



INSTITUTO NACIONAL DE PESQUISAS DA AMAZÔNIA – INPA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BOTÂNICA

**INFLUÊNCIA DOS RITMOS CIRCADIANOS NA CONDUTÂNCIA
ESTOMÁTICA E FOTOSSÍNTESE EM ESPÉCIES FLORESTAIS SOB
CONDIÇÕES DE SUB-BOSQUE NA AMAZÔNIA CENTRAL**

KEILA REGO MENDES

Manaus – AM
Dezembro, 2012.

INSTITUTO NACIONAL DE PESQUISAS DA AMAZÔNIA – INPA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BOTÂNICA

**INFLUÊNCIA DOS RITMOS CIRCADIANOS NA CONDUTÂNCIA
ESTOMÁTICA E FOTOSSÍNTESE EM ESPÉCIES FLORESTAIS SOB
CONDIÇÕES DE SUB-BOSQUE NA AMAZÔNIA CENTRAL**

KEILA REGO MENDES

Orientador: Dr. Ricardo Marengo

Tese apresentada ao Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Ciências Biológicas, área de concentração em Botânica.

Manaus – AM
Dezembro, 2012.

Ficha Catalográfica

M538 Mendes, Keila Rego

Influência dos ritmos circadianos na condutância estomática e fotossíntese em espécies florestais sob condições de sub-bosque na Amazônia Central / Keila Rego Mendes. --- Manaus : [s.n.], 2012.
xxi, 101 f. : il. color.

Tese (doutorado) --- INPA, Manaus, 2012.

Orientador : Ricardo Marengo

Área de Concentração: Biodiversidade Vegetal da Amazônia, Reprodução e Crescimentos de Vegetais.

1. Espécies florestais – Ritmo circadiano – Amazônia.
2. Condutância estomática. 3. Fotossíntese. I. Título.

CDD 19. ed. 634.95

Sinopse: Estudou-se o funcionamento estomático e a fotossíntese durante o ciclo circadiano em cinco espécies florestais em condições de sub-bosque na Amazônia Central.

Palavras-chave: Funcionamento estomático, fotossíntese, ciclo circadiano, velocidade máxima de carboxilação da Rubisco, taxa máxima de transporte de elétrons, nutrientes.

Keywords: Circadian clock, photosynthesis, maximum carboxylation velocity of Rubisco, maximum rate of electron transport, nutrient, stomatal functioning.

Dedico

À minha mãe Sebastiana Rêgo Mendes

Aos meus irmãos Sindri, Hugo e Kelry

Imprescindíveis no apoio

Que sempre acreditaram nos meus sonhos e

me deram força para enfrentar os desafios da vida.

A razão de todo o meu esforço.

AGRADECIMENTOS

“Realmente não viveu a vida aquele que não conheceu as maravilhas do mundo tropical”.

David Fairchild

A Deus, todo poderoso, pela vida, saúde e pelas graças e oportunidades concedidas.

Agradeço de coração a minha família: por todo apoio, confiança e amor, presentes em todos os momentos da minha vida, especialmente à minha mãe “Sebastiana”, pelo seu amor incondicional, que representa a base da minha formação pessoal, meu exemplo de mulher e professora, a quem dedico também mais esta vitória sem a qual não seria possível terminar esse trabalho.

Ao meu orientador, Dr. Ricardo A. Marengo, pelos ensinamentos concedidos, orientação dada com grande dedicação, importantes sugestões, pelo apoio precioso na minha jornada acadêmica e incentivo ao pensamento crítico.

Ao Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia – INPA, pela oportunidade da pós-graduação.

Ao Programa de Pós-graduação em Botânica (INPA), pela oportunidade de ingressar no curso de Botânica.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), por conceder a bolsa de estudos.

Ao coordenador do curso de Botânica, Dr. Alberto Vicentini, pelo empenho em buscar o melhor para o Curso.

Aos professores do curso de Botânica, pelos conhecimentos e experiências transmitidas durante as disciplinas e dedicação na sua missão de formar mestres e doutores.

A minha querida amiga Helena Cristina, mais que amiga uma irmã de coração, por ter me acompanhado durante todo meu percurso no mestrado e doutorado, pela fundamental ajuda no campo, tendo corajosamente deixado o conforto do seu lar para se arriscar nessa grande aventura e jornada de campo na selva Amazônica. Não tenho palavras para expressar os meus agradecimentos a você “minha equipe” que me auxiliou desde a primeira até a última coleta de campo, que tantas vezes carregou aquelas baterias super pesadas, que enfrentou todas as adversidades da floresta amazônica (incluindo noites chuvosas sem dormir) e por diversas vezes segurou na minha mão, me ergueu e ajudou a trilhar essa jornada, serei eternamente grata.

Aos amigos: Simone Verdes, Marcos Bento, Miguel Ângelo, Roniscley, Enedina Guimarães, Saul Antezana, Jonatha Araújo, Giordane Martins pela imensa ajuda no trabalho de campo e que tornaram essa experiência tão inesquecível.

Ao Dr. Joaquim dos Santos, pela atenção, colaboração e apoio logístico oferecido.

A secretaria da Botânica, em especial a Neide, Gisele, Jéssica e Léia, pelo constante e fundamental incentivo, pelo apoio em todos os processos administrativos e amizade.

Aos funcionários da CPST-INPA, especialmente a Sra. Valdecira, Sr. Alcione e MSc. Tércia Neves pelo carinho e atenção dispensada.

Aos Doutores: Dr. Joaquim dos Santos, Dr. Antônio Ocimar Manzi, Dr^a. Rosalee A. Coelho Dr^a. Zilvanda Lourenço de Oliveira, Dr. Henrique Eduardo Mendonça Nascimento, por suas sugestões, críticas e contribuições como membros da banca de qualificação.

Aos revisores do projeto de tese: Dr. Gustavo Maia Souza, Dr. Carlos Hotta, Dr. Luis Mauro G. Rosa, pelas correções e sugestões para o aprimoramento do plano de tese.

Aos Doutores: Maria Teresa Fernandez Piedade, Dr. Joaquim dos Santos, Dr. Antônio Ocimar Manzi, Dr. Gustavo Maia Souza, Dr. Jair Max Furtunato Maia, Dr. Hiroshi Nona, Dr. Luiz Antonio Cândido, por suas sugestões, críticas e contribuições como membros da banca de defesa.

Ao Laboratório Temático de Solos e Plantas – INPA – MSc. Tânia Pena, Tec. Orlando F. C. Junior, Tec. Raimundo N. de Abreu Aquino, Raimundo N. de Araújo Filho e Márcio Correa.

Aos pesquisadores e amigos do Laboratório de Fitopatologia – INPA – MSc. Luiz Alberto G. Assis e a Sr^a. Marilene, especialmente a Dr^a. Rosalee A. Coelho Neto, um exemplo de pesquisadora, comprometida com a ciência, que acompanhou minha trajetória desde os primórdios, quando eu era apenas uma aluna de graduação com grandes sonhos. Obrigada de coração pelas palavras de conforto e colaboração.

A prof^a. MSc. Yukari Okada, obrigada por me ensinar a gostar ainda mais da pesquisa, por me ajudar a enfrentar os desafios, sua orientação durante a graduação (ainda lembro com carinho dos cupins!) foi fundamental para essa conquista.

A Dr^a. Elisiana, exemplo de sabedoria, meus sinceros agradecimentos por sua confiança, por me adotar no seu laboratório num período em que tudo parecia perdido.

Aos motoristas do INPA, pela atenção e ajuda dispensada.

Aos companheiros de turma, pela amizade e boa convivência de alegria e bom humor.

A toda equipe que participou e participa do Laboratório de Ecofisiologia Florestal: Simone, Miguel, Saul, Gracilene, Marina, Priscila, Giordane, Nilvanda, pela amizade, apoio e bom

convívio durante esses anos. A Dr^a. Daniela pelo carinho e por ter contribuído no esclarecimento de muitas dúvidas.

Aos meus fiéis amigos Jacques, Dinha e Ivone “mãezinha”, por terem me acolhido com tanto amor e carinho, pela ajuda nas horas mais difíceis da minha estadia em Manaus, pelo incentivo e principalmente por acreditarem nos meus sonhos.

Ao Dr. Marcos Paulo Pereira, pela amizade, companheirismo e principalmente pelo grande estímulo e correções da tese. Sem você não teria sido tão divertido essa fase.

Agradeço a todos os meus verdadeiros amigos pela ajuda nos momentos de estresse.

Enfim, a todas as pessoas que, de alguma forma, contribuíram direta ou indiretamente para a realização deste trabalho.

GRATA

RESUMO

Este trabalho investigou como o funcionamento dos estômatos e fotossíntese respondem a exposição contínua à luz num ciclo circadiano em cinco espécies florestais na fase juvenil nativas da Amazônia Central. Também foi estudado como parâmetros fotossintéticos (velocidade máxima de carboxilação da Rubisco - V_{c-max} e taxa máxima de transporte de elétrons - J_{max}) respondem a luminosidade, temperatura e as variações diurnas no ambiente físico, bem como as relações entre luminosidade, as características foliares (espessura, área foliar específica - AFE e nutrientes) e fotossíntese. O estudo foi realizado na Estação Experimental de Silvicultura Tropical (Núcleo ZF2), do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia. Foram utilizadas cinco espécies, na fase juvenil, com até 3 m de altura. Os dados de condutância estomática (g_s) e fotossíntese (A) durante o ciclo circadiano foram coletados de junho a setembro de 2010, usando um sistema portátil de trocas gasosas utilizando-se uma folha por planta e quatro plantas por espécie. A fotossíntese saturada por luz (A_{max}) e a capacidade fotossintética da folha (A_{pot}) foram medidas com luz saturante ($1000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) e concentração de CO_2 em $380 \mu\text{mol mol}^{-1}$ e $2000 \mu\text{mol mol}^{-1}$, respectivamente. Para avaliar o efeito do horário do dia nos parâmetros fotossintéticos (V_{c-max} e J_{max}), os dados referentes às curvas A/RFA e $A/(C_i)$ foram coletados nos horários entre 08:00 e 16:00 h. Os dados de crescimento (diâmetro e altura) foram coletados no período de julho de 2010 a julho de 2012. As demais variáveis foram determinadas após as medições das trocas gasosas. Os maiores valores de g_s , A e o rendimento quântico aparente foram observados antes de 14:00 h. Esses três parâmetros diminuíram até o final da tarde e noite, atingindo o estado estacionário em torno de meia-noite. O processo de reabertura estomática (inferida pelo aumento nos valores de g_s) começou pós à meia noite (01:00 e 02:00 h), num período em que foram registrados os menores valores de temperatura. V_{c-max} e J_{max} correlacionaram significativamente com A_{max} e A_{pot} . Não houve efeito significativo ($P>0,05$) do horário do dia em V_{c-max} e J_{max} . Entretanto, o aumento da irradiância no sub-bosque e da temperatura foliar levou a um aumento em A_{max} , A_{pot} , V_{c-max} e J_{max} . Observou-se também, relação positiva entre a luminosidade no sub-bosque e a espessura foliar, assim como entre espessura, AFE e A_{pot} . Não houve relação significativa entre as taxas fotossintéticas ($A_{pot-área}$, $A_{pot-mas}$) e as concentrações de N e P por unidade de área e massa, porém A_{pot} , V_{c-max} e J_{max} da folha foram responsivos a eficiência no uso dos nutrientes

(N, P, Ca, K, Mg). A eficiência no uso do N diminuiu com o aumento da razão N/P, mas não houve efeito de N/P na eficiência no uso do P. Além disso, foi observado que a eficiência no uso do N e P diminuiu rapidamente com o aumento do conteúdo de N e P. A luminosidade no sub-bosque teve efeito significativo na eficiência no uso do N e P. A média do incremento anual em diâmetro (IAD) foi de 1,08 mm ano⁻¹, já no incremento anual em altura (IAA) as médias não ultrapassaram de 120 mm ano⁻¹. A reabertura estomática no início da madrugada sugere o envolvimento de fatores endógenos (relógio circadiano) no funcionamento estomático. A falta de efeito do horário do dia em V_{c-max} e J_{max} indica que esses parâmetros fotossintéticos estejam associados a fatores difusivos bem como a fatores que influenciam a Rubisco, tais como a ativação da enzima. Mostrou-se também que pequenas variações na luminosidade do sub-bosque influenciam significativamente a fisiologia e anatomia da folha (espessura da folha). Finalmente foi concluído que a fotossíntese nas espécies estudadas é mais limitada pelo conteúdo de P do que pelo conteúdo de N foliar.

Palavras-chave: Funcionamento estomático, fotossíntese, ciclo circadiano, velocidade máxima de carboxilação da Rubisco, taxa máxima de transporte de elétrons, nutrientes.

ABSTRACT

Influence of circadian rhythms on stomatal conductance and in photosynthesis in forest tree species under understory conditions in Central Amazonia

This study we investigated how stomatal functioning and photosynthesis respond to continuous light exposure on a circadian cycle in saplings of five forest species native to Central Amazonia. It was also studied how photosynthetic parameters (maximum carboxylation velocity of Rubisco - V_{c-max} and maximum rate of electron transport - J_{max}) respond to light, temperature and diurnal variations in the physical environment, as well as to study the relationship between luminosity, the leaf traits (thickness, specific leaf area - AFE and nutrients) and photosynthesis. The study was conducted at the Tropical Forestry Experimental Station (ZF2 reserve), of the (Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia). We used five species at the juvenile stage, with up to 3 m tall. Stomatal conductance (g_s) and photosynthesis (A) data during the circadian cycle were collected from June to September 2010, using a portable gas exchange using a leaf per plant and four plants per species. Light saturated photosynthesis (A_{max}) and photosynthetic capacity of the leaf (A_{pot}) were measured under light saturation and CO_2 concentration at $380 \mu mol mol^{-1}$ and $2000 \mu mol mol^{-1}$, respectively. To assess the effect of time of day in photosynthetic parameters (V_{c-max} and J_{max}), A/RFA and $A/(C_i)$ curves were generated between 08:00 and 16:00 h. Growth data (height and diameter) were collected from July 2010 to July 2012. The other variables were determined after measurements of gas exchange. The highest values of g_s , A and Φ were observed before 14:00. These three parameters decreased until late afternoon and evening, reaching a steady state at around midnight. Stomatal reopening (inferred by the increase in the values of g_s) began after midnight (01:00 and 02:00 h), a period in which were recorded the lowest temperature values. V_{c-max} and J_{max} significantly correlated with A_{max} and A_{pot} . There was no significant effect ($P>0.05$) of the time of day on V_{c-max} and J_{max} . However, the increase in understory irradiance and leaf temperature led to an increase in A_{max} , A_{pot} , V_{c-max} and J_{max} . There was also a positive relationship between understory irradiance and leaf thickness, as well as between leaf thickness and AFE and A_{pot} . There was no significant relationship between photosynthetic rates ($A_{pot-area}$, $A_{pot-mas}$) and the concentrations of N and P per unit area and mass, but A_{pot} , V_{c-max} and J_{max} were responsive to nutrient use efficiency (N, P, K, Ca, Mg). The efficient use of N decreases with the increase of the N/P ratio, but no effect of the N/P ratio in P use efficiency. Furthermore, it was observed that N and P use efficiency

decreased rapidly with increasing leaf content of N and P. Understory irradiance had a significant effect on N and P use efficiency. The average annual increment in diameter (IAD) was $1.08 \text{ mm year}^{-1}$, whereas the annual increment in height (IAA) did not exceed the 120 mm year^{-1} . The stomatal reopening at early pre-dawn suggests the involvement of a biological clock in stomatal functioning. The lack of an effect of the time of day on $V_{c\text{-max}}$ and J_{max} indicates that these photosynthetic parameters are associated to diffusive factors, and also to factors that influence Rubisco, such as the activation of the enzyme. It was also shown that small variations in forest understory irradiance significantly influence the physiology and anatomy of the leaf (leaf thickness). Finally it was concluded that photosynthesis in most studied species is limited by the content of P rather than for leaf nitrogen content.

Keywords: Circadian clock, photosynthesis, maximum carboxylation velocity of Rubisco, maximum rate of electron transport nutrient, stomatal functioning.

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS	xiii
LISTA DE FIGURAS	xv
LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIACÕES	xxix
INTRODUÇÃO GERAL	1
OBJETIVOS	4
MATERIAL E MÉTODOS	5
1. Área de Estudo	5
2. Espécies estudadas	5
3. Mensuração dos ciclos circadianos	6
4. Estudo da fluorescência da clorofila <i>a</i>	7
5. Parâmetros das trocas gasosas.....	7
6. Fração de céu visível	9
7. Área foliar específica e espessura da folha	9
8. Determinação do teor relativo e absoluto de clorofila	10
9. Teor de nutrientes das folhas	10
10. Medição do crescimento	10
11. Análises climáticas	11
12. Delineamento experimental e análise estatística.....	11
CAPÍTULO I: Influência dos ritmos circadianos na condutância estomática e fotossíntese em espécies florestais sob condições naturais na Amazônia Central	12
RESUMO.....	12
ABSTRACT.....	13
INTRODUÇÃO	14
MATERIAL E MÉTODOS.....	15
RESULTADOS.....	17
DISCUSSÃO	34
CONCLUSÕES	37
CAPÍTULO II: Parâmetros da fotossíntese e características foliares em espécies florestais da Amazônia Central	38
RESUMO.....	38
ABSTRACT.....	39
INTRODUÇÃO	40

MATERIAL E MÉTODOS.....	42
RESULTADOS.....	45
DISCUSSÃO.....	56
CONCLUSÕES.....	60
CAPÍTULO III Eficiência fotossintética de uso dos nutrientes e crescimento em espécies florestais da Amazônia na fase juvenil.....	61
RESUMO.....	61
ABSTRACT.....	62
INTRODUÇÃO.....	63
MATERIAL E MÉTODOS.....	65
RESULTADOS.....	67
DISCUSSÃO.....	80
CONCLUSÕES.....	85
SÍNTESE	86
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	889

LISTA DE TABELAS

MATERIAL E MÉTODOS

Tabela 1 – Relação das espécies e suas respectivas famílias. 5

CAPÍTULO I: Influência dos ritmos circadianos na condutância estomática e fotossíntese em espécies florestais sob condições naturais na Amazônia Central

Tabela 1. Radiação fotossinteticamente ativa (RFA), temperatura do ar média, mínima e máxima (T_{med} , T_{min} , T_{max}) e umidade relativa do ar (UR) no sub-bosque da floresta mensurado durante as coletas de dados. Eficiência quântica máxima do fotossistema II (F_v/F_m) mensurado antes e após o período de coleta do ciclo circadiano em cinco espécies florestais na fase juvenil da Amazônia Central. Dados coletados nos meses de junho a setembro de 2010..... 18

Tabela 2. Fotossíntese máxima em luz saturante (A_{max}), condutância estomática em luz saturante (g_{s-sat}), respiração foliar (R_d), rendimento quântico aparente (Φ_{kok}), ponto de compensação por luz (I_c) e valores SPAD mensurado em cinco espécies florestais na fase juvenil da Amazônia Central. Cada valor representa à média de quatro plantas por espécie. Dados coletados no período de junho a setembro de 2010..... 33

CAPÍTULO II: Parâmetros da fotossíntese e característica foliares em espécies florestais da Amazônia Central.

Tabela 1. Fotossíntese máxima (A_{max}), condutância estomática em $[CO_2]$ ambiente ($g_s[380]$), rendimento quântico aparente (Φ), irradiância de compensação (I_c) e respiração foliar (R_d) em cinco espécies florestais da Amazônia Central. Dados coletados nos meses de setembro a dezembro de 2010. Cada valor corresponde à média de quatro plantas por espécie..... 46

Tabela 2. Capacidade fotossintética (A_{pot}), condutância estomática (g_s) em $[CO_2]$ saturante ($g_s[2000]$), velocidade máxima de carboxilação da Rubisco (V_{c-max} a $25^\circ C$), taxa máxima de transporte de elétrons (J_{max} a $25^\circ C$) em cinco espécies florestais da Amazônia Central. Dados coletados nos meses de setembro a dezembro de 2010. Cada valor corresponde à média de quatro plantas por espécie. 47

Tabela 3. Área foliar específica (AFE) espessura da folha (E_{foliar}), clorofila ($a+b$) e valores SPAD em cinco espécies florestais da Amazônia Central. Cada valor corresponde à média de quatro plantas por espécie. 54

CAPÍTULO III: Eficiência fotossintética de uso dos nutrientes e crescimento em espécies florestais da Amazônia na fase juvenil.

Tabela 1. Taxas fotossintéticas ($A_{\text{pot-área}}$; $A_{\text{pot-mas}}$), velocidade máxima de carboxilação da Rubisco ($V_{\text{c-max}}$), taxa máxima de transporte de elétrons (J_{max}), incremento anual em diâmetro (IAD), incremento anual em altura (IAA), área foliar específica (AFE), radiação fotossinteticamente ativa (RFA) e fração de céu visível (FCV) em cinco espécies florestais da Amazônia Central. Cada valor corresponde à média de quatro plantas por espécie. 69

Tabela 2. Conteúdo de nutrientes da folha (mg g^{-1}) e eficiência no uso dos nutrientes em cinco espécies florestais da Amazônia Central. Cada valor representa a média de quatro plantas por espécies. 71

LISTA DE FIGURAS

MATERIAL E MÉTODOS

Figura 1. Localização da área do estudo (Estação Experimental de Silvicultura Tropical – Núcleo ZF2 (02° 36’ 21” S, 60° 08’ 11” W)..... 6

CAPÍTULO I: Influência dos ritmos circadianos na condutância estomática e fotossíntese em espécies florestais sob condições naturais na Amazônia Central

Figura 1. Condutância estomática (g_s , círculo aberto) em função do horário do dia em cinco espécies florestais na fase juvenil da Amazônia Central ao longo do ciclo circadiano. Medições efetuadas em intervalos de três minutos, em concentração de CO_2 $380 \mu\text{mol mol}^{-1}$ e luminosidade de $50 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. O tempo de medição iniciou no dia 1 e finalizou no dia 2, aproximadamente 27 h de coletas (horas são mostradas em escala contínua). As setas nas figuras 1A, B, C, D e E mostram o horário que inicia o processo de abertura estomática. As barras horizontais cinzas indicam o período noturno. Os painéis em destaque mostram a radiação fotossinteticamente ativa (RFA) no sub-bosque da floresta mensurado durante as coletas. Dados coletados nos meses de junho a setembro de 2010..... 21

Figura 2. Condutância estomática (g_s , linha contínua), fotossíntese (A , losango aberto) e rendimento quântico aparente (Φ , linha tracejada) em função do horário do dia em *A. surinamensis* (Figura 2A). Radiação fotossinteticamente ativa no sub-bosque ($\text{RFA}_{\text{Sub-bosque}}$), umidade relativa do ar na câmara foliar (UR_{IRGA}) e temperatura na câmara foliar (T_{IRGA}) mensurados durante as coletas (Figura 2B). Dados coletados nos meses de junho a setembro de 2010. Condições experimentais conforme descrito na Figura 1. A seta na Figura 2B mostra o declínio da temperatura até o amanhecer. A área sombreada indica período noturno..... 22

Figura 3. Condutância estomática (g_s , linha contínua), fotossíntese (A , losango aberto) e rendimento quântico aparente (Φ , linha tracejada) em função do horário do dia em *D. flagellaris* (Figura 3A). Radiação fotossinteticamente ativa no sub-bosque ($\text{RFA}_{\text{Sub-bosque}}$), umidade relativa do ar na câmara foliar (UR_{IRGA}) e temperatura na câmara foliar (T_{IRGA}) mensurados durante as coletas (Figura 3B). Dados coletados nos meses de junho a setembro de 2010. Condições experimentais conforme descrito na Figura 1. A seta na

Figura 3B mostra o declínio da temperatura até o amanhecer. A área sombreada indica o período noturno..... 23

Figura 4. Condutância estomática (g_s , linha contínua), fotossíntese (A , losango aberto) e rendimento quântico aparente (Φ , linha tracejada) em função do horário do dia em *F. longifolia* (Figura 4A). Radiação fotossinteticamente ativa ($RFA_{\text{Sub-bosque}}$) no sub-bosque, umidade relativa do ar na câmara foliar (UR_{IRGA}) e temperatura na câmara foliar (T_{IRGA}) mensurados durante as coletas (Figura 4B). Dados coletados nos meses de junho a setembro de 2010. Condições experimentais conforme descrito na Figura 1. A seta na Figura 4B mostra o declínio da temperatura até o amanhecer. A área sombreada indica o período noturno. 24

Figura 5. Condutância estomática (g_s , linha contínua), fotossíntese (A , losango aberto) e rendimento quântico aparente (Φ , linha tracejada) em função do horário do dia em *G. carinata* (Figura 5A). Radiação fotossinteticamente ativa no sub-bosque ($RFA_{\text{Sub-bosque}}$), umidade relativa do ar na câmara foliar (UR_{IRGA}) e temperatura na câmara foliar (T_{IRGA}) mensurados durante as coletas (Figura 5B). Dados coletados nos meses de junho a setembro de 2010. Condições experimentais conforme descrito na Figura 1. A seta na Figura 5B mostra o declínio da temperatura até o amanhecer. A área sombreada indica o período noturno..... 25

Figura 6. Condutância estomática (g_s , linha contínua), fotossíntese (A , losango aberto) e rendimento quântico aparente (Φ , linha tracejada) em função do horário do dia em *M. subsericeae* (Figura 6A). Radiação fotossinteticamente ativa no sub-bosque ($RFA_{\text{Sub-bosque}}$), umidade relativa do ar na câmara foliar (UR_{IRGA}) e temperatura na câmara foliar (T_{IRGA}) mensurados durante as coletas (Figura 6B). Dados coletados nos meses de junho a setembro de 2010. Condições experimentais conforme descrito na Figura 1. A seta na Figura 6B mostra o declínio da temperatura até o amanhecer. A área sombreada indica o período noturno..... 26

Figura 7. Relações entre fotossíntese (A) e condutância estomática (g_s ; Figura 7A) e entre C_i/C_a e g_s (Figura 7B) em *A. surinamensis*. O painel inserido na Figura 7A mostra a relação Φ - g_s . O círculo em baixos valores de g_s indica desuniformidade na abertura estomática, fenômeno que ocorre no início da madrugada indicado pela seta na Figura 7B. Condições experimentais conforme descrito na Figura 1. **: significativo a 1% de probabilidade. 27

Figura 8. Relações entre fotossíntese (A) e condutância estomática (g_s ; Figura 8A) e entre C_i/C_a e g_s (Figura 8B) em *D. flagellaris*. O painel inserido na Figura 8A mostra a

relação Φ - g_s . O círculo em baixos valores de g_s indica desuniformidade na abertura estomática, fenômeno que ocorre no início da madrugada indicado pela seta na Figura 8B. Condições experimentais conforme descrito na Figura 1. **: significativo a 1% de probabilidade.	28
Figura 9. Relações entre fotossíntese (A) e condutância estomática (g_s ; Figura 9A) e entre C_i/C_a e g_s (Figura 9B) em <i>F. longifolia</i> . O painel inserido na Figura 9A mostra a relação Φ - g_s . O círculo em baixos valores de g_s indica desuniformidade na abertura estomática, fenômeno que ocorre no início da madrugada indicado pela seta na Figura 9B. Condições experimentais conforme descrito na Figura 1. **: significativo a 1% de probabilidade.	29
Figura 10. Relações entre fotossíntese (A) e condutância estomática (g_s ; Figura 10A) e entre C_i/C_a e g_s (Figura 10B) em <i>G. carinata</i> . O painel inserido na Figura 10A mostra a relação Φ - g_s . O círculo em baixos valores de g_s indica desuniformidade na abertura estomática, fenômeno que ocorre no início da madrugada indicado pela seta na Figura 10B. Condições experimentais conforme descrito na Figura 1. **: significativo a 1% de probabilidade.	30
Figura 11. Relações entre fotossíntese (A) e condutância estomática (g_s ; Figura 11A) e entre C_i/C_a e g_s (Figura 11B) em <i>M. subsericeae</i> . O painel inserido na Figura 10A mostra a relação Φ - g_s . O círculo em baixos valores de g_s indica desuniformidade na abertura estomática, fenômeno que ocorre no início da madrugada indicado pela seta na Figura 10B. Condições experimentais conforme descrito na Figura 1. **: significativo a 1% de probabilidade.	30

CAPÍTULO II: Parâmetros da fotossíntese e características foliares em espécies florestais da Amazônia Central.

Figura 1. Radiação fotossinteticamente ativa (RFA, linha pontilhada), temperatura do ar (T , linha tracejada) e umidade relativa do ar (UR, linha contínua) no sub-bosque em função do horário do dia mensurados durante as coletas dos dados. Dados coletados nos meses de setembro a dezembro de 2010.	45
Figura 2. Relação entre a condutância estomática (g_s) e a fotossíntese saturada por luz (A_{max} , A), capacidade fotossintética (A_{pot} , B), velocidade máxima de carboxilação da Rubisco (V_{c-max} , C) e a taxa máxima de transporte de elétrons (J_{max} , D) em cinco espécies florestais da Amazônia. Medições efetuadas em concentração de CO_2 380 (A_{max}) e 2000 (A_{pot}), temperatura foliar de 27 ± 2 °C e luminosidade de $1000 \mu mol m^{-2} s^{-1}$.	

Dados coletados nos meses de setembro a dezembro de 2010. Cada símbolo representa uma folha por planta. Valores de J_{\max} e $V_{c-\max}$ calculados a 25 °C. *: significativo a 5% de probabilidade. **: significativo a 1% de probabilidade, ns: não significativo. 48

Figura 3. Taxa de fotossíntese (A_{\max} e A_{pot}) em função da velocidade máxima de carboxilação da Rubisco ($V_{c-\max}$) e taxa máxima de transporte de elétrons (J_{\max}) a 25°C em cinco espécies florestais da Amazônia. Cada ponto representa uma planta por espécie. **: significativo a 1% de probabilidade. Dados coletados nos meses de setembro a dezembro de 2010. Valores de J_{\max} e $V_{c-\max}$ calculados a 25 °C. Condições do experimento conforme descrito na Figura 2. 49

Figura 4. Velocidade máxima de carboxilação da Rubisco ($V_{c-\max}$; barra pontilhada) e taxa máxima de transporte de elétrons (J_{\max} ; barra listrada) em função do horário do dia em cinco espécies florestais da Amazônia. Cada barra representa a média de quatro plantas por espécie. Valores de J_{\max} e $V_{c-\max}$ calculados a 25 °C. Condições do experimento conforme descrito na Figura 2. Dados coletados nos meses de setembro a dezembro de 2010. Barras seguidas pelas mesmas letras (parte superior) não diferem de acordo com o teste de Tukey a 5% de probabilidade. 50

Figura 5. Taxa de fotossíntese em função da $[\text{CO}_2]$ intercelular (C_i) para *A. surinamensis* (A), *D. flagellaris* (B), *F. longifolia* (C), *G. carinata* (D) e *M. subsericeae* (E). A linha contínua mostra a limitação da fotossíntese imposta pela taxa de carboxilação da Rubisco (A_c). A linha tracejada indica a limitação da fotossíntese imposta pelo transporte de elétrons (A_j). A linha contínua vertical mostra o valor de C_i em que ocorre a transição da fotossíntese limitada por A_c para limitada por A_j . Os números (dentro dos gráficos) mostram os valores de C_i em $\mu\text{mol mol}^{-1}$. Cada ponto corresponde à média de cinco plantas por espécie. Dados coletados nos meses de setembro a dezembro de 2010. 51

Figura 6. Fotossíntese saturada por luz (A_{\max} , A), capacidade fotossintética (A_{pot} , B), velocidade máxima de carboxilação da Rubisco ($V_{c-\max}$, C) e taxa máxima de transporte de elétrons (J_{\max} , D) em função da radiação fotossinteticamente ativa no sub-bosque ($\text{RFA}_{\text{sub-bosque}}$) medidas durante as coletas de trocas gasosas. *: significativo a 5% de probabilidade. **: significativo a 1% de probabilidade. Cada símbolo representa a média de quatro plantas por espécie. Valores de $V_{c-\max}$ e J_{\max} calculados a 25 °C. Dados coletados nos meses de setembro a dezembro de 2010. Condições do experimento conforme descrito na Figura 2. 52

- Figura 7.** Fotossíntese saturada por luz (A_{\max} , **A**), capacidade fotossintética (A_{pot} , **B**), velocidade máxima de carboxilação da Rubisco ($V_{\text{c-max}}$, **C**) e taxa máxima de transporte de elétrons (J_{\max} , **D**) em função da temperatura foliar medidas durante as coletas de trocas gasosas. *: significativo a 5% de probabilidade. **: significativo a 1% de probabilidade. Cada símbolo representa a média de quatro plantas por espécie. Valores de J_{\max} e $V_{\text{c-max}}$ calculados a 25 °C. Dados coletados nos meses de setembro a dezembro de 2010. Condições do experimento conforme descrito na Figura 2..... 53
- Figura 8.** Espessura da folha (E_{foliar} , **A**) e área foliar específica (AFE, **B**) em função da radiação fotossinteticamente ativa (RFA) mensurada no sub-bosque durante as medições de trocas gasosas. Relação entre a capacidade fotossintética (A_{pot}), espessura da folha (E_{foliar} , **C**) e área foliar específica (AFE, **D**). Cada símbolo representa a média de quatro plantas por espécie. Dados coletados nos meses de setembro a dezembro de 2010. **: significativo a 1% de probabilidade, ns: não significativo. Condições do experimento conforme descrito na Figura 2..... 55
- Figura 9.** Relação entre o conteúdo de clorofila ($a+b$) e espessura da folha (E_{foliar} , **A**) e valores SPAD (**B**). Dados coletados nos meses de setembro a dezembro de 2010. Cada símbolo representa a média de quatro plantas por espécie. **: significativo a 1% de probabilidade. 56

CAPÍTULO III: Eficiência fotossintética de uso dos nutrientes e crescimento em espécies florestais da Amazônia na fase juvenil.

- Figura 1.** Relação entre o incremento anual em diâmetro (IAD), radiação fotossinteticamente ativa no sub-bosque ($\text{RFA}_{\text{sub-bosque}}$, **A**) e a capacidade fotossintética (A_{pot} , **B**) em cinco espécies florestais da Amazônia Central. A_{pot} foi medido em $[\text{CO}_2]$ de $2000 \mu\text{mol mol}^{-1}$, irradiância de $1000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, temperatura foliar de $27 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$ e umidade do ar de $73 \pm 3\%$. Cada símbolo representa uma planta por espécies. ns: não significativo. 70
- Figura 2.** Relação entre as taxas fotossintéticas ($A_{\text{pot-área}}$; **A**, **B** e $A_{\text{pot-mas}}$; **C**, **D**) e conteúdo de nitrogênio (N) e fósforo (P) em cinco espécies florestais da Amazônia Central. Cada símbolo representa uma planta por espécies. Condições experimentais conforme descrito na Figura 1. ns: não significativo. 72
- Figura 3.** Relação entre capacidade fotossintética ($A_{\text{pot-área}}$) e eficiência no uso do nitrogênio (A_{pot}/N ; **A**), eficiência no uso do fósforo (A_{pot}/P ; **B**), eficiência no uso do cálcio (A_{pot}/Ca ; **C**), eficiência no uso do magnésio (A_{pot}/Mg ; **C**), eficiência no uso do

- potássio (A_{pot}/K ; **C**) em cinco espécies florestais da Amazônia Central. Cada símbolo representa uma planta por espécies. Condições experimentais conforme descrito na Figura 1. **: significativo a 1% de probabilidade. 73
- Figura 4.** Relação entre a eficiência no uso do nitrogênio (A_{pot}/N ; **A**), eficiência no uso do fósforo (A_{pot}/P ; **B**) e a razão N/P. Painéis inseridos nas Figuras 4A e B mostram as relações entre A_{pot}/N e N e A_{pot}/P e P em cinco espécies florestais da Amazônia Central. Cada símbolo representa uma planta por espécie. Condições experimentais conforme descrito na Figura 1. **: significativo a 1 % de probabilidade, * significativo a 5% de probabilidade, ns: não significativo. 75
- Figura 5.** Relação entre a velocidade máxima de carboxilação da Rubisco (V_{c-max} , **A** e **B**), taxa máxima de transporte de elétrons (J_{max} , **C** e **D**), eficiência no uso do nitrogênio (A_{pot}/N) e eficiência no uso do fósforo (A_{pot}/P) em cinco espécies florestais da Amazônia Central. Condições experimentais conforme descrito na Figura 1. Cada símbolo representa uma planta por espécies. **: significativo a 1 % de probabilidade. 76
- Figura 6.** Relação entre a velocidade máxima de carboxilação da Rubisco (V_{c-max} , **A**), taxa máxima de transporte de elétrons (J_{max} , **B**) e a eficiência no uso do cálcio (A_{pot}/Ca), eficiência no uso do magnésio (A_{pot}/Mg) e eficiência no uso do potássio (A_{pot}/K) em cinco espécies florestais da Amazônia Central. Condições experimentais conforme descrito na Figura 1. Cada símbolo representa uma planta por espécies. **: significativo a 1% de probabilidade. 77
- Figura 7.** Relação entre teor de nitrogênio (N), cálcio (Ca), magnésio (Mg), potássio (K), fósforo (P, **A**) e nitrogênio (N, **B**) em cinco espécies florestais da Amazônia Central. Cada símbolo representa uma planta por espécie. **: significativo a 1% de probabilidade, *: significativo 5% de probabilidade, ns: não significativo. 78
- Figura 8.** Relação entre a radiação fotossinteticamente ativa ($RFA_{sub-bosque}$) e o conteúdo de nitrogênio (N, **A**), fósforo (P, **B**); eficiência no uso do nitrogênio (A_{pot}/N ; **C**) e eficiência no uso do fósforo (A_{pot}/P ; **D**) em cinco espécies florestais da Amazônia Central. Cada símbolo representa uma planta por espécie. **: significativo a 1% de probabilidade, *: significativo 5% de probabilidade, ns: não significativo. 79
- Figura 9.** Relação entre as taxas fotossintéticas ($A_{pot-área}$; $A_{pot-mas}$) e a radiação fotossinteticamente ativa no sub-bosque ($RFA_{sub-bosque}$) em cinco espécies florestais da Amazônia Central. Cada símbolo representa uma planta por espécie. **: significativo a 1% de probabilidade. 80

LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIACÕES

Φ	Rendimento quântico aparente
A	Fotossíntese
AFE	Área foliar específica
A_{\max}	Fotossíntese saturada por luz
A_{pot}	Capacidade fotossintética da folha
A_{pot}/Ca	Eficiência no uso do cálcio
A_{pot}/K	Eficiência no uso do potássio
A_{pot}/Mg	Eficiência no uso do magnésio
A_{pot}/N	Eficiência no uso do nitrogênio
A_{pot}/P	Eficiência no uso do fósforo
C_i	Concentração de CO_2 nos espaços intercelulares
E_{foliar}	Espessura da folha
FCV	Fração de céu aberto visível no sub-bosque
g_s	Condutância estomática
$g_{s\text{-sat}}$	Condutância estomática em luz saturante
IAA	Incremento anual em altura
IAD	Incremento anual em diâmetro
I_c	Ponto de compensação por luz
J_{\max}	Taxa máxima de transporte de elétrons
RFA	Radiação fotossinteticamente ativa
R_d	Taxa de respiração da folha
T	Temperatura
UR	Umidade relativa do ar
$V_{c\text{-max}}$	Velocidade máxima de carboxilação da Rubisco

INTRODUÇÃO GERAL

A floresta Amazônica é considerada a maior floresta tropical do mundo e está entre os mais importantes biomas do planeta. O bioma Amazônia abriga aproximadamente 30 mil espécies de plantas vasculares (Myers *et al.*, 2000; Mittermeier *et al.*, 2003), sendo estimado cerca de 30 a 300 espécies de árvores por hectare (Gentry, 1988). Essa região é responsável por aproximadamente 10% da produção primária líquida da biomassa terrestre e tem um papel fundamental na regulação do ciclo do carbono e do clima terrestre (Melillo *et al.*, 1993; Cox *et al.*, 2000).

Na Amazônia, em áreas não perturbadas pela atividade humana, há atualmente muito debate sobre como as mudanças climáticas globais, principalmente em decorrência dos aumentos na concentração de CO₂ na atmosfera e da temperatura (0,26 °C por década) (Lewis *et al.*, 2004), podem afetar a assimilação de CO₂ e concomitantemente o funcionamento dos estômatos devido à relação direta que existe entre fotossíntese (*A*) e a condutância estomática (*g_s*) das plantas (Kumar *et al.*, 1999; Park e Furukawa, 1999; Marenco *et al.*, 2006).

No entanto, a regulação do funcionamento estomático é um processo extremamente complexo regulado por estímulos que maximizam a absorção de CO₂ e minimizam as perdas de vapor de água pela transpiração, num processo de interação de diversos fatores exógenos e endógenos. Os estômatos respondem de forma rápida aos estímulos do meio, sendo um mecanismo de controle das interações entre a planta e o meio ambiente (Assmann, 1999). Por exemplo, em resposta a variação da irradiância a abertura dos estômatos é lenta e o fechamento é mais rápido. Baixas e altas temperaturas podem também levar ao fechamento rápido dos estômatos. Por outro lado, as baixas concentrações de CO₂ provocam a abertura dos estômatos, o contrário ocorre em alta concentração de CO₂. Entretanto, quando o potencial hídrico foliar diminui, os estômatos reduzem a abertura, sendo este efeito preponderante sobre os demais fatores do meio, mesmo em condições ótimas de irradiância, temperatura e CO₂ (Assmann, 1999; Maruyama *et al.*, 2005). Além disso, os fatores endógenos (por exemplo, ritmos circadianos) também podem ser cruciais no funcionamento dos estômatos (Johnson *et al.*, 1995; Webb, 2003; McClung, 2006). Algumas plantas abrem e fecham seus estômatos em períodos de 24 h (Hopmans, 1971; Webb, 1998; Dodd *et al.*, 2005) e provavelmente cada célula guarda possui seu próprio ritmo circadiano, pois as células

guardas maduras são isoladas simplasticamente e os ritmos dos movimentos dessas células ocorrem isoladamente na epiderme (Gorton *et al.*, 1989).

Os ritmos circadianos controlam muitos processos nas plantas (Webb, 1998; Hotta *et al.*, 2007), incluindo a condutância estomática (Gorton *et al.*, 1993; Doughty *et al.*, 2006) e assimilação de CO₂ (Hennessey e Field, 1991; Dodd *et al.*, 2005). Cerca de 16% dos genes expressos em *Arabidopsis* têm ritmos circadianos (Harmer *et al.*, 2000; Edwards *et al.*, 2006), tais como enzimas da fotossíntese (por exemplo, Rubisco) (Hennessey e Field, 1991), alguns hormônios como auxinas e giberelinas que estão relacionados com o desenvolvimento estomático (Casson e Gray, 2008). Além disso, os ritmos circadianos na fixação de CO₂ sob luz constante e níveis de CO₂ ambiente têm sido relatados para várias plantas herbáceas, por exemplo, *Chenopodium* (Chia-Looi e Cumming, 1972), *Hordeum vulgare* (Deitzer e Frosch, 1990) e *Phaseolus vulgaris* (Fredeen *et al.*, 1991). Embora, há muito tempo seja conhecido o papel dos ritmos circadianos no funcionamento estomático principalmente em plantas cultivadas em laboratórios (Mansfield e Heath, 1963; Holmes e Klein, 1986; Gorton *et al.*, 1993; Dodd *et al.*, 2005) ainda permanecem escassos estudos *in vivo* que caracterizam os ritmos circadianos no processo de abertura e fechamento dos estômatos em espécies arbóreas da Amazônia. Ao nosso conhecimento, existe apenas um trabalho em campo realizado por Doughty *et al.* (2006) que documentam a ocorrência de ritmos circadianos em g_s e A em um grupo de árvores de dossel na Amazônia. Contudo, até o presente momento não existem estudos que caracterizam os ritmos circadianos no funcionamento estomático, e sua influência sobre as respostas fotossintéticas em árvores de dossel na fase juvenil em condições de sub-bosque na Amazônia Central. Há falta de estudos *in vivo* pode ser explicada pelas grandes dificuldades das medições das trocas gasosas num período de 24 h (dia e noite).

Alguns estudos (Yong e Kay, 2001; Green *et al.*, 2002; Dodd *et al.*, 2005) sugerem benefícios a partir dos ciclos circadianos durante o ganho de biomassa em condições de casa de vegetação, porém, sua contribuição no acúmulo de biomassa das plantas ainda permanece indeterminada (Yanovsky e Kay, 2002; Michael *et al.*, 2003). Dodd *et al.* (2005) observaram que *Arabidopsis thaliana* exibiu ritmo circadiano no funcionamento dos estômatos e fotossíntese, apresentando maiores valores de g_s e A ao meio dia, o que levou a um aumento no teor de clorofila, nas taxas fotossintéticas e crescimento das plantas. Além disso, os ritmos circadianos no controle dos movimentos estomáticos proporcionam vantagem aumentando a eficiência do uso da água.

Por outro lado, a determinação de como os ritmos circadianos influencia g_s e A em espécies de árvores de dossel em condições de sub-bosque na floresta Amazônica é de

fundamental importância para o entendimento de como esse ecossistema pode contribuir com o balanço global do carbono, pois os modelos climáticos que prognosticam a capacidade de fixação de carbono pelas florestas têm como ponto de partida as taxas de fotossíntese, as quais são dependentes do funcionamento estomático e das características bioquímicas da folha. Por exemplo, alguns modelos fotossintéticos (Farquhar *et al.*, 1980; Harley *et al.*, 1992; De Pury e Farquhar, 1997; Medlyn *et al.*, 1999) são usados para prever o ciclo do carbono e condutância estomática em ecossistemas florestais. Todavia, permanecem escassas as informações acerca dos aspectos bioquímicos da folha (velocidade máxima de carboxilação da Rubisco - V_{c-max} e a taxa máxima de transporte de elétrons - J_{max}) em espécies florestais nativas da Amazônia.

A maioria dos trabalhos efetuados com árvores tropicais tem-se avaliado o desempenho estomático e a fixação de CO_2 em condições estáticas (Carswell *et al.*, 2000; Mohoti e Lawlor, 2002), isto é, g_s e A , obtidos apenas em determinados horários durante o dia, fornecendo pouca informação sobre como estes dois parâmetros (g_s , A) se comportam durante o ciclo circadiano. Além disso, a maior parte dos trabalhos (Gorton *et al.*, 1989; Dodd *et al.*, 2005) sobre ritmos circadianos no funcionamento dos estômatos e na fotossíntese tem sido realizada principalmente em plantas herbáceas cultivadas em laboratórios. Existem fortes evidências de que os movimentos estomáticos em árvores de dossel em condições de sub-bosque na Amazônia Central sejam controlados por ritmos circadianos (Mendes e Marengo, 2010). Contudo, até o presente momento não existem estudos que caracterizam os ritmos circadianos no funcionamento estomático e nas taxas fotossintéticas em espécies florestais em condições de sub-bosque na Amazônia.

OBJETIVOS

Geral

Diante o exposto, o objetivo principal desta tese foi determinar como o funcionamento dos estômatos e fotossíntese respondem a exposição contínua á luz num ciclo circadiano em cinco espécies florestais sob condições de sub-bosque na Amazônia Central.

Específicos:

- ❖ Investigar o comportamento dos estômatos e fotossíntese durante o ciclo circadiano sob luz contínua em árvores na fase juvenil em condições de sub-bosque.
- ❖ Determinar o efeito do horário do dia na velocidade máxima de carboxilação da Rubisco (V_{c-max}) e na taxa máxima de transporte de elétrons (J_{max}).
- ❖ Determinar como V_{c-max} e J_{max} são influenciados pela luminosidade no entorno da folha.
- ❖ Determinar as relações entre o ambiente luminoso e as características foliares (espessura, área foliar específica) e a fotossíntese.
- ❖ Determinar o efeito dos conteúdos de nutrientes da folha e a eficiência no uso dos nutrientes nas taxas fotossintéticas, V_{c-max} e J_{max} .
- ❖ Determinar o efeito da luminosidade no sub-bosque no conteúdo de nutrientes, eficiência no uso dos nutrientes e crescimento das plantas.

MATERIAL E MÉTODOS

1. Área de Estudo

O trabalho foi realizado na Estação Experimental de Silvicultura Tropical (Núcleo ZF2), do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA), localizada a 60 km ao norte de Manaus (02° 36' 21" S; 60° 08' 11" W), em uma floresta nativa de terra firme (Figura 1).

A região apresenta características de clima equatorial úmido, precipitação anual de 2240 mm, sendo o período de outubro a maio, os meses mais chuvosos (acima de 100 mm mês⁻¹) e os meses de julho a setembro o período de menor precipitação (menor que 100 mm mês⁻¹). A média anual da temperatura e umidade relativa são de 27 °C e 78%, respectivamente (Dias, 2009). A vegetação da região apresenta uma floresta densa de terra firme com os solos classificados em latossolos, que são caracterizados com baixa fertilidade e alta acidez (pH de 4,2 a 4,5).

2. Espécies estudadas

Foram utilizadas cinco espécies de árvores de dossel em condições de sub-bosque (planta) com quatro repetições totalizando 20 plantas de 1 a 3 m de altura (Tabela 1). As espécies foram selecionadas levando em conta a abundância relativa de repetições no sub-bosque da floresta (aproximadamente 4 metros de distância entre as plantas) e possuem importância nas atividades de silvicultura e madeireira.

Tabela 1 – Relação das espécies e suas respectivas famílias.

Espécies	Famílias
<i>Amphirrhox surinamensis</i> Eichl.	Violaceae
<i>Duguetia flagellaris</i> Huber	Anonaceae
<i>Fusaea longifolia</i> (Aubl) Safford	Anonaceae
<i>Guarea carinata</i> Ducke	Meliaceae
<i>Myrcia subsericeae</i> A.Gray	Myrtaceae



Figura 1. Localização da área do estudo (Estação Experimental de Silvicultura Tropical – Núcleo ZF2 (02° 36' 21" S, 60° 08' 11" W).

3. Mensuração dos ciclos circadianos

Os dados de g_s e A durante o ciclo circadiano foram coletados de junho a setembro de 2010, usando um medidor de trocas gasosas (Li-6400, Li-Cor, EUA) em folhas maduras, totalmente expandidas e com bom aspecto fitossanitário. As medições foram realizadas num grupo de cinco espécies de árvores na fase juvenil em condições de sub-bosque com quatro repetições cada e uma folha por planta; mensurados em intervalos de três minutos durante 27 h (dia e noite continuamente), coletados em $[CO_2]$ de $380 \mu\text{mol mol}^{-1}$, radiação fotossinteticamente ativa (RFA) de $50 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$ e umidade do ar de $73 \pm 3\%$. Durante as medições toda a planta foi mantida no escuro, com exceção da folha a ser examinada (Doughty *et al.*, 2006). Os dados de condutância estomática e fotossíntese foram obtidos quando o coeficiente de variação total foi menor que 0,7% (Long e Bernacchi, 2003).

4. Estudo da fluorescência da clorofila *a*

Para verificar se houve fotoinibição nas folhas utilizadas após medições do ciclo circadiano (em luz contínua) dados da fluorescência da clorofila *a* foram registrados antes e após o período de coleta, utilizando-se um analisador da eficiência da planta (PEA, MK2 – 9600 – Hansatech, UK). Antes de efetuar a medição da fluorescência, a folha foi aclimatada a escuridão por 20 minutos e posteriormente, em uma área de 4 mm de diâmetro foi aplicado um pulso de luz de $3000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. A fluorescência da clorofila *a* foi detectada usando um fotodiodo após o feixe de luz atravessar um filtro para ondas longas. Foram registrados os valores da eficiência quântica máxima do fotossistema II ou relação F_v/F_m (Bjorkman e Demmig, 1987).

5. Parâmetros das trocas gasosas

Numa segunda fase do experimento e em folhas das mesmas plantas utilizadas no estudo dos ciclos circadianos foram coletados os dados referentes à curva de resposta à luz [curva $A/(RFA)$] e ao CO_2 [curva $A/(C_i)$] para calcular as demais variáveis dos parâmetros das trocas gasosas ($V_{c\text{-max}}$, J_{max} , A_{max} , A_{pot} , I_c , Φ , R_d , etc). Os dados referentes às curvas A/RFA e A/C_i foram coletados no período de setembro a dezembro de 2010 em quatro plantas por espécie e duas a três folhas por plantas com bom aspecto fitossanitário e totalmente expandidas.

A curva de resposta à luz foi construída em $[CO_2]$ de $380 \mu\text{mol mol}^{-1}$. Os valores de A foram registrados em valores de fluxo de fótons (RFA) de 2000, 1500, 1000, 500, 250, 100,

50, 25, 10, 5 e 0 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. A partir da curva A/RFA foram determinados à fotossíntese saturada por luz (A_{max}), rendimento quântico aparente (Φ) e ponto de compensação por luz (I_c). Os dados foram ajustados utilizando a equação de Von Bertalanffy (Horton e Neufeld, 1998):

$$A = R_d + A_{\text{max}} (1 - \exp^{-\Phi * \text{RFA}}) \quad \text{Equação 1}$$

Em que: A é a taxa de fotossíntese observada, R_d é a taxa de respiração da folha na ausência de luz, A_{max} é a taxa fotossintética determinada em $[\text{CO}_2]$ de 380 $\mu\text{mol mol}^{-1}$ e luz saturante (1000 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$); Φ é o rendimento quântico aparente; RFA é a irradiância ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)

R_d e Φ foram determinados utilizando o método de Kok (Villar *et al.*, 1994). A irradiância de compensação (I_c) foi calculada dividindo-se a respiração no escuro (R_d) pelo rendimento quântico (Φ) (por exemplo, $I_c = R_d/\Phi$), determinado com o intercepto (valor de “A” quando “RFA” é igual à zero) do segmento linear da curva A/RFA (Villar *et al.*, 1994).

A curva de resposta ao CO_2 [curva $A/(C_i)$] foi gerada conforme descrito por Long e Bernacchi (2003), em intensidades de CO_2 de 0, 50, 100, 250, 380, 450, 650, 800, 1000 e 2000 $\mu\text{mol mol}^{-1}$, com fluxo de fóton mantido em nível saturante (1000 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$). Dados da curva $A/(C_i)$ foram utilizados para determinar fotossíntese potencial (A_{pot} , taxa de fotossíntese determinada em $[\text{CO}_2]$ de 2000 $\mu\text{mol mol}^{-1}$ e luz saturante (1000 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), velocidade máxima de carboxilação da Rubisco ($V_{c\text{-max}}$), a taxa de transporte de elétrons (J_{max}) e o ponto de compensação de CO_2 (Γ).

As taxas de fotossíntese em função da atividade da Rubisco (A_c) e da taxa de transporte de elétrons (A_j) foram estimadas conforme Farquhar *et al.*, (1980):

$$A_c = [V_{c\text{-max}} (C_i - \Gamma^*)]/[C_i + K_c(1 + O/K_o)] \quad \text{Equação 2}$$

$$A_j = [J_{\text{max}} (C_i - \Gamma^*)]/[4C_i + 8\Gamma^*] \quad \text{Equação 3}$$

Em que: A_c e A_j são as taxas fotossintéticas líquidas limitadas pela atividade da Rubisco e taxa de transporte de elétrons, respectivamente. Γ^* é o ponto de compensação de CO_2 na ausência de respiração e na presença de luz; C_i é a concentração de CO_2 nos espaços intercelulares, K_c e K_o representam as constantes de Michaelis-Mentem da Rubisco para CO_2 e O_2 , respectivamente e O representa a concentração de oxigênio nos espaços intercelulares.

O valor do ponto de compensação de CO_2 (Γ^*) foi determinado utilizando as equações de Brooks e Farquhar (1985):

$$\Gamma^* = 42,7 + 1,68 (T-25) + 0,0012 (T-25)^2 \quad \text{Equação 4}$$

Onde T é a temperatura em graus Célsius. Os valores de V_{c-max} e J_{max} foram normalizados a 25 °C utilizando as equações descritas por Medlyn *et al.* (1999).

$$K_c(T) = K_{c-25} e^{(59400(T-25)/(8,314 * 298,15 * (T+273,15)))} \quad \text{Equação 5}$$

$$K_o(T) = K_{o-25} e^{(36000(T-25)/(8,314 * 298,15 * (T+273,15)))} \quad \text{Equação 6}$$

Sendo K_{c-25} o valor de K_c a 25° C, K_{o-25} o valor de K_o a 25° C, 59400 e 36000 J mol⁻¹ a energia de ativação das respectivas constantes e 8,314 J K⁻¹ mol⁻¹ a constante universal dos 14 gases (Caemmerer, 2000).

Para avaliar o efeito do horário do dia nos parâmetros fotossintéticos (V_{c-max} e J_{max}), os dados referentes às curvas A/RFA e A/C_i foram coletados nos horários entre 08:00 e 16:00 h, em dias selecionados ao acaso no período do experimento.

6. Fração de céu visível

A fração de céu aberto visível no sub-bosque (FCV) através do dossel da floresta foi determinada usando um analisador do dossel (LAI-2000, Li-Cor, NE). O FCV foi calculado como o somatório das aberturas e mini aberturas no dossel da floresta de modo a se obter um valor final representativo da proporção de céu não bloqueado pelo dossel da floresta. Para impedir o efeito da refletância e transmitância da folhagem do dossel nos valores de FCV, a lente do instrumento de medição possui um filtro de luz que impede o registro de radiação menor que 490 nm (abaixo de 490 nm as folhas refletem e transmitem pouca radiação). O FCV foi registrado em cada uma das amostras (plantas) coletando seis leituras no microsítio em torno de cada planta (total de 20 microsítios). Cada leitura foi coletada em uma distância de aproximadamente 1,5 m da haste, formando um círculo ao redor da planta. A altura do sensor no sub-bosque corresponde à altura das folhas utilizadas nas trocas gasosas. Finalmente, para se obter os valores de FCV acima do dossel da floresta um segundo sensor (LAI-2000) operando na modalidade remota foi instalado acima de uma torre de observação de 40 m de altura, localizado à 3,3 km da área de coleta de dados no sub-bosque. Os valores de FCV foram coletados em fevereiro de 2012 no início da manhã.

7. Área foliar específica e espessura da folha

Após as medições das trocas gasosas, um conjunto de folhas (dois a oito por planta em função do tamanho) foram coletadas para a determinação da área foliar específica (AFE). A AFE foi calculada como a relação entre área foliar e a massa seca da folha. A área da folha foi mensurada com um medidor de área da folha (Li-3000A, Li-Cor, EUA) e a massa seca da folha determinada depois da desidratação (72 ° C até massa constante). A espessura da folha

(E_{foliar}) foi medida com um paquímetro digital (precisão de 10 μm), evitando-se as nervuras proeminentes das folhas.

8. Determinação do teor relativo e absoluto de clorofila

Os teores relativos e absolutos de clorofila foram determinados no final do estudo em folhas maduras, totalmente expandidas e com bom aspecto fitossanitário. Os valores SPAD (teor relativo de clorofila) foram medidos utilizando-se um clorofilômetro portátil (SPAD-502, Minolta, Japão) em 10 pontos (para se obter uma média), em cada lado da nervura central da folha, na face adaxial. Os teores absolutos de clorofila foram determinados em laboratório e calculados conforme as equações descritas por Hendry e Price (1993). Em cada planta foi selecionada uma folha madura e completamente expandida com altos teores de clorofila. A extração do teor absoluto de clorofila foi feita pelo método de Arnon (Arnon, 1949). Foram retirados sete discos de 5,48 mm de diâmetro, pesados e depois, num ambiente semi-escuro, macerados em acetona 80% (10 ml amostra⁻¹), adicionada uma pequena quantidade de quartzo (20 mg amostra⁻¹ para facilitar a maceração) e carbonato de magnésio (10 mg amostra⁻¹ para evitar alteração do pH). Depois de maceradas, foram medidas as absorvâncias nos comprimentos de onda de 480, 645 e 663 nm usando um espectrofotômetro (Spectrum SP-2000, China).

9. Teor de nutrientes das folhas

Para determinação dos teores de nutrientes foliares utilizaram-se amostras de três a oito folhas por planta em função do tamanho. As folhas foram desidratadas em estufa a 72 °C até massa constante, moídas e submetidas à análise química para determinação das concentrações de nutrientes. Para determinação do conteúdo de nitrogênio (N) foliar utilizou-se o método Kjeldahl. O teor de fósforo (P) foi determinado por colorimetria e as leituras das absorvâncias feitas em 660 nm no espectrofotômetro usando molibdato de amônio e ácido ascórbico a 3%. O potássio (K) foi determinado por fotometria de chama, cálcio (Ca) e magnésio (Mg) por espectrofotometria de absorção atômica (Silva, 2009).

10. Medição do crescimento

O incremento anual em diâmetro (IAD) foi medido a 50 cm acima do nível do solo, tanto no sentido norte-sul como no leste-oeste (para se obter uma média do diâmetro) utilizando um paquímetro digital. Para medir o incremento anual em altura (IAA) foi utilizada

uma treva. Os dados de crescimento foram coletados mensalmente no período de julho de 2010 a julho de 2012, totalizando 24 meses.

11. Análises climáticas

Os dados de precipitação foram coletados acima do dossel utilizando um pluviômetro convencional, instalado numa torre de observação a 40 m de altura, localizado a 3,3 km da área de coleta de dados no sub-bosque. A irradiância, temperatura e umidade do ar do sub-bosque foram coletados utilizando sensores específicos (Li-191 SA, Li-Cor, EUA; Humitter 50Y, Vaisala, Oyj, Finlândia) conectados a um datalogger (Li-1400, Li-Cor, NE, EUA) e programado para registrar os dados em intervalos de 15 minutos (RFA) e 30 minutos (umidade e temperatura). A umidade do solo (S_u) foi determinada coletando-se amostras do solo na área do estudo próximo às plantas estudadas. S_u foi determinada como $M_u - M_s / M_s$, em que M_u e M_s representam a massa do solo úmido e seco, respectivamente.

12. Delineamento experimental e análise estatística

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, tendo como tratamento as cinco espécies, quatro repetições por espécie e uma folha por planta. Assim, diferenças entre as espécies foram analisadas mediante análise de variância (ANOVA). O efeito das variáveis quantitativas (trocas gasosas, incremento anual, teores de clorofila, nutrientes, irradiância, etc) foram analisados por meio de análises de regressão. Para testar a diferença entre as médias dos parâmetros mensurados, foi utilizado o teste de Tukey ($P \leq 0,05$). Para todas as análises utilizou-se o programa estatístico SAEG 9.0 (Universidade Federal de Viçosa).

CAPÍTULO I

*Parte deste capítulo foi submetido à revista *Photosynthetica**

*(formatado no padrão *Acta Amazônica*)*

Influência dos ritmos circadianos na condutância estomática e fotossíntese em espécies florestais sob condições naturais na Amazônia Central

RESUMO

Vários fatores internos e externos influenciam o funcionamento estomático; mas, no caso das espécies amazônicas os fatores internos têm recebido comparativamente menos atenção. O objetivo deste estudo foi determinar como o funcionamento dos estômatos e a fotossíntese respondem à exposição contínua à luz durante o ciclo circadiano. Os dados foram coletados no período de junho a setembro de 2010 em cinco espécies florestais na fase juvenil nativas da Amazônia. A condutância estomática (g_s), fotossíntese (A) e o rendimento quântico aparente (Φ) foram mensuradas continuamente durante um ciclo circadiano (24 h, dia e noite), em $[\text{CO}_2]$ de $380 \mu\text{mol mol}^{-1}$, temperatura de $25 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$, umidade do ar de $73 \pm 3\%$ e a radiação fotossinteticamente ativa de $50 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$. Os maiores valores de g_s , A e Φ foram observados antes de 14:00 h. Esses três parâmetros diminuíram até o final da tarde e noite, atingindo o estado estacionário em torno de meia noite. O processo de reabertura estomática (inferida pelo aumento nos valores de g_s) começou após à meia noite (01:00 e 02:00 h), num período em que foram registrados os menores valores de temperatura. As temperaturas mais baixas após a meia-noite deveria ocasionar o fechamento, em vez de abertura dos estômatos.

A reabertura estomática no início da madrugada sugere o envolvimento de fatores endógenos (relógio circadiano) no funcionamento estomático.

PALAVRAS-CHAVE: Relógio biológico, fotossíntese, funcionamento estomático, abertura estomática desuniforme.

Influence of circadian rhythms on stomatal conductance and in photosynthesis in forest tree species under natural conditions in Central Amazonia

ABSTRACT

Several internal and external factors affect stomatal functioning, but in comparison with the latter, internal factors have received less attention in Amazonian tree species. The aim of this study was to determine how stomatal functioning and photosynthesis respond to continuous light exposure during a circadian cycle. We collected data from June to September 2010 in tree species in the Amazon native youthful phase. Stomatal conductance (g_s), photosynthesis (A) and the apparent quantum yield (Φ) were measured continuously during a circadian period (24 h, day and night) under a $[CO_2]$ of $380 \mu\text{mol mol}^{-1}$, temperature of $25 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$, air relative humidity of $73 \pm 3\%$, and a constant photosynthetically active radiation of $50 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$. The highest values of g_s , A and Φ were observed before 14:00 h. These three parameters decreased toward the end of the afternoon and night until reaching steady state around midnight. Stomatal reopening (inferred by the increase in g_s values) began after midnight (01:00 - 02:00 h) when the lower temperatures were recorded. Cooler temperatures after midnight should promote closing rather than stomatal opening. Stomatal reopening in the early predawn hours suggests the involvement of an endogenous timer (circadian clock) in stomatal functioning.

KEYWORDS: Biological clock, photosynthesis, stomatal functioning, stomatal patchiness.

INTRODUÇÃO

Os estudos relacionados às trocas gasosas em árvores nos ecossistemas florestais avaliam, sobretudo os efeitos do ambiente físico. Fatores ambientais que afetam o funcionamento estomático incluem a irradiância, concentração de CO₂, disponibilidade de água e temperatura (Assman 1999; Kaiser e Kappen 2000). A maioria dos trabalhos efetuados com árvores tropicais tem-se estudado o desempenho estomático e a fixação de CO₂ em condições estáticas (Carswell *et al.* 2000; Mohoti e Lawlor 2002). Isto é, valores de condutância estomática (g_s) e de fotossíntese (A), obtidos apenas em determinados horários durante o dia, fornecendo pouca informação sobre a dinâmica destes dois parâmetros (g_s , A) ao longo do período circadiano (24 h, dia e noite).

A variação diurna em g_s e, conseqüentemente, nas taxas fotossintéticas tem sido comumente atribuída às variações na intensidade de luz e no conteúdo de água na folha. O efeito da luz em g_s pode ser direto, por meio da sensibilidade das células guarda a luz azul, ou indiretamente associado ao efeito da luz vermelha na fotossíntese (Shimazaki *et al.* 2007). Outros fatores externos como a umidade relativa do ar (Monteith 1995), temperatura (Neilson e Jarvis 1975; Peak e Mott 2010) também influenciam o funcionamento dos estômatos. Além disso, fatores internos tais como, idade e estado nutricional da folha (Wright e Westoby 2002) e fatores relacionados ao funcionamento de um relógio biológico podem também ser cruciais no funcionamento estomático (McClung 2001; Webb 2003).

Existem evidências que mostram que os ritmos circadianos controlam inúmeros processos em seres vivos, incluindo as plantas superiores (Harmer *et al.* 2000). Por exemplo, a transcrição gênica, atividades de algumas enzimas (Johnson *et al.* 1995; Hotta *et al.* 2007), abertura e fechamento dos estômatos, assimilação de CO₂ e movimento foliares, estão

associados a fatores endógenos controlados por um relógio biológico (Webb 1998; Dowson-Day e Millar 1999). Os ritmos circadianos conferem uma vantagem seletiva, porém sua contribuição no crescimento vegetativo permanece indeterminada (Yanovsky e Kay 2002). No entanto, alguns autores (Gorton *et al.* 1993; Dodd *et al.* 2005) sugerem que os ritmos circadianos podem afetar positivamente o teor de clorofila, fotossíntese e eficiência no uso da água. Neste estudo, partiu-se da hipótese de que, sob iluminação constante o movimento estomático ao longo de um período circadiano reflete os efeitos de fatores endógenos. Assim sendo, o objetivo principal deste estudo foi determinar como o funcionamento dos estômatos e fotossíntese respondem a exposição contínua á luz num ciclo circadiano em cinco espécies florestais na fase juvenil nativas da Amazônia.

MATERIAL E MÉTODOS

Área de estudo e material vegetal

O estudo foi realizado na Estação Experimental de Silvicultura Tropical (Núcleo ZF2), do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA), localizada a 60 km ao norte de Manaus (02° 36' 21" S; 60° 08' 11" W), em uma área de floresta nativa de terra firme. A região apresenta características de clima equatorial úmido, precipitação anual de 2240 mm, sendo o período de novembro a maio, os meses mais chuvosos (acima de 100 mm por mês) e os meses de julho a setembro o período de menor precipitação (menor que 100 mm por mês). Acima do dossel da floresta, a temperatura média é de 27 °C e umidade relativa média 78% (Dias 2009). No estudo utilizaram-se cinco espécies florestais na fase juvenil *Amphirrhox surinamensis* Eichl. (Violaceae), *Duguetia flagellaris* Huber (Annonaceae), *Fusaea longifolia* (Aubl) Safford (Annonaceae), *Guarea carinata* Ducke (Meliaceae), *Myrcia subsericeae* A. Gray (Myrtaceae) nativa da Amazônia Central, com quatro repetições (uma planta por repetição).

Condutância estomática e fotossíntese durante o ciclo circadiano

Para mensurar g_s e A utilizou-se um medidor de fotossíntese (Li-6400, Li-Cor, EUA). Os dados foram coletados de junho a setembro de 2010, em intervalos de três minutos durante 27 h (dia e noite continuamente, ou seja, 540 observações por folha) utilizando uma folha madura por planta e quatro repetições. As trocas gasosas foram medidas em $[\text{CO}_2]$ de $380 \mu\text{mol mol}^{-1}$, temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$, umidade relativa do ar (UR) de $73 \pm 3\%$ e radiação fotossinteticamente ativa (RFA) de $50 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Durante as medições toda a planta foi mantida no escuro, com exceção da folha a ser examinada (Doughty *et al.* 2006). Também foi determinado o rendimento quântico aparente (Φ) sob RFA constante, calculada como a razão A/RFA . Embora a intensidade da luz utilizada neste estudo seja aparentemente baixa, foi na verdade cinco vezes a radiação média do sub-bosque da floresta ($10 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$). Além disso, não se utilizou um valor de RFA mais elevado para evitar o risco de ocasionar fotoinibição nas folhas, devido ao experimento requerer exposição à luz constante por período prolongado, uma vez que essas plantas estão adaptadas a condições de baixa luminosidade no sub-bosque.

Para verificar se houve fotoinibição nas folhas utilizadas após mensurações em luz contínua, dados da fluorescência da clorofila a foram medidos antes e depois do período de coleta, com um analisador da eficiência da planta (PEA, MK2 – 9600 – Hansatech, UK). Antes de efetuar a medição da fluorescência, a folha foi aclimatada a escuridão por 20 minutos e posteriormente, em uma área de 4 mm de diâmetro foi aplicado um pulso de luz de $3000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$; a eficiência quântica máxima do fotossistema II (relação F_v/F_m) foi avaliada conforme descrito por Bjorkman e Demmig (1987). Com a finalidade de se determinar a capacidade fotossintética das plantas utilizadas, ao final das coletas de dados do ciclo circadiano, em folhas das mesmas plantas e com valores similares de SPAD determinou-se a condutância estomática em luz saturante ($g_{s\text{-sat}}$) e a taxa de fotossíntese em luz saturante

(A_{\max}) bem como, os valores de rendimento quântico aparente (Φ_{Kok}), R_d (taxa de respiração foliar) e a irradiância de compensação (I_c , sendo R_d/Φ). A_{\max} e $g_{s\text{-sat}}$ foram determinados em temperatura ambiente, intensidade de luz de $1000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ e $[\text{CO}_2]$ de $380 \mu\text{mol mol}^{-1}$ e UR 73%. Os valores SPAD foram medidos com um clorofilômetro (SPAD-502, Minolta, Japão). O Φ_{Kok} e R_d foram determinados utilizando o método de Kok (Villar *et al.* 1994), Φ_{Kok} foi obtido em baixa luminosidade, assim como a inclinação da linha de regressão A/RFA . R_d foi a intercepção desta linha com o eixo Y (por exemplo, $\text{RFA}=0$).

Condições ambientais

Os dados de precipitação foram coletados utilizando um pluviômetro convencional, instalado numa torre de observação a 40 m de altura, localizado à 3,3 km da área de estudo. Também, foram coletados dados de irradiância, umidade do ar e temperatura do sub-bosque utilizando sensores específicos (Li-191 SA, Li-Cor, EUA; Humitter 50Y, Vaisala, Oyj, Finlândia) conectados a um datalogger (Li-1400, Li-Cor, NE, EUA) e programado para registrar os dados em intervalos de 15 minutos (RFA) e 30 minutos (umidade e temperatura). A umidade do solo foi determinada gravimetricamente, tendo a massa de solo seca como referência. A análise de regressão foi usada para descrever a relação entre A e g_s , e também Φ e g_s .

RESULTADOS

Condições ambientais

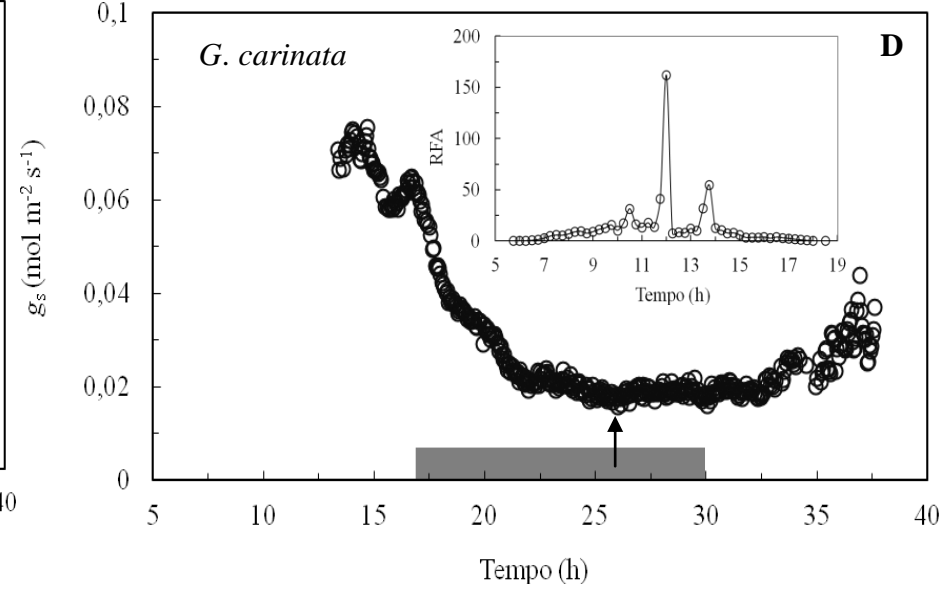
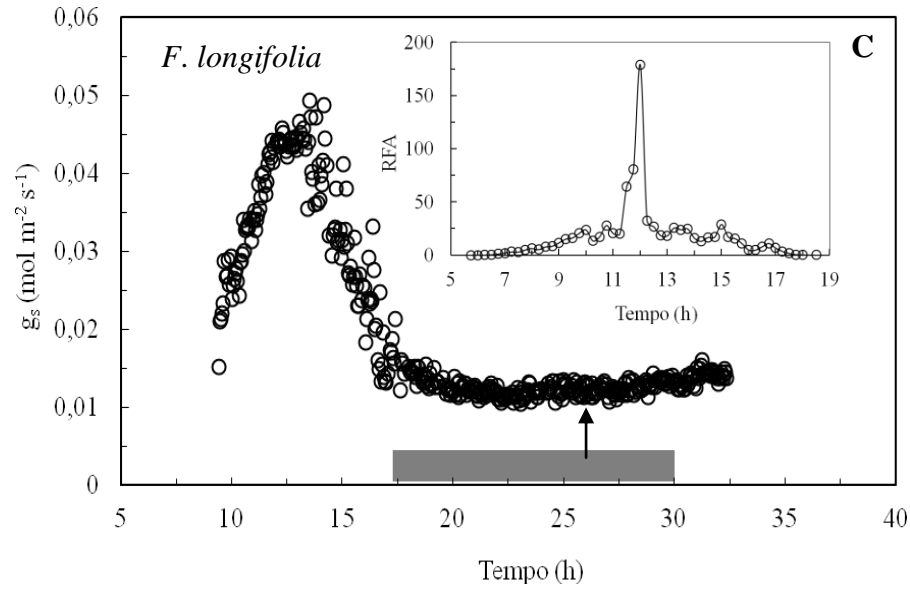
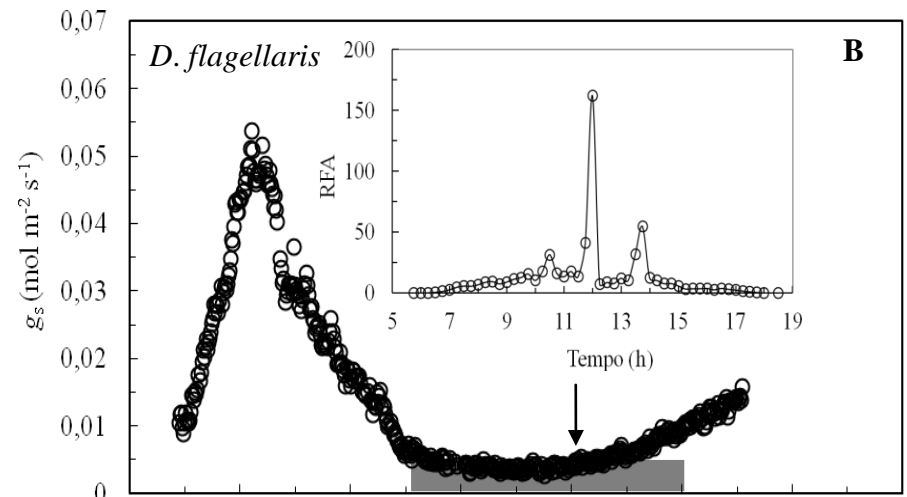
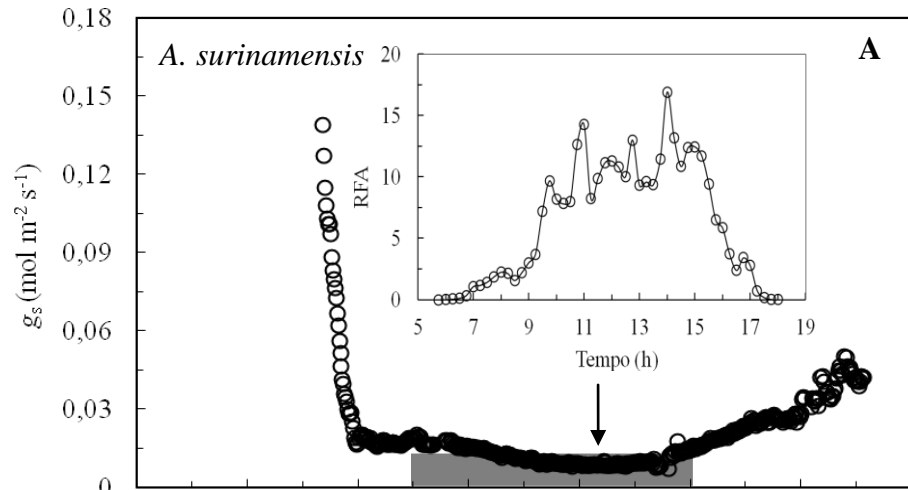
A precipitação média do período de estudo (junho-setembro de 2010) foi de 74 mm, oscilando de 14 mm em agosto para 153 mm em junho. No sub-bosque a umidade relativa do ar foi sempre acima de 90% e a temperatura mínima e máxima foram 22 °C e 28 °C, respectivamente (Tabela 1). A umidade do solo no período do estudo foi de 65% próximo do ponto de saturação do solo (74%). A irradiância média no sub-bosque foi $10 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, com picos ocasionais (sunflecks) acima de $100 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (Figura 1).

Tabela 1. Radiação fotossinteticamente ativa (RFA), temperatura do ar média, mínima e máxima (T_{med} , T_{min} , T_{max}) e umidade relativa do ar (UR) no sub-bosque da floresta mensurado durante as coletas de dados. Eficiência quântica máxima do fotossistema II (F_v/F_m) mensurado antes e após o período de coleta do ciclo circadiano em cinco espécies florestais na fase juvenil da Amazônia Central. Dados coletados nos meses de junho a setembro de 2010.

Espécie	<i>A. surinamensis</i>	<i>D. flagellaris</i>	<i>F. longifolia</i>	<i>G. carinata</i>	<i>M. subsericeae</i>	Média
Variáveis						
RFA ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	11	10	9	8	11	9,8
T_{med} (C°)	24,4	24,3	25,2	25,4	25,3	24,9
T_{min} (C°)	22,4	22,3	21,4	22,4	22,2	22,1
T_{max} (C°)	28,3	28,4	28,6	28,7	27,8	28,3
UR (%)	92	94	95	91	93	93
F_v/F_m (antes das medições)	0,82	0,79	0,80	0,80	0,78	0,80
F_v/F_m (após ciclo contínuo)	0,78	0,72	0,79	0,78	0,75	0,76

Condutância estomática e fotossíntese durante o ciclo circadiano

Em condições de luminosidade constante, g_s de todas as espécies estudadas variou durante o período do dia e noite (Figura 1). Os maiores valores de g_s foram observados antes de 14:00 h, diminuindo ao entardecer, tendência que continuou no início do período noturno até atingir o estado estacionário ($0,01 \text{ mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) à meia noite. A reabertura estomática começou após a meia noite entre 01:00 h e 02:00 h do dia seguinte (Figura 1).



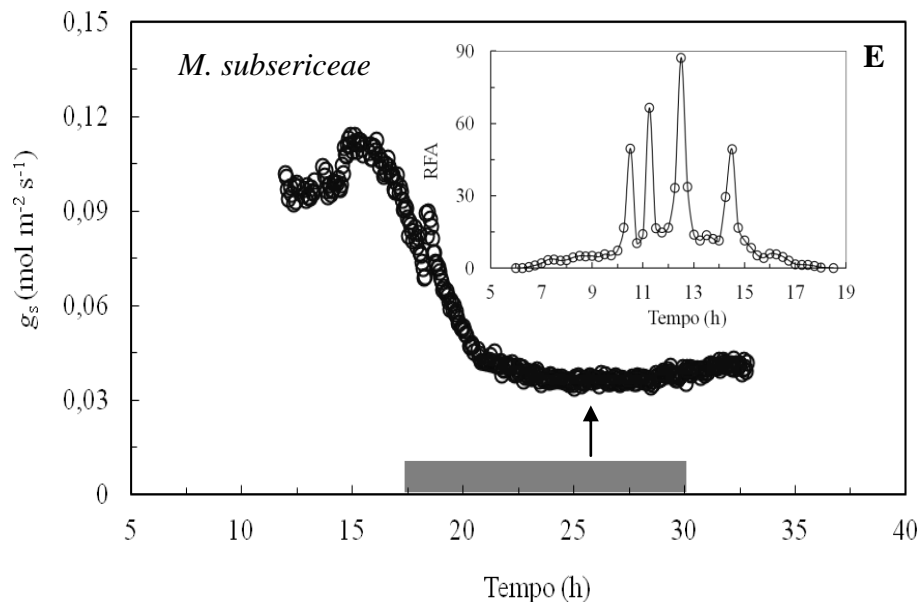


Figura 1. Condutância estomática (g_s , círculo aberto) em função do horário do dia em cinco espécies florestais na fase juvenil da Amazônia Central ao longo do ciclo circadiano. Medições efetuadas em intervalos de três minutos, em concentração de CO_2 $380 \mu\text{mol mol}^{-1}$ e luminosidade de $50 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. O tempo de medição iniciou no dia 1 e finalizou no dia 2, aproximadamente 27 h de coletas (horas são mostradas em escala contínua). As setas nas figuras 1A, B, C, D e E mostram o horário que inicia o processo de abertura estomática. As barras horizontais cinzas indicam o período noturno. Os painéis em destaque mostram a radiação fotossinteticamente ativa (RFA) no sub-bosque da floresta mensurado durante as coletas. Dados coletados nos meses de junho a setembro de 2010.

Tanto A como o Φ seguiram a mesma tendência de g_s (Figuras 2A, 3A, 4A, 5A e 6A). Depois de um declínio consistente até aproximadamente meia noite, A aumentou constantemente durante a madrugada, e, como a intensidade de luz foi mantida constante, Φ também seguiu a mesma tendência descrita para a fotossíntese (Figuras 2A, 3A, 4A, 5A e 6A). Houve pouca diferença nos valores de F_v/F_m registrados no início e no final do experimento ($0,80 \times 0,76$, Tabela 1), indicando que a intensidade de luz utilizada durante as medições de trocas gasosas não ocasionaram fotoinibição.

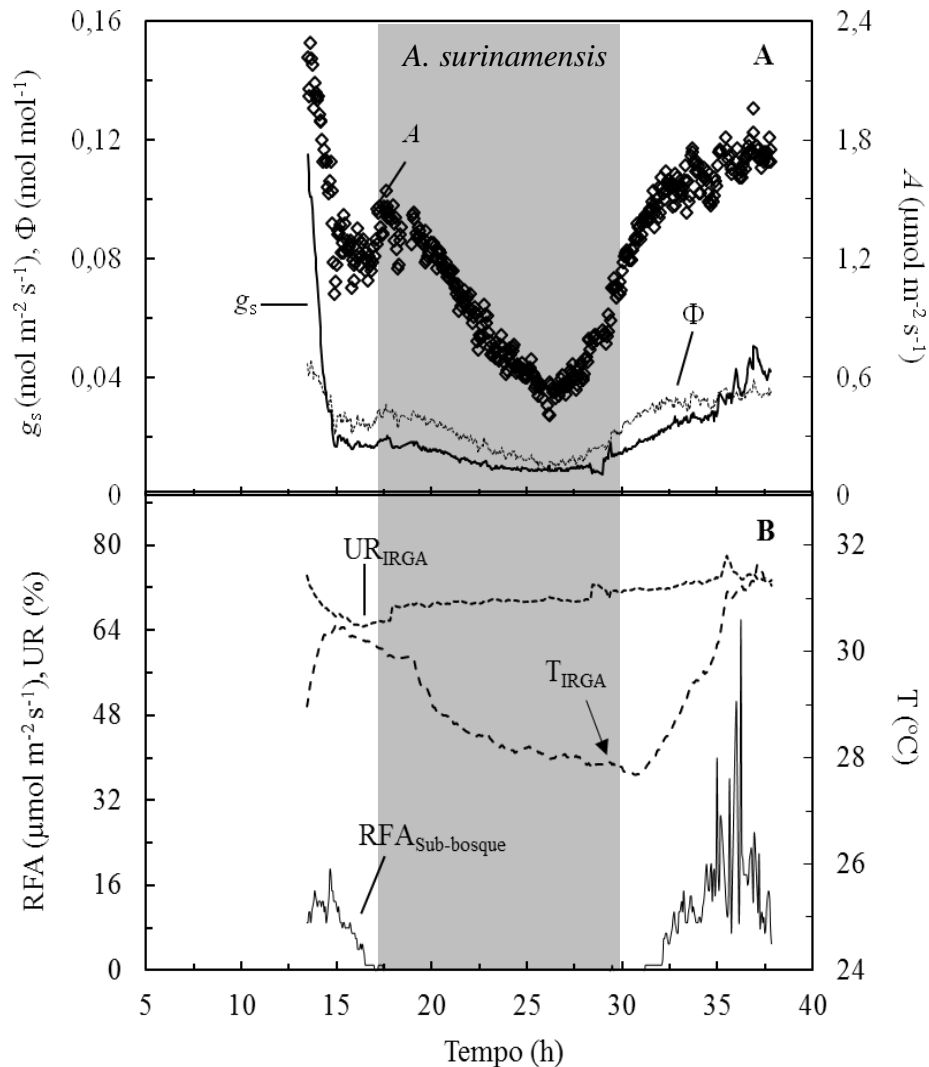


Figura 2. Condutância estomática (g_s , linha contínua), fotossíntese (A , losango aberto) e rendimento quântico aparente (Φ , linha tracejada) em função do horário do dia em *A. surinamensis* (Figura 2A). Radiação fotossinteticamente ativa no sub-bosque ($RFA_{\text{Sub-bosque}}$), umidade relativa do ar na câmara foliar (UR_{IRGA}) e temperatura na câmara foliar (T_{IRGA}) mensurados durante as coletas (Figura 2B). Dados coletados nos meses de junho a setembro de 2010. Condições experimentais conforme descrito na Figura 1. A seta na Figura 2B mostra o declínio da temperatura até o amanhecer. A área sombreada indica o período noturno.

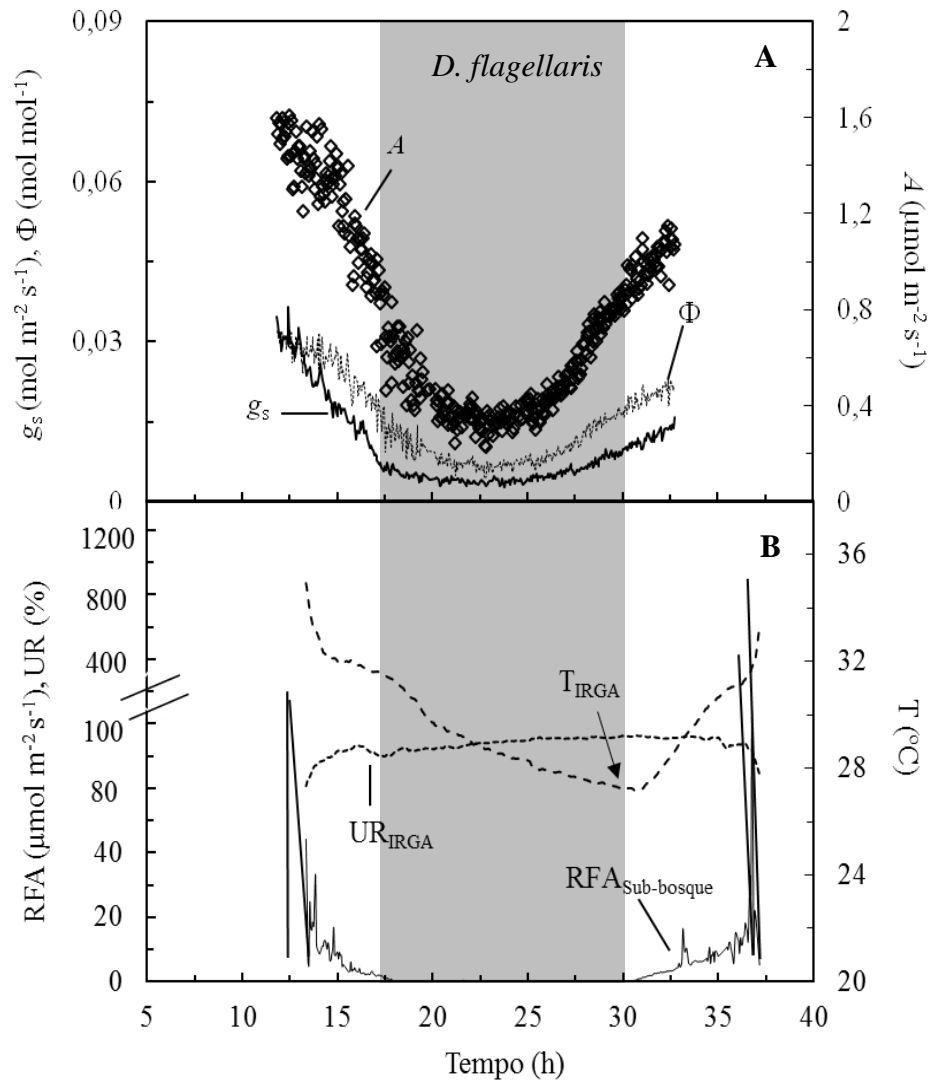


Figura 3. Condutância estomática (g_s , linha contínua), fotossíntese (A , losango aberto) e rendimento quântico aparente (Φ , linha tracejada) em função do horário do dia em *D. flagellaris* (Figura 3A). Radiação fotossinteticamente ativa no sub-bosque ($\text{RFA}_{\text{Sub-bosque}}$), umidade relativa do ar na câmara foliar (UR_{IRGA}) e temperatura na câmara foliar (T_{IRGA}) mensurados durante as coletas (Figura 3B). Dados coletados nos meses de junho a setembro de 2010. Condições experimentais conforme descrito na Figura 1. A seta na Figura 3B mostra o declínio da temperatura até o amanhecer. A área sombreada indica o período noturno.

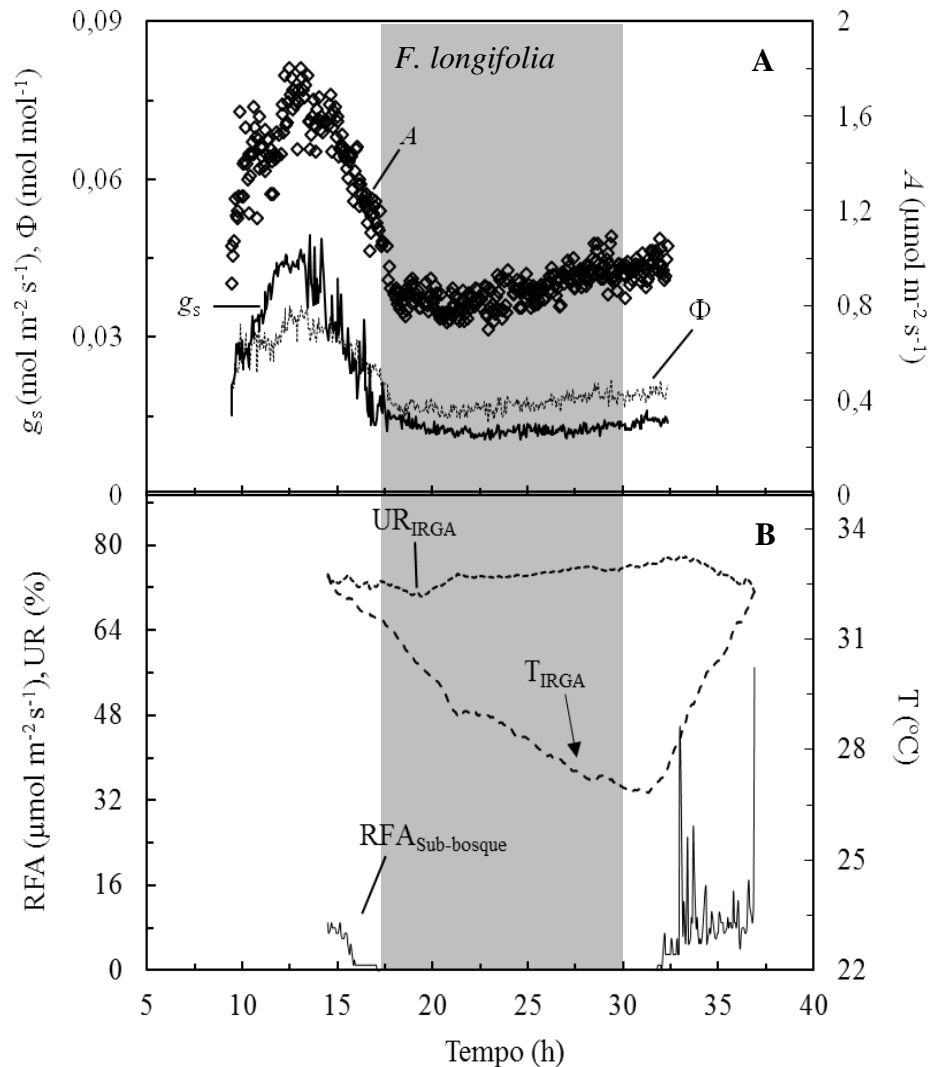


Figura 4. Condutância estomática (g_s , linha contínua), fotossíntese (A , losango aberto) e rendimento quântico aparente (Φ , linha tracejada) em função do horário do dia em *F. longifolia* (Figura 4A). Radiação fotossinteticamente ativa ($RFA_{\text{Sub-bosque}}$) no sub-bosque, umidade relativa do ar na câmara foliar (UR_{IRGA}) e temperatura na câmara foliar (T_{IRGA}) mensurados durante as coletas (Figura 4B). Dados coletados nos meses de junho a setembro de 2010. Condições experimentais conforme descrito na Figura 1. A seta na Figura 4B mostra o declínio da temperatura até o amanhecer. A área sombreada indica período noturno.

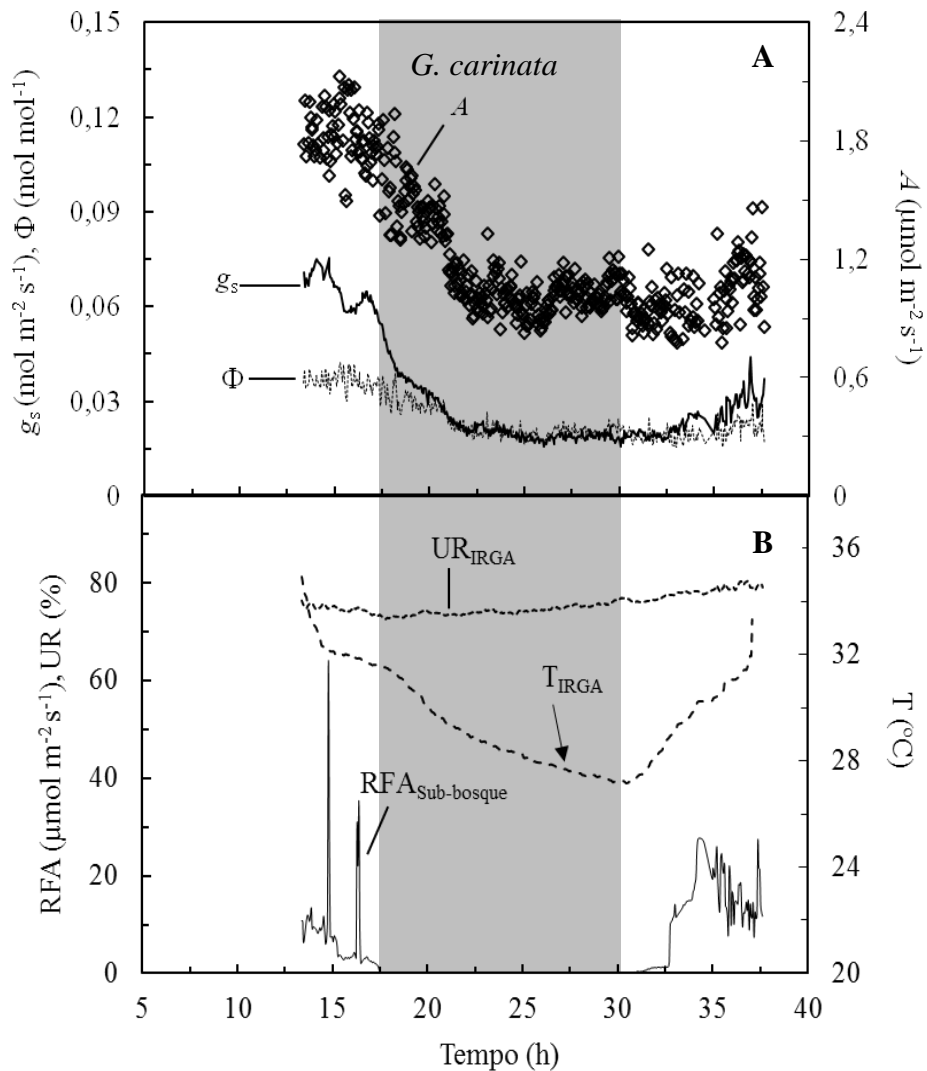


Figura 5. Condutância estomática (g_s , linha contínua), fotossíntese (A , losango aberto) e rendimento quântico aparente (Φ , linha tracejada) em função do horário do dia em *G. carinata* (Figura 5A). Radiação fotossinteticamente ativa no sub-bosque ($RFA_{\text{Sub-bosque}}$); umidade relativa do ar na câmara foliar (UR_{IRGA}) e temperatura na câmara foliar (T_{IRGA}) mensurados durante as coletas (Figura 5B). Dados coletados nos meses de junho a setembro de 2010. Condições experimentais conforme descrito na Figura 1. A seta na Figura 5B mostra o declínio da temperatura até o amanhecer. A área sombreada indica o período noturno.

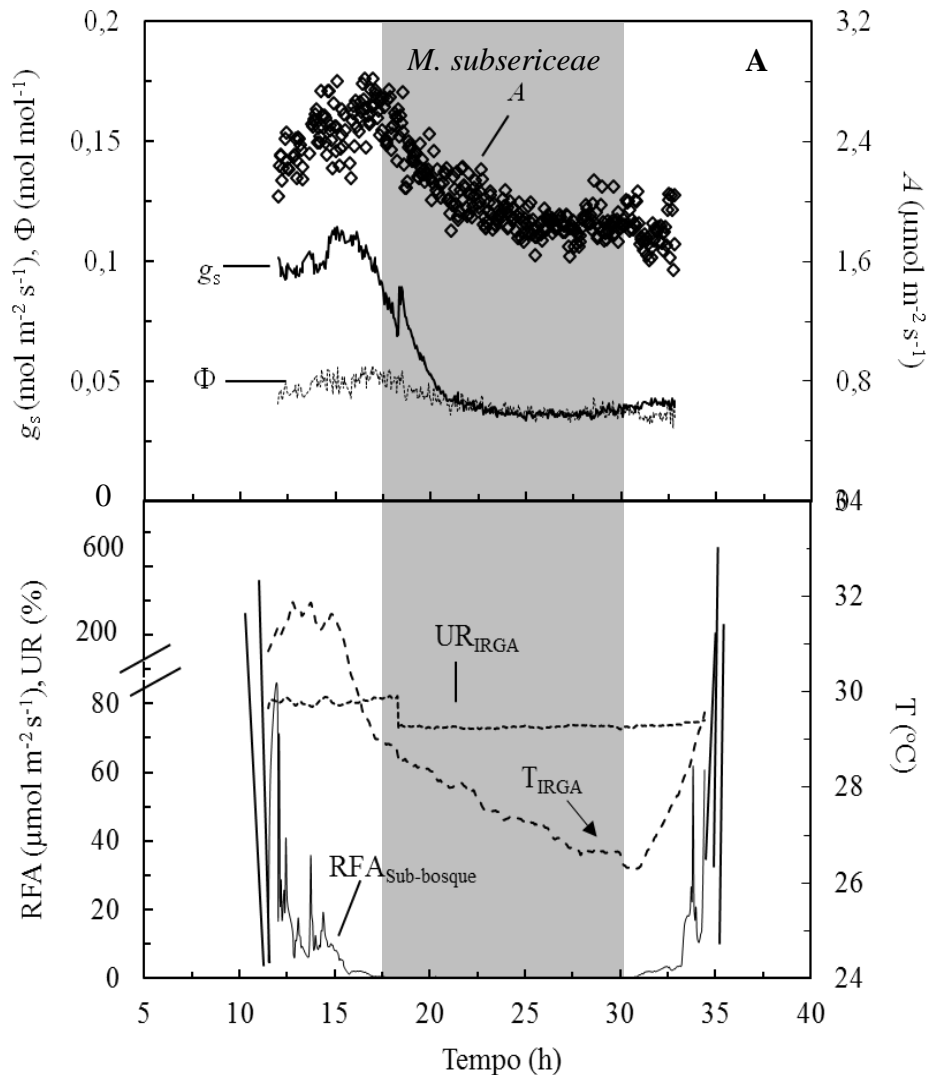


Figura 6. Condutância estomática (g_s , linha contínua), fotossíntese (A , losango aberto) e rendimento quântico aparente (Φ , linha tracejada) em função do horário do dia em *M. subsericeae* (Figura 6A). Radiação fotossinteticamente ativa no sub-bosque ($\text{RFA}_{\text{Sub-bosque}}$); umidade relativa do ar na câmara foliar (UR_{IRGA}) e temperatura na câmara foliar (T_{IRGA}) mensurados durante as coletas (Figura 6B). Dados coletados nos meses de junho a setembro de 2010. Condições experimentais conforme descrito na Figura 1. A seta na Figura 6B mostra o declínio da temperatura até o amanhecer. A área sombreada indica o período noturno.

Os valores de A e Φ correlacionaram significativamente com g_s (Figuras 7A, 8A, 9A, 10A e 11A), indicando que g_s foi o principal fator determinante na fixação de CO_2 . No entanto, a perda de linearidade entre A e g_s (em $g_s > 0,04 \text{ mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) indica que nesses valores de g_s , a fotossíntese não foi limitada pela difusão de CO_2 no espaço intercelular, e

talvez tenha sido limitada pela luz. A relação entre C_i/C_a diminuiu com o decréscimo nos valores de g_s . Entretanto, deve-se salientar que, durante a madrugada houve uma tendência de aumento em C_i/C_a , em valores baixos de g_s (indicado por um círculo nas Figuras 7B, 8B, 9B, 10B e 11B).

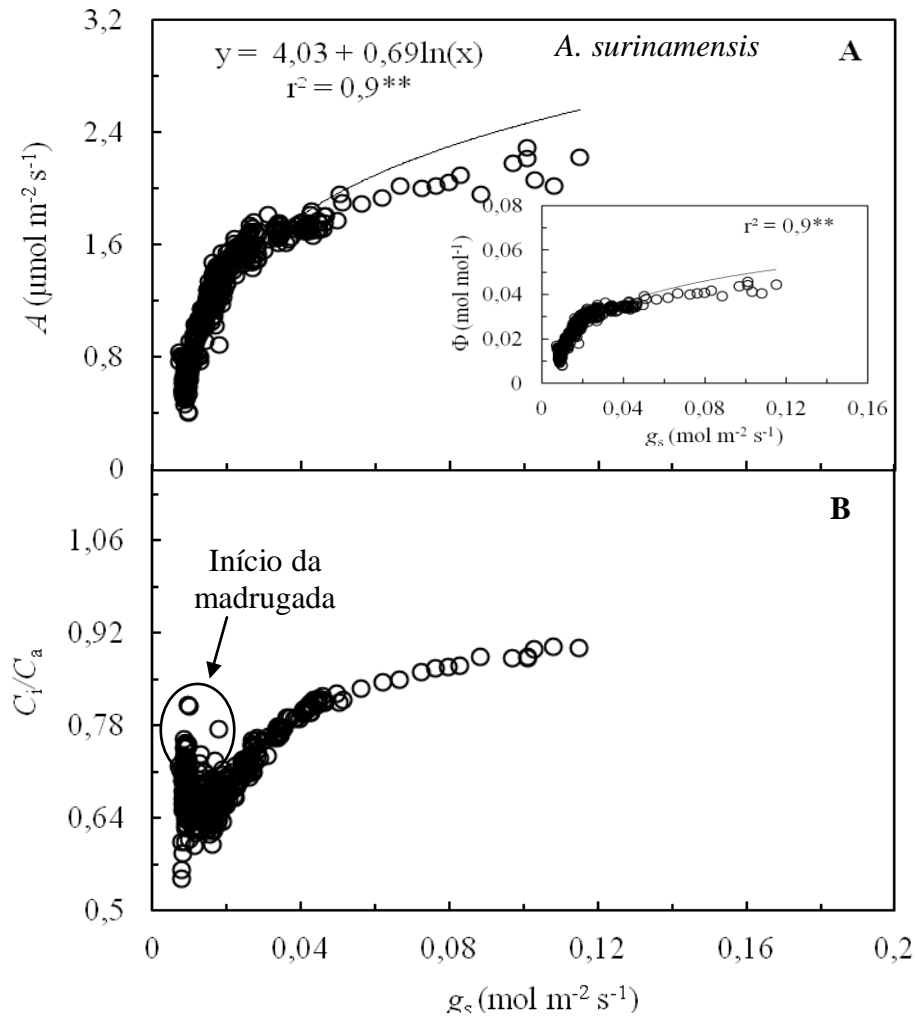


Figura 7. Relações entre fotossíntese (A) e condutância estomática (g_s ; Figura 7A) e entre C_i/C_a e g_s (Figura 7B) em *A. surinamensis*. O painel inserido na Figura 7A mostra a relação Φ - g_s . O círculo em baixos valores de g_s indica desuniformidade na abertura estomática, fenômeno que ocorre no início da madrugada indicado pela seta na Figura 7B. Condições experimentais conforme descrito na Figura 1. **: significativo a 1% de probabilidade.

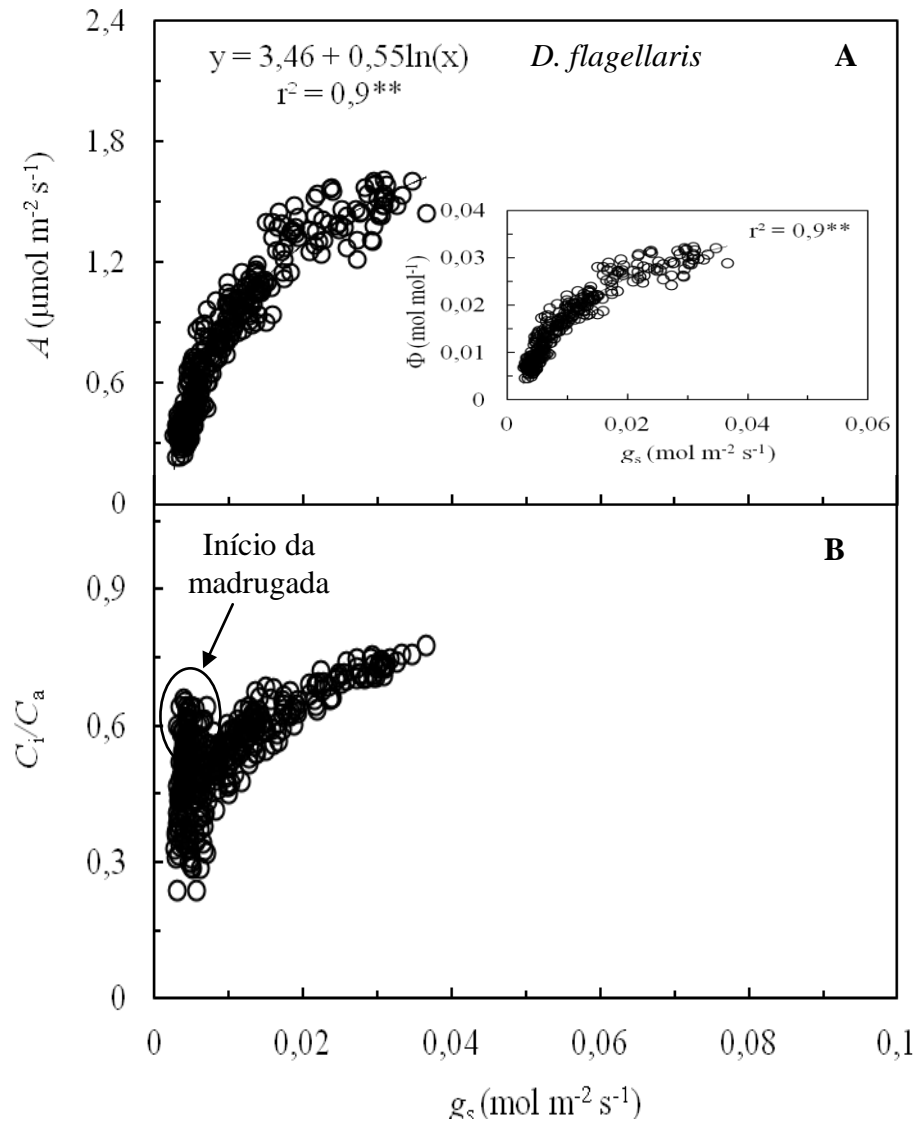


Figura 8. Relações entre fotossíntese (A) e condutância estomática (g_s ; Figura 8A) e entre C_i/C_a e g_s (Figura 8B) em *D. flagellaris*. O painel inserido na Figura 8A mostra a relação Φ - g_s . O círculo em baixos valores de g_s indica desuniformidade na abertura estomática, fenômeno que ocorre no início da madrugada indicado pela seta na Figura 8B. Condições experimentais conforme descrito na Figura 1. **: significativo a 1% de probabilidade.

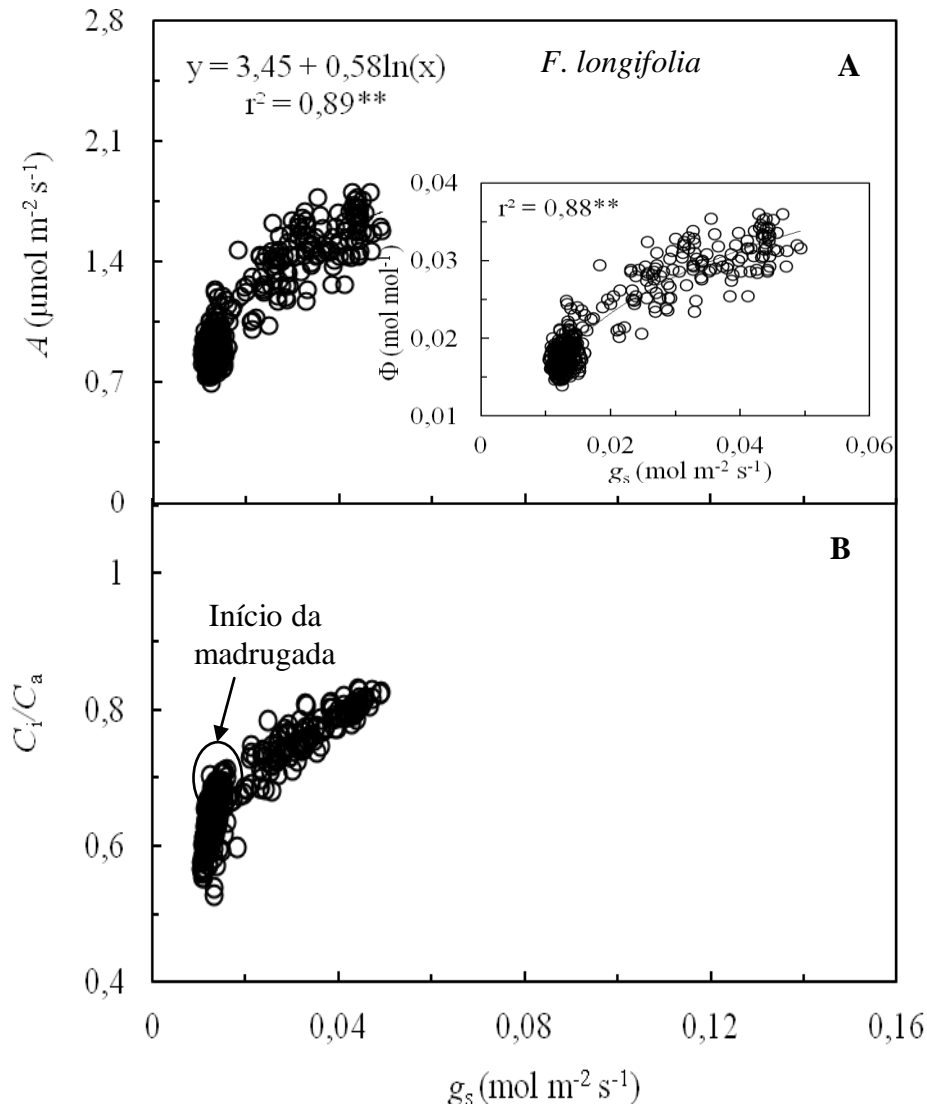


Figura 9. Relações entre fotossíntese (A) e condutância estomática (g_s ; Figura 9A) e entre C_i/C_a e g_s (Figura 9B) em *F. longifolia*. O painel inserido na Figura 9A mostra a relação Φ - g_s . O círculo em baixos valores de g_s indica desuniformidade na abertura estomática, fenômeno que ocorre no início da madrugada indicado pela seta na Figura 9B. Condições experimentais conforme descrito na Figura 1. **: significativo a 1% de probabilidade.

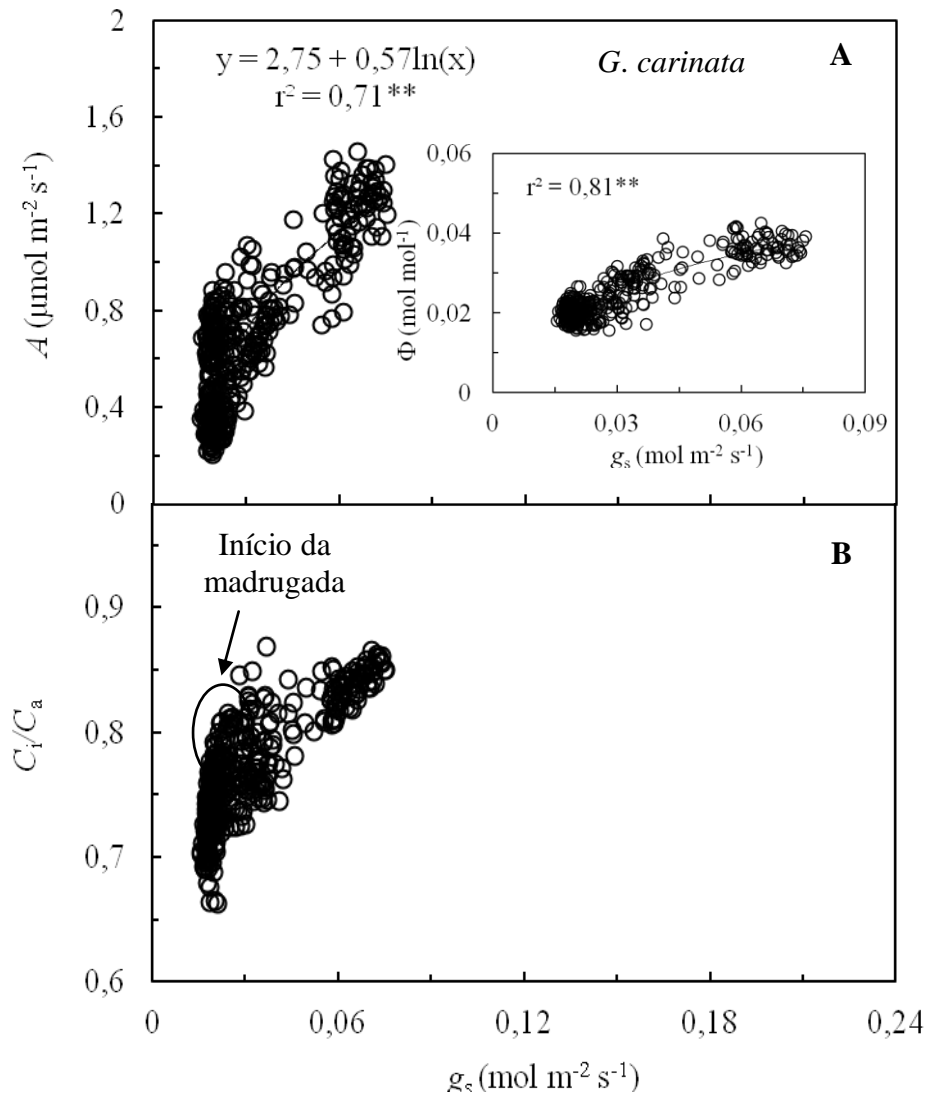


Figura 10. Relações entre fotossíntese (A) e condutância estomática (g_s ; Figura 10A) e entre C_i/C_a e g_s (Figura 10B) em *G. carinata*. O painel inserido na Figura 10A mostra a relação Φ - g_s . O círculo em baixos valores de g_s indica desuniformidade na abertura estomática, fenômeno que ocorre no início da madrugada indicado pela seta na Figura 10B. Condições experimentais conforme descrito na Figura 1. **: significativo a 1% de probabilidade.

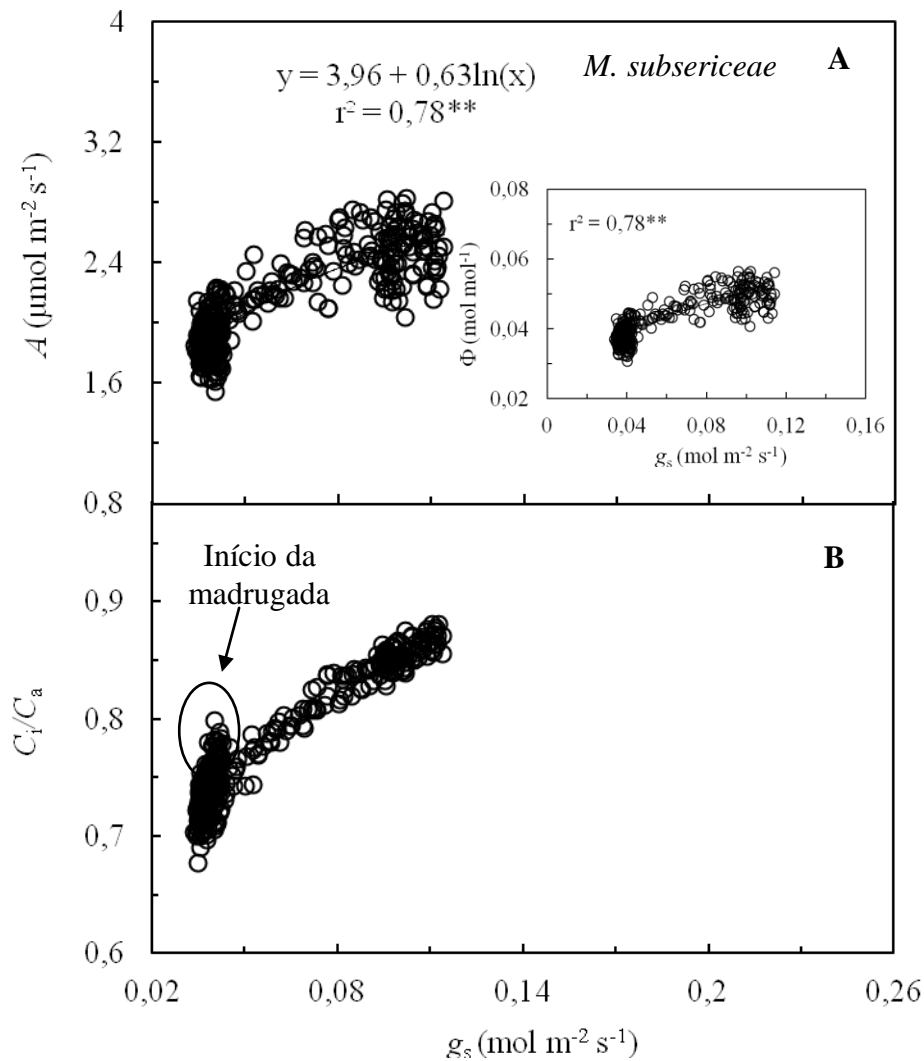


Figura 11. Relações entre fotossíntese (A) e condutância estomática (g_s ; Figura 11A) e entre C_i/C_a e g_s (Figura 11B) em *M. subsericeae*. O painel inserido na Figura 11A mostra a relação Φ - g_s . O círculo em baixos valores de g_s indica desuniformidade na abertura estomática, fenômeno que ocorre no início da madrugada indicado pela seta na Figura 11B. Condições experimentais conforme descrito na Figura 1. **: significativo a 1% de probabilidade.

Fotossíntese em luz saturante, g_{s-sat} , I_c , e R_d

Valores de A_{max} e g_{s-sat} registrados em luz saturante foram cerca de 30-50% maiores (Tabela 2) dos observados sob baixa intensidade de luz utilizada para avaliar o funcionamento dos estômatos durante o ciclo circadiano. Também, observa-se na tabela 2 que o nível de luz usado no experimento ($50 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) foi entre 3,3 e 7,6 vezes a irradiância de compensação (I_c), e cerca de 5 vezes a intensidade de luz média registrada no sub-bosque. Além disso, os valores de Φ estimados durante o ciclo circadiano foram comparáveis com os obtidos usando o método de Kok (Φ_{Kok} na Tabela 2), e, em média R_d foi 5% de A_{max} , o que já era esperado para folhas de sombra. Finalmente, os valores de SPAD elevados (Tabela 2) mostram que as folhas utilizadas no estudo estavam em boas condições fisiológicas.

Tabela 2. Fotossíntese máxima em luz saturante (A_{\max}), condutância estomática em luz saturante ($g_{s\text{-sat}}$), respiração foliar (R_d), rendimento quântico aparente (Φ_{kok}), ponto de compensação por luz (I_c) e valores SPAD mensurado em cinco espécies florestais na fase juvenil da Amazônia Central. Cada valor representa à média de quatro plantas por espécie. Dados coletados no período de junho a setembro de 2010.

Espécies	<i>A. surinamensis</i>	<i>D. flagellaris</i>	<i>F. longifolia</i>	<i>G. carinata</i>	<i>M. subsericeae</i>	Média
Variáveis						
A_{\max} ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	4,6	4,3	3,5	3,9	4,9	4,4
$g_{s\text{-sat}}$ ($\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	0,12	0,07	0,06	0,11	0,10	0,09
R_d ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	0,32	0,24	0,24	0,16	0,14	0,22
Φ_{kok} [$\mu\text{mol (CO}_2\text{)} \mu\text{mol}^{-1}$ (fótons)]	0,043	0,032	0,033	0,035	0,045	0,040
I_c ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	7,6	6,7	6,6	4,7	3,3	5,8
Valores SPAD	51,8	44,2	43,6	47,4	43,8	46,2

DISCUSSÃO

Condições ambientais

A precipitação mensal observada durante o período de estudo está dentro da média anteriormente registrada para esta região da Amazônia Central (Dias 2009), assim como os valores de irradiância, temperatura e umidade relativa do ar registrados no sub-bosque são semelhantes com os dados relatados em estudos anteriores na mesma área (Marenco e Vieira 2005; Nascimento 2009; Mendes e Marenco 2010).

Condutância estomática e fotossíntese durante ciclo circadiano

Em todas as espécies estudadas g_s foi maior no período da manhã do que à tarde, o que está de acordo com os resultados encontrados por outros (Kaiser e Kappen 2000; Nascimento 2009, Mendes e Marenco 2010), que observaram maiores valores de g_s entre 10:00 h e 14:00 h, e g_s mínimo ao final do dia. O rápido declínio de g_s logo após a exposição da folha as condições ambientais da câmara foliar, ocorreu provavelmente devido à perda rápida de água nos primeiros minutos de exposição ao ambiente da câmara foliar, haja vista que a umidade do ar na câmara foliar foi menor (cerca de 20%) do que UR do sub-bosque a qual a folha estava anteriormente adaptada. Buckley (2005) relata para várias espécies o fechamento dos estômatos em resposta a exposição à baixa umidade, resultando numa perda de água através das células guarda (Monteith 1995; Mott e Peak 2010).

Observou-se que g_s começou a aumentar após a meia noite entre 01:00 e 02:00 h do dia seguinte durante um período em que UR permaneceu relativamente constante (73%), dessa forma as alterações em A e g_s não podem ser atribuídas a variação da UR na câmara foliar. Ainda deve-se notar que, a temperatura na câmara foliar reduziu cerca de 2°C durante a madrugada até o amanhecer (indicado pelas setas nas linhas tracejadas na figura 2B, 3B, 4B, 5B e 6B). De fato, o aumento de g_s antes do amanhecer foi oposto ao que deve ser esperado. Está bem documentado que em condições constante de umidade relativa do ar, ocorre a diminuição de g_s em resposta ao declínio da temperatura (Wilson 1948; Stalfelt 1962; Rogers

et al. 1979, Peak e Mott 2010), o que é contrário ao que foi observado no presente estudo. Assim, infere-se que de alguma forma um fator endógeno sobrepuja o efeito negativo da temperatura na abertura estomática, tendo-se como resultado a reabertura estomática no início da madrugada. Isto sugere o envolvimento de fatores endógenos (ritmos circadianos) no funcionamento dos estômatos, talvez envolvendo as aquaporinas no controle do fluxo de água (Lopez *et al.* 2003).

O padrão de abertura e fechamento dos estômatos sob luz constante observado neste estudo, concorda com os resultados observados em plantas herbáceas (Hennessey e Field 1991; Dodd *et al.* 2005) e em espécies florestais da Amazônia (Doughty *et al.* 2006). Embora tenham sido observados ritmos circadianos nos movimentos estomáticos em várias espécies de plantas, este é o primeiro estudo a documentar o funcionamento dos estômatos sob luz contínua em espécies florestais da Amazônia na fase juvenil.

O envolvimento de um relógio endógeno na modulação da abertura estomática seria um benefício para planta, pois manter os estômatos fechados durante a noite (quando a absorção de carbono é zero) evita perdas desnecessárias de água por transpiração conforme sugerido por Dodd *et al.* (2005). Os ritmos circadianos provavelmente permitem aos estômatos responderem apropriadamente aos sinais em uma fase específica (Webb 1998), por exemplo, em plantas de sub-bosque a abertura rítmica dos estômatos confere melhor aproveitamento no uso da luminosidade durante o dia e concomitantemente pode levar a um aumento da assimilação de CO₂ (Pearcy 1990; Allen e Pearcy 2000).

Tanto a assimilação de CO₂ como o Φ seguiram o mesmo ciclo circadiano como observado para g_s . Isto porque, g_s pode afetar Φ via seu efeito em C_i (Björkman 1981), e como RFA foi mantida constante, as mudanças em A foram similares as oscilações de Φ . Aumento em A nas primeiras horas antes do amanhecer e seu declínio durante a tarde e a noite está de acordo com os resultados de outros (Hennessey e Field 1991; Webb 2003). As oscilações da

fotossíntese em um longo período de estudo de ritmos circadianos também confirmam a hipótese de que enzimas envolvidas com o Ciclo de Calvin (Por exemplo, Rubisco), também podem estar relacionadas a ritmos circadianos como relatado em *Phaseolus vulgaris* (Hennessey e Field 1991). Harmer *et al.* (2000) relatam que fatores endógenos podem controlar reações do ciclo de Calvin e regular a quantidade de proteínas envolvidas no metabolismo das plantas através do controle da transcrição gênica, taxas de tradução e regulação da degradação de proteínas. Acredita-se que cerca de 16% dos genes expressos em *Arabidopsis* estão associados a um relógio biológico (Harmer *et al.* 2000; McClung 2001), e que ritmo circadiano na condutância estomática e assimilação de CO₂ levam a máxima absorção de carbono em horários próximos do meio dia (Dodd *et al.* 2005).

A estreita relação observada entre A e g_s concorda com os resultados relatados por outros em plantas de espécies diferentes (Mendes e Marengo 2010; Magalhães 2010), e mostra que g_s , seja talvez o principal fator determinante para as taxas fotossintéticas. O aumento da fotossíntese no início da madrugada indica que as folhas não sofreram fotoinibição, o que foi também verificado pelos altos valores de F_v/F_m ao final das coletas. Dessa forma, a intensidade de luz utilizada neste experimento foi suficientemente baixa para evitar fotoinibição, mas ao mesmo tempo alta e satisfatória para induzir a abertura estomática ao longo do ciclo circadiano. Tipicamente, o fechamento estomático ocasiona uma diminuição na [CO₂] nos espaços intercelulares e conseqüentemente na razão C_i/C_a . Todavia, no início da madrugada (indicada por um círculo nas Figuras 7B, 8B, 9B, 10B e 11B), observou-se um aumento na razão C_i/C_a em baixos valores de g_s , o que indica que o processo de abertura estomática não é uniforme em toda a folha (Pospíšilová e Santrucek 1994; Mott e Peak 2007).

Fotossíntese em luz saturante, g_{s-sat} , I_c , e R_d

Os valores de A_{max} e SPAD concordam com os relatados por Nascimento (2009) e Mendes e Marengo (2010), mostrando que as folhas utilizadas neste estudo podem ser

consideradas representativas daquelas em boa condição fisiológica. Além disso, os baixos valores de R_d e I_c são consistentes com os baixos teores de proteínas por unidade de área foliar, frequentemente encontrado em folhas adaptadas a sombra (Valladares e Niinemets 2008).

CONCLUSÕES

O fato de a abertura estomática declinar ao final da tarde e início da noite em condições de luminosidade constante, umidade relativa do ar quase constante e temperaturas decrescentes, que não favorecem a abertura estomática, implica que a reabertura do poro estomático não é provocada por alterações das condições ambientais. Conclui-se que o declínio de forma constante na condutância estomática durante a tarde e a noite e o aumento constante em g_s durante o pré-alforecer está relacionado com as atividades de um relógio biológico, que parece modular o funcionamento dos estômatos nas espécies estudadas.

CAPÍTULO II

Parte deste capítulo foi submetido à revista Pesquisa Agropecuária Brasileira

(formatado no padrão Acta Amazônica)

Parâmetros da fotossíntese e características foliares em espécies florestais da Amazônia Central

RESUMO

A luz e temperatura são fatores importantes que afetam os parâmetros fotossintéticos das folhas de árvores juvenis em condições de sub-bosque. Os objetivos deste estudo foram determinar como parâmetros fotossintéticos (V_{c-max} e J_{max}) respondem a luminosidade, temperatura e as variações diurnas no ambiente físico. Determinou-se também, as relações entre as características foliares (espessura e AFE), luminosidade e capacidade fotossintética (A_{pot}). Os dados de trocas gasosas foram coletados nos meses de setembro a dezembro em condições ambientais de temperatura ($27 \pm 2^\circ\text{C}$) e umidade relativa ($70 \pm 3\%$). Para avaliar o efeito do horário do dia nos parâmetros fotossintéticos (V_{c-max} e J_{max}), os dados referentes às curvas de luz (A/RFA) e CO_2 (A/C_i) foram coletados nos horários entre 08:00-16:00 h. V_{c-max} e J_{max} correlacionaram significativamente com as taxas de fotossíntese (A_{max} e A_{pot}). Não houve efeito significativo ($P > 0,05$) do horário do dia em V_{c-max} e J_{max} . Entretanto, o aumento da irradiância no sub-bosque e da temperatura foliar levaram a valores maiores de A_{max} , A_{pot} , V_{c-max} e J_{max} . Observou-se também, relação altamente significativa entre a luminosidade no sub-bosque e a espessura foliar, assim como entre espessura, AFE e A_{pot} . A falta de efeito do horário do dia em V_{c-max} e J_{max} sugere que esses parâmetros fotossintéticos estejam associados

a fatores difusivos bem como a fatores que influenciam a Rubisco, tais como a ativação da enzima. Mostrou-se também que pequenas variações na luminosidade influenciam significativamente a fisiologia e anatomia da folha (espessura foliar).

PALAVRAS-CHAVE: Condutância estomática, fotossíntese, velocidade máxima de carboxilação da Rubisco, sub-bosque, taxa máxima de transporte de elétrons e variação diurna.

Photosynthetic parameters and leaf traits in saplings native to Central Amazonia

ABSTRACT

Light and temperature are important factors that affect photosynthetic parameters of sapling leaves understory conditions. The objectives of this study were to determine how photosynthetic parameters (V_{c-max} and J_{max}) respond to light, temperature and diurnal variations in the physical environment. It was also determined the relationships between leaf characteristics (thickness and AFE –specific leaf area), light and photosynthetic capacity (A_{pot}). Gas exchange data were collected from September to December under ambient conditions of temperature (27 ± 2 ° C) and relative humidity ($70 \pm 3\%$). To evaluate the effect of time of day on photosynthetic parameters (V_{c-max} and J_{max}), light response curve (A/RFA) and CO_2 response curve (A/C_i) were generated between 08:00 and 16:00 h. V_{c-max} and J_{max} significantly correlated with photosynthetic rates (A_{max} and A_{pot}). There was no significant effect ($P > 0.05$) of time of day on V_{c-max} and J_{max} . However, the increase in irradiance at the forest understory and the increase in leaf temperature led to higher values of A_{max} , A_{pot} , V_{c-max} and J_{max} . There was also a positive relationship between light intensity in the forest understory and leaf thickness, as well as between thick, afe and A_{pot} . The lack of an effect on time of day on V_{c-max} and J_{max} suggests that these photosynthetic parameters are probably associated with diffusive factors, as well as factors that influence Rubisco, such as the activation of the

enzyme. It was also shown that small variations in understory light significantly influence the physiology and anatomy of the leaf (leaf thickness).

KEYWORDS: Stomatal conductance, photosynthesis, maximum carboxylation velocity of Rubisco, understory, maximum rate of electron transport and diurnal variation.

INTRODUÇÃO

Nas florestas tropicais úmidas, a luminosidade é muito variada, com pouca luz atingindo o sub-bosque da floresta, o que influencia a capacidade fotossintética de árvores na fase juvenil no seu ambiente natural (Fetcher *et al.* 1994). Em comparação a plantas de sol, plantas de sombra apresentam taxas fotossintéticas menores (Boardman 1977) e mecanismos fisiológicos que permitem o uso eficiente da luminosidade disponível no sub-bosque (Hikosaka e Terashina 1995). Baixa irradiância, muitas vezes leva a uma diminuição na espessura da folha e na massa foliar específica (Valladares e Niinemets 2008). Além disso, plantas desenvolvidas na sombra investem mais em complexos coletores de luz e plantas desenvolvidas ao sol, em proteínas envolvidas no ciclo de Calvin e transporte de elétrons (Laisk *et al.* 2005).

A disponibilidade de luz no sub-bosque da floresta depende de vários fatores, tais como horário do dia e nebulosidade bem como das aberturas e mini-aberturas do dossel da floresta visíveis no sub-bosque. Além disso, as variações no regime luminoso durante o crescimento normalmente levam a diferenças nas taxas de fotossíntese (A), em razão das diferenças na velocidade máxima de carboxilação da Rubisco (V_{c-max}) e na taxa máxima de regeneração da ribulose bisfosfato; RuBP (J_{max}), dependente do transporte de elétrons, bem como das diferenças nas taxas de difusão de CO_2 para os cloroplastos (Björkman 1981). Segundo Farquhar *et al.* (1980), o valor de A representa o valor mínimo de dois fatores limitantes: a atividade da Rubisco (A_c) e a taxa de regeneração da RuBP (A_j). Isto é, $A = \min \{A_c, A_j\} - R_d$, em que R_d indica a taxa de respiração da folha na presença de luz.

A resposta da fotossíntese à irradiância é comumente descrita por uma equação exponencial de Von Bertalanffy que inclui os parâmetros f_i (Φ) e R_d em que Φ é o rendimento quântico aparente e R_d é a respiração da folha na ausência de luz (Horton e Neufeld 1998). Em condições naturais, a taxa de fotossíntese é geralmente limitada pela luz, por isso Φ e R_d são parâmetros importantes. Dessa forma, modificações nos níveis de luminosidade à qual uma espécie está adaptada podem condicionar diferentes respostas fisiológicas em suas características bioquímicas e morfológicas (Oguchi *et al.* 2005).

Apesar de existir até o presente momento alguns estudos que documentam as características fotossintéticas de árvores do dossel na fase juvenil em florestas tropicais (por exemplo, Poorter e Oberbauer 1993; Marengo e Vieira 2005; Magalhães 2010), ainda precisam ser elucidados como os parâmetros fotossintéticos (por exemplo, V_{c-max} e J_{max}) respondem as variações diurnas no sub-bosque da floresta. Entender como V_{c-max} e J_{max} variam entre as espécies ou são afetadas por condições ambientais durante o crescimento é importante, porque tais variáveis são utilizadas para parametrizar modelos que prognosticam a capacidade de fixação de carbono das florestas (Sellers *et al.* 1997).

Com isso, partimos das seguintes hipóteses: 1^a) existe efeito do horário do dia em V_{c-max} e J_{max} nas espécies estudadas, 2^a) a luminosidade e temperatura afetam os parâmetros fotossintéticos das plantas em seu ambiente natural. Assim, os objetivos deste estudo foram determinar como parâmetros fotossintéticos (V_{c-max} e J_{max}) respondem a luminosidade, temperatura e as variações diurnas no ambiente físico. Determinaram-se também, as relações entre as características foliares (espessura e AFE), luminosidade e capacidade fotossintética (A_{pot}).

MATERIAL E MÉTODOS

Local do estudo e material vegetal

O estudo foi conduzido na Estação Experimental da Floresta Tropical (Reserva ZF2), do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA). O local apresenta uma densa floresta tropical nativa de terra firme, localizado a 60 km ao norte de Manaus (02 ° 36 '21 "S, 60 ° 08' 11" W). O tipo de solo predominante da região é classificado como latossolos, com baixa fertilidade e alta acidez (pH de 4,2 a 4,5). A região apresenta características de clima equatorial úmido, com temperatura média anual de 27 °C, precipitação anual de 2240 mm e umidade relativa do ar de 78% (Dias 2009). No estudo utilizaram-se cinco espécies nativas da Amazônia Central, *Amphirrhox surinamensis* Eichl. (Violaceae), *Duguetia flagellaris* Huber (Annonaceae), *Fusaea longifolia* (Aubl) Safford (Annonaceae), *Guarea carinata* Ducke (Meliaceae), *Myrcia subsericeae* A. Gray (Myrtaceae) com quatro repetições cada, consistindo cada planta uma repetição, totalizando 20 plantas de 1 a 3 m de altura. Foram selecionadas espécies com maior número de indivíduos por hectare e com importância ecológica e econômica.

Parâmetros das trocas gasosas

As trocas gasosas foram medidas com um analisador de gás infravermelho (Li-6400, Li-Cor, NE, EUA) em quatro plantas de cada espécie, e duas a três folhas por planta. Os dados foram coletados em condições ambientais de temperatura (27 ± 2 °C) e umidade relativa ($70 \pm 3\%$). Curvas de resposta à luz (curvas A/RFA) foram geradas em $[\text{CO}_2]$ de $380 \mu\text{mol mol}^{-1}$. Considerando que a resposta da fotossíntese para a concentração de CO_2 (curvas A/C_i) foi determinada a uma intensidade de luz de $1000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, como descrito anteriormente (Azevedo e Marengo 2012). O Φ e R_d foram determinados utilizando o método de Kok (Villar *et al.* 1994), Φ foi obtido em baixa luminosidade, assim como a inclinação da

linha de regressão A/RFA . R_d foi a intercepção desta linha com o eixo Y (por exemplo, $RFA=0$). Calculou-se a velocidade máxima de carboxilação da Rubisco (V_{c-max}) e a taxa máxima de transporte de elétrons (J_{max}) usando as equações de Farquhar (Farquhar *et al.* 1980).

$$A_c = [V_{c-max} (C_i - \Gamma^*)] / [C_i + K_c(1 + O/K_o)]$$

$$A_j = [J_{max} (C_i - \Gamma^*)] / [4C_i + 8\Gamma^*]$$

Onde: A_c e A_j são as taxas fotossintéticas líquidas limitada pela atividade da Rubisco e taxa de transporte de elétrons (A_j), respectivamente. Γ^* representa o ponto de compensação de CO_2 , na ausência da respiração e na presença de luz; C_i é a concentração de CO_2 nos espaços intercelulares, O representa a concentração de oxigênio nos espaços intercelulares; K_c e K_o representam a constante de Michaelis-Mentem da Rubisco para carboxilação e oxigenação, respectivamente. V_{c-max} e J_{max} são frequentemente relatadas a 25 °C, por isso os dados foram normalizados para esta temperatura, tal como descrito por Medlyn *et al.* (1999). Neste estudo, as taxas fotossintéticas foram determinados em luz saturante ($1000 \mu mol m^{-2} s^{-1}$) e concentração de CO_2 de 380 (A_{max}) e 2000 $\mu mol mol^{-1}$ (A_{pot}). Para avaliar o efeito do horário do dia em V_{c-max} e J_{max} , os dados referentes às curvas A/C_i e A/RFA foram coletados nos horários entre 08:00 e 16:00 h, em dias selecionados ao acaso no período de setembro a dezembro de 2010.

Características foliares

Ao final do estudo dos parâmetros fotossintéticos foram determinados a área foliar específica (AFE, razão entre a área e massa foliar), a espessura da folha (E_{foliar}) e os teores relativos e absolutos de clorofila. A área da folha foi mensurada com um medidor de área foliar (Li-3000A, Li-cor, EUA). A espessura da folha foi medida com um paquímetro digital (precisão de 10 μm) na porção mediana da folha evitando-se nervuras proeminentes. Os teores relativos e absolutos de clorofila foram determinados em folhas maduras, totalmente

expandidas e com bom aspecto fitossanitário. Os valores SPAD (teor relativo de clorofila) foram medidos utilizando-se um clorofilômetro (SPAD-502, Minolta, Japão) em 10 pontos (para se obter uma média), em cada lado da nervura central da folha, na face adaxial. Os teores absolutos de clorofila foram determinados conforme o método de Arnon (Arnon, 1949). Os dados foram coletados no mês de dezembro de 2010 sendo utilizadas folhas semelhantes às usadas para coleta de dados de trocas gasosas para determinar a AFE, E_{foliar} e os teores relativos e absolutos de clorofila.

Ambiente físico

Os dados de precipitação foram coletados utilizando um pluviômetro convencional, instalado numa torre de observação a 40 m de altura, localizado próximo à área de estudo. Também, foram coletados dados de irradiância, umidade do ar e temperatura do sub-bosque utilizando sensores específicos (Li-191 SA, Li-Cor, EUA; Humitter 50Y, Vaisala, Oyj, Finlândia) conectados a um datalogger (Li-1400, Li-Cor, NE, EUA) e programado para registrar os dados em intervalos de 15 minutos (RFA) e 30 minutos (umidade e temperatura).

Análises estatísticas

Todos os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) para avaliar as diferenças entre espécies nas variáveis estudadas e o efeito do horário do dia nos parâmetros da fotossíntese ($V_{c\text{-max}}$ e J_{max}). Análises de regressão foram realizadas para determinar o efeito da luminosidade e temperatura nas variáveis dos parâmetros fotossintéticos e características foliares. Teste de Tukey foi utilizado para a separação das médias. O programa estatístico SAEG 9.0 (UFV) foi utilizado para as análises estatísticas.

RESULTADOS

Ambiente físico

A precipitação média dos meses de estudo (setembro a dezembro) foi de 318 mm. Durante o estudo a temperatura do sub-bosque oscilou entre 23 °C à noite e 27 °C ao meio dia. Durante a maior parte do dia a média da umidade relativa do ar foi superior a 80 %, oscilando a irradiância média em torno de $10 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, com variações entre um ponto e outro da floresta e com picos acima de $30 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (Figura 1) devido à ocorrência de feixes de luz solar direta (sunflecks). Já a irradiância acumulada variou de 0,35 para $0,9 \text{ mol m}^{-2} \text{ dia}^{-1}$.

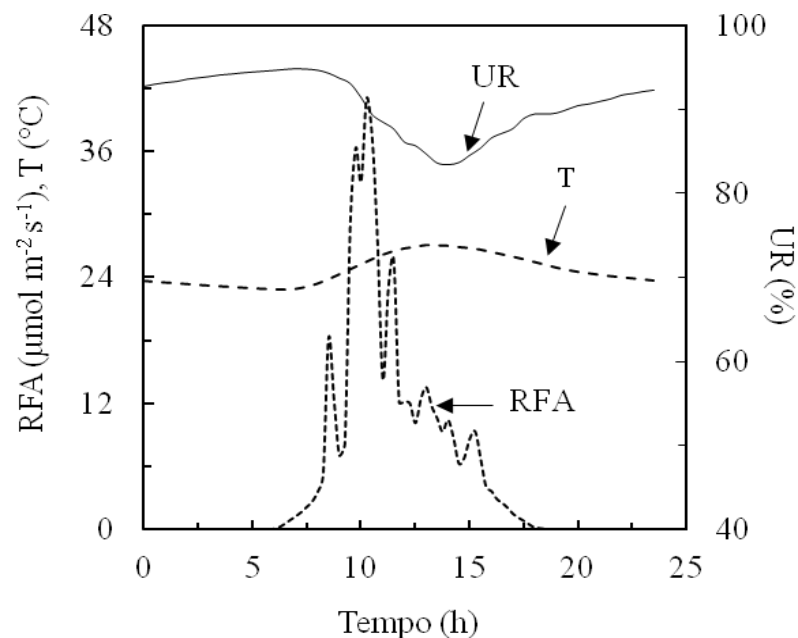


Figura 1. Radiação fotossinteticamente ativa (RFA, linha pontilhada), temperatura do ar (T, linha tracejada) e umidade relativa do ar (UR, linha contínua) no sub-bosque em função do horário do dia mensurados durante as coletas dos dados. Dados coletados nos meses de setembro a dezembro de 2010.

Parâmetros da fotossíntese

Houve diferença significativa ($P < 0,05$) entre espécies em A_{max} , A_{pot} , g_{s} , Φ , I_{c} , R_{d} e J_{max} ; exceto $V_{\text{c-max}}$ não variou entre espécies (Tabela 1 e 2). Em média, na maioria das espécies A_{pot} foi quase o dobro ($8,13 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) dos valores observados para A_{max} (Tabela 1 e 2).

Tabela 1. Fotossíntese máxima (A_{\max}), condutância estomática em $[\text{CO}_2]$ ambiente ($g_{s[380]}$), rendimento quântico aparente (Φ), irradiância de compensação (I_c) e respiração foliar (R_d) em cinco espécies florestais da Amazônia Central. Dados coletados nos meses de setembro a dezembro de 2010. Cada valor corresponde à média de quatro plantas por espécie.

Variáveis	A_{\max}	($g_{s[380]}$)	Φ ($\mu\text{mol}(\text{CO}_2)$	I_c	R_d
Espécies	($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	($\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	μmol^{-1} (fótons))	($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)
<i>A. surinamensis</i>	3,5 b	0,12 a	0,038 ab	7,9 ab	0,29 ab
<i>D. flagellaris</i>	3,7 b	0,07 b	0,044 ab	8,3 a	0,32 a
<i>F. longifolia</i>	4,6 a	0,06 b	0,028 b	8,6 a	0,23 abc
<i>G. carinata</i>	5,1 a	0,11 a	0,040 ab	4,2 bc	0,16 bc
<i>M. subsericeae</i>	4,8 a	0,11 a	0,053 a	2,7 c	0,10 c
Média	4,4	0,94	0,041	6,4	0,22
CV (%)	32,3	30,3	43,1	51,7	40,7

Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas nas colunas e minúsculas nas linhas não diferem entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

Tabela 2. Capacidade fotossintética (A_{pot}), condutância estomática (g_s) em $[CO_2]$ saturante ($g_{s[2000]}$), velocidade máxima de carboxilação da Rubisco (V_{c-max} à 25°C), taxa máxima de transporte de elétrons (J_{max} à 25°C) em cinco espécies florestais da Amazônia Central. Dados coletados nos meses de setembro a dezembro de 2010. Cada valor corresponde à média de quatro plantas por espécie.

Variáveis	A_{pot}	$g_{s[2000]}$	V_{c-max}	J_{max}
Espécies	($\mu mol m^{-2} s^{-1}$)	($mol m^{-2} s^{-1}$)	($\mu mol m^{-2} s^{-1}$)	($\mu mol m^{-2} s^{-1}$)
<i>A. surinamensis</i>	9,2 a	0,12 a	17,7 a	39,9 a
<i>D. flagellaris</i>	8,9 a	0,06 b	18,7 a	38,4 a
<i>F. longifolia</i>	8,1 a	0,07 b	17,6 a	35,4 ab
<i>G. carinata</i>	6,6 b	0,09 ab	14,5 a	25,0 b
<i>M. subsericeae</i>	8,7 a	0,09 ab	19,4 a	39,0 a
Média	8,13	0,09	17,5	35,5
CV (%)	26,9	38,85	28,96	28,57

Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas nas colunas e minúsculas nas linhas não diferem entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

Neste estudo observou-se relação significativa entre A_{max} e g_s ($P < 0,05$, Figura 2A), bem como A_{pot} , V_{c-max} e g_s (Figura 2B e C). Por outro lado, a relação entre J_{max} e g_s não foi significativa ($P > 0,05$; Figura 2D).

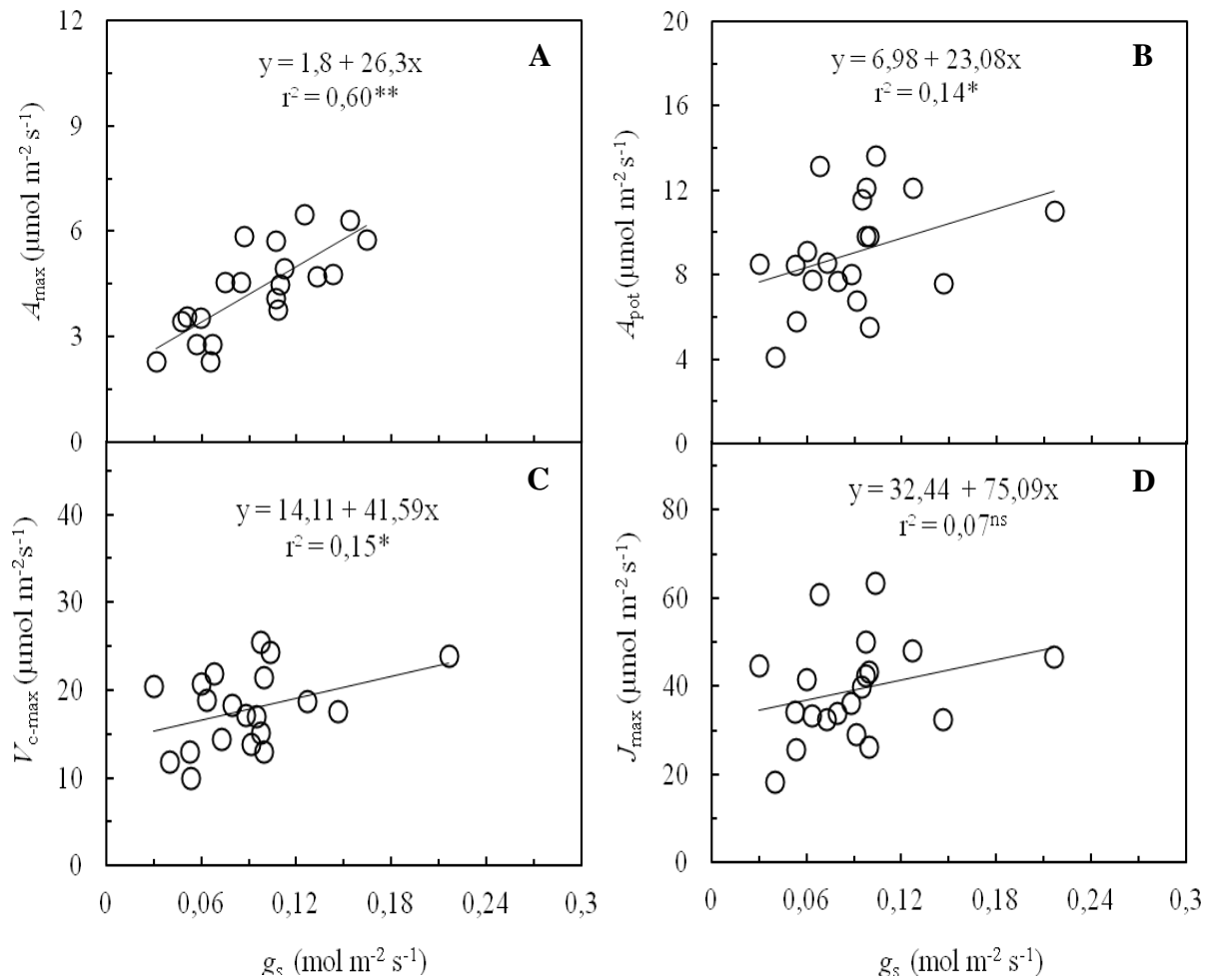


Figura 2. Relação entre a condutância estomática (g_s) e a fotossíntese saturada por luz (A_{\max} , **A**), capacidade fotossintética (A_{pot} , **B**), velocidade máxima de carboxilação da Rubisco ($V_{c-\max}$, **C**) e a taxa máxima de transporte de elétrons (J_{\max} , **D**) em cinco espécies florestais da Amazônia. Medições efetuadas em concentração de CO_2 380 (A_{\max}) e 2000 (A_{pot}), temperatura foliar de 27 ± 2 °C e luminosidade de $1000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Dados coletados nos meses de setembro a dezembro de 2010. Cada símbolo representa uma folha por planta. Valores de J_{\max} e $V_{c-\max}$ calculados a 25 °C. *: significativo a 5% de probabilidade. **: significativo a 1% de probabilidade, ns: não significativo.

Os valores de $V_{c-\max}$ e J_{\max} correlacionaram significativamente ($P < 0,01$) com as taxas de fotossíntese (A_{\max} e A_{pot} ; Figura 3). O maior coeficiente de determinação foi observado para $A_{\text{pot}}-J_{\max}$ (Figura 3D), indicando que em altas concentrações de CO_2 o transporte de elétrons é mais limitante que $V_{c-\max}$.

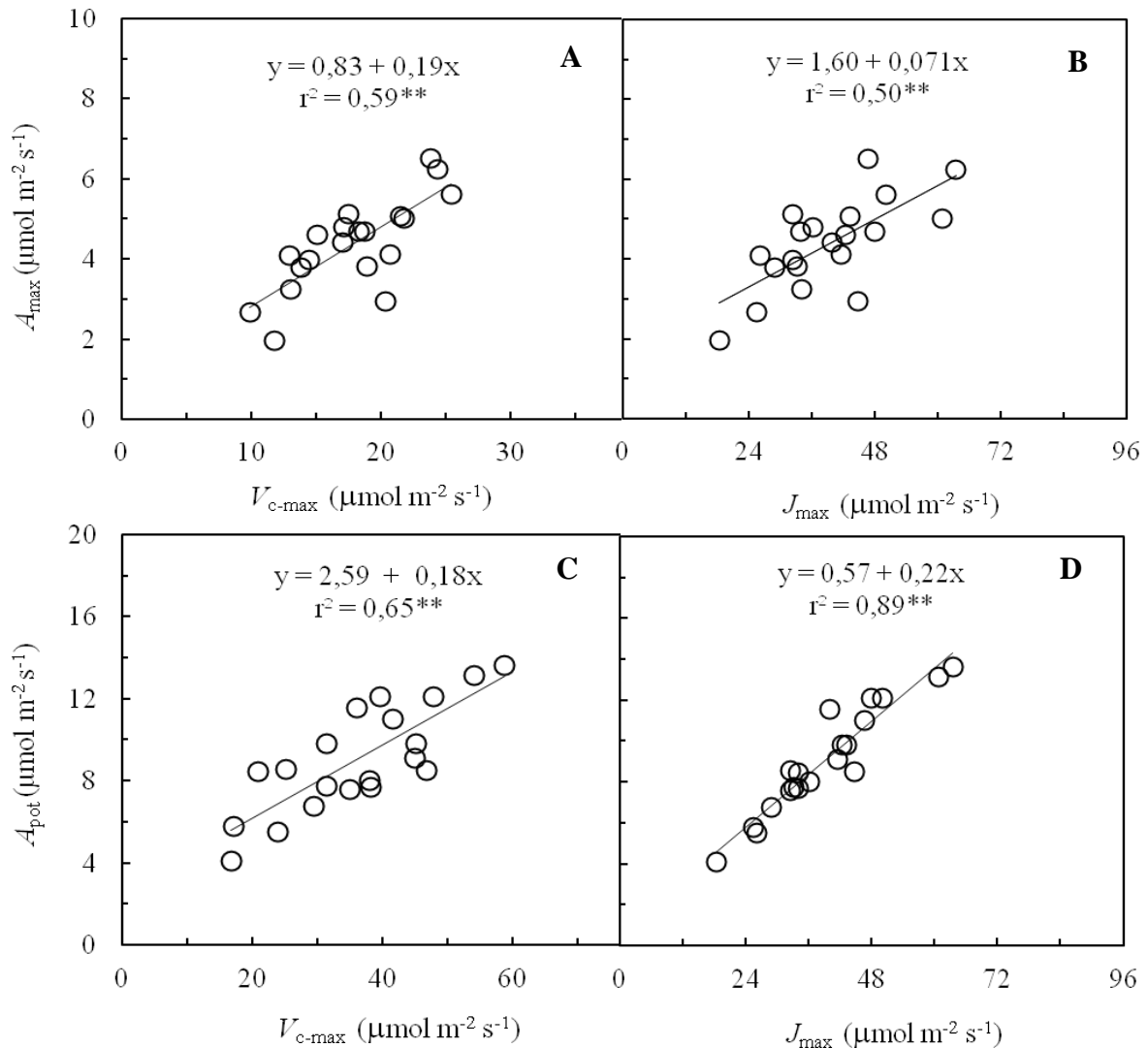


Figura 3. Taxas de fotossíntese (A_{\max} e A_{pot}) em função da velocidade máxima de carboxilação da Rubisco ($V_{c-\max}$) e taxa máxima de transporte de elétrons (J_{\max}) em cinco espécies florestais da Amazônia. Cada ponto representa uma planta por espécie. **: significativo a 1% de probabilidade. Dados coletados nos meses de setembro a dezembro de 2010. Valores de J_{\max} e $V_{c-\max}$ calculados a 25 °C. Condições do experimento conforme descrito na Figura 2.

Os maiores valores de $V_{c-\max}$ e J_{\max} ocorreram ao meio dia, entretanto não houve efeito do horário do dia nesses parâmetros (Figura 4) nem efeito significativo na interação entre espécie e horário do dia ($P > 0,05$).

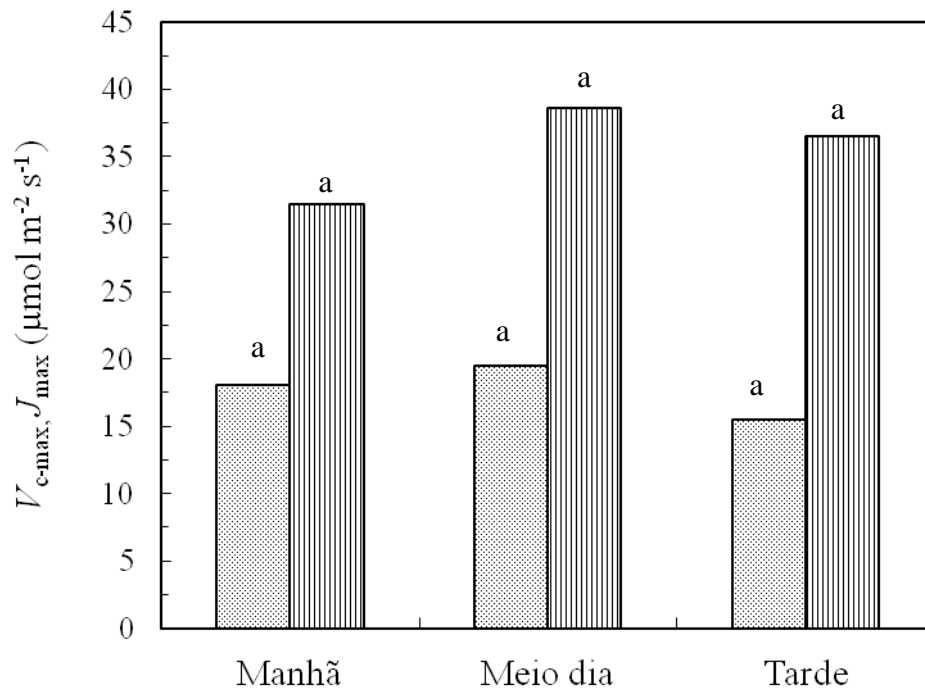


Figura 4. Velocidade máxima de carboxilação da Rubisco (V_{c-max} ; barra pontilhada) e taxa máxima de transporte de elétrons (J_{max} ; barra listrada) em função do horário do dia em cinco espécies florestais da Amazônia. Cada barra representa a média de quatro plantas por espécie. Valores de V_{c-max} e J_{max} calculados a 25 °C. Condições do experimento conforme descrito na Figura 2. Dados coletados nos meses de setembro a dezembro de 2010. Barras seguidas pelas mesmas letras (parte superior) não diferem de acordo com o teste de Tukey a 5% de probabilidade.

As taxas fotossintéticas medidas em condições ambientes [CO_2] foram mais limitadas por V_{c-max} , do que por J_{max} (Figura 5).

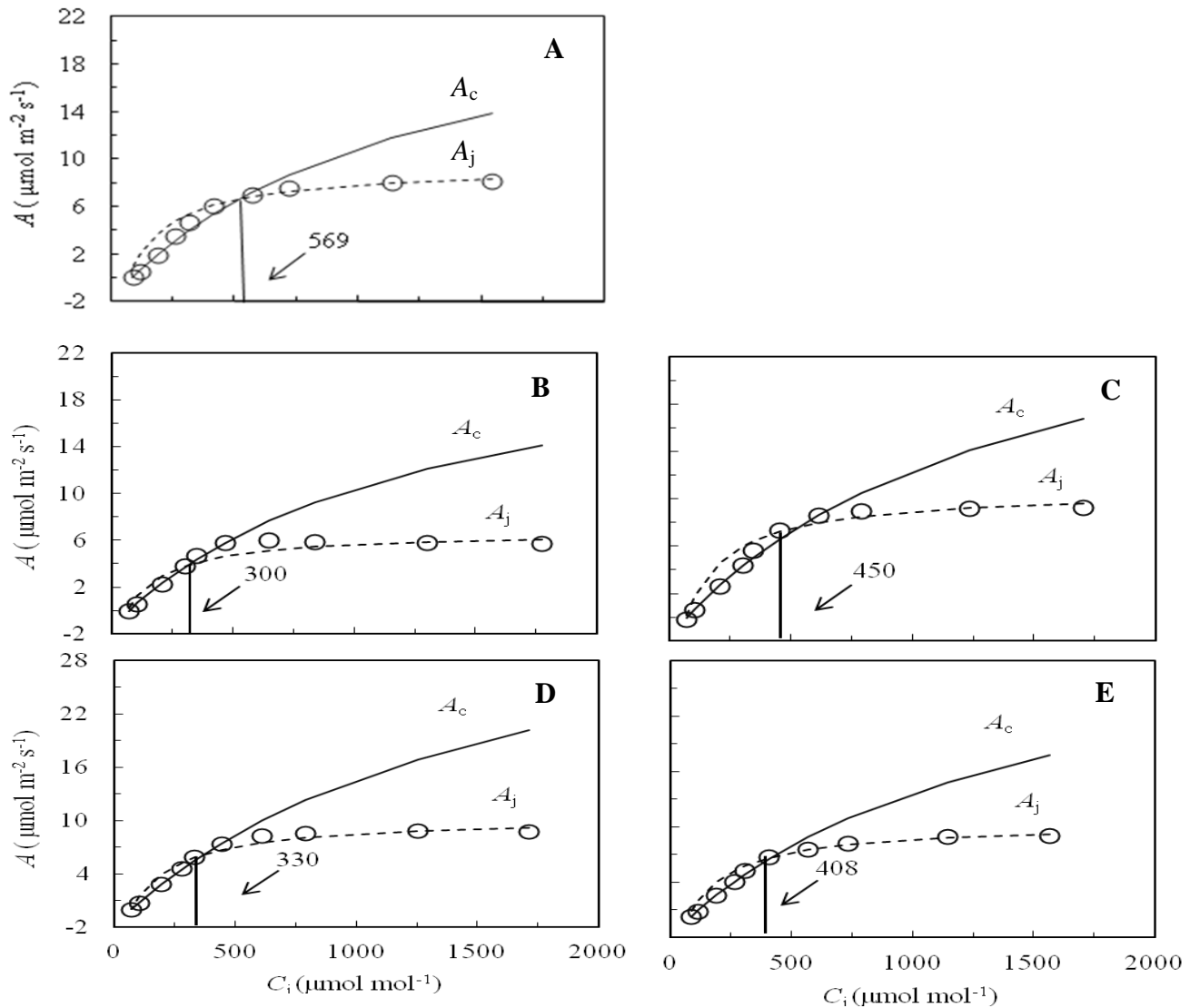


Figura 5. Taxa de fotossíntese em função da $[\text{CO}_2]$ intercelular (C_i) para *A. surinamensis* (A), *D. flagellaris* (B), *F. longifolia* (C), *G. carinata* (D) e *M. subsericeae* (E). A linha contínua mostra a limitação da fotossíntese imposta pela taxa de carboxilação da Rubisco (A_c). A linha tracejada indica a limitação da fotossíntese imposta pelo transporte de elétrons (A_j). A linha contínua vertical mostra o valor de C_i em que ocorre a transição da fotossíntese limitada por A_c para limitada por A_j . Os números (dentro dos gráficos) mostram os valores de C_i em $\mu\text{mol mol}^{-1}$. Cada ponto corresponde à média de cinco plantas por espécie. Dados coletados nos meses de setembro a dezembro de 2010.

Vale a pena notar que, o aumento da irradiância no sub-bosque ($RFA_{\text{sub-bosque}}$) e da temperatura foliar levou a um aumento em A_{max} , A_{pot} , $V_{\text{c-max}}$ e J_{max} (Figura 6 e 7), sugerindo que a intensidade da luz no sub-bosque e variações na temperatura foliar durante as medições das trocas gasosas de alguma forma afetam os parâmetros fotossintéticos.

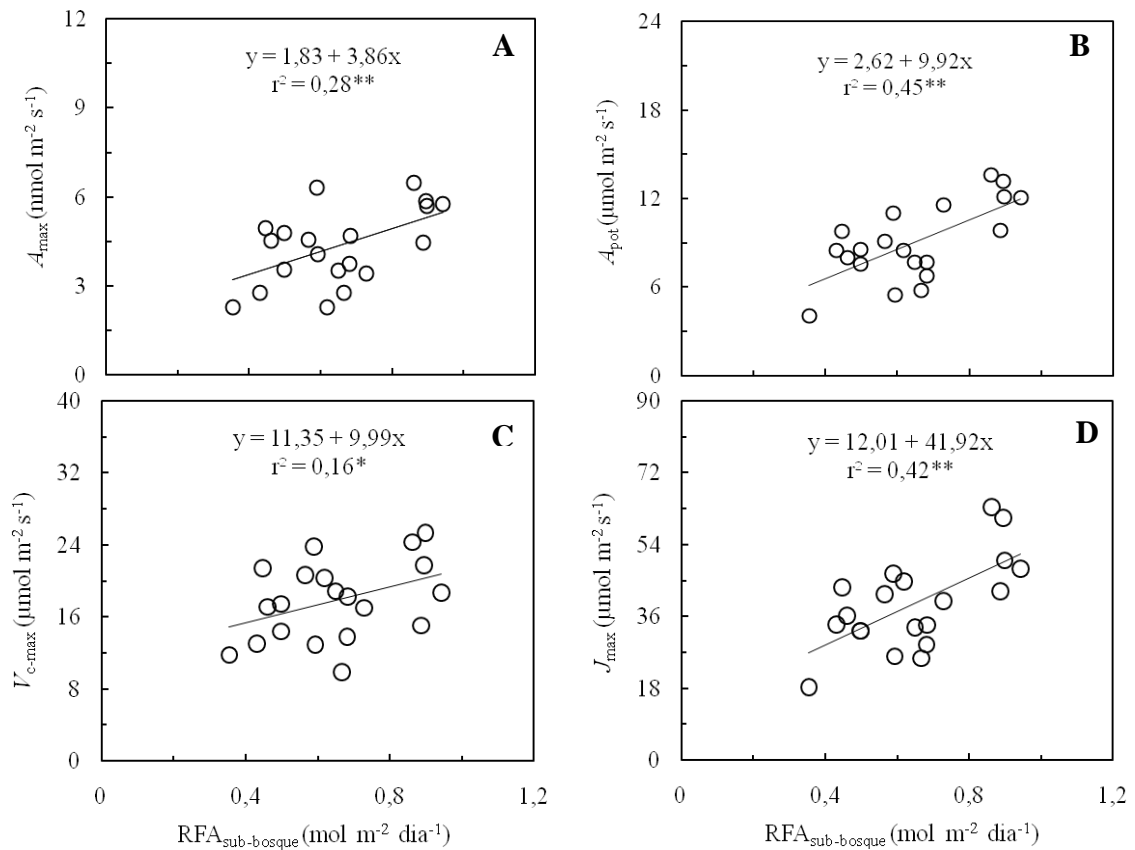


Figura 6. Fotossíntese saturada por luz (A_{max} , **A**), capacidade fotossintética (A_{pot} , **B**), velocidade máxima de carboxilação da Rubisco ($V_{\text{c-max}}$, **C**) e taxa máxima de transporte de elétrons (J_{max} , **D**) em função da radiação fotossinteticamente ativa no sub-bosque ($RFA_{\text{sub-bosque}}$) medidas durante as coletas de trocas gasosas. *: significativo a 5% de probabilidade. **: significativo a 1% de probabilidade. Cada símbolo representa a média de quatro plantas por espécie. Valores de $V_{\text{c-max}}$ e J_{max} calculados a 25 °C. Dados coletados nos meses de setembro a dezembro de 2010. Condições do experimento conforme descrito na Figura 2.

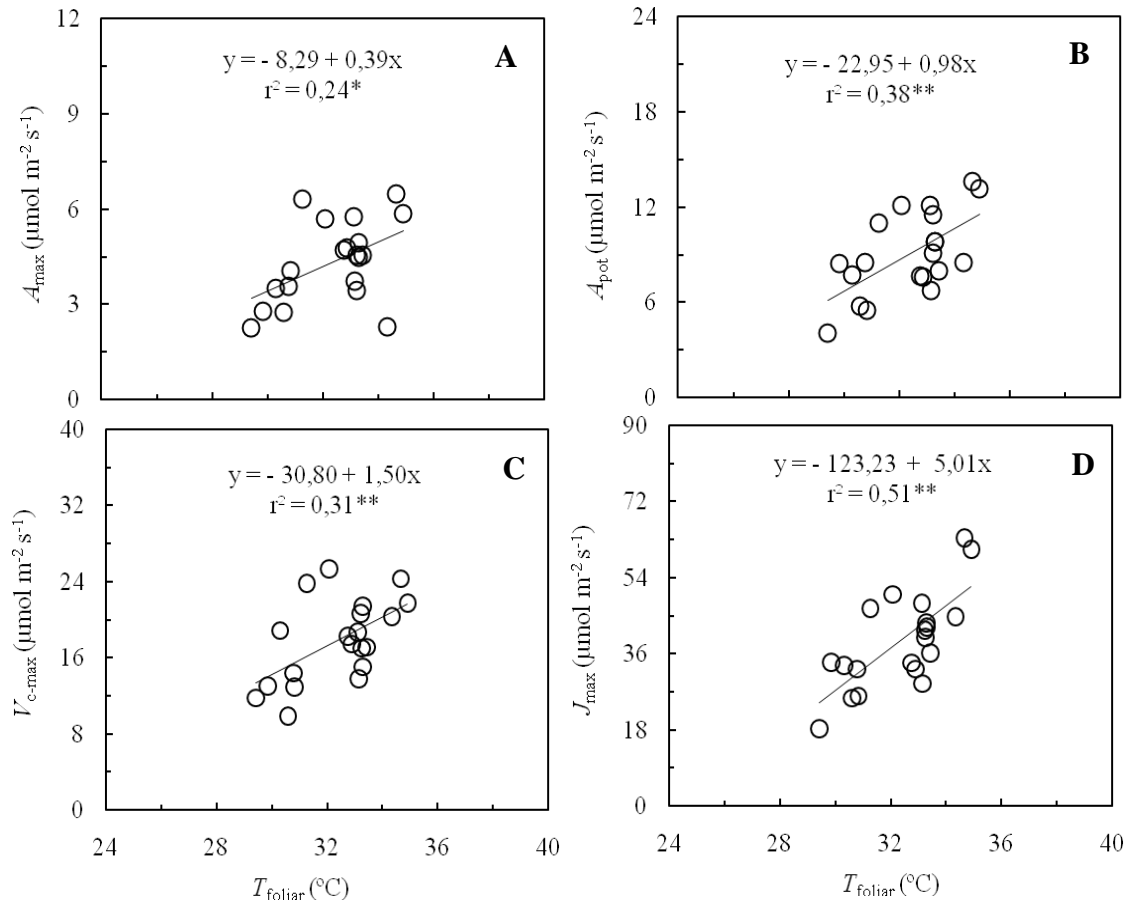


Figura 7. Fotossíntese saturada por luz (A_{\max} , **A**), capacidade fotossintética (A_{pot} , **B**), velocidade máxima de carboxilação da Rubisco ($V_{\text{c-max}}$, **C**) e taxa máxima de transporte de elétrons (J_{\max} , **D**) em função da temperatura foliar medidas durante as coletas de trocas gasosas. *: significativo a 5% de probabilidade. **: significativo a 1% de probabilidade. Cada símbolo representa a média de quatro plantas por espécie. Valores de J_{\max} e $V_{\text{c-max}}$ calculados a 25 °C. Dados coletados nos meses de setembro a dezembro de 2010. Condições do experimento conforme descrito na Figura 2.

Características foliares

A AFE variou de 12,7 m² kg⁻¹ em *M. subsericeae* para 19,5 m² kg⁻¹ em *G. carinata* (Tabela 3). A espessura da folha (E_{foliar}) não apresentou diferença significativa entre espécies

($P > 0,05$). Já o conteúdo de clorofila total e valores SPAD oscilaram de 353 e 43 (*F. longifolia*) para 607 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ e 58 (*A. surinamensis*), respectivamente (Tabela 3).

Tabela 3. Área foliar específica (AFE) espessura da folha (E_{foliar}), clorofila ($a+b$) e valores SPAD em cinco espécies florestais da Amazônia Central. Cada valor corresponde à média de quatro plantas por espécie.

Variáveis	AFE	E_{foliar}	Clorofila ($a+b$)	Valores SPAD
Espécies	($\text{m}^2 \text{kg}^{-1}$)	(mm)	($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	
<i>A. surinamensis</i>	15,4 ab	0,23 a	607 a	58 a
<i>D. flagellaris</i>	14,9 ab	0,19 a	436 a	49 ab
<i>F. longifolia</i>	14,9 ab	0,21 a	353 b	43 b
<i>G. carinata</i>	19,5 a	0,19 a	395 b	47 ab
<i>M. subsericeae</i>	12,7 b	0,20 a	455 ab	49 ab
Média	15,5	0,21	449	49
CV (%)	13,6	17,36	16,8	11,3

Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas nas colunas e minúsculas nas linhas não diferem entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

A luminosidade no sub-bosque ($\text{RFA}_{\text{sub-bosque}}$) teve efeito positivo na espessura da folha (Figura 8A), entretanto à relação entre AFE e $\text{RFA}_{\text{sub-bosque}}$ não foi significativa ($P > 0,05$; Figura 8B), apesar de que houve tendência de decréscimo de AFE em resposta a $\text{RFA}_{\text{sub-bosque}}$. Observou-se também, uma relação altamente significativa ($P < 0,01$) entre a espessura, AFE e A_{pot} (Figura 8C e D), bem como o conteúdo de clorofila total, espessura foliar e valores SPAD (Figura 9).

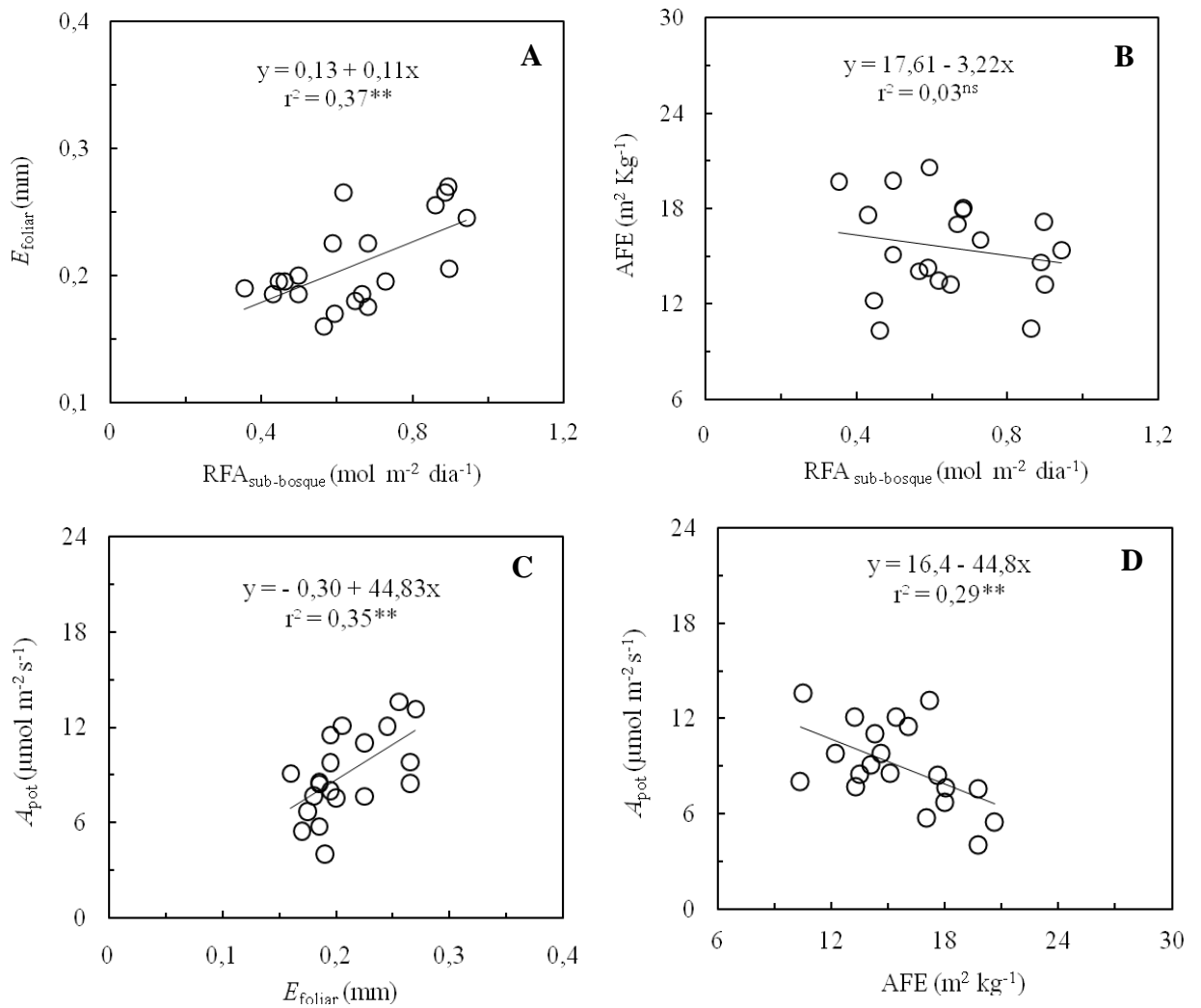


Figura 8. Espessura da folha (E_{foliar} , **A**) e área foliar específica (AFE, **B**) em função da radiação fotossinteticamente ativa (RFA) mensurada no sub-bosque durante as medições de trocas gasosas. Relação entre a capacidade fotossintética (A_{pot}), espessura da folha (E_{foliar} , **C**) e área foliar específica (AFE, **D**). Cada símbolo representa a média de quatro plantas por espécie. Dados coletados nos meses de setembro a dezembro de 2010. **: significativo a 1% de probabilidade, ns: não significativo. Condições do experimento conforme descrito na Figura 2.

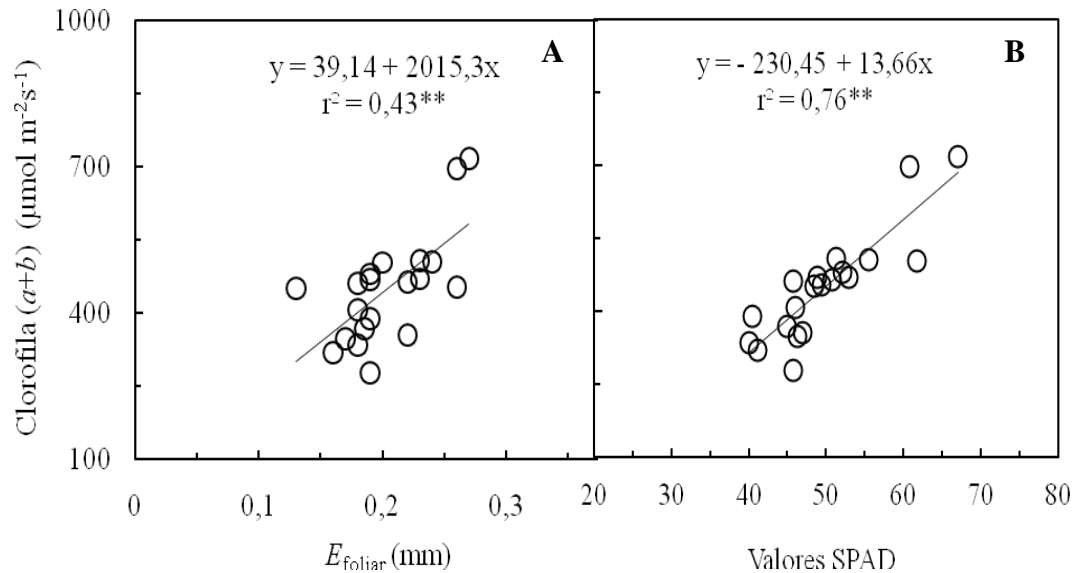


Figura 9. Relação entre o conteúdo de clorofila ($a+b$) e espessura da folha (E_{foliar} , **A**) e valores SPAD (**B**). Dados coletados nos meses de setembro a dezembro de 2010. Cada símbolo representa a média de quatro plantas por espécie. **: significativo a 1% de probabilidade.

DISCUSSÃO

Ambiente físico

A precipitação observada nos meses de estudo está dentro da média relatada para a Amazônia Central (Dias 2009). A irradiância média no sub-bosque da floresta foi semelhante à relatada por outros autores (Kursar e Coley 1999; Marengo e Vieira 2005). Com relação à irradiância, deve-se salientar que a luminosidade no sub-bosque da floresta varia muito de um ponto a outro, em função da abertura e mini-aberturas do dossel no microsítio da medição; porém, há pouca variação entre microsítios no que se refere à umidade e temperatura do ar.

Parâmetros da fotossíntese

Os valores das taxas fotossintéticas (A_{max} e A_{pot}) e g_s nas espécies estudadas são semelhantes aos encontrados por Mendes e Marengo (2010) que relatam valores de A_{max} entre

2 e $5 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ e A_{pot} entre 7 e $9 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ para espécies em condições naturais. Todavia, quando comparados aos encontrados por outros (Magalhães *et al.* 2009; Azevedo e Marengo 2012) para mudas nativas da Amazônia aclimatadas a baixa luminosidade nossos valores de A_{max} e A_{pot} são maiores. Os valores de $V_{\text{c-max}}$ e J_{max} obtidos neste estudo estão dentro da faixa de valores registrados para outras espécies da floresta tropical (Wullschleger 1993). No entanto, os nossos valores de $V_{\text{c-max}}$ são baixos quando comparados com aqueles obtidos por Manter e Kerrigan (2004), que observaram valores entre 20 e $75 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ em espécies de folhas largas. Isto indica que folhas de plantas de sub-bosque adaptadas à baixa luminosidade alocam pequena quantidade de assimilados e nitrogênio para síntese da proteína Rubisco.

Os valores de Φ e R_d relatados nesse estudo estão na faixa de valores encontrados por Marengo e Vieira (2005) em árvores de dossel na fase juvenil. Entretanto, nossos valores de R_d e I_c são menores que os observados por Magalhães *et al.* (2009) em plantas aclimatadas à luz solar plena. As baixas taxas de R_d ($0,22 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) mostradas neste estudo resultam num menor I_c ($6,4 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), o que é esperado para plantas desenvolvidas a sombra que apresentam um menor investimento em proteínas envolvidas no ciclo de Calvin (Björkman 1981).

Diversos estudos têm mostrado que há uma estreita relação entre as taxas fotossintéticas e g_s (Kumar *et al.* 1999; Marengo *et al.* 2006, Mendes e Marengo 2010), bem como entre A_{pot} , $V_{\text{c-max}}$ e g_s (Magalhães 2010). Entretanto os valores baixos de g_s ($< 0,04 \text{ mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) limitam a capacidade fotossintética das folhas mesmo em altas concentrações de CO_2 na câmara foliar. Isto pode ser atribuído ao fato da entrada de CO_2 na cavidade subestomática ocorrer quase que exclusivamente através dos estômatos (Boyer *et al.* 1977).

É bem conhecida a relação entre fotossíntese saturada por luz (A_{max}) e por CO_2 (A_{pot}) e $V_{\text{c-max}}$ e J_{max} , (Evans 1983; Evans e Terashima 1988; Magalhães 2010). Nesse estudo observou-se relação linear altamente significativa ($P < 0,05$) entre esses parâmetros indicando

que quanto mais elevada à fixação de CO₂ maiores são o V_{c-max} e J_{max} . Isto pode ser atribuído à variação no estado de ativação da Rubisco e/ou a resistência na transferência de CO₂ dos espaços intercelulares para os sítios de carboxilação (Evans e Terashima 1988; Warren e Adams 2001). O maior coeficiente de determinação para a relação A_{max} - V_{c-max} ($r^2 = 0,59^*$; Figura 3A) do que para a proporção de A_{max} - J_{max} ($r^2 = 50^{**}$, Figura 3B), sugere que em plantas de sub-bosque V_{c-max} é mais limitante que J_{max} , o que está de acordo com Sage e Kubien (2007). O contrário ocorre em alta concentração de CO₂ quando J_{max} é o fator mais limitante evidenciando uma intrínseca relação entre A_{pot} e J_{max} (Figura 3D).

Neste estudo a falta de efeito do horário do dia em V_{c-max} e J_{max} contradiz nossa primeira hipótese, o que nos levou a concluir que além dos fatores ambientais, tais como luz e temperatura (Warren 2008), os parâmetros fotossintéticos podem estar relacionados tanto a fatores difusivos, como na queda da taxa máxima de regeneração da ribulose bisfosfato (RuBP). Alguns estudos têm mostrado que a atividade da Rubisco oscila durante o dia apresentando baixa atividade nos horários próximos ao meio dia (Hrstka *et al.* 2007, Parry *et al.* 1993) o que parece não ter ocorrido neste estudo. Assim, a ausência de efeito do horário do dia em V_{c-max} sugere que fatores que influenciam a Rubisco, tais como a ativação da enzima, não tiveram variação nos diferentes horários do dia, o que resultou em V_{c-max} estável.

As taxas fotossintéticas medidas em condições ambientes [CO₂] foram limitadas por V_{c-max} indicando menor investimento em proteínas associadas à Rubisco (Valladares *et al.* 2002; Ellsworth *et al.* 2004; Onoda *et al.* 2005). Conquanto, em alta [CO₂] a assimilação de carbono foi limitada por J_{max} o que é consistente com os resultados relatados por Sage e Kubien (2007) que mostram que, exceto em temperaturas muito altas, a fotossíntese é mais frequentemente limitada pela atividade da Rubisco.

A maioria dos valores de RFA no sub-bosque durante as medições fotossintéticas ficaram abaixo de 1 mol m⁻² dia⁻¹ (Figura 6). É interessante notar que, com o aumento da

luminosidade V_{c-max} e J_{max} também aumentaram indicando maior investimento no aparato proteico na cadeia transportadora de elétrons. Isto sugere que a intensidade da luz no sub-bosque de alguma forma afeta a atividade da Rubisco. O aumento da temperatura dentro de uma faixa moderada (28-36 °C) pode aumentar V_{c-max} e J_{max} (Salvucci e Crafts-Brandner 2004; Warren 2008), o que reflete nas taxas de fotossíntese (A_{pot} e A_{max}). Estes resultados concordam com Portis (1992) que relata que a atividade da Rubisco responde a vários fatores ambientais, tais como luminosidade e a temperatura.

Características foliares

Nossos valores de AFE e E_{foliar} estão na faixa de valores observados por outros (Marengo e Vieira, 2005; Mendes e Marengo 2010) para espécies do dossel na fase juvenil. Alguns estudos mostram que a variação da área foliar específica pode ser causada pela diferença na intensidade de luz no ambiente de crescimento da planta (Boardmann 1977). Embora a RFA tenha efeito significativo na espessura da folha a relação entre AFE e RFA não foi significativa, apesar de que houve tendência de decréscimo de AFE em resposta ao RFA. Isto pode ser atribuído ao fato de AFE ser uma variável que depende não apenas da espessura, mas também da densidade da folha (Niinemets 1999) o que sugere que RFA pode ter algum efeito neste ultimo parâmetro da anatomia foliar. Estes resultados concordam com os observados por outros autores (Niinemets 1999; Oguchi *et al.* 2005) que mostram que a espessura da folha pode aumentar em função da irradiância. Contudo, não é possível explicar as amplas variações encontradas na AFE entre espécies apenas pelas variações na luminosidade do sub-bosque. Isto sugere que fatores genéticos e de adaptação ao ambiente físico e ecológico (solos de baixo teor de nutrientes, herbivoria, etc) também são determinantes para explicar as variações na espessura da folha. O aumento na espessura da folha (baixos valores de AFE) está relacionado às maiores taxas de fotossíntese, pelo maior acúmulo de proteínas fotossintéticas, mas por outro lado também envolve maior teor de

compostos não fotossintéticos que podem influenciar a resposta da planta à herbivoria (Chabot e Hicks 1982). O efeito da RFA na A_{pot} e na espessura da folha mostram que pequenas alterações no ambiente luminoso do sub-bosque influenciam de forma significativa o desempenho fotossintético e a anatomia da folha, estes resultados concordam com os relatados por Oguchi *et al.* (2005) que encontraram aumento na espessura da folha após transferência da planta a um ambiente mais iluminado. O efeito positivo da E_{foliar} em A_{pot} está de acordo com McMillen e McClendon (1983) e Niinemets (1999) que relatam que a espessura da folha e a massa foliar específica (massa seca foliar por unidade de área) influenciam as taxas fotossintéticas. Além disso, maior espessura foliar está relacionada com maiores taxas de fotossíntese, provavelmente pelo aumento no acúmulo da Rubisco e aumento no conteúdo de clorofila por unidade de área e conseqüentemente maiores valores SPAD (Marenco *et al.* 2009).

CONCLUSÕES

1. Embora os parâmetros fotossintéticos tenham sido responsivos as variações na luminosidade no sub-bosque e temperatura da folha, V_{c-max} e J_{max} não foram influenciados pelo horário do dia, o que sugere que esses parâmetros fotossintéticos estejam associados a fatores difusivos, bem como a fatores que influenciam a Rubisco, tais como a ativação da enzima.
2. O ambiente luminoso do sub-bosque desempenha um papel importante na fisiologia e anatomia da folha, pois tanto as taxas fotossintéticas como a espessura da folha responderam as pequenas variações na irradiância do sub-bosque.

*Parte deste capítulo foi aceito para publicação na revista *Árvore*
(formatado no padrão *Acta Amazônica*)*

Eficiência fotossintética de uso dos nutrientes e crescimento em espécies florestais da Amazônia na fase juvenil

RESUMO

Na floresta amazônica a fotossíntese e o crescimento das árvores podem ser limitados pela disponibilidade de nutrientes. Os objetivos deste trabalho foram determinar o efeito dos conteúdos de N e P foliar e a eficiência no uso dos nutrientes (N, P, Ca, Mg e K) nos parâmetros fotossintéticos em cinco espécies florestais da Amazônia Central. Determinou-se também o efeito da luminosidade no sub-bosque no conteúdo de N e P foliar, na eficiência no uso do N e P, taxas de fotossíntese e o crescimento das árvores juvenis. Os dados de trocas gasosas e nutrientes foram coletados no período de setembro de 2010 a junho de 2011. Os dados de crescimento (altura e diâmetro) foram coletados no período de julho de 2010 a julho de 2012. Não houve relação significativa entre as taxas fotossintéticas ($A_{\text{pot-área}}$, $A_{\text{pot-mas}}$) e as concentrações de N e P por unidade de área e massa, porém A_{pot} , $V_{\text{c-max}}$ e J_{max} da folha foram responsáveis a eficiência no uso dos nutrientes (N, P, Ca, K, Mg). A eficiência no uso do N diminuiu com o aumento da razão N/P, mas não houve efeito de N/P na eficiência no uso do P. Além disso, foi observado que a eficiência no uso do N e P diminuiu rapidamente com o aumento do conteúdo de N e P. A luminosidade no sub-bosque teve efeito significativo na eficiência no uso do N, P, $A_{\text{pot-área}}$ e $A_{\text{pot-mas}}$. A média do incremento anual em diâmetro foi de

1,08 mm ano⁻¹. Foi concluído que a fotossíntese nas espécies estudadas é mais limitada pelo conteúdo de P do que pelo conteúdo de N foliar.

PALAVRAS-CHAVE: Crescimento de árvores juvenis, área foliar específica, irradiância do sub-bosque.

Photosynthetic use efficiency of nutrient and growth in saplings of Amazonian tree species

ABSTRACT - In the Amazon tree growth and photosynthesis may be limited by nutrient availability. The objectives of this work were to determine the effect of leaf N and P contents use efficiency and foliar nutrients (N, P, Ca, Mg and K) on photosynthetic parameters in five tree species in Central Amazonia. It was also determined the effect of light in understory the content of foliar N and P, the efficient use of N and P, rates of photosynthesis and growth of juvenile trees. Data gas exchange and nutrients were collected in August 2010 to June 2011. The growth data (height and diameter) were collected in July 2010 to July 2012. There was no significant relationship between photosynthetic rates ($A_{\text{pot-area}} - A_{\text{pot-mas}}$) and the concentrations of leaf N and P per unit area and mass, however A_{pot} , $V_{\text{c-max}}$ and J_{max} were responsive to nutrient use efficiency (N, P, K, Ca, Mg). The N use efficiency decrease with the increase of the N/P, but no effect the N/P ratio to P use efficiency. Furthermore, it was observed that to N and P use efficiency increased rapidly with increasing content of N and P. The in understory irradiance had a significant effect on N and P use efficiency, $A_{\text{pot-área}}$ and $A_{\text{pot-mas}}$. Mean growth in diameter was 1,08 mm year⁻¹. It was concluded P content rather than leaf N content limits photosynthesis in studied species.

KEYWORDS: Growth of saplings, specific leaf area, understory irradiance.

INTRODUÇÃO

Há crescente preocupação sobre como mudanças globais derivadas do aumento da concentração de CO₂ na atmosfera podem influenciar o clima da região amazônica. Alguns modelos climáticos prognosticam aumentos no período de seca (Cox *et al.* 2004). Num estudo prévio, Mendes e Marengo (2010) observaram que a capacidade fotossintética aparentemente não é influenciada pela sazonalidade das chuvas na Amazônia Central, apenas por pequenas variações na luminosidade do sub-bosque. Contudo, ainda não se sabe como as variações nos teores de elementos minerais, tais como nitrogênio (N), fósforo (P), cálcio (Ca), magnésio (Mg) e potássio (K) podem influenciar a capacidade fotossintética de árvores de dossel na fase juvenil.

A eficiência de utilização do nutriente é um importante parâmetro que afeta a sobrevivência e reprodução de plantas (Aerts e Chapin 2000) e, assim, a produtividade primária líquida e ciclagem de nutrientes no ecossistema terrestre (Chapin 1980; Weih *et al.* 2011), por conseguinte tem sido comumente usado para avaliar o desempenho fisiológico das espécies (Brown e Bethlenfalvay 1988; Hiremath 2000; Hidaka e Kitayama 2009).

Vários nutrientes minerais são essenciais para a fisiologia da folha. O fósforo (P) é um componente essencial dos ácidos nucléicos e tem importante participação na síntese de proteínas e no balanço energético da planta, existindo uma relação positiva entre taxa de fotossíntese e teor de fósforo foliar (Raaimakers *et al.* 1995). O potássio (K) é essencial na regulação osmótica, a maior parte do cálcio (Ca) está associada com a parede da célula, além do seu papel na estrutura da clorofila; Mg é um metal ativador de muitas enzimas (Marchner 1995). Diversos estudos mostram que geralmente existe uma forte relação entre a fotossíntese e a concentração de N foliar, pois esse nutriente é componente essencial da enzima ribulose 1,5 bisfosfato carboxilase/oxigenase (Rubisco), enzima chave na fixação de carbono (Kitajima *et al.* 1997; Hikosaka 2004). Além da disponibilidade de nutrientes, a proporção

adequada entre os nutrientes essenciais também é um importante fator que pode interferir no ganho de biomassa e nas características fotossintéticas (Gusewell 2004; Neves *et al.* 2004; Barroso *et al.* 2005). As relações entre as concentrações de N, P e razão N/P dependem da disponibilidade de nutrientes e das condições durante o crescimento e tem sido usada para inferir a importância relativa destes nutrientes para o crescimento das árvores. Uma relação N/P acima de 16 indica um crescimento reduzido, devido à baixa disponibilidade de P no solo (Koerselman e Meuleman 1996).

Vários estudos em florestas tropicais relatam diversos efeitos da luminosidade (Denslow *et al.* 1990; Mendes e Marengo 2010) nos processos fisiológicos. Em árvores juvenis, a disponibilidade de luz é um dos fatores mais importantes que limitam o crescimento das plantas (Nicotra *et al.* 1999), além disso, baixa irradiância, muitas vezes leva a uma diminuição na área foliar específica (razão entre a área e massa foliar) e fotossíntese (Valladares e Niinemets 2008). Em comparação com a atenção dada as árvores do dossel (Reich *et al.* 1994; Fyllas *et al.* 2009), a nutrição mineral de árvores na fase juvenil tem sido menos investigada. Dessa forma, não se sabe como mudanças da luminosidade no sub-bosque da floresta podem influenciar os conteúdos e a eficiência no uso dos nutrientes foliares na Amazônia Central. Neste estudo partiu-se da premissa que a fotossíntese pode ser limitada pelos conteúdos de nutrientes foliares, assim como pela eficiência no uso do N e P. Assim sendo, os objetivos deste trabalho foram determinar o efeito dos conteúdos de N e P foliar e a eficiência no uso dos nutrientes (N, P, Ca, Mg e K) nos parâmetros fotossintéticos em cinco espécies florestais da Amazônia Central. Determinou-se também o efeito da luminosidade no sub-bosque no conteúdo de N e P foliar, na eficiência no uso do N e P, taxas de fotossíntese e o crescimento das árvores juvenis.

MATERIAL E MÉTODOS

Área de estudo e material vegetal

O estudo foi realizado na Estação Experimental de Silvicultura Tropical (Núcleo ZF2), do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA), localizada a 60 km ao norte de Manaus (02° 36' 21" S; 60° 08' 11" W), em uma área de floresta nativa de terra firme. O clima da região é equatorial úmido, tipo "Am" na classificação de Köppen (Köppen 1936), sendo a precipitação anual de 2240 mm. No estudo utilizaram-se cinco espécies nativas da Amazônia Central, *Amphirrhox surinamensis* Eichl. (Violaceae), *Duguetia flagellaris* Huber (Annonaceae), *Fusaea longifolia* (Aubl) Safford (Annonaceae), *Guarea carinata* Ducke (Meliaceae), *Myrcia subsericeae* A. Gray (Myrtaceae), com quatro repetições cada, uma planta por repetição, totalizando 20 plantas de 1 a 3 m de altura. As espécies foram selecionadas levando em conta a sua abundância relativa no sub-bosque da floresta.

Parâmetros fotossintéticos

Parâmetros de trocas gasosas foram medidas utilizando um analisador de gás infravermelho (Li-6400, Li-Cor, NE, EUA) em cinco plantas por espécie, e duas folhas por planta coletados de setembro a dezembro de 2010. As trocas gasosas foram medidas em condições ambientais de temperatura de 27 ± 2 °C, umidade do ar de $73 \pm 3\%$. A resposta da fotossíntese para a concentração de CO₂ (curvas A/Ci) foi determinada a uma intensidade de luz saturante ($1000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), como descrito anteriormente por Azevedo e Marengo (2012). Calculou-se a velocidade máxima de carboxilação da Rubisco ($V_{c\text{-max}}$) e a taxa de transporte de elétrons (J_{max}) conforme Farquhar *et al.* (1980):

$$A_c = [V_{c\text{-max}} (C_i - \Gamma^*)] / [C_i + K_c(1 + O/K_o)]$$

$$A_j = [J_{\text{max}} (C_i - \Gamma^*)] / [4C_i + 8\Gamma^*]$$

Em que: I^* é o ponto de compensação de CO_2 na ausência de respiração e na presença de luz; K_c e K_o representam as constantes de Michaelis-Mentem da rubisco para CO_2 e O_2 respectivamente e O representa a concentração de oxigênio nos espaços intercelulares.

Os valores de $V_{c\text{-max}}$ e J_{max} foram normalizados a 25 °C utilizando as equações descritas por Medlyn *et al.* (1999). Neste estudo, a taxa de fotossíntese mensurada em $[\text{CO}_2]$ saturante (2000 $\mu\text{mol mol}^{-1}$) e luz saturante (1000 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) são referidas como capacidade fotossintética (A_{pot}) (Lawlor e Cornic 2002). A capacidade fotossintética por unidade de massa ($A_{\text{pot-mas}}$) foi obtida multiplicando A_{pot} (por unidade de área foliar) pela área foliar específica (AFE).

Eficiência no uso dos nutrientes, área foliar específica e valores SPAD

A eficiência no uso dos nutrientes foi determinada por meio da relação entre quantidade de carbono fixado via fotossíntese (capacidade fotossintética, A_{pot}) e o conteúdo de nutrientes foliares.

Para determinação dos conteúdos de nutrientes foliares utilizaram-se três a oito folhas por planta em função do tamanho. Essas folhas foram coletadas no final do experimento (março de 2011), desidratadas em estufa a 72 °C até massa constante, moídas e quantificados os teores de nutrientes. O conteúdo de N foliar foi determinado pelo método Kjeldahl. O conteúdo de P foliar foi determinado por colorimetria e as leituras das absorvâncias feitas a 660 nm usando molibdato de amônio e ácido ascórbico a 3%, K por fotometria de chama, Ca e Mg por espectrofotometria de absorção atômica (Silva 2009).

A área foliar específica (AFE) foi determinada como a razão entre a área e a massa foliar. A área foliar foi determinada utilizando um integrador de área (Li-3000A, Li-Cor, EUA). A massa foliar foi determinada utilizando-se uma balança de precisão. Os valores SPAD foram medidos com um clorofilômetro (SPAD-502, Minolta, Japão) em cinco pontos,

em cada lado da nervura central da folha, na face adaxial. A AFE e valores SPAD foram determinados nas mesmas folhas utilizadas para análises de nutrientes foliares.

Crescimento das árvores juvenis

O incremento anual em diâmetro (IAD) foi medido a 50 cm acima do solo, tanto no sentido norte-sul como no leste-oeste (para se obter uma média do diâmetro) utilizando um paquímetro digital. Para medir o incremento anual em altura (IAA) foi utilizada uma trena. Os dados de crescimento foram coletados mensalmente no período de julho de 2010 a julho de 2012, totalizando 24 meses.

Condições ambientais

Para caracterizar o ambiente físico da área do estudo, foram coletados dados de luminosidade (RFA), umidade (UR), temperatura do ar (T) e de precipitação. A radiação fotossinteticamente ativa (RFA) do sub-bosque foi medida utilizando sensor específico (Li-191 SA, Li-Cor, EUA) conectado a um datalogger (Li-1400, Li-Cor, NE, EUA) e programado para registrar os dados em intervalos de 15 minutos. Dados de umidade e temperatura no sub-bosque também foram coletados a intervalos de 30 minutos utilizando um sensor de umidade e temperatura (Humitter 50Y, Vaisala, Oyj, Finlândia) acoplado a um datalogger (Li-1400, Li-Cor). A precipitação foi medida com um pluviômetro convencional, instalado numa torre de observação a 40 metros de altura, a 3,3 km da área do estudo. Também foram coletado dados da fração de céu visível (FCV) abaixo do dossel da floresta usando um analisador do dossel (LAI-2000, Li-Cor, EUA) e calculado como o somatório das aberturas e mini-aberturas no dossel da floresta conforme previamente descrito por Mendes e Marengo (2010).

Análises estatística

Utilizou-se o delineamento experimental inteiramente casualizado. As diferenças entre espécies nas variáveis estudadas foram examinadas mediante análise de variância (ANOVA), utilizando o teste de Tukey ($P \leq 0,05$) para a separação de médias. Análises de regressão

foram realizadas para determinar o efeito da nutrição mineral sobre a fisiologia da folha. O programa estatístico utilizado para análise dos dados foi SAEG 9.0 (UFV).

RESULTADOS

Condições ambientais e crescimento das árvores juvenis

Durante o estudo a média da precipitação anual foi de 2800 mm. A temperatura no sub-bosque oscilou entre 22 °C à noite e 29 °C ao meio-dia e a umidade média do ar foi superior a 90%. A irradiância média no sub-bosque foi 11 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, já a média da irradiância máxima foi de 28 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. A irradiância média acumulada variou de 0,53 para 7,2 $\text{mol m}^{-2} \text{dia}^{-1}$ (Tabela 1). Não houve diferença entre espécies nas taxas de crescimento em diâmetro (IAD; 1,08 mm ano^{-1}), entretanto a taxa de crescimento em altura (IAA) variou de 50 mm ano^{-1} em *G. carinata* para 120 mm ano^{-1} em *D. flagellaris* (Tabela 1).

Tabela 1. Taxas fotossintéticas ($A_{\text{pot-área}}$; $A_{\text{pot-mas}}$), velocidade máxima de carboxilação da Rubisco ($V_{\text{c-max}}$), taxa máxima de transporte de elétrons (J_{max}), incremento anual em diâmetro (IAD), incremento anual em altura (IAA), área foliar específica (AFE), radiação fotossinteticamente ativa (RFA) e fração de céu visível (FCV) em cinco espécies florestais da Amazônia Central. Cada valor corresponde à média de quatro plantas por espécie.

Variáveis	$A_{\text{pot-área}}$	$A_{\text{pot-mas}}$	$V_{\text{c-max}}$	J_{max}	IAD	IAA	AFE	RFA	FCV
Espécies	($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	(mm ano^{-1})	(mm ano^{-1})	($\text{m}^2 \text{kg}^{-1}$)	($\text{mol m}^{-2} \text{dia}^{-1}$)	
<i>A. surinamensis</i>	9,2 a	159 a	17,7 a	39,9 a	0,98 a	70 ab	15,48 ab	0,71 a	0,014 a
<i>D. flagellaris</i>	8,9 a	146 a	18,7 a	38,4 a	1,04 a	120 a	14,91 ab	0,65 a	0,011 a
<i>F. longifolia</i>	8,1 a	139 a	17,6 a	35,4 ab	1,20 a	60 c	14,95 ab	0,72 a	0,019 a
<i>G. carinata</i>	6,6 b	120 b	14,5 a	25,0 b	0,99 a	50 c	19,54 a	0,53 a	0,013 a
<i>M. subsericeae</i>	8,7 a	116 b	19,4 a	39,0 a	1,08 a	130 a	12,75 b	0,61 a	0,021 a
Média	8,13	8,13	17,5	35,5	1,08	80	15,52	0,64	0,015
CV (%)	26,9	26,9	28,9	28,5	35,1	35,8	13,7	27,9	72,3

Médias seguidas de mesmas letras nas colunas não diferem de acordo com o teste de Tukey a 5% de probabilidade.

A relação entre o incremento anual em diâmetro (IAD), luminosidade no entorno das plantas e fotossíntese não foi significativa ($P > 0,05$, Figura 1). Isto pode ser atribuído a pouca variação na fração de céu visível (FCV) entre os microsítios (Tabela 1), indicando que a abertura no dossel da floresta não variou entre as espécies.

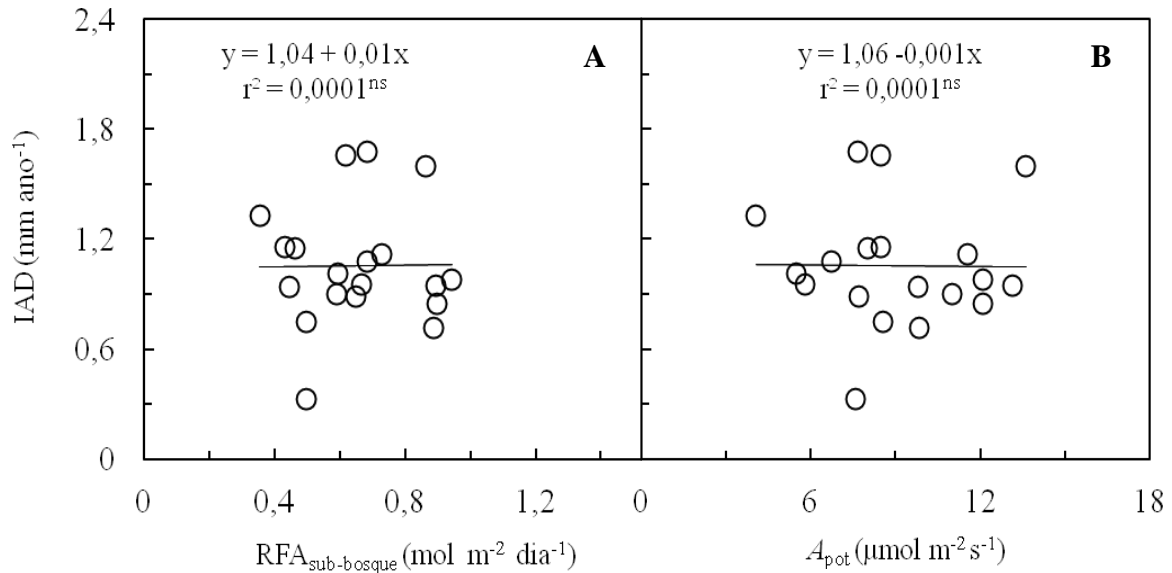


Figura 1. Relação entre o incremento anual em diâmetro (IAD), radiação fotossinteticamente ativa no sub-bosque (RFA_{sub-bosque}, **A**) e a capacidade fotossintética (A_{pot} , **B**) em cinco espécies florestais da Amazônia Central. A_{pot} foi medido em [CO₂] de 2000 μmol mol⁻¹, irradiância de 1000 μmol m⁻² s⁻¹, temperatura foliar de 27 ± 2 °C e umidade do ar de 73 ± 3%. Cada símbolo representa uma planta por espécies. ns: não significativo.

Parâmetros fotossintéticos e nutrientes

Entre as espécies estudadas, foram encontradas diferenças significativas entre espécies nos valores de $A_{pot-área}$, $A_{pot-mas}$, J_{max} e AFE, por outro lado V_{c-max} não variou entre espécies (Tabela 1). Verificaram-se também, diferenças significativas para os teores de P, K, Mg, eficiência no uso do P, K e Mg. No entanto, os teores de N, Ca, a razão N/P e eficiência no uso do N e Ca não variou entre espécie (Tabela 2).

Tabela 2. Conteúdo de nutrientes da folha (mg g^{-1}) e eficiência no uso dos nutrientes em cinco espécies florestais da Amazônia Central. Cada valor representa a média de quatro plantas por espécies

Espécies	Nutrientes (mg g^{-1})						$A_{\text{pot}}/\text{nutrientes}$ ($\mu\text{mol (CO}_2\text{) mol}^{-1} (\text{nutrientes) s}^{-1}$)				
	N	P	K	Ca	Mg	N/P	N	P	K	Ca	Mg
<i>A. surinamensis</i>	12,9 a	0,62 b	4,32 a	4,79 a	3,73 a	21,01 a	198 a	7902 ab	1546 a	1447a	1104 b
<i>D. flagellaris</i>	11,2 a	0,47 bc	1,98 b	4,51 a	1,87 b	23,73 a	143 a	7563 ab	2248 ab	1822 a	1668 ab
<i>F. longifolia</i>	11,8 a	0,40 c	1,62 b	4,94 a	1,60 b	29,49 a	188 a	11143 a	3358 ab	1504 a	2186 ab
<i>G. carinata</i>	15,8 a	0,88 a	4,64 a	6,58 a	2,37 b	18,48 a	107 a	4277 b	1054 b	1010 a	1220 ab
<i>M. subsericeae</i>	8,6 a	0,31 c	1,83 b	4,79 a	1,46 b	28,28 a	202 a	11867 a	2670 a	1103 a	1986 a
Média	12,9	0,54	2,88	5,12	2,21	24,17	0,17	8550,9	11,3	6,21	8,15
CV (%)	8,5	16,8	28,5	47,51	26,54	31,6	44,03	27,2	58,54	69,05	55,69

Médias seguidas de mesmas letras nas colunas não diferem de acordo com o teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Não houve relação significativa entre as taxas fotossintéticas ($A_{\text{pot-área}}$, $A_{\text{pot-mas}}$) e as concentrações de N e P por unidade de área e massa ($P > 0,05$) (Figura 2A, B, C e D).

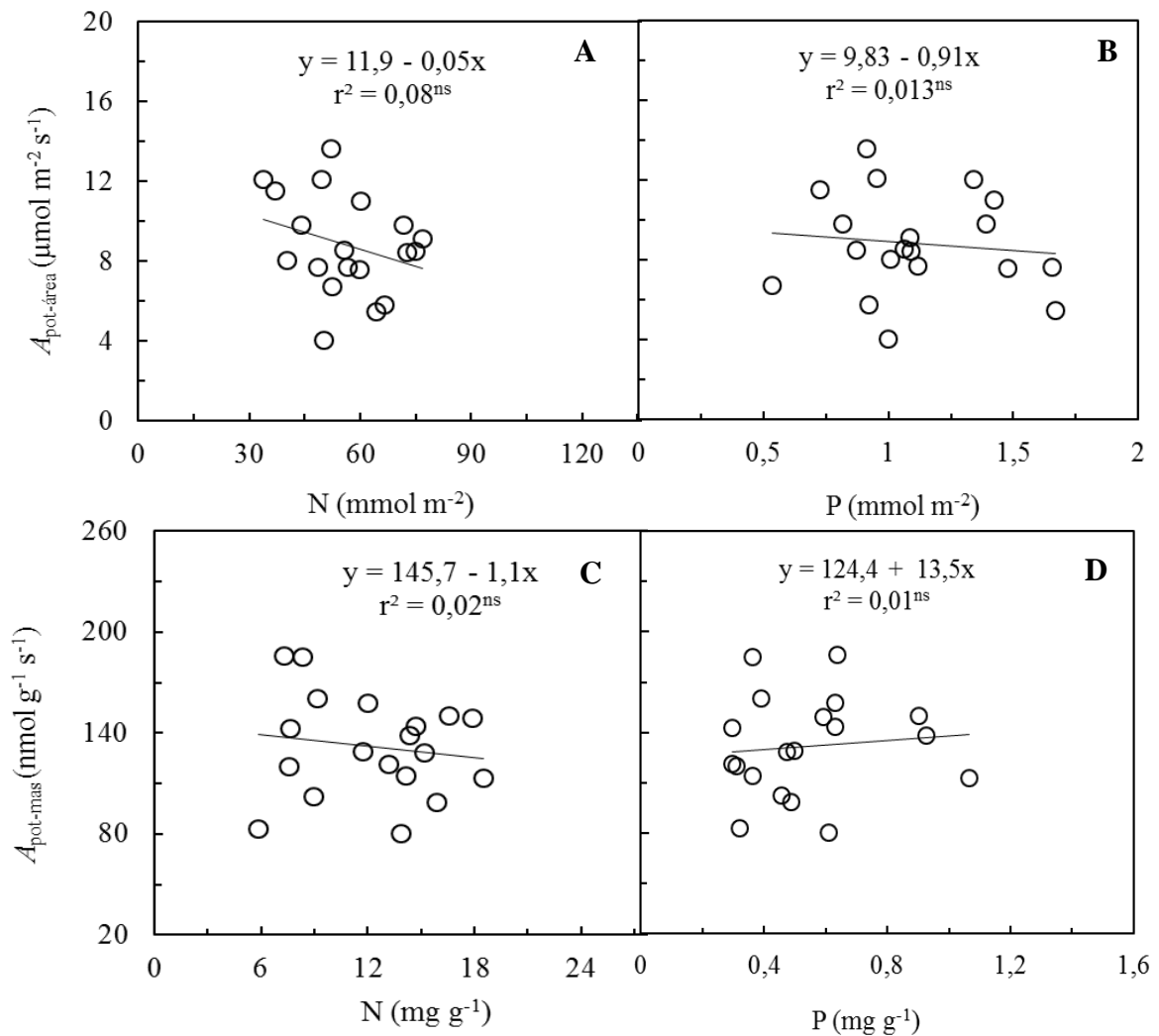


Figura 2. Relação entre as taxas fotossintéticas ($A_{\text{pot-área}}$; **A, B** e $A_{\text{pot-mas}}$; **C, D**) e conteúdo de nitrogênio (N) e fósforo (P) em cinco espécies florestais da Amazônia Central. Cada símbolo representa uma planta por espécies. Condições experimentais conforme descrito na Figura 1. ns: não significativo.

No entanto maior eficiência no uso dos nutrientes (N, P, Ca, K, Mg) resultou em valores maiores de $A_{\text{pot-área}}$ (Figura 3). Com base nos valores de r^2 para as relações entre A_{pot} e eficiência no uso dos nutrientes da folha foi obtida a seguinte ordem de importância: N > Ca > P > K > Mg (Figura 3).

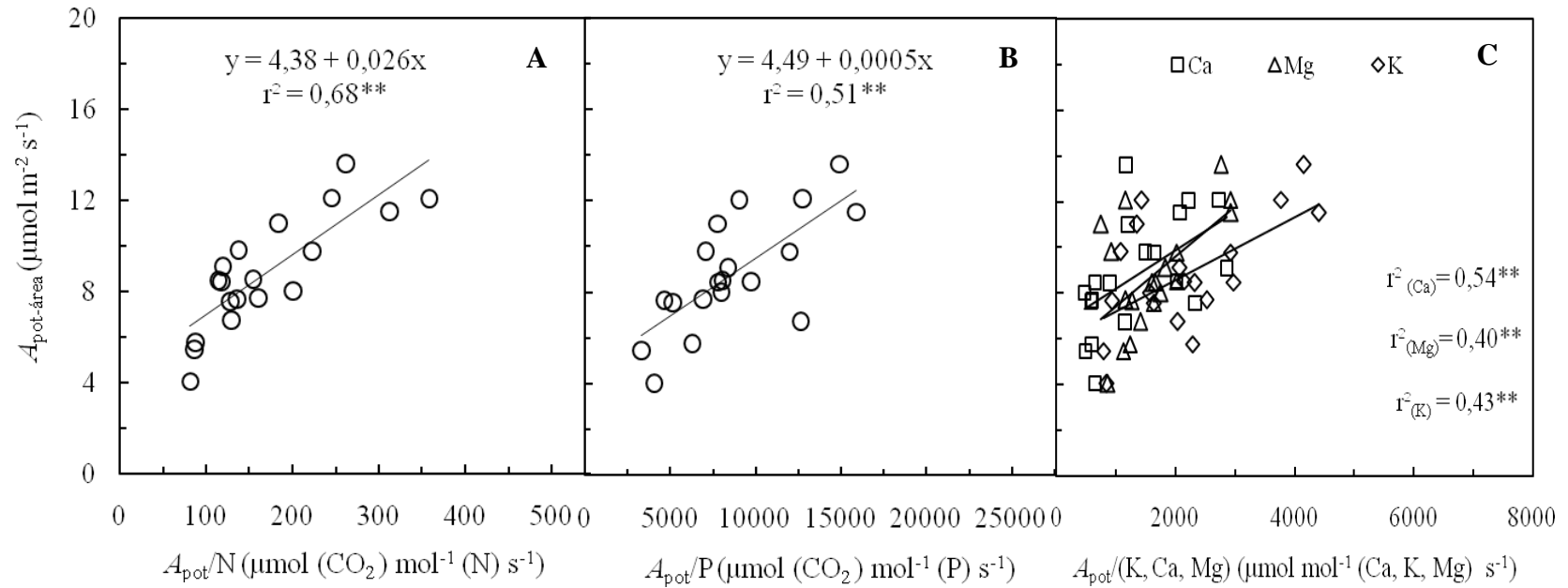


Figura 3. Relação entre capacidade fotossintética ($A_{\text{pot-área}}$) e eficiência no uso do nitrogênio (A_{pot}/N ; **A**), eficiência no uso do fósforo (A_{pot}/P ; **B**), eficiência no uso do cálcio (A_{pot}/Ca ; **C**), eficiência no uso do magnésio (A_{pot}/Mg ; **C**), eficiência no uso do potássio (A_{pot}/K ; **C**) em cinco espécies florestais da Amazônia Central. Cada símbolo representa uma planta por espécie. Condições experimentais conforme descrito na Figura 1. **: significativo a 1% de probabilidade.

A eficiência no uso do N diminuiu com o aumento da razão N/P (Figura 4A), entretanto não houve relação significativa entre a eficiência no uso do P e a razão N/P ($P > 0,05$; Figura 4B). A eficiência no uso do N e P diminuiu rapidamente com o aumento do conteúdo de N e P ($r^2 = 0,55^{**}$; $r^2 = 0,52^{**}$; painéis em destaque na Figura 4A e B) indicando que à medida que o conteúdo de N e P foliar aumentam, maior quantidade desses nutrientes podem ser alocados em estruturas não fotossintéticas.

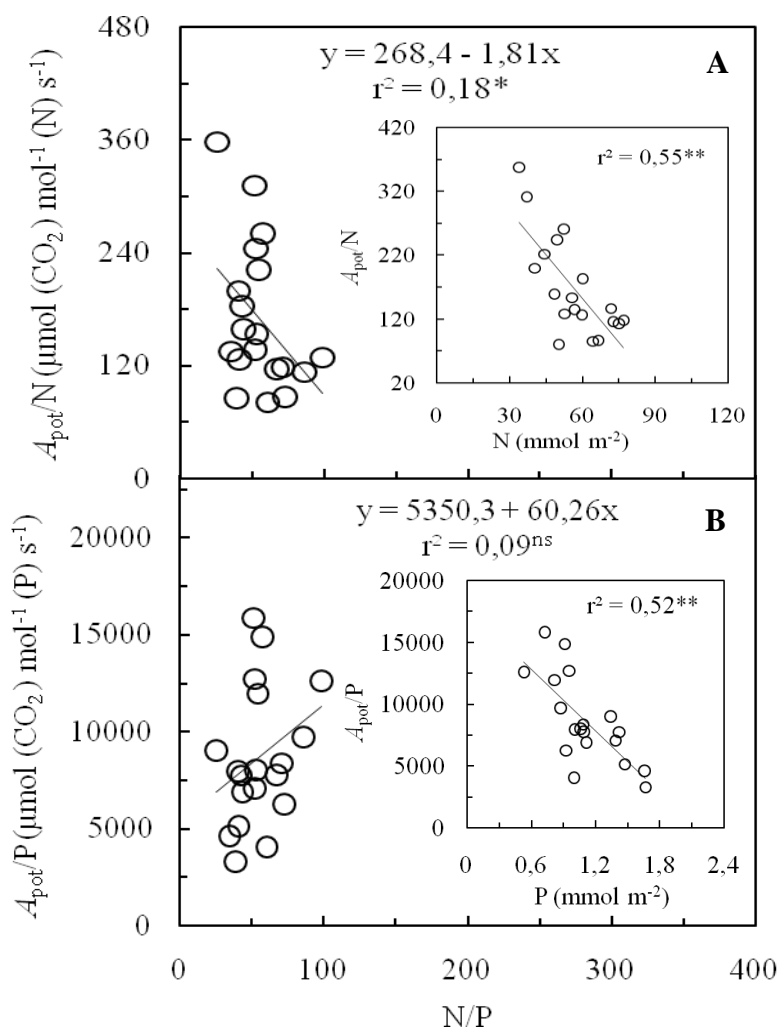


Figura 4. Relação entre a eficiência no uso do nitrogênio (A_{pot}/N ; **A**), eficiência no uso do fósforo (A_{pot}/P ; **B**) e a razão N/P. Painéis inseridos nas Figuras 4A e B mostram as relações entre A_{pot}/N e N e A_{pot}/P e P em cinco espécies florestais da Amazônia Central. Cada símbolo representa uma planta por espécie. Condições experimentais conforme descrito na Figura 1. **: significativo a 1 % de probabilidade, * significativo a 5% de probabilidade, ns: não significativo.

V_{c-max} e J_{max} foram positivamente correlacionados com a eficiência no uso do N e P (Figura 5), bem como a eficiência no uso do Ca, Mg e K (Figura 6).

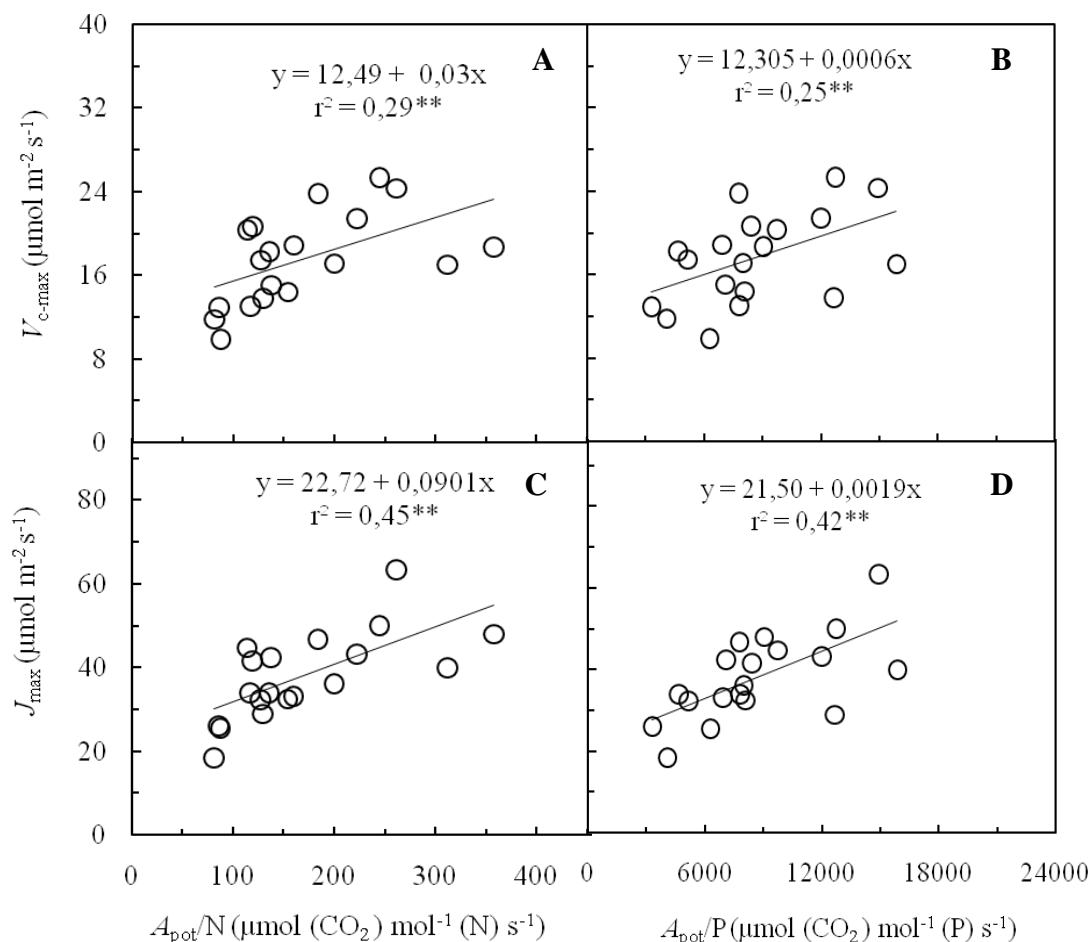


Figura 5. Relação entre a velocidade máxima de carboxilação da Rubisco ($V_{c\text{-max}}$, **A** e **B**), taxa máxima de transporte de elétrons (J_{max} , **C** e **D**), eficiência no uso do nitrogênio (A_{pot}/N) e eficiência no uso do fósforo (A_{pot}/P) em cinco espécies florestais da Amazônia Central. Condições experimentais conforme descrito na Figura 1. Cada símbolo representa uma planta por espécies. **: significativo a 1 % de probabilidade.

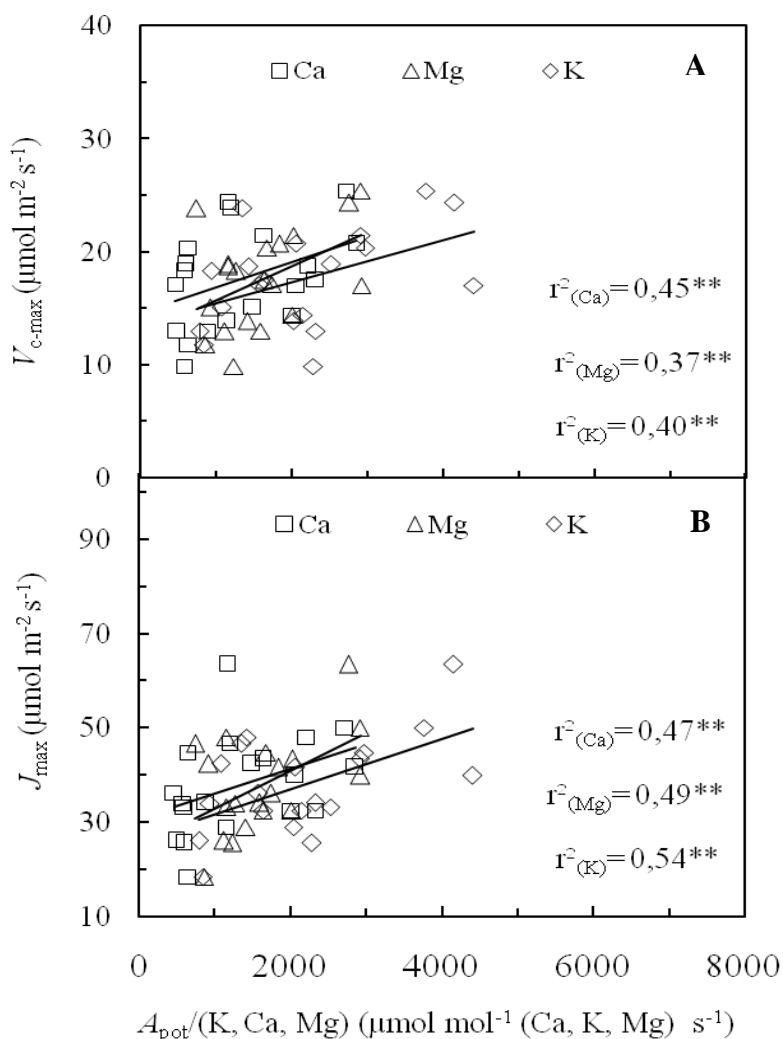


Figura 6. Relação entre a velocidade máxima de carboxilação da Rubisco (V_{c-max} , **A**), taxa máxima de transporte de elétrons (J_{max} , **B**) e a eficiência no uso do cálcio (A_{pot}/Ca), eficiência no uso do magnésio (A_{pot}/Mg) e eficiência no uso do potássio (A_{pot}/K) em cinco espécies florestais da Amazônia Central. Condições experimentais conforme descrito na Figura 1. Cada símbolo representa uma planta por espécie. **: significativo a 1% de probabilidade.

Por unidade de massa, os conteúdos de N, Mg, K e P foram positivamente correlacionados ($P < 0,05$; Figura 7A). Entretanto não houve correlações entre os conteúdos de Ca e P, assim como entre Ca, Mg, K e N ($P > 0,05$; Figura 7B).

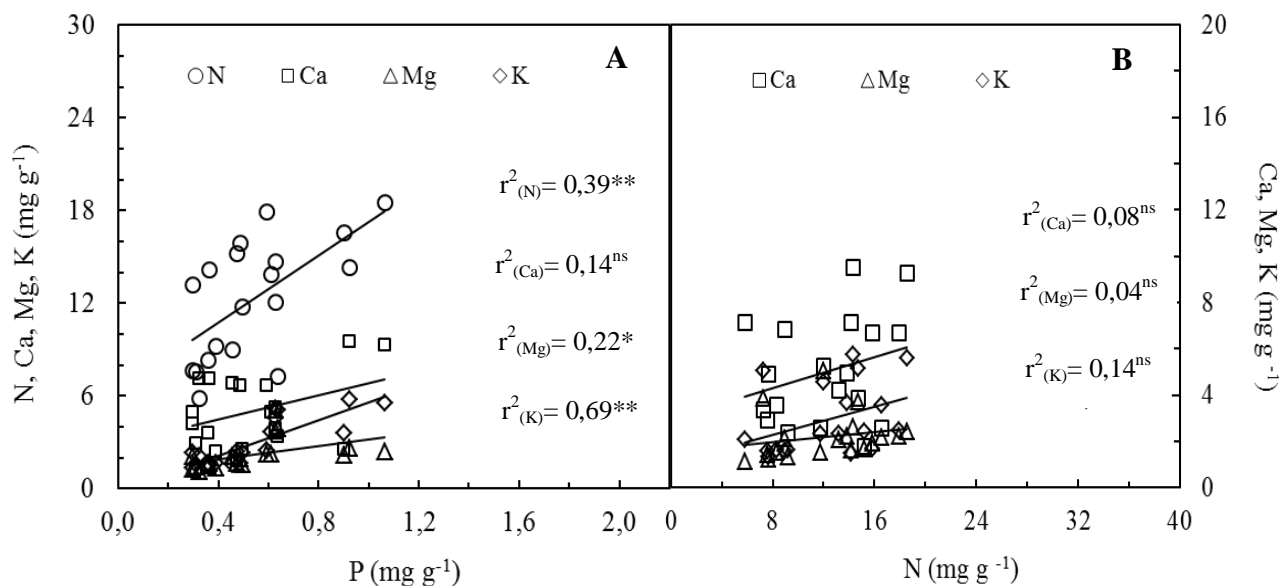


Figura 7. Relação entre teor de nitrogênio (N), cálcio (Ca), magnésio (Mg), potássio (K), fósforo (P, **A**) e nitrogênio (N, **B**) em cinco espécies florestais da Amazônia Central. Cada símbolo representa uma planta por espécie. **: significativo a 1% de probabilidade, *: significativo 5% de probabilidade, ns: não significativo.

Observou-se que pequenas variações na irradiância do sub-bosque não afetam significativamente o conteúdo de N e P ($P > 0,05$, Figura 8A, B). No entanto, houve efeito significativo entre $RFA_{\text{sub-bosque}}$, eficiência no uso do N e P ($P < 0,05$, Figura 8C, D) e as taxas fotossintéticas ($A_{\text{pot-área}}$; $A_{\text{pot-mas}}$; Figura 9).

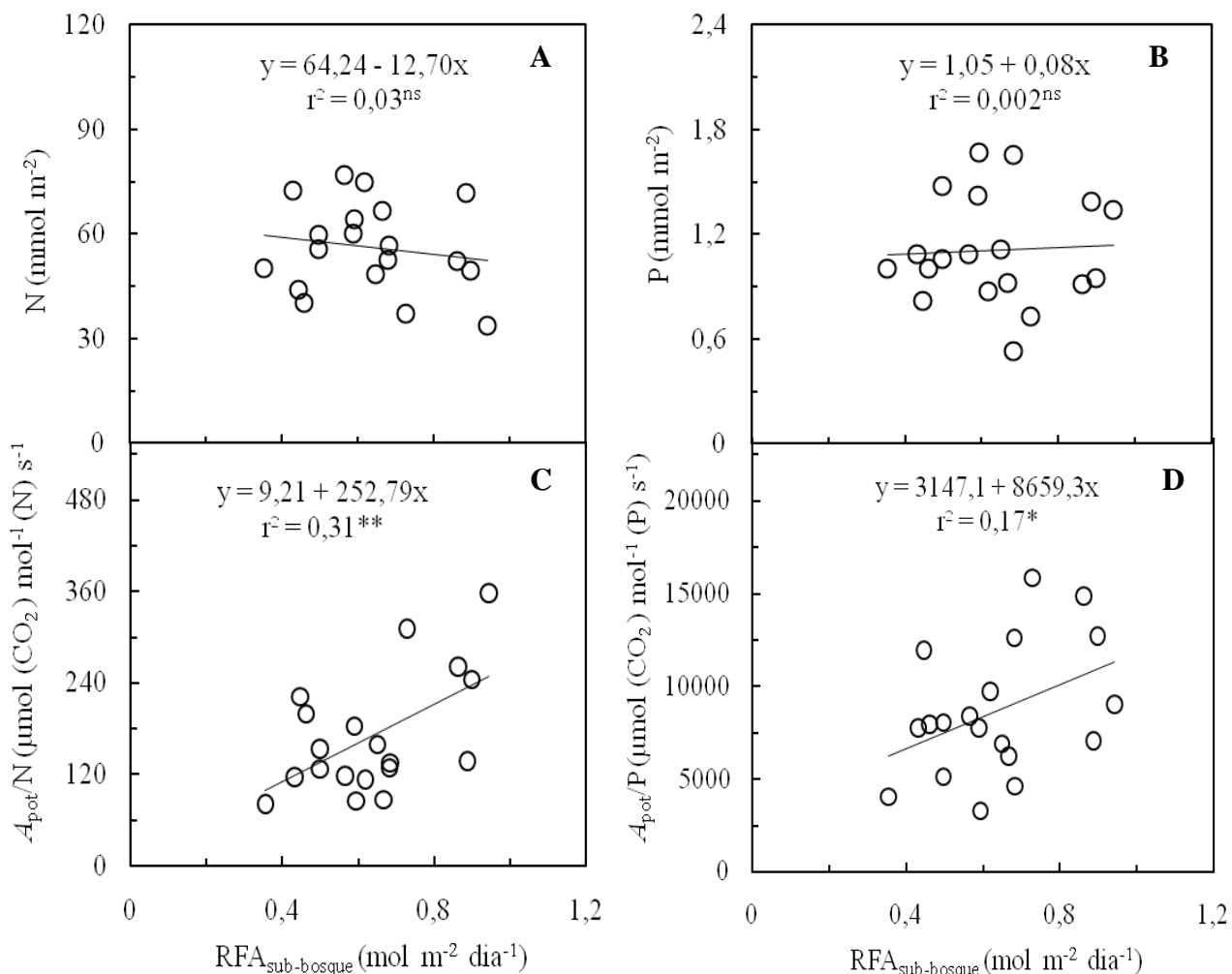


Figura 8. Relação entre a radiação fotossinteticamente ativa ($RFA_{\text{sub-bosque}}$) e o conteúdo de nitrogênio (N, **A**), fósforo (P, **B**); eficiência no uso do nitrogênio (A_{pot}/N ; **C**) e eficiência no uso do fósforo (A_{pot}/P ; **D**) em cinco espécies florestais da Amazônia Central. Cada símbolo representa uma planta por espécie. **: significativo a 1% de probabilidade, *: significativo 5% de probabilidade, ns: não significativo.

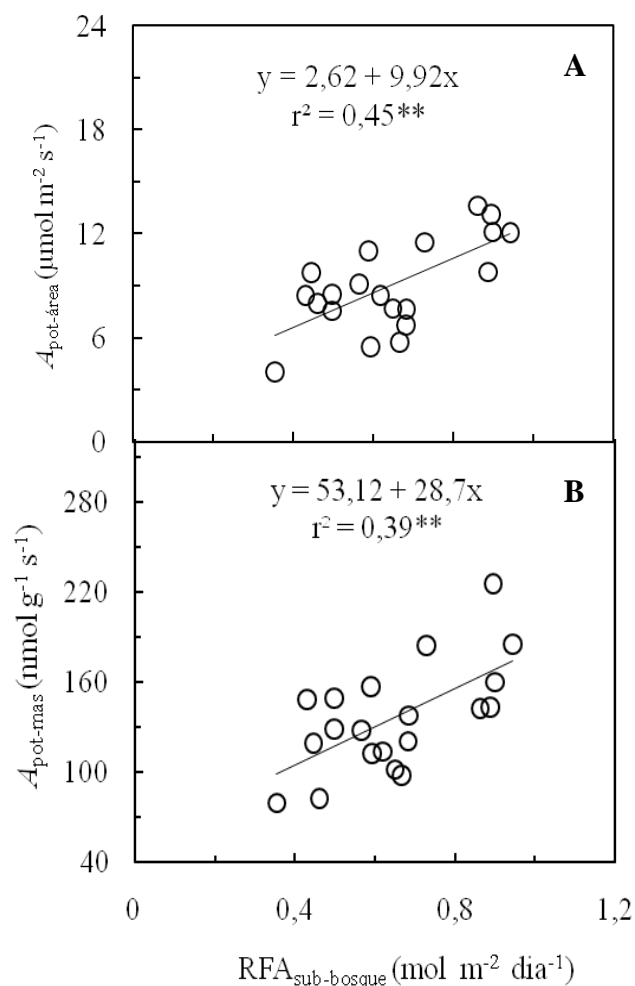


Figura 9. Relação entre as taxas fotossintéticas ($A_{\text{pot-área}}$; $A_{\text{pot-mas}}$) e a radiação fotossinteticamente ativa no sub-bosque ($RFA_{\text{sub-bosque}}$) em cinco espécies florestais da Amazônia Central. Cada símbolo representa uma planta por espécie. **: significativo a 1% de probabilidade.

DISCUSSÃO

Condições ambientais e crescimento das árvores juvenis

A precipitação anual no período de estudo está de acordo com as médias históricas (1961-1990) da região (Inmet, 2010). Os valores de irradiância no sub-bosque observados neste estudo são similares aos descritos em outros trabalhos (Kursar e Coley 1999; Marengo e Vieira 2005)

que relatam que a luz no sub-bosque da floresta é inferior a 2% da irradiância registrada acima do dossel da floresta. Nas florestas tropicais úmidas, acredita-se que as baixas taxas de crescimento (diâmetro e altura) em espécies de sub-bosque estão relacionadas à baixa luminosidade a que as árvores são expostas na fase juvenil. Clark *et al.* (1999) observaram uma forte associação entre o IAD e a irradiância em espécies tropicais. No entanto, deve-se notar que a falta de relação entre o IAD e $RFA_{\text{sub-bosque}}$ encontrada neste estudo não significa que a luminosidade não influencia as taxas de crescimento das plantas, mas sim que as variações nas aberturas e micro aberturas do dossel (FCV) foram sutis, limitando as plantas ao mesmo ambiente luminoso (Tabela 1). Kruger e Volin (2006) relatam que as taxas fotossintéticas afetam o crescimento das árvores, porém, o IAD não demonstrou relação significativa ($P > 0,05$) com A_{pot} das plantas. Isto mostra que o crescimento das árvores está determinado não apenas pelos ganhos instantâneos de carbono (fotossíntese), mas pela interação da fotossíntese com outras variáveis fisiológicas, tais como relação fonte dreno, translocação de assimilados e a área foliar (Gifford e Evans, 1981) que também contribuem para as taxas de crescimento observadas numa planta em um determinado intervalo de tempo. As taxas de incremento anual em diâmetro (IAD) observado neste estudo ($1,08 \text{ m ano}^{-1}$) são similares às médias de crescimento observadas em árvores adultas em florestas tropicais em torno de 1 mm ano^{-1} (Clark e Clark 2001; Vieira *et al.* 2005), porém, menores que as observadas em plantas cultivadas em baixa luminosidade com suprimentos de nutrientes (Azevedo e Marengo 2012). A taxa média de crescimento em altura de 80 mm ano^{-1} indica que as arvoretas utilizadas no estudo (1 a 3 m) podem levar em torno de 400 a 500 anos para atingir o dossel da floresta, assumindo uma taxa de crescimento constante, evidentemente esse tempo pode ser menor, haja vista que na medida em que as árvores crescem passam a receber mais luz. Por outro lado, considerando o incremento em diâmetro as plantas deste estudo levariam aproximadamente 100 anos para atingir um diâmetro de 100 mm, o que estaria de acordo com

Clark e Clark (2001) que estimam que as árvores em condições de sub-bosque possam levar mais de 80 anos para atingir o dossel.

Parâmetros fotossintéticos e nutrientes

Os valores das taxas fotossintéticas das espécies estudadas são semelhantes aos encontrados por Mendes e Marengo (2010) que relatam valores entre 6 e 9 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ para espécies em condições naturais. Todavia, quando comparados aos encontrados por outros (Magalhães *et al.* 2009; Azevedo e Marengo 2012) para mudas nativas da Amazônia aclimatadas a baixa luminosidade nossos valores de A_{pot} são maiores. Os valores dos parâmetros fotossintéticos ($V_{\text{c-max}}$ e J_{max}) relatados neste trabalho estão dentro da faixa de valores registrados em outras espécies da floresta tropical (Wullschleger 1993). No entanto, os nossos valores de $V_{\text{c-max}}$ são baixos quando comparados com aqueles obtidos por Manter e Kerrigan (2004), que observaram valores entre 20 e 75 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Isto indica que folhas de plantas de sub-bosque adaptadas a baixas luminosidades alocam pequena quantidade de assimilados e nitrogênio para síntese da proteína Rubisco.

Os valores médios de teor de nutrientes da folha de K, Ca e Mg são semelhantes aos descritos em estudos anteriores (Vitousek e Sanford 1986; Fyllas *et al.* 2009) para espécies tropicais. Entretanto, os conteúdos de N e P foram menores que os valores relatados em florestas tropicais por outros autores (Raaijmakers 1995; Reich *et al.* 1999; Nardoto *et al.* 2008). Diversos estudos têm mostrado a importância do N e P na fotossíntese (Reich *et al.* 1999; Fyllas *et al.* 2009). No entanto, há pouca informação sobre os níveis críticos e ótimos de nutrientes para espécies florestais da Amazônia. Em *Swietenia macrophylla* e *Brosimum alicastrum*, conteúdos de nutrientes foliares abaixo 10-14 mg g^{-1} (para N) e 0,6 mg g^{-1} (para P) são considerados deficientes para o crescimento (Drechsel e Zech 1991). Koerselman e Meuleman (1996) sugere que uma relação N/P acima de 16 é indicativa de deficiência de P. Assim, em comparação ao N, os baixos conteúdos de P foliar e a alta relação N/P levam a sugerir que o P tem maior chance de

ser elemento limitante nas espécies estudadas. Além disso, em algumas árvores, folhas com teores de nutrientes abaixo de 1,5; 3,0 e 10 mg g⁻¹ para o Mg, Ca e K podem limitar o crescimento (Marschner 1995).

Os resultados deste estudo são diferentes daqueles de Reich *et al.* (1991) que observaram relação significativa entre fotossíntese e N por unidade de massa foliar. A fotossíntese está relacionada à variação do conteúdo de N, pois aproximadamente 60% do nitrogênio total da folha encontra-se nos cloroplastos, principalmente formando parte de enzimas da fotossíntese, tais como a Rubisco (Hikosaka 2004). No entanto, segundo Reich *et al.* (1998) a relação entre as taxas fotossintéticas e N expresso por unidade de área ocorre principalmente quando há pequena variação no conteúdo de N por unidade de massa o que talvez possa explicar a falta de relação entre $A_{\text{pot-mas}}$, $A_{\text{pot-área}}$ e os teores de N e P.

Os valores da eficiência no uso do N e P foram maiores do que os observados por outros autores (Hiremath 2000; Cordell *et al.* 2001). Vitousek e Howarth (1991) relatam que em geral, plantas que crescem em solos pobres em nutrientes podem apresentar maior eficiência de uso dos nutrientes do que plantas das mesmas espécies crescendo em solos mais ricos em nutrientes. Ainda, deve-se notar (Figura 3A e B) que a relação entre $A_{\text{pot-área}}$ e a eficiência no uso do P e N são altamente significativas ($r^2 = 0,68^{**}$ e $r^2 = 0,51^{**}$; respectivamente) indicando que esses dois elementos influenciam significativamente a capacidade fotossintética da folha, e que tanto os conteúdos de N (12,9 mg g⁻¹) como os conteúdos de P (0,54 mg g⁻¹) são mínimos, o que conduz a uma maior eficiência no uso desses nutrientes. Por outro lado, a diminuição na eficiência no uso do N e P com o teor de N e P foliar (Figura 4), sugerem que à medida que esses nutrientes foliares aumentam parecem compensar a diminuição no uso da eficiência dos mesmos, como resultado $A_{\text{pot-área}}$ aumenta com A_{pot}/N e A_{pot}/P (Figura 3). Reich e Schoettle (1988) observaram que a eficiência no uso do N aumentou linearmente com N/P, contrário ao relatado neste trabalho (Figura 4). Isto mostra que nas plantas do nosso estudo a eficiência no uso do N diminui

substancialmente na medida que aumenta as concentrações de P, ou seja, o aumento na concentração de N não altera significativamente a eficiência no uso do P.

A resposta positiva de $A_{\text{pot-área}}$ e a eficiência no uso dos demais nutrientes (Ca, K e Mg) mostram a complexidade das interações entre o ganho de carbono e a nutrição mineral de árvores tropicais, como sugerido por Townsend *et al.* (2011), indicando que os conteúdos mínimos destes nutrientes foliares foram utilizados de forma mais eficiente. Por exemplo, Cuevas e Medina (1988) evidenciaram que uma área da floresta amazônica respondeu tanto ao P como ao Ca; Kaspari *et al.* (2008) observaram que o K aumenta a decomposição da celulose em uma floresta de várzea. As relações altamente significativas ($P < 0,01$) entre $V_{c\text{-max}}$; J_{max} e a eficiência no uso dos nutrientes (N, P, Ca, Mg, K) confirmam a importância destes nutrientes no processo fotossintético (ATP, NAPH). A oferta de fósforo inorgânico regula o ciclo de Calvin e o transporte de metabólicos e de compostos assimilados. Porém, os baixos conteúdos de P afetam a atividade específica da Rubisco e, assim, reduz a sua eficiência de carboxilação (Lauer *et al.* 1989; Jia e Gray 2004), o que talvez explique a relação menos acentuada entre $V_{c\text{-max}}$ e a eficiência no uso do P.

O conteúdo de N por unidade de massa aumentou linearmente com o conteúdo de P (Figura 7A), resultados semelhantes também foram descritos por outros (Güsewell e Koerselman 2002; Güsewell 2004). Güsewell (2004) relata que quando muitas espécies são comparadas, as concentrações de N e P sempre se correlacionam positivamente. Já, Niinemets e Kull (2003) não encontraram correlação entre as concentrações de N e P em espécies que apresentaram pouca variabilidade nos teores desses elementos. Em contrapartida, a falta de correlação nos teores de Ca e P, bem como Ca, Mg, K e N indicam que a absorção desses nutrientes ocorreram com pouca ou nenhuma interferência entre eles.

O efeito da irradiância no sub-bosque na eficiência no uso do N e P (Figura 8) mostra que mesmo sutis mudanças na intensidade de luz no sub-bosque da floresta podem contribuir para a

melhor eficiência desses nutrientes na folha. Isto está de acordo com Poorter e Evans (1998) que observaram maior eficiência no uso de N em alta irradiância. A falta de correlação entre N, P e a irradiância e a relação positiva entre as taxas fotossintéticas ($A_{\text{pot-área}}$; $A_{\text{pot-mas}}$) e a irradiância confirmam que na faixa de intensidade de luz observada no sub-bosque ($0,4$ a $0,1 \text{ mol m}^{-2} \text{ dia}^{-1}$) a fotossíntese é fortemente influenciada pelos baixos níveis de luminosidade.

CONCLUSÕES

1. No sub-bosque da floresta os teores de N e P foliar estão correlacionados e a elevada relação N/P (18-30) e os baixos teores foliares de P ($0,54 \text{ mg g}^{-1}$) sugerem que nas espécies estudadas as taxas de fotossíntese tem maior probabilidade de ser limitada pelos teores de P do que pelos teores de N.

2. O nível de irradiância parece ser um fator limitante para a melhor eficiência no uso do N e P, o que reflete nas taxas de fotossíntese.

3. O crescimento das plantas não foi influenciado pelas variações na luminosidade, indicando que a fração de céu visível do dossel da floresta não foi grande o suficiente, o que limitou as plantas estudadas a microsítios similares com baixa luminosidade.

SÍNTESE

Com a intensificação dos estudos sobre mudanças climáticas globais, cada vez se faz necessário identificar quais processos influenciam o crescimento e desenvolvimento de espécies arbóreas de florestas primárias da Amazônia, estudando sua capacidade de estocar carbono (biomassa) ou liberar carbono pra atmosfera. Para isso, tornam-se necessário estudar as informações pertinentes as variáveis fisiológicas em folhas individuais, tais como a condutância estomática, fotossíntese, aspectos bioquímicos da folha (velocidade máxima de carboxilação da Rubisco - V_{c-max} e a taxa máxima de transporte de elétrons - J_{max}) e as características foliares em espécies florestais nativas da Amazônia.

Desta forma, nesta tese investigou-se como a condutância estomática e a fotossíntese são influenciadas pelos ciclos circadianos em condições de luminosidade contínua em cinco espécies florestais na fase juvenil da Amazônia Central. Os objetivos principais foram os seguintes:

- ❖ Investigar o comportamento dos estômatos e fotossíntese durante o ciclo circadiano sob luz contínua em árvores na fase juvenil em condições de sub-bosque.
- ❖ Determinar o efeito do horário do dia na velocidade máxima de carboxilação da Rubisco (V_{c-max}) e na taxa máxima de transporte de elétrons (J_{max}).
- ❖ Determinar como V_{c-max} e J_{max} são influenciados pela luminosidade no entorno da folha.
- ❖ Determinar as relações entre o ambiente luminoso e as características foliares (espessura, área foliar específica) e a fotossíntese.
- ❖ Determinar o efeito dos conteúdos de nutrientes da folha e a eficiência no uso dos nutrientes nas taxas fotossintéticas, V_{c-max} e J_{max} .
- ❖ Determinar o efeito da luminosidade no sub-bosque no conteúdo de nutrientes, eficiência no uso dos nutrientes e crescimento das plantas.

O diferencial deste trabalho foi superar as grandes dificuldades nas medições da condutância estomática (g_s) e fotossíntese (A) durante ciclos circadianos (dia e noite). Uma vez que a maioria dos estudos avaliam esses parâmetros (g_s , A) em árvores tropicais em condições estáticas durante apenas alguns horários do dia. Além disso, a determinação de como os ritmos circadianos influenciam g_s e A em espécies de árvores de dossel em condições de sub-bosque na

floresta Amazônica é de fundamental importância para o entendimento de como esse ecossistema pode contribuir com o balanço global do carbono, pois os modelos climáticos que prognosticam a capacidade de fixação de carbono pelas florestas têm como ponto de partida as taxas de fotossíntese, as quais são dependentes do funcionamento estomático e das características bioquímicas da folha (V_{c-max} e J_{max})

Para estudar esses objetivos esta tese foi dividida em três capítulos principais (que são apresentados no formato de artigo científico). O primeiro capítulo demonstra como o funcionamento dos estômatos e fotossíntese respondem a exposição contínua à luz num ciclo circadiano em cinco espécies florestais na fase juvenil nativas da Amazônia. Verificou-se maiores valores de g_s , A e Φ antes de 14:00 h. Esses três parâmetros diminuíram até o final da tarde e noite, atingindo o estado estacionário em torno de meia-noite. O processo de reabertura estomática (inferida pelo aumento nos valores de g_s) começou pós à meia noite (01:00 e 02:00 h), num período em que foram registrados os menores valores de temperatura. As temperaturas mais baixas após a meia-noite deveria ocasionar o fechamento, em vez de abertura dos estômatos. A reabertura estomática no início da madrugada sugere o envolvimento de fatores endógenos (relógio circadiano) no funcionamento estomático. Nas plantas de sub-bosque a abertura rítmica dos estômatos confere melhor aproveitamento no uso da luminosidade durante o dia e simultaneamente pode levar a um aumento da assimilação de CO_2 . Embora tenha sido observados ritmos circadianos nos movimentos estomáticos em várias espécies de plantas, este estudo é pioneiro em documentar o funcionamento dos estômatos sob luz contínua em espécies florestais da Amazônia na fase juvenil.

No segundo capítulo foi determinado como parâmetros fotossintéticos (V_{c-max} e J_{max}) respondem a luminosidade, temperatura e as variações diurnas no ambiente físico. Observou-se também, o efeito da luminosidade nas características foliares (espessura e AFE) e capacidade fotossintética (A_{pot}). Os resultados mostram que o aumento da irradiância no sub-bosque e da temperatura foliar levou a maiores valores de A_{max} , A_{pot} , V_{c-max} e J_{max} . Entretanto, o horário do dia não teve efeito significativo em V_{c-max} e J_{max} , sugerindo que esses parâmetros fotossintéticos estejam associados a fatores difusivos bem como a fatores que influenciam a Rubisco, tais como a ativação da enzima. Também, foi verificada relação positiva entre luminosidade e espessura foliar, assim como entre espessura, AFE e A_{pot} , isto confirma que pequenas variações na luminosidade influenciam significativamente a fisiologia e anatomia da folha (espessura foliar).

No terceiro capítulo foi investigado o efeito dos conteúdos de N e P foliar e a eficiência no uso dos nutrientes (N, P, Ca, Mg e K) nos parâmetros fotossintéticos em cinco espécies florestais da Amazônia Central. Determinou-se também o efeito da luminosidade no sub-bosque no

conteúdo de N e P foliar, na eficiência no uso do N e P, taxas de fotossíntese e o crescimento das árvores juvenis. Os resultados mostram que A_{pot} , V_{c-max} e J_{max} da folha foram responsivos a eficiência no uso dos nutrientes (N, P, Ca, K, Mg). Foi observado que em comparação ao N, os baixos conteúdos de P foliar e a alta relação N/P levam a sugerir que o P tem maior chance de ser elemento limitante nas espécies estudadas. Além disso, a luminosidade no sub-bosque pode contribuir para a melhor eficiência no uso do N e P. Além disso, a média do crescimento em altura de 80 mm ano^{-1} indica que as arvoretas utilizadas no estudo (1 a 3 m) podem levar em torno de 400 a 500 anos para atingir o dossel da floresta, assumindo uma taxa de crescimento constante.

Os resultados aqui apresentados indicam fortemente a necessidade de mais estudo sobre o papel dos ritmos circadianos no funcionamento dos estômatos e assimilação de CO_2 em espécies florestais da Amazônia Central. Pesquisas futuras devem se concentrar em elucidar a influência dos ritmos circadianos no desempenho estomático das plantas sob estresse hídrico, pois alguns modelos climáticos globais prognosticam um aumento do período de seca para esta região da Amazônia.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aerts, R.; Chapin, F.S. 2000. The mineral nutrition of wild plants revisited: A re-evaluation of processes and patterns. *Advances in Ecological Research*, 30: 1-67.
- Allen, M.T.; Percy, R.W. 2000. Stomatal behavior and photosynthetic performance under dynamic light regimes in a seasonally dry tropical rain forest. *Oecologia*, 122: 470-478.
- Arnon, D.I. 1949. Copper enzymes in isolated chloroplasts: Polyphenoloxidase in *Beta Vulgaris*. *Plant Physiology*, 24:1-15.
- Assmann, S.M. 1999. The cellular basis of guard cell sensing of rising CO₂. *Plant Cell and Environment*, 22: 629-637.
- Azevedo, G.F.C.; Marengo, R.A. 2012. Growth and physiological changes in saplings of *Minuartia guianensis* and *Swietenia macrophylla* during acclimation to full sunlight. *Photosynthetica*. 50: 86-94.
- Barroso, D.G.; Figueiredo, F.A.M.M.A.; Pereira, R.C.; Mendonça, A.V.R.; Silva, L.C. 2005. Diagnóstico de deficiências de macronutrientes em mudas de teca. *Revista Árvore*, 29: 671-679.
- Björkman, O. 1981. Responses to different quantum flux densities. In: Lange, O.; Nobel, P.; Osmond, C.; Ziegler, H. (Ed.). *Encyclopedia of Plant Physiology - Physiological Plant Ecology*, 12A. Springer-Verlag, Berlin, p.57-107.
- Björkman, O.; Demmig, B. 1987. Photon yield of O₂ evolution and chlorophyll fluorescence characteristics at 77 K among vascular plants of diverse origins. *Planta*, 170: 489-504.
- Boardman, N.K. 1977. Comparative photosynthesis of sun and shade plants. *Annual Review of Plant Physiology*, 28: 355-377.
- Boyer, J.S.; Wong, S.C.; Farquhar, G.D. 1977. CO₂ and water vapor exchange across leaf cuticle (epidermis) at various water potentials. *Plant Physiology*, 114: 185-191.
- Brooks, A. & Farquhar, G.D. 1985. Effects of temperature on the CO₂/O₂ specificity of ribulose-1, 5-bisphosphate carboxylase/oxygenase and the rate of respiration in the light. *Planta*, 165: 397-406.
- Brown, M.S.; Bethlenfalvay, G.J. 1988. The *Glycine-Glomus-Rhizobium* symbiosis VII. Photosynthetic nutrient-use efficiency in nodulated, mycorrhizal soybeans. *Plant Physiology*, 86: 1292-1297.

- Buckley, T.N. 2005. The control of stomata by water balance. *New Phytologist*, 168: 275-292.
- Caemmerer, S. Von. 2000. *Biochemical models of leaf photosynthesis*. CSIRO Publishing, Canberra, 165 p.
- Carswell, F.E.; Meir P.; Wandelli, E.V.; Bonates, L.C.M.; Kruijt, B.; Barbosa, E.M.; Nobre, A.D.; Grace, J.; Jarvis, P.G. 2000. Photosynthetic capacity in a central Amazonian rain forest. *Tree Physiology*, 20: 179-186.
- Casson, S.; Gray, J.E. 2008. Influence of environmental factors on stomatal development. *New Phytologist*, 178: 9-23.
- Chabot, B.F.; Hicks, D.J. 1982. The Ecology of leaf life spans. *Annual Review of Ecology and Systematics*. 13: 229-259.
- Chapin, F.S. 1980. The Mineral nutrition of wild plants. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 11: 233-260.
- Chia-looi, A.S.; Cumming B.G. 1972. Circadian rhythms of dark respiration, flowering, net photosynthesis, chlorophyll content, and dry weight changes in *Chenopodium rubrum*. *Canadian Journal of Botany*, 50: 2219-2226.
- Clark, D.B.; Palmer, M.; Clark, D.A. 1999. Edaphic factors and the landscape-scale distribution of tropical rain forest trees. *Ecology*, 80: 2662-2675.
- Clark, D.A.; Clark, D.B. 2001. Getting to the canopy: Tree height growth in a neotropical rain forest. *Ecology*, 82: 1460-1472.
- Cordell, S.; Goldstein, G.; Meinzer F.C.; Vitousek, P.M. 2001. Regulation of leaf life-span and nutrient-use efficiency of *Metrosideros polymorpha* trees at two extremes of a long chronosequence in Hawaii. *Oecologia*, 127: 198-206.
- Cox, P.M.; Betts, R.A.; Jones, C.D.; Spall, S.A.; Totterdell, I.J. 2000. Acceleration of global warming due to carbon-cycle feedbacks in a coupled climate model. *Nature*, 408:184-187.
- Cox, P.M.; Betts, R.A.; Collins, M.; Harris, P.P.; Huntingford, C.; Jones, C.D. 2004. Amazonian forest dieback under climate carbon cycle projections for the 21st century. *Theoretical and Applied Climatology*, 78: 137-156.
- De Pury, D.G.G.; Farquhar, G.D. 1997. Simple scaling of photosynthesis from leaves to canopies without the errors of big-leaf models models. *Plant Cell and Environment*, 20: 537-557.
- Denslow, J.S.; Schultz, J.C.; Vitousek, P.M.; Strain, B.R. 1990. Growth responses of tropical shrubs to treefall gap environments. *Ecology*, 71: 165-179.
- Deitzer, G.F.; Frosch, S.H. 1990. Multiple action of far-red light in photoperiodic induction and circadian rhythmicity. *Photochemistry and photobiology*, 52: 173-179.

- Dias, D.P. 2009. *Fotossíntese e crescimento em diâmetro de árvores em função da temperatura e da precipitação numa floresta primária de terra firme na Amazônia Central*. Tese de doutorado, Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia/Fundação Universidade do Amazonas, Manaus, Amazonas. 123 pp.
- Dodd, A.N.; Salathia, N.; Hall, A.; Kévei, E.; Tóoth, R.; Nagy, F.; Hibberd, J.M.; Millar, A.J.; Webb, A.A.R. 2005. Plant circadian clocks increase photosynthesis, growth, survival, and competitive advantage, *Science*, 309: 630- 633.
- Doughty, C.E.; Goulden, M.L.; Miller, S.D.; Rocha, H.R. 2006. Circadian rhythms constrain leaf and canopy gas exchange in an Amazonian forest. *Geophysical Research Letters*, 33: 1-5.
- Dowson-day, M.J.; Millar, A.J. 1999. Circadian dysfunction causes aberrant hypocotyl elongation patterns in *Arabidopsis*. *The Plant Journal*, 17: 63-71.
- Edwards, K.D.; Anderson, P.E.; Hall, A.; Salathia, N.S.; Locke, J.C.; Lynn, J.R.; Straume, M.; Smith, J.Q.; Millar, A.J. 2006. *Flowering Locus C* mediates natural variation in the high temperature response of the *Arabidopsis* circadian clock. *The Plant Cell*, 18: 639-650.
- Ellsworth, D.; Reich, P.B.; Naumburg, E.S. Koch, G.W.; Kubiske, M.E.; Smith, S.D. 2004. Photosynthesis, carboxylation and leaf nitrogen responses of 16 species to elevated CO₂ across four free-air CO₂ enrichment experiments in forest, grassland and desert. *Global Change Biology*, 10: 2121-2138.
- Evans, J.R.1983. Nitrogen and photosynthesis in the flag leaf of wheat (*Triticum-Aestivum* L). *Plant Physiology*, 72: 297-302.
- Evans J. R.; Terashima I. 1988. Photosynthetic characteristics of spinafre leaves grown with different nitrogen treatment. *Plant Cell Physiology*, 29: 157-165.
- Farquhar G.D.; Von Caemmerer, S.; Berry, J.A. 1980. A biochemical model of photosynthetic CO₂ assimilation in leaves of C₃ species. *Planta*, 149: 78-90.
- Fetcher, N.; Oberbauer, S.F.; Chazdon, R.L. 1994. Physiological ecology of plants, p.128-141. *In La Selva: ecology and natural history of a neotropical rain forest*, Mcdade, L.A.; Bawa, K.S.; Hespeneide, H.A.; Hartshorn, G.S., Eds. The University of Chicago Press: Chicago, London; p.486.
- Fredeen, A. L.; Hennessey, T. L.; Field, C. B. 1991. Biochemical correlates of the circadian rhythm in photosynthesis in *Phaseolus vulgaris*. *Plant Physiology*, 97: 415-419.
- Fyllas, N.M.; Patiño, S.; Baker, T.R. et al. 2009. Basin-wide variations in foliar properties of Amazonian forest: phylogeny, soil and climate. *Biogeosciences*, 6: 2677-2708.
- Gentry, A.H. 1988. Tree species richness of upper Amazonian forests. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 85: 156-159.

- Gifford, R.M.; Evans, L.T. 1981. Photosynthesis, carbon partitioning, and yield. *Annual Review of Plant Physiology*, 32: 485-509.
- Gorton, H.L.; Williams, W.E.; Assman, S.M. 1993. Circadian rhythms in stomatal responsiveness to red and blue light. *Plant Physiology*, 103: 399-406.
- Gorton, H.L.; Williams, W.E.; Binns, M.E.; Gemmell, C.N.; Leheny, E.A.; Shepherd, A.C. 1989. Circadian stomatal rhythms in epidermal peels from *Vicia faba*. *Plant Physiology*, 90: 1329-1334.
- Green, R.M.; Tingay, S.; Wang Z.Y.; Tobin, E.M. 2002. Circadian rhythms confer a higher level of fitness to *Arabidopsis* plants. *Plant Physiology*, 129: 576-584.
- Güsewell, S.; Koerselman, W. 2002. Variation in nitrogen and phosphorus concentrations of wetland plants. *Perspectives in Ecology, Evolution and Systematics*, 5: 37-61.
- Güsewell, S.N. 2004. N:P ratios in terrestrial plants: variation and functional significance. *New Phytologist*, 164: 243-266.
- Harley, P.C.; Loreto, F.; Di Marco, G.; Sharkey, T.D. 1992. Theoretical considerations when estimating the mesophyll conductance to CO₂ flux by analysis of the response of photosynthesis to CO₂. *Plant Physiology*, 98: 1429-1436.
- Harmer, S.L.; Hogenesch, J.B.; Straume, M.; Chang, H.S.; Han, B.; Zhu T.; Wang, X.; Kreps, J.A.; Kay S.A. 2000. Orchestrated transcription of key pathways in *Arabidopsis* by the circadian clock. *Science*, 290: 2110-2113.
- Hendry, G.A.F.; Price, A.H. 1993. Stress indicators: chlorophylls and carotenoids. In: Hendry, G.A.F.; Grime, J.P. *Methods in comparative plant ecology*. Chapman & Hall, London, 148-152.
- Hennessey, T.L.; Field, C.B. 1991. Circadian rhythms in photosynthesis: oscillations in carbon assimilation and stomatal conductance under constant conditions. *Plant Physiology*, 96: 831-836.
- Hidaka, A.; Kitayama, K. 2009. Divergent patterns of photosynthetic phosphorus-use efficiency versus nitrogen-use efficiency of tree leaves along nutrient-availability gradients. *Journal of Ecology*, 97: 984-991.
- Hikosaka, K.; Terashima, I. 1995. A model of the acclimation of photosynthesis in the leaves of C₃ plants to sun and shade with respect to nitrogen use. *Plant, Cell and Environment*, 18: 605-618.
- Hikosaka, K. 2004. Interspecific difference in the photosynthesis-nitrogen relationship: patterns, physiological causes, and ecological importance. *Journal of Plant Research*, 117: 481-494.

- Hiremath, A.J. 2000. Photosynthetic nutrient-use efficiency in three fast-growing tropical trees with differing leaf longevities. *Tree Physiology*, 20: 937-944.
- Holmes, M.G.; Klein, W.H. 1986. Photocontrol of Dark Circadian Rhythms in Stomata of *Phaseolus vulgaris* L. *Plant Physiology*, 82: 28-33.
- Hopmans, P.A.M. 1971. Rhythms in stomatal opening of bean leaves. *Mededeligen Landbouwhoogeschool Wageningen*, 71: 1-77.
- Horton, J.L.; Neufeld, H.S. 1998. Photosynthetic responses of *Microstegium vimineum* (Trin.) A. Camus, a shade-tolerant, C₄ grass, to variable light environments. *Oecologia*, 114: 11-19.
- Hotta, C.T.; Gardner, M.J.; Hubbard, K.E.; Baek S.J.; Dalchau N.; Suhita D.; Dodd, A.N.; Webb, A.A.R. 2007. Modulation of environmental responses of plants by circadian clocks. *Plant, Cell and Environment*, 30: 333-349.
- Hrstka, M.; Urban, O.; Petru, E.; Babák, L. 2007. Diurnal regulation of ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase activity and its content in *Norway spruce* needles. *Photosynthetica*, 45: 334-339.
- Jia, Y.; Gray, V.M. 2004. Influence of phosphorus and nitrogen on photosynthetic parameters and growth in *Vicia faba* L. *Photosynthetica*, 42: 535-542.
- Johnson, C.H.; Knight, M.R.; Kondo, T.; Masson, P.; Sedbrook, J.; Haley, A.; Trewavas, A. 1995. Circadian oscillations of cytosolic and chloroplastic free calcium in plants. *Science*, 269: 1863-1865.
- Kaiser, H.; Kappen, L., 2000. *In situ* observation of stomatal movements and gas exchange of *Aegopodium podagraria* L. in the understorey. *Journal of Experimental Botany*, 51: 1741-1749.
- Kitajima, K; Mulkey, S.S.; Wright, S.J. 1997. Decline of photosynthetic capacity with leaf age in relation to leaf longevities for five tropical canopy tree species. *American Journal of Botany*, 84: 702-708.
- Koerselman, W.; Meuleman, A.F.M. 1996. The vegetation N:P ratio: A new tool to detect the nature of nutrient limitation. *Journal of Applied Ecology*, 33: 1441-1450.
- Köppen, W. 1936. Das geographische System der Klimate. In. KÖPPEN, W.; GEIGER, R. (Ed.). *Handbuch der Klimatologie*. Gebrüder Bornträger, Berlin, p. C1-C44.
- Kumar, A.; Turner, N. C.; Singh, D. P.; Singh, P.; Barr, M. 1999. Diurnal and seasonal patterns of water potential, photosynthesis, evapotranspiration and water use efficiency of clusterbean. *Photosynthetica*, 37: 601-607.
- Kursar, T.A.; Coley, P.D. 1999. Contrasting modes of light acclimation in two species of the rainforest understorey. *Oecologia*, 121: 489-498.

- Laisk, A.; Eichelmann, H.; Oja, V.; Rasulov, B.; Padu, E.; Bichele, I.; Pettai, H.; Kull, O. 2005. Adjustment of leaf photosynthesis to shade in a natural canopy: rate parameters. *Plant, Cell and Environment*, 28: 375-388.
- Lauer, M.J.; Pallardy, S.G.; Belvins, D.G.; Randall, D.D. 1989. Whole leaf carbon exchange characteristics of phosphate deficient soybean (*Glycine max L.*). *Plant Physiology*, 91: 848-854.
- Lewis, S.L.; Malhi, Y.; Phillips, O.L. 2004. Fingerprinting the impacts of global change on tropical forests. *Philosophical Transactions of the Royal Society*, 359: 437-462.
- Long, S.P.; Bernacchi, C.J. 2003. Gas exchange measurements, what can they tell us about the underlying limitations to photosynthesis? Procedures and sources of error. *Journal of Experimental Botany*, 54: 2393-2401.
- Lopez, M.; Bousser, A.S.; Sissoeff, I.; Gaspar, M.; Lachaise, B.; Hoarau, J.; Mahe, A. 2003. Diurnal regulation of water transport and aquaporin gene expression in maize roots: Contribution of PIP2 proteins. *Plant and Cell Physiology*, 44: 1384-1395.
- Magalhães, N.S.; Marengo, R.A.; Mendes, K.R. 2009. Aclimação de mudas de acariquara à alta irradiância. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 44: 687-694.
- Magalhães, N.S. 2010. *Crescimento e variação diurna da condutância estomática e taxas fotossintéticas de cinco espécies arbóreas da flora amazônica*. Dissertação de Mestrado, Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Manaus, Amazonas. 77pp.
- Mansfield, T.A.; Heath, O.V.S. 1963. Studies in stomatal behaviour: IX Photoperiodic effects on rhythmic phenomena in *Xanthium pennsylvanicum*. *Journal of Experimental Botany*, 14:334-352.
- Manter, D.K.; Kerrigan, J. 2004. A/C_i curve analysis across a range of woody plant species: influence of regression analysis parameters and mesophyll conductance. *Journal of Experimental Botany*, 55: 2581-2588.
- Marengo, R.A.; Antezana-Vera, A.S.; Nascimento, H.C.S.; 2009. Relationship between specific leaf area, leaf thickness, leaf water content and SPAD-502 readings in six Amazonian tree species. *Photosynthetica*, 47: 184-190.
- Marengo, R.A.; Vieira, G. 2005. Specific leaf area and photosynthetic parameters of tree species in the forest understorey as a function of the microsite light environment in central Amazonia. *Journal of Tropical Forest Science*, 17: 265-278.

- Marenco, R.A.; Siebke, K.; Farquhar, G.D.; Ball, M.C. 2006. Hydraulically based stomatal oscillations and stomatal patchiness in *Gossypium hirsutum*. *Functional Plant Biology*, 33: 1103-1113.
- Maruyama, Y.; Nakamura, S.; Marenco, R.A.; Vieira, G.; Sato, A. 2005. Photosynthetic traits of seedlings of several tree species in an Amazonian forest. *Tropics*, 14: 211-219.
- Marschner, H. 1995. Mineral nutrition of higher plants. 2nd edn. *Academic Press, London*.
- McClung, C.R. 2001. Circadian rhythms plant. *Annual Review of Plant Biology*, 52: 139-162.
- McClung, C.R. 2006. Plant circadian rhythms. *The Plant Cell*, 18: 792-803.
- McMillen, G.G.; McClendon, J.H., 1983. Dependence of photosynthetic rates on leaf density thickness in deciduous woody plants grown in sun and shade. *Plant Physiology*, 72: 674-678.
- Medlyn, B.E.; Badeck, F.-W.; De Pury, D.G.G.; Barton, C.V.M.; Broadmeadow, M.; Ceulemans, R.; De Angelis, P.; Forstreuter, M.; Jach, M.E.; Kellomäki, S.; Laitat, E.; Marek, M.; Philippot, S.; Rey, A.; Strassemeier, J.; Laitinen, K.; Liozon, R.; Portier, B.; Roberntz, P.; Wang, K.; Jarvis, P.G. 1999. Effects of elevated [CO₂] on photosynthesis in European forest species: a meta-analysis of model parameters. *Plant Cell and Environment*, 22: 1475-1495.
- Melillo, J.M.; McGuire, A.D.; Kicklighter, D.W.; Moore, B.; Vorosmarty, C.J.; Schloss, A.L. 1993. Global Climate Change and Terrestrial Net Primary Production. *Nature*, 363: 234-240
- Mendes, K.R.; Marenco, R.A. 2010. Leaf traits and gas exchange in saplings of native tree species in the Central Amazon. *Scientia Agricola*, 67: 624-632.
- Myers, N.; Mittermeier, R.A.; Mittermeier, C.G.; Fonseca, G.A.B.; Kent, J. 2000. Biodiversity hotspots for conservation priorities. *Nature*, 403: 853-858.
- Michael, T.P.; Salomé, P.A.; Yu, H.J.; Spencer, T.R.; Sharp, E.L.; Mcpeek, M.A.; Alonso, J.M.; Ecker, J.R.; McClung, R. 2003. Enhanced fitness conferred by naturally occurring variation in the circadian clock. *Science*, 302: 1049-1053.
- Mittermeier, R.A.; Mittermeier, C.G.; Brooks, T.M.; Pilgrim, J.D.; Konstant, W.R.; Fonseca, G.A.B.; Kormos, C. , 2003. Wilderness and Biodiversity Conservatio. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 100: 10309-10313.
- Mohoti, A.J.; Lawlor, D.W. 2002. Diurnal variation of photosynthesis and photoinhibition in tea: effects of irradiance and nitrogen supply during growth in the field. *Journal of Experimental Botany*, 53: 313-322.
- Monteith, J.L. 1995. A reinterpretation of stomatal responses to humidity. *Plant Cell and Environment*, 18: 357-364.
- Mott, K. A.; Peak, D. 2007. Stomatal patchiness and task-performing networks. *Annals of Botany*, 99: 219-226.

- Mott, K. A.; Peak, D. 2010. Stomatal responses to humidity and temperature in darkness. *Plant Cell and Environment*, 33: 1084-1090.
- Nardoto, G.B.; Ometto, J.; Ehleringer, J.R.; Higuchi, N.; Bustamante, M.M.D.; Martinelli, L.A. 2008. Understanding the influences of spatial patterns on N availability within the Brazilian Amazon forest. *Ecosystems*, 11: 1234-1246.
- Nascimento, H.C.S. 2009. *Influência da luminosidade do sub-bosque no crescimento e características foliares de espécies arbóreas da Amazônia na fase juvenil*. Dissertação de Mestrado, Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Amazonas. 71 pp.
- Neilson, R.E.; Jarvis, P.G. 1975. Photosynthesis in *Sitka spruce* (*Picea sitchensis* (Bong) Carr). VI: response of stomata to temperature. *Journal of Applied Ecology*, 12: 879-891.
- Neves, O.S.C.; Benedito, D.S.; Machado, R.V.; Carvalho, J.G. 2004. Crescimento, produção de matéria seca e acúmulo de N, P, K, Ca, Mg e S na parte aérea de mudas de andiroba (*Carapa guianensis* Aubl.) cultivadas em solo de várzea, em função de diferentes doses de fósforo. *Revista Árvore*, 28: 343-349.
- Nicotra, A.B.; Chazdon, R.L.; Iriarte, S.V.B. 1999. Spatial heterogeneity of light and woody seedling regeneration in tropical wet forests. *Ecology*, 80: 1908-1926.
- Niinemets, Ü. 1999. Research review components of leaf dry mass per area – thickness and density – alter leaf photosynthetic capacity in reverse directions in woody plants. *New Phytology*, 144: 35-47.
- Niinemets, U.; Kull, K. 2003. Leaf structure vs. nutrient relationships vary with soil conditions in temperate shrubs and trees. *Acta Oecologica*, 24: 209-219.
- Ögren, E. 1993 Convexity of the photosynthetic light-response curve in relation to intensity and direction of light during growth. *Plant Physiology*, 101: 1013-1019.
- Oguchi, R.; Hikosaka, K.; Hirose, T. 2005. Leaf anatomy as a constraint for photosynthetic acclimation: differential responses in leaf anatomy to increasing growth irradiance among three deciduous trees. *Plant, Cell and Environment*, 28: 916-927.
- Onoda, Y.; Hikosaka, K.; Hirose, T. 2005. Seasonal change in the balance between capacities of RuBP carboxylation and RuBP regeneration affects CO₂ response of photosynthesis in *Polygonum cuspidatum*. *Journal of Experimental Botany*, 56: 755-763.
- Park, S.Y.; Furukawa, A. 1999. Photosynthetic and stomatal responses of two tropical and two temperate trees to atmospheric humidity. *Photosynthetica*, 36: 181-186.
- Parry, M.A.J.; Delgado, E.; Vadell, J.; Keys, A.J.; Lawlor, D.W.; Medrano, H. 1993. Water stress and the diurnal activity of ribulose-1, 5-bisphosphate carboxylase in field *Nicotina tabacum*

- genotypes selected for survival at low CO₂ concentrations. *Plant Physiology and Biochemistry*, 31: 113-120.
- Peak, D.; Mott, K.A. 2010. A new, vapour-phase mechanism for stomatal responses to humidity and temperature. *Plant Cell and Environment*, 34: 162-178.
- Pearcy, R.W. 1990. Sunflecks and photosynthesis in plant canopies. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 41: 421-453.
- Poorter, H.; Evans, J.R., 1998. Photosynthetic nitrogen-use efficiency of species that differ inherently in specific leaf area. *Oecologia*, 116: 26-37.
- Portis, A.R., Li, C.S., Wang, D.F., Salvucci, M.E. 2008. Regulation of Rubisco activase and its interaction with Rubisco. *Journal of Experimental Botany*, 59: 1597-1604.
- Pospíšilová, J.; Santrucek, J. 1994. Stomatal patchiness. *Biologia Plantarum*, 36: 481-510.
- Raaimakers, D.; Boot, R.G.A.; Dijkstra, R.; Pot, S.; Pons, T. 1995. Photosynthetic rates in relation to leaf phosphorus content in pioneer versus climax tropical rainforest trees. *Oecologia*, 102: 120-125.
- Reich, P.B.; Schoettle, A.W. 1988. Role of phosphorus and nitrogen in photosynthetic and whole plant carbon gain and nutrient use efficiency in eastern white pine. *Oecologia*, 77: 25-33.
- Reich, P.B.; Uhl, C.; Walters, M.B.; Ellsworth, D.S. 1991. Leaf lifespan as a determinant of leaf structure and function among 23 Amazonian tree species. *Oecologia*, 86: 16-24.
- Reich, P.B.; Walters, M.B.; Ellsworth, D.S.; Uhl, C. 1994. Photosynthesis-nitrogen relations in Amazonian tree species .I. Patterns among species and communities. *Oecologia*, 97: 62-72
- Reich, P.B.; Ellsworth, D.S.; Walters, M.B. 1998. Leaf structure (specific leaf area) modulates photosynthesis–nitrogen relations: evidence from within and across species and functional groups. *Functional Ecology*, 12: 948-958.
- Reich, P.B.; Ellsworth, D.S.; Walters, M.B.; Vose, J.M.; Gresham, C.; Volin, J.C.; Bowman, W.D. 1999. Generality of leaf trait relationships: A test across six biomes. *Ecology*, 80: 1955-1969.
- Rogers, C.A.; Powell, R.D.; Sharpe, P.J.H. 1979. Relationship of temperature to stomatal aperture and potassium accumulation in guard cells of *Vicia faba*. *Plant Physiology*, 63: 388-391.
- Sage, R.F.; Kubien, D.S. 2007. The temperature response of C₃ and C₄ photosynthesis. *Plant Cell and Environment*, 30: 1086-1106.
- Salvucci, M.E.; Crafts-Brander, S.J. 2004. Mechanism for deactivation of Rubisco under moderate heat stress. *Physiologia Plantarum*, 122: 513-519.
- Sellers, P.J.; Dickinson, R.E.; Randall, D.A. 1997. Modeling the exchanges of energy, water, and carbon between continents and the atmosphere. *Science*, 275: 502-509.

- Shimazaki, K.I.; Doi, M.; Assmann, S.M.; Kinoshita, T. 2007. Light regulation of stomatal movement. *Annual Review of Plant Biology*, 58: 219-247.
- Silva, F.C. 2009. *Handbook for chemical analysis in soil, plant and fertilizers*. 2nd edn. EMBRAPA (Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária), Brasília.
- Stålfelt, M.G. 1962. Effect of temperature on opening of the stomatal cells. *Physiologia Plantarum*, 15: 772-779.
- Townsend, A.R.; Cleveland, C.C.; Houlton, B.Z.; Alden, C.B.; White, J.W.C. 2011. Multi-element regulation of the tropical forest carbon cycle. *Frontiers in Ecology and the Environment*, 9: 9-17.
- Valladares, F.; Chico, J.M.; Aranda, I.; Balaguer, L.; Dizengremel, P.; Manrique, E.; Dreyer, E. 2002. The greater seedling high-light tolerance of *Quercus robur* over *Fagus sylvatica* is linked to a greater physiological plasticity. *Trees Structure and Function*, 16: 395-403.
- Valladares, F.; Niinemets, U. 2008. Shade tolerance, a key plant feature of complex nature and consequences. *Annual Review of Ecology Evolution and Systematics*, 39: 237-257.
- Vieira, S.; Trumbore, S.; Camargo, P.B.; Selhorst, D.; Chambers, J.Q.; Higuchi, N. 2005. Slow growth rates of Amazonian trees: consequences for carbon cycling. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 102: 18502-18507.
- Villar, R.; Held, A.A.; Merino, J. 1994. Comparison of methods to estimate dark respiration in the light in leaves of two woody species. *Plant Physiology*, 105: 167-172.
- Vitousek, P.M.; Sanford, R.L. 1986. Nutrient cycling in moist tropical forest. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 17: 137-167.
- Vitousek, P. M.; Howarth, R.W. 1991. Nitrogen limitation on land and in the sea: How can it occur? *Biogeochemistry*, 13: 87-115.
- Warren, C.R.; Adams, M.A. 2001. Distribution of N, Rubisco and photosynthesis in *Pinus pinaster* and acclimation to light. *Plant Cell and Environment*, 24: 597-609
- Warren, C.R. 2008. Soil water deficits decrease the internal conductance to CO₂ transfer but atmospheric water deficits do not. *Journal of Experimental Botany*, 59: 327-334.
- Webb, A.A.R. 1998. Stomatal rhythms. In biological rhythms and photoperiodism in plants. (Lumsden P.J.; Millar A.J.), p.66-79. *Bios Scientific Publications*, Oxford, UK.
- Webb, A.A.R. 2003. The physiology of circadian rhythms in plants. *New Phytologist*, 160: 281-30.
- Weih, M.; Asplund, L.; Bergkvist, G. 2011. Assessment of nutrient use in annual and perennial crops: A functional concept for analyzing nitrogen use efficiency. *Plant and Soil*, 339: 513-520.

- Wilson, C.C. 1948. The effect of some environmental factors on the movements of guard cells. *Plant Physiology*, 23: 5-37.
- Wright, I.J.; Westoby, M. 2002. Leaves at low versus high rainfall: coordination of structure, lifespan and physiology. *New Phytologist*, 155: 403-416.
- Wulschleger, S.D. 1993. Biochemical limitations to carbon assimilation in C₃ plants – a retrospective analysis of the A/C_i curves from 109 species. *J. Exp Bot*, 44: 907- 920.
- Yanovsky, M.J.; Kay, S.A. 2002. Molecular basis of seasonal time measurement in *Arabidopsis*. *Nature*, 419: 308-312.
- Young, M.W.; Kay, S.A. 2001. Time zones: a comparative genetics of circadian clocks. *Nature Reviews Genetics*, 2:702-715.

10. APÊNDICE – Ata da aula de qualificação e defesa oral.



Ministério da
Ciência e Tecnologia



AULA DE QUALIFICAÇÃO

PARECER

Aluno(a): KEILA RÉGO MENDES Curso: BOTÂNICA Nível: Doutorado Orientador(a): Ricardo Antonio Marengo (INPA)

Título:

"INFLUÊNCIA DOS RITMOS CIRCADIANOS NAS CARACTERÍSTICAS BIOQUÍMICAS DA FOLHA NUMA FLORESTA NATIVA DA AMAZÔNIA CENTRAL"

BANCA JULGADORA:

TITULARES:

FLORIAN KARL WITTMAN (INPA)
 JOAQUIM DOS SANTOS (INPA)
 ROSALEE A. COELHO NETTO (INPA)
 ZILVANDA LOURENÇO DE OLIVEIRA MELO (INPA)
 ANTÔNIO OCIMAR MANZI (INPA)

SUPLENTES:

HENRIQUE EDUARDO NASCIMENTO (INPA)
 ASTRID DE OLIVEIRA WITTMANN (INPA)

EXAMINADORES	PARECER	ASSINATURA
ANTONIO OCIMAR MANZI	<input checked="" type="checkbox"/> Aprovado	<input type="checkbox"/> Reprovado
HENRIQUE EDUARDO NASCIMENTO	<input checked="" type="checkbox"/> Aprovado	<input type="checkbox"/> Reprovado
JOAQUIM DOS SANTOS	<input checked="" type="checkbox"/> Aprovado	<input type="checkbox"/> Reprovado
ROSALEE A. COELHO NETTO	<input checked="" type="checkbox"/> Aprovado	<input type="checkbox"/> Reprovado
ZILVANDA L. OLIVEIRA MELO	<input checked="" type="checkbox"/> Aprovado	<input type="checkbox"/> Reprovado

Manaus(AM), 11 de dezembro de 2009.

OBS: _____

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA TROPICAL E RECURSOS NATURAIS
 DIVISÃO DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BOTÂNICA

Av. André Araújo, 2936 – Bairro: Aleixo – Caixa Postal: 478 – CEP: 69.060-001, Manaus/AM.

Fone: (+55) 92 3643-3119

Fax: (+55) 92 3643-3119

site: <http://pg.inpa.gov.br>

e-mail: cursobot@inpa.gov.br



ATA DA DEFESA PÚBLICA DA TESE DE
DOUTORADO DE DISCENTE DO PROGRAMA DE
PÓS-GRADUAÇÃO EM BOTÂNICA DO
INSTITUTO NACIONAL DE PESQUISAS DA
AMAZÔNIA

Aos onze dias do mês de dezembro do ano de 2012, às 14h30min, no mini auditório da casa da ciência do INPA, reuniu-se a Comissão Examinadora da Defesa Pública, composta pelos seguintes membros: **Dra. Maria Teresa Fernandez Piedade**, do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, **Dr. Joaquim dos Santos**, do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, **Dr. Antônio Ocimar Manzi**, do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, **Dr. Gustavo Maia Souza**, da Universidade do Oeste Paulista e **Dr. Jair Max Furtunato Maia**, da Universidade Estadual do Amazonas, tendo como suplentes **Dr. Hiroshi Noda**, do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia e o **Dr. Luiz Antonio Cândido**, do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, sob a presidência do primeiro, a fim de proceder a arguição pública da **TESE DOUTORADO** da discente **KEILA REGO MENDES**, intitulada “**INFLUÊNCIA DOS RITMOS CIRCADIANOS NA CONDUTÂNCIA ESTOMÁTICA E FOTOSSÍNTESE EM ESPÉCIES FLORESTAIS DA AMAZÔNIA CENTRAL NA FASE JUVENIL**”, sob a orientação Dr. Ricardo Antonio Marengo Mendoza. Após a exposição, dentro do tempo regulamentar, o (a) discente foi arguido (a) oralmente pelos membros da Comissão Examinadora, tendo recebido o conceito final:

APROVADO

REPROVADO

Nada mais havendo, foi lavrada a presente ata, que, após lida e aprovada, foi assinada pelos seguintes membros da Comissão Examinadora:

Dr(a). Maria Teresa Fernandez Piedade (INPA)

Maria Teresa Fernandez Piedade

Dr(a). Joaquim dos Santos (INPA)

Joaquim dos Santos

Dr(a). Antônio Ocimar Manzi (INPA)

Antônio Ocimar Manzi

Dr(a). Gustavo Maia Souza (UNOESTE)

Gustavo Maia Souza

Dr(a). Jair Max Furtunato Maia (UEA)

Jair Max Furtunato Maia

Alberto Vicentini
Alberto Vicentini
Coordenador do Programa de
Pós-Graduação em Botânica
PO. 272/2012 DCBO/INPA