variáveis	Classificação Ecológica	
	Pioneiras	Não Pioneiras
Limbo (μm)	155 \pm 2,2	226** \pm 5,2
Epiderme adaxial (μm)	18 \pm 0,4	22** \pm 0,9
Parênquima paliçádico (μm)	43 \pm 1,5	65** \pm 4,3
Parênquima lacunoso (μm)	82 \pm 2,4	127** \pm 7,7
Epiderme abaxial (μm)	12 \pm 0,7	12 \pm 0,4
Parênquima lacunoso / paliçádico	1,9 \pm 0,09	2,0 \pm 0,04
Densidade estomática (mm^2)	382** \pm 3,1	266 \pm 2,9

Dois asteriscos representam diferenças significativas entre as duas classes sucessionais ($P < 0.01$). \pm representa o erro padrão da média ($n=21$).

Tabela 07: Variáveis anatômicas do xilema secundário caulinar de espécies arbóreas pioneiras e não pioneiras da Floresta Atlântica. Medidas de comprimento do elemento de vaso, diâmetro do elemento de vaso, diâmetro do lúmen do elemento de vaso, parede do elemento de vaso, comprimento da fibra e diâmetro da fibra.

Variáveis (μm)	Classificação Ecológica	
	Pioneiras	Não Pioneiras
Comprimento do elemento de vaso	445 \pm 7,7	505 \pm 4,1
Diâmetro do elemento de vaso	257** \pm 3,1	89 \pm 2,3
Diâmetro do lúmen do elemento de vaso	237** \pm 3,4	73 \pm 2,4
Parede do elemento de vaso	18 \pm 1,1	15 \pm 0,3
Comprimento da fibra	821 \pm 13,2	891 \pm 11,1
Diâmetro da fibra	17 \pm 0,6	19 \pm 1,0

Dois asteriscos representam diferenças significativas entre as duas classes sucessionais ($P < 0.01$). \pm representa o erro padrão da média ($n=21$).

5.4 – Carboidratos Não Estruturais

5.4.1 Carboidratos Solúveis

No xilema secundário do caule (Figura 11), os teores de glicose, frutose e sacarose diferiram significativamente entre as duas classes funcionais. As espécies pioneiras se destacaram pelos maiores teores destes carboidratos. As proporções observadas dos açúcares solúveis presentes no caule das espécies pioneiras foram de 6% de glicose, 2,3% de frutose e 7,9% de sacarose da massa seca (MS). Enquanto as espécies não pioneiras apresentaram os seguintes valores: 1,5% de glicose, 0,8% de frutose e 4,3% de sacarose da MS.

Para as folhas (Figura 12) não houve diferenças significativas nas concentrações destes açúcares entre os dois grupos ecológicos abordados neste estudo. Nas espécies pioneiras foram verificadas proporções de 0,09% de glicose, 0,08% de frutose e 0,001% de sacarose da MS. Já as espécies não pioneiras exibiram 0,08% de glicose, 0,1% de frutose e 0,0025% de sacarose da MS.

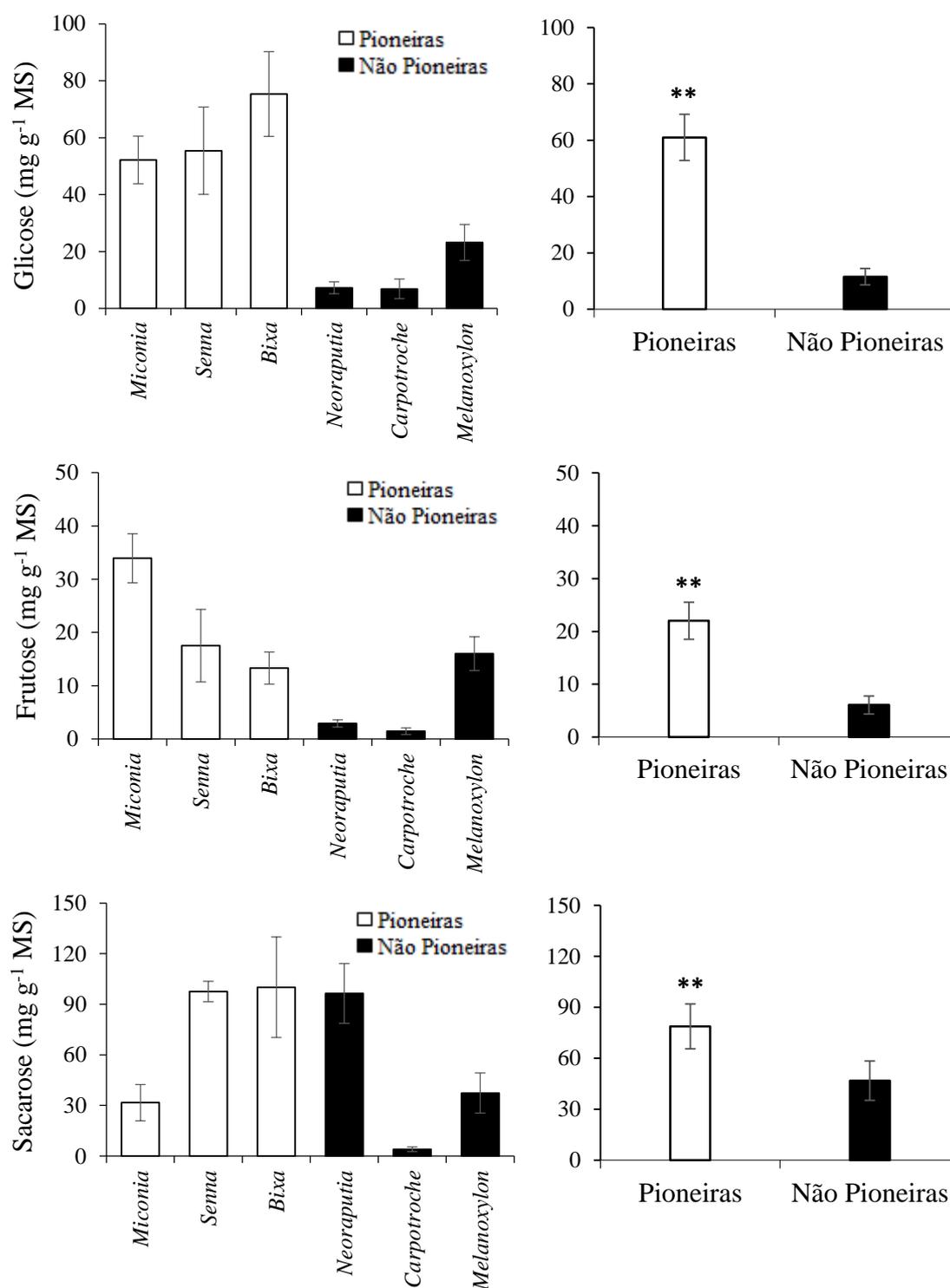


Figura 11: Teores de glicose, frutose e sacarose em caule de espécies arbóreas pioneiras e não pioneiras da Floresta Atlântica. Barras representam a média aritmética e o erro padrão da média (n=7 para cada espécie e n=21 por grupo ecológico). Dois asteriscos representam diferenças significativas entre as duas classes sucessionais ($P < 0.01$).

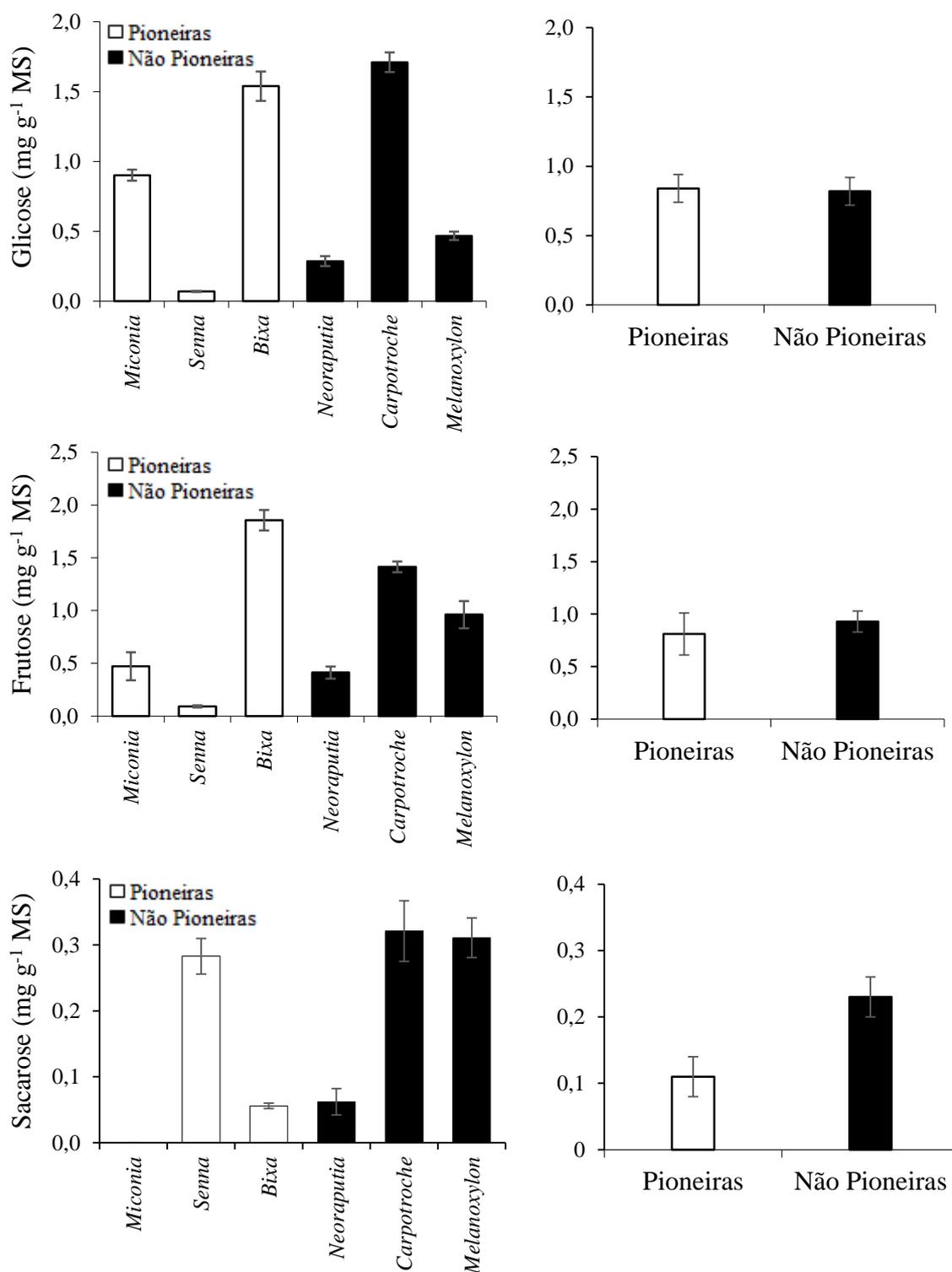


Figura 12: Teores de glicose, frutose e sacarose em folhas de espécies arbóreas pioneiras e não pioneiras da Floresta Atlântica. Barras representam a média aritmética e o erro padrão da média (n=7 para cada espécie e n=21 por grupo ecológico).

5.4.2 Amido

O teor de amido caulinar não diferenciou significativamente entre os dois grupos funcionais (Figura 13). Nesse sentido, o teor de amido do caule das espécies pioneiras representou apenas 1,9% e 3,1% da MS nas espécies não pioneiras. A espécie não pioneira *Neoraputia alba* mostrou menor valor deste polissacarídeo com cerca de 1% da MS do caule, enquanto a espécie *Carpotroche brasiliensis* da mesma classe funcional obteve o maior valor com 5,6% de amido da MS.

As espécies não pioneiras se destacaram pelos maiores teores de amido foliar representando 2,8% da MS. Já as espécies pioneiras esse valor foi muito baixo correspondendo apenas 0,9% da MS das folhas. Ao contrário do que foi observado no caule, a espécie não pioneira *Neoraputia alba* se destacou pelo valor elevado de amido foliar com uma concentração de 6,1% da MS, conduzindo este grupo funcional para obtenção da maior concentração de amido foliar.

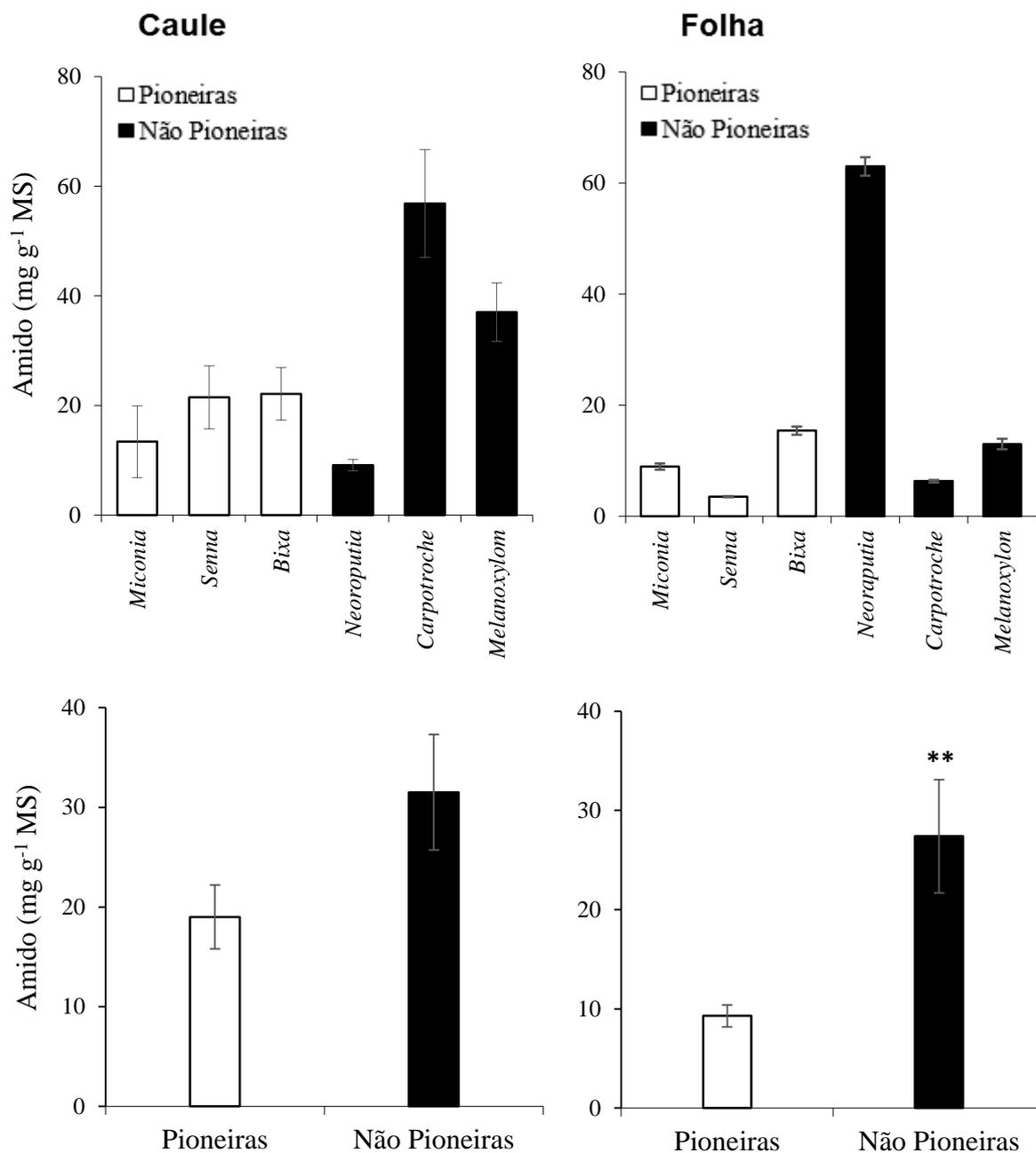


Figura 13: Teor de amido em caule e folhas de espécies arbóreas pioneiras e não pioneiras da Floresta Atlântica. Barras representam a média aritmética e o erro padrão da média ($n=7$ para cada espécie e $n=21$ por grupo ecológico). Dois asteriscos representam diferenças significativas entre as duas classes sucessionais ($P<0.01$).

5.5 – Carboidratos Estruturais e Lignina

Os resultados obtidos nas análises dos carboidratos estruturais e lignina foram altamente satisfatórios e inéditos sob o ponto de vista ecológico.

5.5.1 Celulose

O teor desse polímero de parede celular foi maior nas folhas e caule das espécies não pioneiras (Figura 14). O valor médio de celulose no caule das espécies não pioneiras foi de 33% da MS e nas folhas de 10% da MS e para as espécies pioneiras o valor médio foi de 29% da MS do caule e 6% da MS das folhas. Comparando qualitativamente os órgãos, nota-se que a variação da celulose nas folhas foi maior do que no caule. Enquanto essa variação foi de 57% no caule, nas folhas foi de 83%.

5.5.2 Hemicelulose

A concentração de hemiceluloses também variou significativamente entre as classes funcionais (Figura 15). Para as espécies não pioneiras o valor médio deste polímero de parede celular representou 24% da MS do caule e 15% da MS das folhas. As espécies pioneiras exibiram menor teor de hemiceluloses no caule com 17% da MS e nas folhas com 9% da MS. Na comparação qualitativa dos órgãos, podemos observar que a variação das hemiceluloses nas folhas foi superior do que no caule. A variação verificada para o caule foi de 65% e para as folhas de 83%.

5.5.3 Lignina

A lignina demonstrou ser uma variável quantitativa bem representativa na diferenciação dos dois grupos sucessionais (Figura 16). As espécies não pioneiras apresentaram maior teor deste polímero de parede celular, representando no caule o valor médio de 22% da MS e 4% da MS das folhas. O valor médio da concentração de lignina nas espécies pioneiras foi de 9% da MS do caule e 1,5% da MS das folhas. A variação da lignina na comparação qualitativa dos órgãos também foi mais elevada nas folhas do que no caule. No caule a variação foi de 122% e nas folhas de 133%.

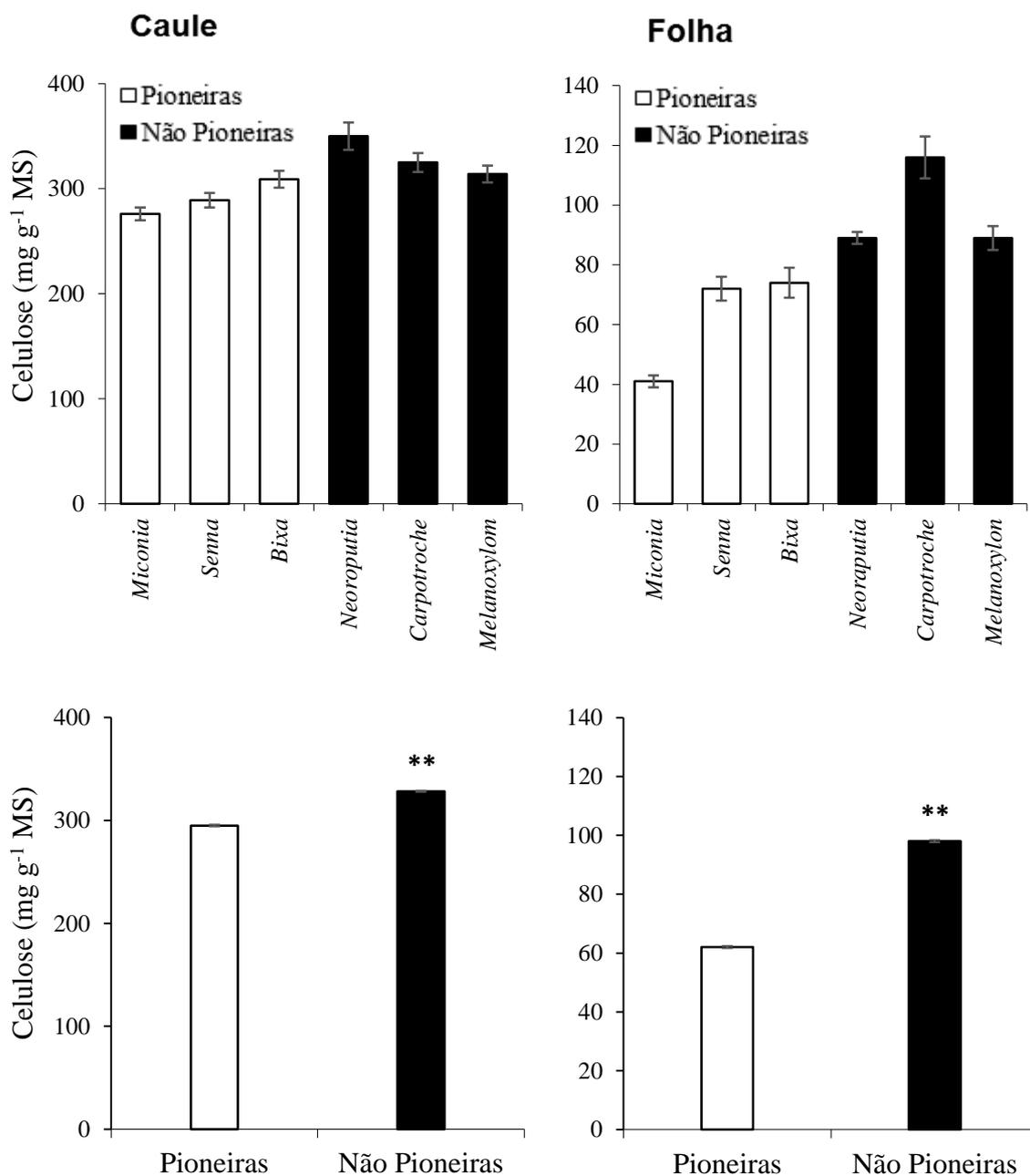


Figura 14: Conteúdo de celulose presente no caule e nas folhas de espécies arbóreas pioneiras e não pioneiras da Floresta Atlântica. Barras representam a média aritmética e o erro padrão da média ($n=7$ para cada espécie e $n=21$ por grupo ecológico). Dois asteriscos representam diferenças significativas entre as duas classes sucessionais ($P<0.01$).

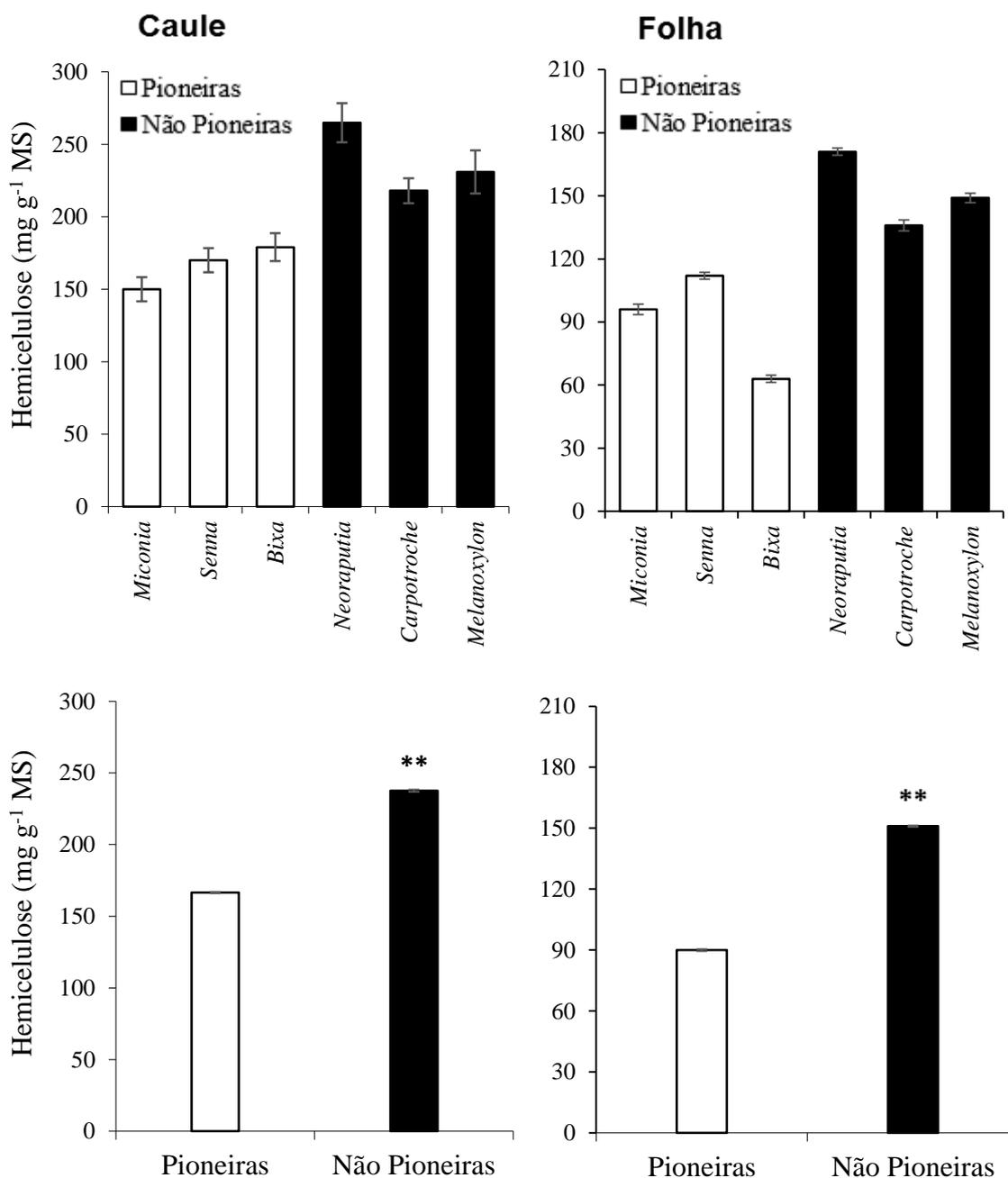


Figura 15: Conteúdo de hemicelulose presente no caule e nas folhas de espécies arbóreas pioneiras e não pioneiras da Floresta Atlântica. Barras representam a média aritmética e o erro padrão da média ($n=7$ para cada espécie e $n=21$ por grupo ecológico). Dois asteriscos representam diferenças significativas entre as duas classes sucessionais ($P<0.01$).

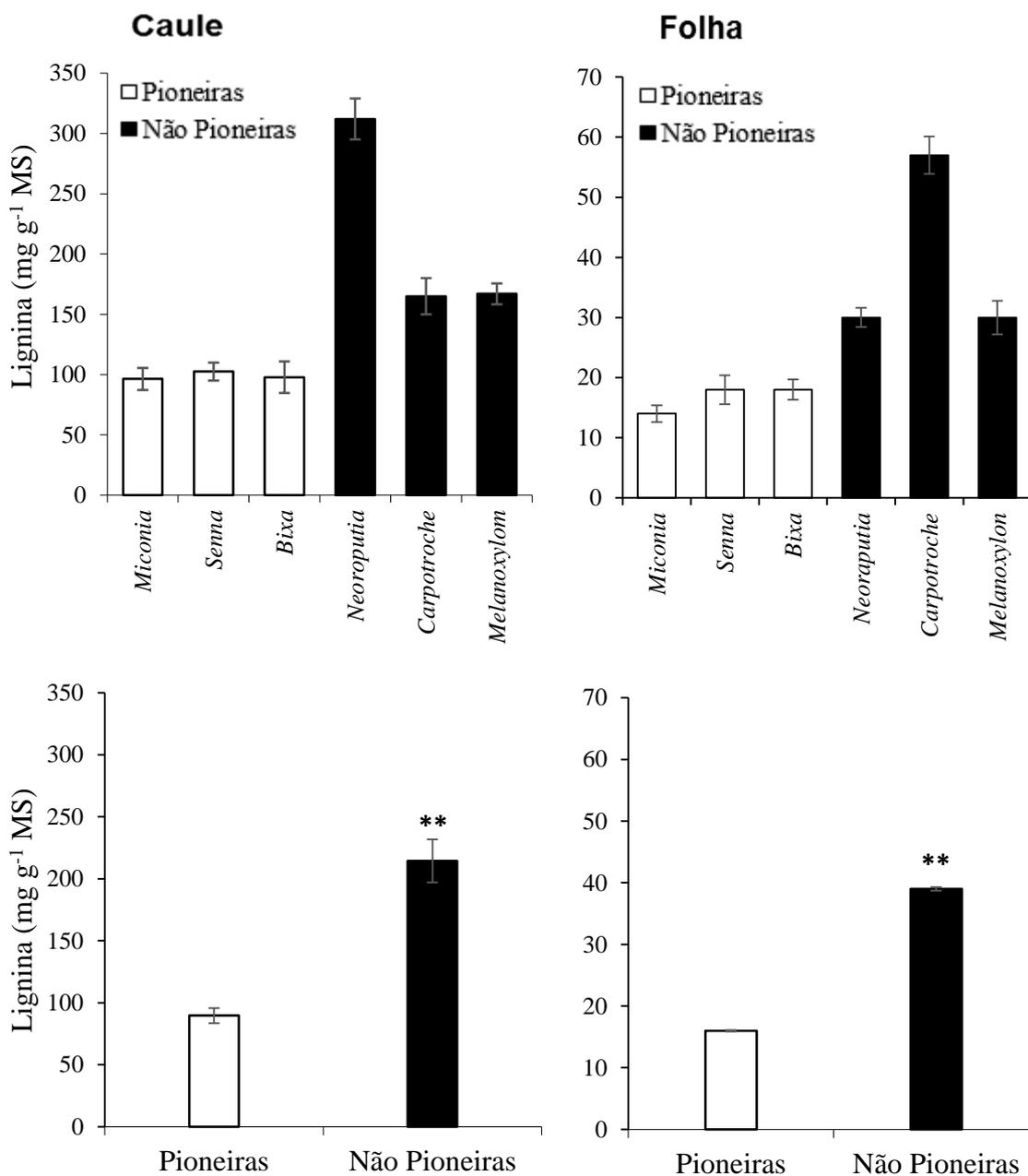


Figura 16: Conteúdo de lignina presente no caule e nas folhas de espécies arbóreas pioneiras e não pioneiras da Floresta Atlântica. Barras representam a média aritmética e o erro padrão da média ($n=7$ para cada espécie e $n=21$ por grupo ecológico). Dois asteriscos representam diferenças significativas entre as duas classes sucessionais ($P < 0.01$).

5.5.4 Proporção de Lignina para Biomassa Celulósica

A proporção de lignina para biomassa celulósica (celulose e hemiceluloses) foi superior no caule e nas folhas das espécies não pioneiras (Figura 17). No caule dessa classe funcional o valor médio foi de 3,8% da MS e de 0,16% da MS das folhas. O valor encontrado para as espécies pioneiras foi inferior, representando no caule 2% da MS e nas folhas 0,1% da MS.

Observando os gráficos do caule, nota-se que a espécie não pioneira *Neoraputia alba* se destacou pelo elevado valor desta variável representando 5%. Já para as folhas, a espécie que apresentou valor superior com 0,23% foi a espécie não pioneira *Carpotroche brasiliensis*. Comparando qualitativamente os órgãos, observa-se que a variação da proporção de lignina para biomassa celulósica no caule foi maior do que nas folhas. Enquanto essa variação foi de 95% no caule, nas folhas foi de 80%.

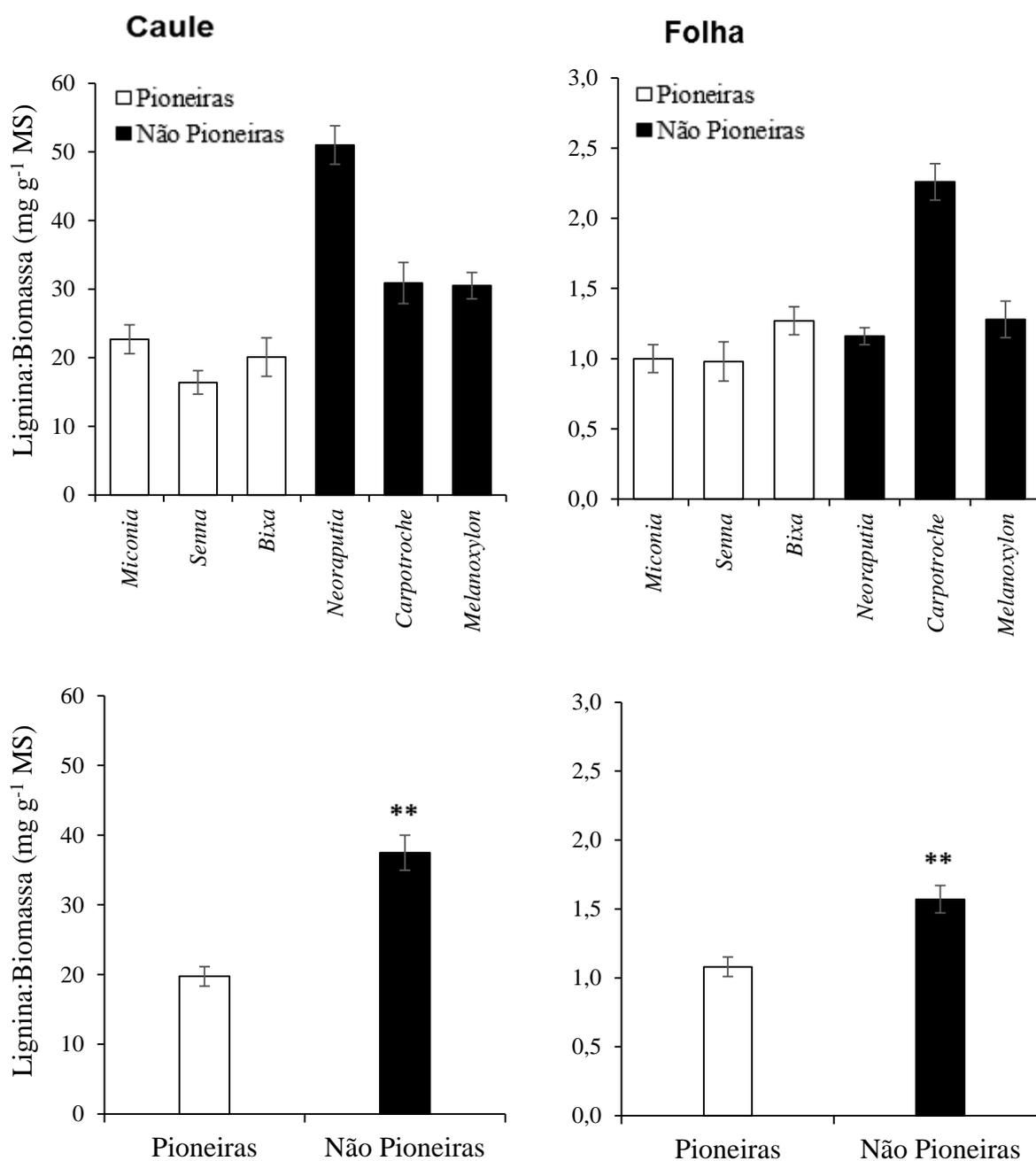


Figura 17: Proporção de lignina para biomassa celulósica (celulose e hemicelulose) presente no caule e nas folhas de espécies arbóreas pioneiras e não pioneiras da Floresta Atlântica. Barras representam a média aritmética e o erro padrão da média ($n=7$ para cada espécie e $n=21$ por grupo ecológico). Dois asteriscos representam diferenças significativas entre as duas classes sucessionais ($P<0.01$).

5.5.5 Monossacarídeos das Hemiceluloses de Parede Celular

As proporções dos monossacarídeos das frações de parede celular são apresentadas nas Figuras 18 e 19. Os monossacarídeos mais representativos na fração de hemiceluloses presentes no xilema secundário caulinar das espécies pioneiras são: xilose (70,4%), seguidos de arabinose (11,2%), galactose (9%), manose (4,5%), glucose (3,5%), ramnose (1,1%) e fucose (0,3%). Para as espécies não pioneiras as proporções de monossacarídeos de parede celular foram as seguintes: 68,3% de xilose, 15,1% de galactose, 7,5% de arabinose, 4% de manose, 3,8% de glucose, 1% de ramnose e 0,3% de fucose. A galactose e a manose foram as únicas frações que apresentaram diferenças significativas no caule entre os dois grupos ecológicos, mostrando maiores concentrações em espécies não pioneiras (Figura 18).

Nas folhas ocorreram algumas variações nas proporções das frações de monossacarídeos, quando comparadas com as frações encontradas no caule. Neste órgão foi verificado nas espécies pioneiras maiores valores de arabinose (31%) e xilose (28,5%), seguidos de galactose (22%), glucose (13%), manose (2,4%), fucose (1,8%) e ramnose (1,3%). Enquanto as espécies não pioneiras apresentaram 36% de xilose, 31% de arabinose, 20,1% de galactose, 5,3% de glucose, 3% de fucose, 2,7% de ramnose e 1,9% de manose. As espécies pioneiras apresentaram maiores concentrações nas proporções de galactose, glucose e manose. Já em espécies não pioneiras foram verificadas maiores concentrações nas proporções de fucose (Figura 19).

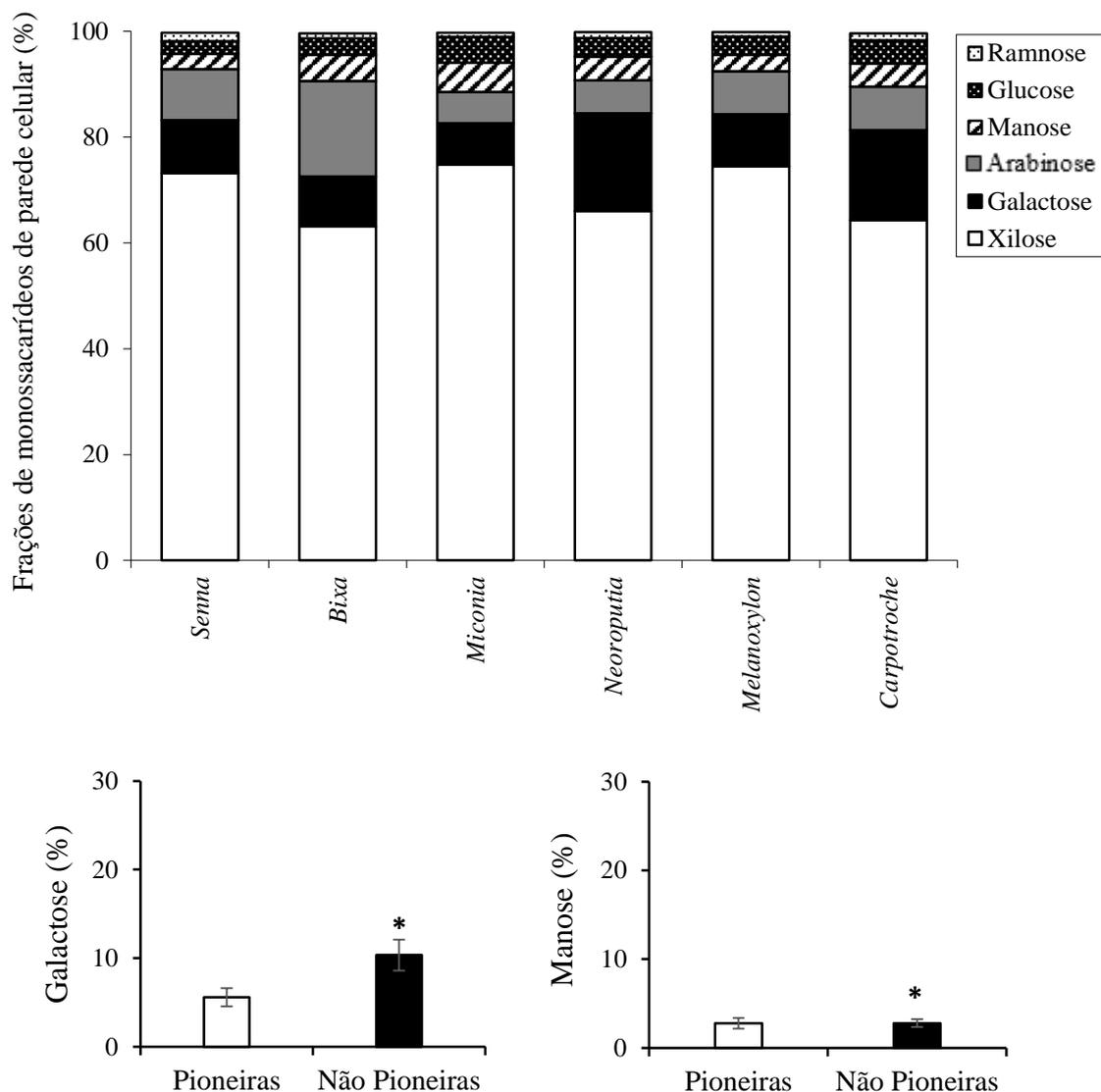


Figura 18: Proporções dos monossacarídeos estruturais das hemiceluloses da parede celular do xilema secundário caulinar de espécies arbóreas pioneiras e não pioneiras da Floresta Atlântica. Média aritmética de $n=7$ para cada espécie e $n=21$ por grupo ecológico. Asteriscos representam diferenças significativas entre as duas classes sucessionais ($0.01 \leq P < 0.05$).

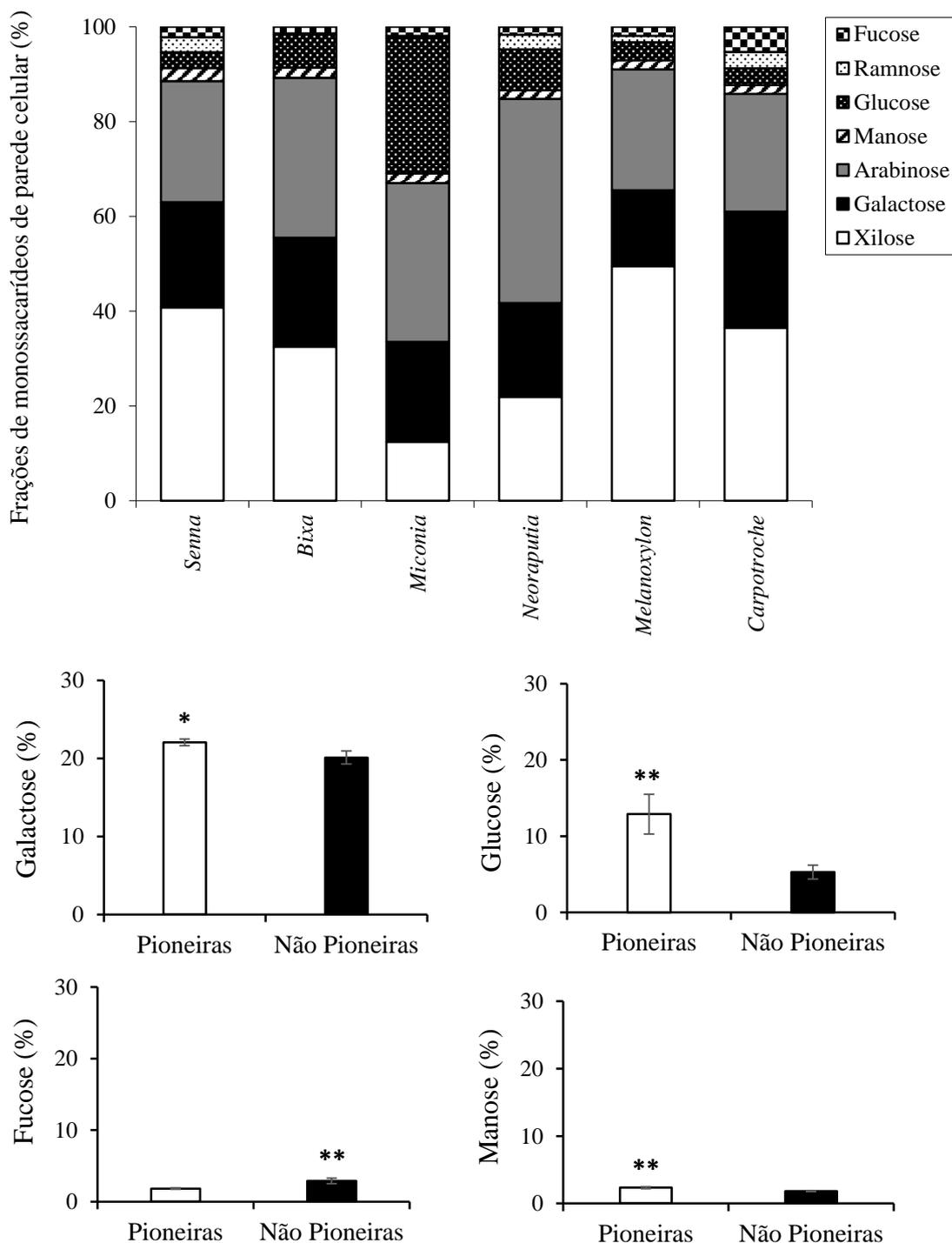


Figura 19: Proporções dos monossacarídeos estruturais das hemiceluloses da parede celular de folhas de espécies arbóreas pioneiras e não pioneiras da Floresta Atlântica. Média aritmética de $n=7$ para cada espécie e $n=21$ por grupo ecológico. (*) diferenças significativas entre as duas classes sucessionais ($0.01 \leq P < 0.05$) e (**) diferenças significativas entre as duas classes sucessionais ($P < 0.01$).

5.6 – Atributos Quantitativos de Espécies Arbóreas

Diante dos resultados obtidos neste estudo, podemos aferir uma tabela de atributos quantitativos encontrados em folhas e caule de espécies arbóreas pioneiras e não pioneiras da Floresta Atlântica (Tabelas 08 e 09). Com isso, foi possível identificar com maior exatidão as diferenças observadas entre espécies pioneiras e não pioneiras. Esclarecemos que esta tabela de valores foi fundamentada nos resultados obtidos para seis espécies nativas tropicais (Figuras 09 e 10), sendo três pioneiras e três não pioneiras.

Tabela 08: Atributos quantitativos foliares de espécies arbóreas pioneiras e não pioneiras da Floresta Atlântica. Média aritmética de n=7 para cada espécie e n=21 por grupo ecológico.

Variáveis	Classificação Ecológica	
	Pioneiras	Não Pioneiras
Clorofila <i>a</i> (mg.g ⁻¹ MS)	11,9**	8,4
Clorofila <i>b</i> (mg.g ⁻¹ MS)	5,7**	3,5
Clorofila total (mg.g ⁻¹ MS)	19,8**	13,8
Carotenoides (mg.g ⁻¹ MS)	15,7**	7,4
Limbo foliar (µm)	155	226**
Epiderme adaxial (µm)	18	22**
Parênquima paliçádico (µm)	43	65**
Parênquima lacunoso (µm)	82	127**
Densidade estomática (mm ²)	382**	266
Amido (% MS)	0,9	2,8**
Celulose (% MS)	6	10**
Hemicelulose (% MS)	9	15**
Lignina (% MS)	1,5	4**
Lignina:Biomassa celulósica (% MS)	0,1	0,16**

Dois asteriscos representam diferenças significativas entre as duas classes sucessionais ($P < 0.01$).

Tabela 09: Atributos quantitativos caulinares de espécies arbóreas pioneiras e não pioneiras da Floresta Atlântica. Média aritmética de n=7 para cada espécie e n=21 por grupo ecológico.

Variáveis	Classificação Ecológica	
	Pioneiras	Não Pioneiras
Diâmetro do elemento de vaso (μm)	257**	89
Diâmetro do lúmen do elemento de vaso (μm)	237**	73
Glicose (% MS)	6**	1,5
Frutose (% MS)	2,3**	0,8
Sacarose (% MS)	7,9**	4,3
Celulose (% MS)	29	33**
Hemicelulose (% MS)	17	24**
Lignina (% MS)	9	22**
Lignina:Biomassa celulósica (% MS)	2	3,8**

Dois asteriscos representam diferenças significativas entre as duas classes sucessionais ($P < 0.01$).

6. DISCUSSÃO

As diferenças fenotípicas das espécies pioneiras e não pioneiras constatadas no presente estudo mostram certa relação com alguns conceitos descritos por Budowski (1965), Finegan (1984) e Whitmore (1990). A maior longevidade foliar e densidade do caule das espécies não pioneiras pode estar associada ao maior teor de polímeros estruturais de parede celular observado nesse estudo. Como há carência de informações sobre as características ecofisiológicas de espécies pioneiras e não pioneiras adultas e estabelecidas na Floresta Atlântica, a presente discussão foi baseada em informações oriundas de trabalhos desenvolvidos com arbóreas juvenis em condições de campo e em condições ambientais controladas, e adultas estabelecidas em florestas nativas tropicais.

A maior espessura do limbo foliar em espécies não pioneiras investigadas nessa pesquisa, indica maior longevidade foliar relatada para essa classe funcional (POORTER e BONGERS, 2006; POORTER *et al.*, 2008). Esta característica assegura uma alta sobrevivência para espécies típicas de ambientes sombreados como as não pioneiras, propiciando folhas bem protegidas que reduz a perda de biomassa por herbivoria ou perturbação mecânica (POORTER e BONGERS, 2006). No entanto, em estudos com espécies nativas tropicais na fase juvenil submetidas à irradiância contrastante, esses resultados foram contraditórios (SABBI *et al.*, 2010; SILVA *et al.*, 2010; MENGARDA *et al.*, 2012). Nestes estudos, os autores observaram que espécies sujeitas as maiores irradiâncias como as pioneiras tendem a apresentar maior espessura do limbo foliar, associada à mudanças estruturais para manutenção do processo fotossintético e maior eficiência do uso da água (ROSSATO e KOLB, 2010).

Partindo do pressuposto de que as espécies pioneiras possuem maior taxa fotossintética exigida pelo rápido crescimento (POORTER e BONGERS, 2006; POORTER *et al.*, 2008; 2010; PAROLIN *et al.*, 2010), as maiores concentrações de pigmentos cloroplastídicos observadas neste estudo em espécies pioneiras sugere maior atividade fotossintética em plantas inseridas nessa classe funcional. Uma das variáveis mais importantes associadas à

eficiência fotossintética é o teor de clorofilas e carotenoides (REGO e POSSAMAI, 2006; SARIJEVA *et al.*, 2007; FAVARETTO *et al.*, 2011).

As clorofilas *a* e *b* capturam comprimentos de onda diferentes. Deste modo, espécies pioneiras típicas de ambientes com elevada irradiância possuem maior concentração de clorofila *a* (IANNELLI-SERVÍN, 2007; PORTES *et al.*, 2010), com absorção na faixa correspondente de 430 e 660 nm. Entretanto, também foi observado neste estudo maior teor de clorofila *b* desta classe funcional. Este resultado mostra-se contraditório aos encontrados em outros estudos com plantas sob influência de baixa e elevada irradiância (GONÇALVES *et al.*, 2001; MARTINAZZO *et al.*, 2007; MENGARDA *et al.*, 2009; PORTES *et al.*, 2010), nos quais foram verificadas maiores concentrações de clorofila *b* em espécies adaptadas ou típicas de ambientes com baixa irradiância. Como as espécies pioneiras estão sujeitas à maior irradiância (POORTER e BONGERS, 2006; POORTER *et al.*, 2008; 2010) uma das estratégias para evitar a fotonibição está no acúmulo de carotenoides, como verificado nas espécies pioneiras desse estudo. Os pigmentos e carotenoides agem na fotoproteção do sistema fotossintético contra danos causados pela fotonibição (MARENCO e LOPES, 2009) por meio da dissipação do excesso de energia luminosa (LAGE-PINTO *et al.*, 2012).

Outra variável que sustenta a informação de que as espécies pioneiras possuem maior atividade fotossintética em relação às não pioneiras é a densidade estomática. A maior densidade estomática, observada nas espécies pioneiras do presente estudo, pode proporcionar maior absorção de CO₂ (BOEGER e WISNIEWSKI, 2003) e, conseqüentemente, aumentar a fotossíntese (GUREVITCH *et al.*, 2009). Esta variável também favorece uma diminuição da transpiração foliar, devido à sobreposição da área de difusão do vapor de água em decorrência da maior proximidade dos estômatos (CASTRO *et al.*, 2009).

Caso a fotossíntese das espécies pioneiras aqui estudadas fosse maior em relação as não pioneiras, seria esperado uma maior concentração dos fotoassimilados (MARENCO *et al.*, 2001; BORBA *et al.*, 2005; PORTES *et al.*, 2010). No entanto, nas folhas das espécies pioneiras a concentração de glicose,

frutose e sacarose não diferenciou das não pioneiras. Isso pode ter ocorrido devido a uma análise pontual que não considerou as taxas de atividades metabólicas nos dias que antecederam a coleta. Portanto, as espécies pioneiras poderiam estar em maior atividade fotossintética, mas devido ao maior metabolismo celular dessa classe funcional (TRETHERWEY *et al.*, 1998; BEEMSTER *et al.*, 2002; OKSANEN *et al.*, 2005; PORTES *et al.*, 2010) os fotoassimilados poderiam ter sido metabolizados mais rapidamente e então chegar a um nível mais baixo se igualando aos teores dos carboidratos solúveis das espécies não pioneiras. Outro fator que pode ter contribuído para essa falta de diferença dos fotoassimilados entre as duas classes funcionais seja a variabilidade interespecífica (ALBERT *et al.*, 2010). Nesse contexto, a variação da concentração de açúcares solúveis foliares nas espécies pioneiras foi alta com 750% de glicose, 900% de frutose e 2900% de sacarose. Da mesma forma, as espécies não pioneiras apresentaram variação de 300% de glicose, 188% de frutose e 267% de sacarose. Pelo exposto, o aumento do número de espécies poderia normalizar os dados e reduzir os fatores de variação.

Considerando que as espécies não pioneiras apresentam menor atividade fotossintética dada sua suposta menor velocidade de crescimento em relação às pioneiras (KING *et al.*, 2005; POORTER *et al.*, 2008; 2010), seria esperado encontrar maior teor de amido nas espécies não pioneiras como constatado no presente estudo, sendo que esse polissacarídeo funcionaria como reserva energética temporária (RAMOS, 2009).

Além do papel de reserva, o acúmulo de amido estimula a biossíntese de lignina mais eficientemente em espécies de crescimento lento (HARDING *et al.*, 2009; NOVAES *et al.*, 2010) característico das espécies não pioneiras (KING *et al.*, 2005; POORTER *et al.*, 2008; 2010). Uma correlação positiva entre a biossíntese de lignina, concentração de amido e taxas de crescimento reduzido tem sido observado em alguns estudos com espécies arbóreas de rápido e lento crescimento (HARDING *et al.*, 2009; NOVAES *et al.*, 2010). Diferente do amido que mostrou considerável variabilidade interespecífica nas folhas das espécies não pioneiras, a lignina não apresentou essa característica. Pode ser que a falta de relação entre o teor de amido foliar e caulinar com a lignina seja devido à análise pontual. Da mesma forma que a lignina tem sua síntese estimulada pelo

amido, podemos hipotetizar que a maior concentração da celulose e das hemiceluloses nas folhas das espécies não pioneiras também estejam sob controle da concentração de amido.

O maior teor de celulose, hemiceluloses e lignina verificado nas folhas de espécies não pioneiras neste estudo, confirma a informação de que espécies dessa classe funcional apresentam maior longevidade foliar (POORTER e BONGERS, 2006). De acordo com estes autores, folhas com maior longevidade são densas e caras para serem produzidas, porém, têm maior espessura e são capazes de resistir a danos físicos e impedir herbívoros generalistas. Folhas mais densas resultam de células densamente empacotadas, levando à limitação de difusão do CO₂ dentro da folha, e conseqüentemente, proporcionando menores taxas fotossintéticas (NIINEMETS, 1999; POORTER e BONGERS, 2006).

Com o intuito de determinar a fração hemicelulósica mais representativa da parede celular dos tecidos foliares de espécies pioneiras e não pioneiras, a maior proporção de xilose seguida de arabinose e galactose, sugere que a hemicelulose principal seja do tipo arabinogalactano, também encontrado em folhas de outras arbóreas dicotiledôneas (SHÄDEL *et al.*, 2010).

Como discutido anteriormente, em que espécies pioneiras devam possuir maior atividade fotossintética, e portanto, maior mobilização dos fotoassimilados do órgão fonte (folhas) para o órgão dreno (caule), de certo modo tal informação pode ser confirmada pelas maiores concentrações dos açúcares solúveis no caule de suas espécies. Isso pode ser interpretado como forte relação fonte:dreno nas espécies pioneiras. Considerando que os fotoassimilados não foram utilizados mais eficientemente na síntese de celulose, hemiceluloses e lignina (menor teor em relação as espécies não pioneiras), podemos deduzir que a taxa da respiração celular seja maior do que a biossíntese dos polímeros de parede celular nas espécies pioneiras. Tal hipótese é sustentada pela informação de que as espécies dessa classe funcional apresentam maior velocidade de crescimento (POORTER e BONGERS, 2006; POORTER *et al.*, 2008; 2010; PAROLIN *et al.*, 2010) o que exige maior demanda de compostos ricos em carbono para a respiração celular (TRETHERWEY *et al.*, 1998;

OKSANEN *et al.*, 2005; PORTES *et al.*, 2010) e estimulação da divisão celular (BEEMSTER *et al.*, 2002).

Ao contrário das pioneiras, as espécies não pioneiras apresentaram maiores teores de polímeros de parede celular e isso parece ter relação com a menor taxa de crescimento (KING *et al.*, 2005; POORTER e BONGERS, 2006; POORTER *et al.*, 2008; 2010) e menor taxa de respiração celular de suas espécies (TRETHERWEY *et al.*, 1998; OKSANEN *et al.*, 2005; PORTES *et al.*, 2010). Gibeaut *et al.* (2001) especularam que o aumento dos carboidratos estruturais de parede celular é decorrente de uma maior alocação de carbono para a síntese destes carboidratos e/ou ao aumento da atividade da enzima celulose sintase. O maior teor de celulose verificado em espécies não pioneiras do presente trabalho, parece contribuir para a resistência à tração paralela das fibras, devido à presença de fortes ligações covalentes nos anéis piranose e entre unidades de glicose da cadeia de polímero de celulose. Já a lignina é parcialmente responsável por sua resistência à compressão (GARCÍA HORTAL, 2007).

Todavia, a lignina mostrou maior eficiência de síntese do que os outros polímeros de parede celular, como constatado em outras espécies de crescimento lento (HARDING *et al.*, 2009; NOVAES *et al.*, 2010). Uma relação negativa entre a proporção de lignina e a velocidade de crescimento de espécies arbóreas foi verificado em alguns estudos (HU *et al.*, 1999; NOVAES *et al.*, 2010). Segundo estes autores, espécies arbóreas que exibiam menores atividades de enzimas precursoras para a biossíntese de monolignóis, demonstraram uma significativa redução nos teores de lignina, ao mesmo tempo que foram compensadas por um aumento na biomassa celulósica (celulose e hemiceluloses). Esta redução da proporção de lignina para biomassa celulósica foi acompanhada por um aumento significativo do crescimento e em maior velocidade, observada em todos os órgãos vegetativos. Neste contexto, as espécies pioneiras reconhecidas pelo seu crescimento rápido apresentaram menores proporções de lignina para biomassa celulósica, tanto nos órgãos fontes como nos drenos.

Neste estudo, a grande diferença observada para o teor de lignina comparado com os carboidratos estruturais celulose e hemicelulose foi determinante para a diferenciação dos dois grupos ecológicos, em razão da variação verificada na concentração de lignina entre as duas classes funcionais de 122% e 133% no caule e nas folhas, respectivamente. Kirst *et al.* (2004) estudando a relação da lignina com o crescimento de espécies arbóreas indicaram uma clara associação entre a composição da parede celular e o crescimento da planta. Estes autores relataram que a transcrição dos genes que codificam enzimas da via biossintética de monolignóis, precursores da síntese de lignina, são mais eficientes em árvores de crescimento lento. Assim, foi verificado maior relação siringila/guaiacila (S/G), unidades formadoras de lignina, nestes indivíduos. Segundo Novaes *et al.* (2010), a alocação de carbono para a síntese de lignina é mais eficiente do que o dreno dos carboidratos para a síntese de celulose e hemiceluloses em espécies de crescimento lento.

Essa maior proporção de lignina do xilema secundário caulinar das espécies não pioneiras pode ter associação não somente com o menor metabolismo celular, mas também com o teor de amido (HARDING *et al.*, 2009; NOVAES *et al.*, 2010), embora a concentração desse carboidrato não tenha diferido das espécies pioneiras. No entanto, devemos considerar a elevada variabilidade interespecífica do teor de amido na classe das não pioneiras. Enquanto o teor de amido caulinar das pioneiras variou 78%, nas espécies não pioneiras a variação foi de 280%. Semelhante ao que foi sugerido na discussão de carboidratos solúveis em folhas que mostraram elevada variabilidade interespecífica como o amido caulinar, o aumento do número de espécies poderia proporcionar melhor normalização dos dados e mostrar diferenças significativas não constatadas para o amido caulinar.

Baseado na informação de que as hemiceluloses constituem o segundo grupo de polissacarídeo mais abundante no reino vegetal – podendo variar de 10 a 30% da massa seca (SHÄDEL *et al.*, 2010) – e de grande importância econômica e ecológica (SHÄDEL *et al.*, 2009), a caracterização das hemiceluloses de espécies pioneiras e não pioneiras é imprescindível para um trabalho de abordagem ecológica como esse. Independente do grupo funcional, a elevada proporção de xilose (70 a 80%) no xilema secundário do caule sugere

a presença de xilanos como o componente principal da matriz das hemiceluloses (SHÄDEL *et al.*, 2010). Segundo os autores Shädel *et al.* (2009), o xilano é a classe de hemiceluloses mais abundante na parede celular secundária de espécies lenhosas, constituindo de 30 a 35% da massa seca total dos polímeros de parede celular nestas espécies.

Essa menor proporção de hemiceluloses bem como de celulose e lignina no xilema secundário caulinar das espécies pioneiras em relação às não pioneiras, mostrou relação com as dimensões do diâmetro do elemento de vaso e lúmen do elemento de vaso maior nas espécies pioneiras. Tais características são associadas ao maior fluxo de água e nutrientes típico de espécies de crescimento rápido (COSTA *et al.*, 2009; POORTER *et al.*, 2010; ZANNE *et al.*, 2010). A eficiência no transporte de água permite maior condutância estomática, o que, conseqüentemente, proporciona aumento na taxa fotossintética, no ganho de carbono e no crescimento destes indivíduos (POORTER *et al.*, 2010; ZANNE *et al.*, 2010). O maior diâmetro do elemento de vaso e do lúmen do elemento de vaso também tem sido associado à menor densidade da madeira, como relatado para espécies pioneiras (KING *et al.*, 2005; POORTER *et al.*, 2008; 2010).

Com base nos resultados encontrados e diante do que foi discutido neste trabalho, conclui-se que as hipóteses inicialmente propostas foram corroboradas. As hipóteses levantadas nesse estudo foram confirmadas ao se constatar que as espécies arbóreas pioneiras apresentaram maiores concentrações de pigmentos cloroplásticos, maior densidade estomática e diâmetro dos elementos de vaso e, maiores teores de glicose (6% da MS), frutose (2,3% da MS) e sacarose (7,9% da MS) do xilema secundário caulinar. As espécies não pioneiras destacaram-se pela maior espessura do limbo foliar, maior teor de amido foliar (2,8% da MS) e maior deposição de componentes estruturais de parede celular nas folhas (10% de celulose, 15% de hemicelulose e 4% de lignina da MS) e no xilema secundário caulinar (33% de celulose, 24% de hemicelulose e 22% de lignina da MS). O arabinogalactano parece ser a principal matriz das hemiceluloses das folhas das espécies pioneiras e não pioneiras e a hemicelulose principal do caule de todas as espécies sugere o xilano.

7. CONCLUSÃO E CONSIDERAÇÃO FINAL

De todas as variáveis analisadas, os polímeros de parede celular, a espessura do limbo foliar, a densidade estomática e as dimensões dos elementos de vasos foram os que mostraram diferenças marcantes entre as espécies pioneiras e não pioneiras avaliadas neste estudo. No entanto, a determinação dos polímeros de parede celular são os mais indicados para classificação de espécies pioneiras e não pioneiras devido à maior estabilidade dessas moléculas. Todavia, dentre os polímeros, a lignina foliar e caulinar apresentou maior diferença entre as duas classes funcionais, especialmente em folhas. Considerando a facilidade de coleta e procedimento de análise, concluímos que a determinação de lignina foliar é a mais indicada para auxiliar na classificação de espécies arbóreas pioneiras e não pioneiras de florestas tropicais, o que é muito importante nas políticas de conservação e manejo em programas de reflorestamento e recuperação de áreas degradadas.

Contudo, algumas variáveis referentes aos carboidratos não estruturais como os açúcares solúveis foliares e o amido caulinar apresentaram grande variação interespecífica nas classes funcionais. Logo, sugere-se mais estudos aumentando o número de espécies, pois, desta forma, poderia normalizar estes atributos e mostrar diferenças significativas não constatadas neste trabalho. Adicionalmente, como não foram realizadas avaliações da eficiência fotoquímica e bioquímica da fotossíntese nestas espécies aqui investigadas, sugerimos a necessidade da realização desta análise para confirmação precisa de que espécies pioneiras apresentam elevadas taxas fotossintéticas quando comparada com as não pioneiras, para melhor elucidação desta informação.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ACKERLY, D.D. Canopy structure and dynamics: integration of growth processes in tropical pioneer trees. *In*: MULKEY, S.S.; CHAZDON, R.L.; SMITH, A.P. **Tropical Forest Plant Ecophysiology**. New York: s. ed., chap. 21, 1996.

ALBERT, C.H.; THUILLER, W.; YOCCOZ, N.; SOUDANT, A.; BOUCHER, F.; SACCONI, P.; LAVOREL, S. Intraspecific functional variability: extent, structure and sources of variation. **Journal of Ecology**, v. 98, n. 3, p. 604-613, 2010.

ALVARENGA, A.A.; CASTRO, E.M.; LIMA JUNIOR, E.C.; MAGALHÃES, M.M. Effects of different light levels on the initial growth and photosynthesis of *Croton urucurana* Baill. in southeastern Brazil. **Revista Árvore**, v. 27, n. 1, p. 53-57, 2003.

ALVES, E.S.; ANGYALOSSY-ALFONSO, V. Ecological trends in the wood anatomy of some brazilian species. 1. Growth ring and vessels. **IAWA Journal**, Leiden, v. 20, n. 1. p. 3-30, 2000.

AMARAL, L.I.V.; GASPAR, M.; COSTA, P.M.F.; AIDAR, M.P.M.; BUCKERIDGE, M.S. Novo método enzimático rápido e sensível de extração e dosagem de amido em materiais vegetais. **Hoehnea**, v. 34, p. 425-431, 2007.

ANDRADE, A.R.; NERY, J T. Análise sazonal e espacial da precipitação pluvial na bacia hidrográfica do Rio Avaí-Paraná. **Boletim de Geografia Maringá**, v. 29, n. 2, p. 107-121, 2011.

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

AVIGAD, G.; DEY, P.M. **Plant Biochemistry**. New York: Academic Press, p. 143, 169, 177, 191-192, 1997.

AWANO, T.; TAKABE, K.; FUJITA, M. Xylan and lignin deposition on the secondary wall of *Fagus crenata* fibers. *In*: MOROHOSHI, N.; KOMAMINE, A.

(Ed.). **Molecular Breeding of Woody Plants**. Arnstadt: Elsevier Science, p. 137-142, 2001.

BAOLI, D.; YANWEI, L.; CHUNYING, Y.; CHUNYANG, L. Morphological and physiological plasticity of woody plant in response to high light and low light. **Chinese Journal of Applied and Environmental Biology**, v. 11, n. 2, p. 238-245, 2005.

BEEMSTER, G.T.; De VUSSER, K.; De TAVERNIER, E.; De BOCK, K.; INZE, D. Variation in growth rate between Arabidopsis ecotypes is correlated with cell division and A-type cyclin-dependent kinase activity. **Plant Physiology**, v. 129, p. 854-864, 2002.

BOEGER, M.R.T.; WISNIEWSKI, C. Comparação da morfologia foliar de espécies arbóreas de três estádios sucessionais distintos de Floresta Ombrófila Densa (Floresta Atlântica) no Sul do Brasil. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 26, n. 1, p. 61-72, 2003.

BOEGER, M.R.T.; ESPÍNDOLA JÚNIOR, A.; MACARI JÚNIOR, A.; REISSMANN, C.B.; ALVES, A.C.A.; RICKLI, F.L. Variação estrutural foliar de espécies medicinais em consórcio com erva-mate, sob diferentes intensidades luminosas. **Floresta**, v. 39, n. 1, p. 215-225, 2009.

BORBA, M.R.; SCARPARE FILHO, J.A.; KLUGE, R.A. Teores de carboidratos em pessegueiros submetidos a diferentes intensidades de poda verde em clima tropical. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 27, n. 1, p. 68-72, 2005.

BRENDEL, O.; LOSETTA, P.P.M.G.; STEWART, D. A rapid and simple method to isolate pure alpha cellulose. **Phytochemistry Annal**, v. 17, p. 7-10, 2000.

BRITTO, F.P.; BARLETTA, R.; MENDONÇA, M. Regionalização sazonal e mensal da precipitação pluvial máxima no estado do Rio Grande do Sul. **Revista Brasileira de Climatologia**, v. 2, p. 35-51, 2006.

BUCKERIDGE, M.S.; CAVALARI, A.A.; SILVA, G.B. Parede Celular. *In*: KERBAUY, G.B. (Ed.). **Fisiologia Vegetal**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 165-181, 2008.

BUCKERIDGE, M.S.; SANTOS, H.P.; TINÉ, M.A.S. Mobilisation of storage cell wall polysaccharides in seeds. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 38, p. 141-156, 2000.

BUDOWSKI, G.N. Distribution of tropical american rain forest species in the light of sucessional process. **Turrialba**, v. 15, p. 440-442, 1965.

CANILHA, L.; MILAGRES, A.M.F.; SILVA, S.S.; ALMEIDA SILVA, J.B.; FELIPE, M.G.A.; ROCHA, G.J.M.; FERRAZ, A.; CARVALHO, W. Sacarificação da biomassa lignocelulósica através de pré-hidrólise ácida seguida por hidrólise enzimática: uma estratégia de “desconstrução” da fibra vegetal. **Revista Analytica**, n. 44, p. 48-54, 2010.

CAQUET, B.; BARIGAH, T.; COCHARD, H.; MONTPIED, P.; COLLET, C.; DREYER, E.; EPRON, D. Hydraulic properties of naturally regenerated beech saplings respond to canopy opening. **Tree Physiology**, v. 29, p. 1395-1405, 2009.

CARPITA, N.C.; GIBEAUT, D.M. Structural models of primary cell walls in flowering plants: consistency of molecular structure with the physical properties of the walls during growth. **The Plant Journal**, Oxford, v. 3, p. 1-30, 1993.

CARPITA, N.; McCANN, M. The cell wall. *In*: BUCHANAN, B.B.; GRUISSEM, W.; JONES, R.L. (Ed.). **Biochemistry and Molecular Biology of Plants**. American Society of Plant Physiologists, Rockville, Maryland: Couries Companies, p. 52-89, 2000.

CARVALHO, N.O.S.; PELACANI, C.S.; RODRIGUES, M.O.S.; CREPALDI, I.C. Crescimento inicial de plantas de licuri (*Syagrus coronata* (Mart.) Becc.) em diferentes níveis de luminosidade. **Revista Árvore**, v. 30, n. 3, p. 351-357, 2006.

CASAGRANDE JR, J.G.; BIANCHI, V.J.; STRELOW, E.Z.; BACARIN, M.A.; FASCHINELLO, J.C. Influência do sombreamento sobre os teores de carboidratos e fenóis em estacas semilenhosas de araçazeiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 34, n. 12, p. 2219-2223, 1999.

CASTRO, E.M.; PEREIRA, F.J.; PAIVA, R. **Histologia Vegetal**: Estrutura e função de órgãos vegetativos. Lavras: UFLA, 2009. 234p.

CHOAT, B.; MEDEK, D.E.; STUART, S.A.; PASQUET-KOK, J.; EGERTON, J.J. G.; SALARI, H.; SACK, L.; BALL, M.C. Xylem traits mediate a trade-off between resistance to freeze-thaw-induced embolism and photosynthetic capacity in overwintering evergreens. **New Phytologist**, v. 191, p. 996-1005, 2011.

COSTA, C.G.; CALLADO, C.H.; CORADIN, V.T.R.; CARMELLO GUERREIRO, S.M. Xilema. *In*: APEZZATO-DA-GLÓRIA, B.; CARMELLO-GUERREIRO, S.M. **Anatomia Vegetal**. 2. ed., Viçosa: Ed. UFV, 2009. 438p.

COUÉE, I.; SULMON, C.; GOUESBET, G.; AMRANI, A. E. Involvement of soluble sugars in reactive oxygen species balance and responses to oxidative stress in plants. **Journal of Experimental Botany**, v. 57, n. 3, p. 449-459, 2006.

CUTLER, D.F.; BOTHA, T.; STEVENSON, D.W. **Anatomia Vegetal**: Uma abordagem aplicada. Porto Alegre: Artmed, 2011.

CUZZUOL, G.R.F.; CLIPPEL, J.K. Aspectos ecofisiológicos de *Sinningia agnensis* Chautems em condições de campo. **Hoehnea**, v. 36, n. 1, p. 73-81, 2009.

CUZZUOL, G.R.F.; MILANEZ, C.R.D. Morphological and Physiological Adjustments in Juvenile Tropical Trees under Contrasting Sunlight Irradiance. *In*: NAJAFPOUR, M.M. (Ed.). **Advances in Photosynthesis**: Fundamental Aspects. Rijeka: InTech - Open Access Publisher, v. 1, p. 501-518, 2012.

DENNIS, D.T.; BLAKELEY, S.D. Carbohydrate Metabolism. *In*: BUCHANAN, B.; GRUISSEM, W.; JONES, R. (Ed.). **Biochemistry and Molecular Biology of Plants**. American Society of Plant Physiologists. p. 630-675, 2000.

DENSLOW, J.S. Functional groups diversity and recovery from disturbance. *In*: ORIAN, G.H.; DIRZO, R.; CUSHMAN, J.H. **Biodiversity and Ecosystem Processes in Tropical Forests**. Berlim, New York: Springer, p. 127-151, 1996.

DICKISON, W. C. **Integrative Plant Anatomy**. San Diego: Harcourt Academic Press, 2000.

DOS SANTOS, W.D.; FERRARESE, M.L.; NAKAMURA, C.V.; MOURÃO, K.S.M. MANGOLIN, C.A.; FERRARESE-FILHO, O. Soybean (*Glycine max*) root lignification induced by ferulic acid. The possible mode of action. **Journal of Chemical Ecology**, v. 34, p. 1230-1241, 2008.

DUBOIS, M.; GILLES, K.A.; HAMILTON, J.K.; REBERS, P.A.; SMITH, F. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. **Analytical Chemistry**, v. 28, p. 350-356, 1956.

DUZ, S.R.; SIMINSKI, A.; SANTOS, M.; PAULILO, M.T.S. Crescimento inicial de três espécies de arbóreas da Floresta Atlântica em resposta à variação na quantidade de luz. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 27, n. 3, p. 587-596, 2004.

EBRINGEROVÁ, A.; HEINZE, T. Xylan and xylan derivatives – biopolymers with valuable properties, naturally occurring xylan structures, isolation procedures and properties. **Macromolecular Rapid Communications**, Weinheim, v. 21, p. 542-556, 2000.

ELLIS, A.R.; HUBELL, S.P.; POTVIN, C. In situ field measurements of photosynthetic rates of tropical tree species: a test of the functional group hypothesis. **Canadian Journal of Botany**, v. 78, p. 1336-1347, 2000.

FAVARETTO, V.F.; MARTINEZ, C.A.; SORIANI, H.H.; FURRIEL, R.P.M. Differential responses of antioxidant enzymes in pioneer and late-successional tropical tree species grown under sun and shade conditions. **Environmental and Experimental Botany**, v. 70, p. 20-28, 2011.

FENGEL, D.; WEGNER, G. **Wood: Chemistry, ultrastructure and reactions**. Berlin: GRUYTER, W. 1989. 613p.

FERRAZ, I.D.K.; LEAL FILHO, N.; IMAKAWA, A.M.; VARELA, V.P.; PIÑA-RODRIGUES, F.C.M. Características básicas para um agrupamento ecológico preliminar de espécies madeireiras da floresta de terra firme da Amazônia Central. **Acta Amazonica**, v. 34, n. 4, p. 621-633, 2004.

FINEGAN, B. Forest succession. **Nature**, v. 312, p. 109-114, 1984.

FRANK, E.; LE ROUX, X.; MILLARD, P.; DREYER, E.; JAOUEN, G.; SAINT-JOANIS, B.; WENDLER, R. Changes in total leaf nitrogen and partitioning of leaf nitrogen drive photosynthetic acclimation to light in fully developed walnut leaves. **Plant, Cell and Environment**, v. 24, p. 1279-1288, 2001.

FRIGERI, R.B.C. Relação entre raiz e parte aérea de plântulas de espécies arbóreas tropicais sob diferentes níveis de radiação solar. **Tese de Doutorado em Biologia Vegetal**, Universidade Estadual de Campinas – UNICAMP, 2007. 152p.

FRY, S.C.; YORK, W.S.; ALBERSHEIM, P.; DARVILL, A.; HAYASHI, T.; JOSELEAU, J.P.; KATO, Y.; LORENCES, E.P.; MACLACHLAN, G.A.; McNEIL, M.; MORT, A.J.; REID, J.S.G.; SEITZ, H.U.; SELVENDRAN, R.R.; WHITE, A.L. An unambiguous nomenclature for xyloglucan derived oligosaccharides. **Physiologia Plantarum**, v. 89, p. 1-3, 1993.

GARCÍA HORTAL, J.A. **Fibras papeleras**. Barcelona: UPC, 2007. 243p.

GERRITS, P.O. **The Application of Glycol Metacrylate in Histotechnology**: Some fundamental principles. Netherlands: Department of Anatomy and Embriology, State University of Groningen, 1991. 80p.

GIBEAUT, D.M.; CRAMER, G.R.; SEEMANN, J.R. Growth, cell walls, and UDP-Glc dehydrogenase activity of *Arabidopsis thaliana* grown in elevated carbon dioxide. **Journal of Plant Physiology**, v. 158, n. 5, p. 569-576, 2001.

GOMES, E.; GUEZ, M.A.U.; MARTIN, N.; SILVA, R. Enzimas termoestáveis: fontes, produção e aplicação industrial. **Química Nova**, v. 30, n. 1, p. 136-145, 2007.

GONÇALVES, J.F.C.; MARENCO, R.A.; VIEIRA, G. Concentration of photosynthetic pigments and chlorophyll fluorescence of mahogany and tonka bean under two light environments. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v. 13, n. 2, p. 149-157, 2001.

GONÇALVES, J.F.C.; BARRETO, D.C.S.; SANTOS JR; U.M.; FERNANDES, A.V.; SAMPAIO, P.T.B.; BUCKERIDGE; M.S. Growth, photosynthesis and stress indicators in young rosewood plants (*Aniba rosaeodora* Ducke) under different light intensities. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, v.17, n.3, p. 325-334, 2005.

GONÇALVES, J.F.C.; SANTOS JR, U.M.; NINA JR, A.R.; CHEVREUIL, L.R. Energetic flux and performance index in copaiba (*Copaifera multijuga* Hayne) and mahogany (*Swietenia macrophylla* King) seedlings grown under two irradiance environments. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, v. 19, n. 3, p. 171-184, 2007.

GUREVITCH, J.; SCHEINER, S.M.; FOX, G.A. **Ecologia Vegetal**. Porto Alegre: Artmed, 2009. 592p.

HARDING, S.A.; JARVIE, M.M.; LINDROTH, R.L.; TSAI, C.J. A comparative analysis of phenylpropanoid metabolism, N utilization, and carbon partitioning in fast- and slow-growing *Populus* hybrid clones. **Journal of Experimental Botany**, v. 60, p. 3443-3452, 2009.

HOFFMAN, S.; SCHWEINGRUBER, F.H. Light shortage as a modifying factor for growth dynamics and wood anatomy in young deciduous trees. **IAWA Journal**, v. 23, n. 2, p. 121-141, 2002.

HU, W.J.; HARDING, S.A.; LUNG, J.; POPKO, J.L.; RALPH, J.; STOKKE, D.D.; TSAI, C.J.; CHIANG, V.L. Repression of lignin biosynthesis promotes cellulose accumulation and growth in transgenic trees. **Nature Biotechnology**, v. 17, p. 808-812, 1999.

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

IANNELLI-SERVÍN, C.M. Caracterização ecofisiológica de espécies nativas da Mata Atlântica sob dois níveis de estresse induzidos pelo manejo florestal em área de restauração florestal no estado de São Paulo. **Tese de Doutorado em Recursos Florestais**, Universidade de São Paulo – Piracicaba, 2007. 94p.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Mapa da Vegetação do Brasil**. Rio de Janeiro: IBGE, 2004. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br>>. Acesso em: 12 out. 2014.

JESUS, R.M.; ROLIM, S.G. Fitossociologia da Mata Atlântica de Tabuleiro. **Boletim Técnico da Sociedade de Investigações Florestais**, v. 19, p. 1-149, 2005.

JOHANSEN, D.A. **Plant Microtechnique**. New York: McGraw-Hill Co., 1940. 523p.

KAGEYAMA, P.Y.; GANDARA, F.B. Recuperação de Áreas Ciliares. *In*: RODRIGUES, R.R.; LEITÃO-FILHO, H.F. **Matas Ciliares: Conservação e Recuperação**. São Paulo, EDUSP/FAPESP, p. 249-269, 2000.

KAKURÁKOVÁ, M.; CAPEK, P.; WELLNER, N.; EBRINGEROVÁ, A. FT-IR study of plant cell model compounds: pectic polysaccharides and hemicelluloses. **Carbohydrate Polymers**, v. 43, p. 195-203, 2000.

KING, D.A.; DAVIES, S.J.; NUR SUPARDI, M.N.; TAN, S. Tree growth is related to light interception and wood density in two mixed dipterocarp forests of Malaysia. **Functional Ecology**, v. 19, p. 445-453, 2005.

KIRST, M.; MYBURG, A.A.; De LEON, J.P.; KIRST, M.E.; SCOTT, J.; SEDEROFF, R. Coordinated genetic regulation of growth and lignin revealed by quantitative trait locus analysis of cDNA microarray data in an interspecific backcross of Eucalyptus. **Plant Physiology**, v. 135, p. 2368-2378, 2004.

KLEMM, D.; HEUBLEIN, B.; FINK, H.P.; BOHN, A. Cellulose: Fascinating biopolymer and sustainable raw material. **Angewandte Chemie International**, Weinheim, v. 44, p. 3358-3393, 2005.

KRAUS, J.E.; ARDUIN, M. **Manual Básico de Métodos em Morfologia Vegetal**. Seropédica, EDUR, 1997. 198p.

LAGE-PINTO, F.; BERNINI, E.; OLIVEIRA, J.G.; VITÓRIA, A.P. Photosynthetic analyses of two native Atlantic Forest species in regenerative understory of

eucalyptus plantation. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, v. 24, n. 2, p. 95-106, 2012.

LAMBERS, H.; CHAPIM III, F.S.; PONS, T.L. **Plant Physiological Ecology**. 2 ed. New York: Springer, 2008. 605p.

LARS, H.; GUNNAR, J.; GORAN, P.; JIEBING, L.; PIERRE, L.; GUNNAR, H. Do the extracellular enzymes cellobiose dehydrogenase and manganese peroxidase form a pathway in lignin biodegradation? **FEBS**, v. 477, n. 1-2, p. 79-83, 2000.

LAWOKO, M.; HENRIKSSON, G.; GELLERSTEDT, G. Structural differences between the lignin-carbohydrate complexes presents in wood and chemical pulps. **Biomacromolecules**, Washington, DC, v. 6, p. 3467-3473, 2005.

LAWOKO, M.; HENRIKSSON, G.; GELLERSTEDT, G. Characterization of lignin carbohydrate complexes (LCCs) of spruce wood (*Picea abies* L.) isolated with two methods. **Holzforschung**, Berlin, v. 60, p. 156-161, 2006.

LENHARD, N.R.; PAIVA NETO, V.B.; SCALON, S.P.Q.; ALVARENGA, A.A. Crescimento de mudas de pau-ferro sob diferentes níveis de sombreamento. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 43, n. 2, p. 178-186, 2013.

LEGROS, S.; MIALET-SERRA, I.; CLEMENT-VIDAL, A.; CALIMAN, J.P.; SIREGAR, F.A.; FABRE, D.; DINGK UHN, M. Role of transitory carbon reserves during adjustment to climate variability and source-sink imbalances in oil palm (*Elaeis guineensis*). **Tree Physiology**, v. 29, p. 1199-1211, 2009.

LICHTENTHALER, H.K.; BABANI, F. Differences in pigment composition, photosynthetic rates and chlorophyll fluorescence images of sun and shade leaves of four tree species. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 45, n. 8, p. 577-588, 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.

LICHTENTHALER, H.K.; BUSCHMANN, C.; DOLL, M.; FIETZ, H.J.; BACH, T.; KOZEL, U.; MEIER, D.; RAHMSDORF, U. Photosynthetic activity, chloroplast ultrastructure, and leaf characteristics of high-light and low-light plants and of sun and shade leaves. **Photosynthesis Research**, v. 2, p. 115-141, 1981.

LINDORF, H. Eco-anatomical wood features of species from a very dry tropical Forest. **IAWA Journal**, v. 15, n. 4, p. 361-376, 1994.

LORENZI, H. **Árvores Brasileiras**: Manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas do Brasil. Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum, v. 1, 1992. 352p.

LORENZI, H. **Árvores Brasileiras**: Manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas do Brasil. 2. ed., Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum, v. 2, 2002. 368p.

LORENZI, H. **Árvores Brasileiras**: Manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas do Brasil. 5. ed., Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum, v. 1, 2008. 384p.

LÜTTGE, U. **Physiological Ecology of Tropical Plants**. Berlin, New York: Springer, 1997. 384 p.

LÜTTGE, U.; SCARANO, F.R. Synecological comparisons sustained by ecophysiological fingerprinting of intrinsic photosynthetic capacity of plants as assessed by measurements of light response curves. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 30, n. 3, p. 355-364, 2007.

MACIEL, M.N.M.; WATZLAWICK, L.F.; SCHOENINGER, E.R.; YAMAJI, F.M. Classificação ecológica das espécies arbóreas. **Revista Acadêmica: Ciências Agrárias e Ambientais**, v. 1, n. 2, p. 69-78, 2003.

MAGEL, E.; EINIG, W.; HAMPP, R. Carbohydrates in trees. *In*: GUPTA, A.K.; KAUR, N. (Ed.). Carbohydrates Reserves in Plants: Synthesis and Regulation. **Developments in Crop Science**, v. 26, p. 317-336, 2000.

MARENCO, R.A.; LOPES, N.F. **Fisiologia Vegetal**: Fotossíntese, respiração, relações hídricas e nutrição mineral. Viçosa, Universidade Federal de Viçosa, 2009. 486 p.

MARENCO, R.A.; GOLÇALVES, J.F.C.; VIEIRA, G. Leaf gas exchange and carbohydrates in tropical trees differing in successional status in two light environments in central Amazonia. **Tree Physiology**, v. 21, p. 1311-1318, 2001.

MARTINAZZO, E.G.; ANESE, S.; WANDSCHEER, C.D.; PASTORINI, L.H. Efeito do sombreamento sobre o crescimento inicial e teor de clorofila foliar de *Eugenia uniflora* Linn (Pitanga) - família Myrtaceae. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 5, sup. 2, p. 162-164, 2007.

MATOS, F.S.; MOREIRA, C.V.; MISSIO, R.F.; DIAS, L.A.S. Caracterização fisiológica de mudas de *Jatropha curcas* L. produzidas em diferentes níveis de irradiância. **Revista Colombiana de Ciências Hortícolas**, v. 3, n. 1, p. 126-134, 2009.

McINTYRE, S.; LAVOREL, S.; LANDSBERG, J.; FORBES, T.D.A. Disturbance response in vegetation – Towards a global perspective on functional traits. **Journal of Vegetation Science**, v. 10, p. 621-630, 1999.

MENDES, K.R. Efeito da sazonalidade da precipitação no crescimento e trocas gasosas em espécies arbóreas numa floresta de terra-firme da Amazônia Central. **Dissertação de Mestrado em Botânica**, Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Universidade Federal do Amazonas, 2009. 90p.

MENGARDA, L.H.G.; MILANEZ, C.R.D.; SILVA, D.M.; AGUILAR, M.A.G.; CUZZUOL, G.R.F. Morphological and physiological adjustments of brazilwood (*Caesalpinia echinata* Lam.) to direct solar radiation. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, v. 24, n. 3, p. 161-172, 2012.

MENGARDA, L.H.G.; SOUZA, R.L.F.; CAMPOSTRININ, E.; REIS, F.O.; VENDRAME, W.; CUZZUOL, G.R.F. Light as an indicator of ecological succession in brazilwood (*Caesalpinia echinata* Lam.). **Brazilian Journal of Physiology**, v. 21, p. 55-63, 2009.

MOURA, J.C.M.S.; BONINE, C.A.V.; VIANA, J.O.F.; DORNELAS, M.C.; MAZZAFERA, P. Abiotic and biotic stresses and changes in the lignin content and composition in plants. **Journal of Integrative Plant Biology**, v. 52, n. 4, p. 360-376, 2010.

NEMÉSIO, A. Are orchid bees at risk? First comparative survey suggests declining populations of forest-dependent species. **Brazilian Journal of Biology**, v. 73, n. 2, p. 367-374, 2013.

NIINEMETS, U. Component of leaf dry mass per area – thickness and density – alter leaf photosynthetic capacity in reverse directions in woody plants. **New Phytologist**, v. 144, p. 35-47, 1999.

NISHIKAWA, F.; KATO, M.; HYODO, H.; IKOMA, Y.; SUGIURA, M.; YANO, M. Effect of sucrose on ascorbate level and expression of genes involved in the ascorbate biosynthesis and recycling pathway in harvested broccoli florets. **Journal of Experimental Botany**, v. 56, n. 409, p. 65-72, 2005.

NOVAES, E.; KIRST, M.; CHIANG, V.; WINTER-SEDEROFF, H.; SEDEROFF, R. Lignin and biomass: A negative correlation for wood formation and lignin content in trees. **Plant Physiology**, v. 154, p. 555-561, 2010.

OKSANEN, E.; RIIKONEN, J.; KAAKINEN, S.; HOLOPAINEN, T.; VAPAAVUORI, E. Structural characteristics and chemical composition of birch (*Betula pendula*) leaves are modified by increasing CO₂ and ozone. **Global Change Biology**, v. 11, p. 732-748, 2005.

OSUNKOYA, O.O.; ASH, J.E.; HOPKINS, M.S.; GRAHAM, A.W. Influence of seed size and seedling ecological attributes on shade-tolerance of rain-forest tree species in Northern Queensland. **Journal of Ecology**, v. 82, n. 1, p. 149-163, 1994.

PARIDA, A.K.; DIAS, A.B.; MITTRA, B. Effects of salt on growth, ion accumulation, photosynthesis and leaf anatomy of the mangrove, *Bruguiera parviflora*. **Trees**, v. 18, p. 167-174, 2004.

PAROLIN, P.; WALDHOFF, D.; PIEDADE, M.T.F. Gas Exchange and photosynthesis. *In*: JUNK, W.J.; PIEDADE, M.T.F.; WITTMANN, F.; SCHONGART, J. PAROLIN, P. (Ed.). **Amazonian Floodplain Forests: Ecophysiology, biodiversity and sustainable management**. London: Springer, p. 203-224, 2010.

PAULA, A.; SILVA, A.F.; MARCO JR, P.; SANTOS, F.A.M.; SOUZA, A.L. Sucessão ecológica da vegetação arbórea em uma floresta estacional semidecidual, Viçosa, MG, Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, v. 18, n. 3, p. 407-423, 2004.

PEIXOTO, A.L.; GENTRY, A. Diversidade e composição florística de mata de tabuleiro na Reserva de Linhares (Espírito Santo, Brasil). **Revista Brasileira de Botânica**, v. 13, p. 19-25, 1990.

PILÓ-VELOSO, D.; NASCIMENTO, E.A.; MORAIS, S.A.L. Quantitative chemical and ^{13}C NMR analysis of *Eucalyptus grandis* lignin. Proceeding of the Third Symposium on the Chemistry of lignin and other wood components. Belo Horizonte, **Química Nova**, São Paulo, p. 150-154, 1993.

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

POORTER, L.; BONGERS, F. Leaf traits are good predictors of plant performance across 53 rain forest species. **Ecology**, v. 87, n. 7, p. 1733-1743, 2006.

POORTER, L.; WRIGHT, S.J.; PAZ, H.; ACKERLY, D.D.; CONDIT, R.; IBARRA-MANRÍQUEZ, G.; HARMS, K.E.; LICONA, J.C.; MARTÍNEZ-RAMOS, M.; MAZER, S.J.; MULLER-LANDAU, H.C.; PEÑA-CLAROS, M.; WEBB, C.O.; WRIGHT, I.J. Are functional traits good predictors of demographic rates? Evidence from five neotropical forests. **Ecology**, v. 89, n. 7, p. 1908-1920, 2008.

POORTER, L.; MCDONALD, I.; ALARCÓN, A.; FICHTLER, E.; LICONA, J.; PEÑA-CLAROS, M.; STERCK, F.; VILLEGAS, Z.; SASS-KLAASEN, U. The importance of wood traits and hydraulic conductance for the performance and life

history strategies of 42 rainforest tree species. **New Phytologist**, v. 185, p. 481-492, 2010.

PORTELA, F.C.S. Influência da irradiância na fisiologia e anatomia de *Carinina legalis* e *Cariniana estrellensis*. **Dissertação de Mestrado em Biologia Vegetal**, Departamento Botânica, Universidade Federal do Espírito Santo – Vitória, 2012. 110p.

PORTES, M.T.; DAMINELI, D.S.C.; RIBEIRO, R.V.; MONTEIRO, J.A.F.; SOUZA, G.M. Evidence of higher photosynthetic plasticity in the early successional *Guazuma ulmifolia* Lam. compared to the late successional *Hymenaea courbaril* L. grown in contrasting light environments. **Brazilian Journal of Biology**, v. 70, n. 1; p. 75-83, 2010.

PRICE, J.; LAXMI, A.; MARTIN, S.K.S.; JANG, J.C. Global transcription profiling reveals multiple sugar signal transduction mechanisms in *Arabidopsis*. **The Plant Cell**, v. 16, p. 2128-2150, 2004.

RAES, J.; ROHDE, A.; CHRISTENSEN, J.H.; VAN DE PEER, Y.; BOERJAN, W. Genome-wide characterization of the lignifications toolbox in *Arabidopsis*. **Plant Physiology**, v. 133, n. 3, p. 1051-1071, 2003.

RAIMONDO, F.; TRIFILÒ, P.; LO GULLO, M.A.; RUFFA, R.; NARDINI, A.; SALLEO, S. Effects of reduced irradiance on hydraulic architecture and water relations of two olive clones with different growth potentials. **Environmental and Experimental Botany**, v. 66, p. 249-256, 2009.

RAMOS, R.A. Regime térmico e relação fonte-dreno em mudas de laranjeiras: Dinâmica de carboidratos, fotossíntese e crescimento. **Dissertação de Mestrado em Agricultura Tropical**, Instituto Agronômico de Campinas, São Paulo, 2009. 52p.

REGO, G.M.; POSSAMAI, E. Efeito do sombreamento sobre o teor de clorofila e crescimento inicial do Jequitibá-rosa. **Boletim de Pesquisa Florestal**, v. 53, p. 179-194, 2006.

REYES, T.; NELL, T.A.; BARRETT, J.E.; CONOVER, C.A. Testing the light acclimatization potential of *Chrysalidocarpus lutescens* Wendl. **Horticultural Science**, v. 31, n. 7, p. 1203-1206, 1996.

RIBEIRO, M.C.; METZGER, J.P.; MARTENSEN, A.C.; PONZONI, F.J.; HIROTA, M.M. The Brazilian Atlantic Forest: How much is left, and how is the remaining forest distributed? Implications for conservation. **Biological Conservation**, v.142, n.6, p. 1141-1153, 2009.

RITTER, S.K. Lignocellulose: A complex biomaterial. **Chemical and Engineering News**, Washington, v. 86, n.49, p. 10-15, 2008.

RIZZINI, C.T. **Tratado de Fitogeografia do Brasil** – Aspectos ecológicos, sociológicos e florísticos. Rio de Janeiro, Âmbito Cultural Edições Ltda., 2. ed., 1997. 747p.

ROLAND, J.C.; REIS, D.; VIAN, B. Liquid crystal order and turbulence in the planar twist of the growing plant cell walls. **Tissue and Cell**, Siena, v. 24, n. 3, p. 335-345, 1992.

ROSSATO, D.R.; KOLB, R.M. *Gochnatia polymorpha* (Less.) Cabrera (Asteraceae) changes in leaf structure due to differences in light and edaphic conditions. **Acta Botanica Brasilica**, v. 24, n. 3, p. 605-612, 2010.

SABBI, L.B.C.; ÂNGELO, A.C.; BOEGER, M.R. Influência da luminosidade nos aspectos morfoanatômicos e fisiológicos de folhas de *Schinus terebinthifolius* Raddi (Anacardiaceae) implantadas em duas áreas com diferentes graus de sucessão, nas margens do Reservatório Iraí, Paraná, Brasil. **Iheringia**, Série Botânica, Porto Alegre, v. 65, n. 2, p. 171-181, 2010.

SANCHES, M.C.; MIELKE, M.S.; SOUZA, C.S.D.; VIEIRA, A.J.D.; LOPES, M.M.M.; SILVA JR, M.B. Morfologia foliar de indivíduos jovens e adultos de *Caesalpinia echinata* Lam. numa Floresta Semidecídua do sul da Bahia. **Revista Árvore**, v. 33, n. 5, p. 885-893, 2009.

SARIJEVA, G.; KNAPP, M.; LICHTENTHALER, H.K. Differences in photosynthetic activity, chlorophyll and carotenoid levels, and in chlorophyll

fluorescence parameters in green sun and shade leaves of *Ginkgo* and *Fagus*. **Journal of Plant Physiology**, v. 164, n. 7, p. 950-955, 2007.

SCALON, S.P.Q.; MUSSURY, R.M.; RIGONI, M.R.; VERALDO, F. Crescimento inicial de mudas de espécies florestais nativas sob diferentes níveis de sombreamento. **Revista Árvore**, v. 26, n. 1, p. 1-5, 2002.

SHÄDEL, C.; BLÖCHL, A.; RICHTER, A.; HOCH, G. Quantification and monosaccharide composition of hemicelluloses from different plant functional types. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 48, p. 1-8, 2010.

SHÄDEL, C.; BLÖCHL, A.; RICHTER, A.; HOCH, G. Short-term dynamics of nonstructural carbohydrates and hemicelluloses in young branches of temperate forest trees during bud break. **Tree Physiology**, v. 29, p. 901-911, 2009.

SILVA, A.S.; OLIVEIRA, J.G.; CUNHA, M.; VITÓRIA, A.P. Photosynthetic performance and anatomical adaptations in *Byrsonima sericea* DC. under contrasting light conditions in a remnant of the Atlantic Forest. **Brazilian Society of Plant Physiology**, v. 22, n. 4, p. 245-254, 2010.

SJÖBERG, J. Characterization of chemical pulp fiber surfaces with an emphasis on the hemicellulose. **Tese de Doutorado em Química da Madeira**, Royal Institut of Technology, Stockholm, 2002. 67p.

SMEEKENS, S. Sugar-induced signal transduction in plants. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, v. 51, p. 49-81, 2000.

SOARES, M.G. Plasticidade de plantas jovens de *Handroanthus chrysotrichus* (Mart. ex DC.) Mattos (Bignoniaceae) em respostas a radiação solar. **Dissertação de Mestrado em Biologia Vegetal**, Universidade Federal do Espírito Santo – Vitória, 2012. 91p.

SOUZA, R.P.; VÁLIO, I.F.M. Seedling growth of fifteen Brazilian tropical tree species differing in successional status. **Revista Brasileira de Botânica**, v.26, n.1, p. 35-47, 2003.

SOUZA, A.; MORAES, M.G.; FIGUEIREDO-RIBEIRO, R.C.L. Gramíneas do cerrado: carboidratos não-estruturais e aspectos ecofisiológicos. **Acta Botanica Brasilica**, v. 19, n. 1, p. 81-90, 2005.

SOUZA, A.; De PAULA, A.C.C.F.F.; FIGUEIREDO-RIBEIRO, R.C.L. Effects of irradiance on non-structural carbohydrates, growth, and hypoglycemic activity of *Rhynchelytrum repens* (Willd.) C.E. Hubb. (Poaceae). **Brazilian Journal of Biology**, v. 64, n. 3B, p. 697-706, 2004.

SOUZA, G.S.; CASTRO, E.M.; SOARES, A.M.; SANTOS, A.R.; ALVES, E. Teores de pigmentos fotossintéticos, taxa de fotossíntese e estrutura de cloroplastos de plantas jovens de *Mikania laevigata* Schultz Bip. ex Baker cultivadas sob malhas coloridas. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 32, p. 1843-1854, 2011.

STICKLEN, M. Plant genetic engineering for biofuel production: Towards affordable cellulosic ethanol. **Nature Reviews Genetics**, v. 9, p. 433-443, 2008.

SUN, Y.; CHENG, J. Hydrolysis of lignocellulosic material for ethanol production: A review. **Bioresource Technology**, New York, n. 83, p. 1-11, 2002.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. 4. ed. Porto Alegre: Artmed, 2009. 820p.

TRETHEWEY, R.N.; GEIGENBERGER, P.; RIEDEL, K.; HAJIREZAEI, M.R.; SONNEWALD, U.; STITT, M.; RIESMEIER, J.W.; WILLMITZER, L. Combined expression of glucokinase and invertase in potato tubers leads to a dramatic reduction in starch accumulation and a stimulation of glycolysis. **Plant Journal**, v. 15, p. 109-118, 1998.

TRETHEWEY, R.N.; SMITH, A.M. Starch metabolism in leaves. *In*: LEEGOOD, R.C.; SHARKEY, T.; VON CAEMMERER, S. Photosynthesis: Physiology and Metabolism. **Kluwer Academic Publishers**, p. 205-231, 2000.

VIEIRA, S.; TRUMBORE, S.; CAMARGO, P.B.; SELHORST, D.; CHAMBERS, J.Q.; HIGUCHI, N.; MARTINELLI, L.A. Slow growth rates of Amazonian trees:

Consequences for carbon cycling. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, EUA, v. 102, p. 18502-18507, 2005.

WHITMORE, T.C. Tropical rain forest dynamics and its implications for management. *In*: GOMES-POMPA, A.; WHITMORE, T.C.; HADLEY, M. **Rain Forest Regeneration and Management**. Paris, UNESCO and The Part Eeonon Publishing Group, p. 67-89, 1990.

WHITMORE, T.C. Gaps in the forest canopy. *In*: TOMLINSON, P.B., ZIMMERMANN, M.H. (Ed.). **Tropical Trees as Living Systems**. Cambridge: Cambridge University Press, p. 639-655, 1978.

WHITNEY, S.E.C.; GOTHARD, M.G.E.; MITCHELL, J.T.; GIDLEY, M.J. Roles of cellulose and xyloglucan in determining the mechanical properties of primary plant cell walls. **Plant Physiology**, Lancaster, v. 121, p. 657-663, 1999.

WÜRTH, M.K.R.; PELÁEZ-RIEDL, S.; WRIGHT, S.J.; KÖRNER, C. Non-structural carbohydrate pools in a tropical forest. **Oecologia**, v. 143, p. 11-24, 2005.

YAMASHITA, N.; ISHIDA, A.; KUSHIMA, H.; TANAKA, N. Acclimation to sudden increase in light favoring an invasive over native trees in subtropical islands, Japan. **Oecologia**, v. 125, p. 412-419, 2000.

ZANI, L.B. Caracterização ontogenética do pau-brasil (*Caesalpinia echinata* Lam.). **Dissertação de Mestrado em Biologia Vegetal**, Departamento Botânica, Universidade Federal do Espírito Santo – Vitória, 2012. 88p.

ZANNE, A.E.; WESTOBY, M.; FALSTER, D.S.; ACKERLY, D.D.; LOARIE, S.R.; ARNOLD, S.E.J.; COOMES, D.A. Angiosperm wood structure: Global patterns in vessel anatomy and their relation to wood density and potential conductivity. **American Journal of Botany**, v. 97, n. 2, p. 207-215, 2010.