

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS



**ESTRATÉGIAS ADAPTATIVAS DE ESPÉCIES ARBÓREAS
TÍPICAS DE AMBIENTE DO SOLO HIDRICAMENTE SATURADO:
UMA ABORDAGEM MORFOLÓGICA, BIOQUÍMICA
E ECOFISIOLÓGICA.**

Tese apresentada ao Instituto de Biologia da
Universidade Estadual de Campinas, como
parte das exigências para a obtenção do
título de doutor em Biologia Vegetal.

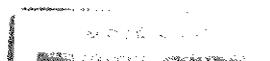
Patricia Carneiro Lobo-Faria

Orientador: Prof. Dr. Carlos Alfredo Joly

1998

Este exemplar corresponde à redação final
da tese defendida pelo(a) candidato(a)
Patricia Carneiro Lobo-Faria
e aprovada pela Comissão Julgadora
16/11/98

0404044



UNIDADE	BC
N.º CHAMADA:	TAN. A. 2
	1. Blec
V.	Ex.
TOMBO BC	36484
PROC.	229.199
C	<input type="checkbox"/>
D	<input checked="" type="checkbox"/>
PREÇO	R\$ 11,00
DATA	05/02/99
N.º CPD	

CM-00120725-1

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DO INSTITUTO DE BIOLOGIA - UNICAMP

Lobo-Faria, Patrícia Carneiro

L786e Estratégias adaptativas de espécies arbóreas típicas de ambiente do solo hidricamente saturado: uma abordagem morfológica, bioquímica e ecofisiológica / Patrícia Carneiro Lobo-Faria -- Campinas, SP: [s.n.], 1998.
146f.:ilus

Orientador: Carlos Alfredo Joly

Tese (doutorado) - Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Biologia.

1. Demografia. 2. Germinação. 3. Fotossíntese. I. Joly, Carlos Alfredo. II. Universidade Estadual de Campinas. Instituto de Biologia. III. Título.

Campinas, 16 de novembro de 1998.

Banca examinadora:

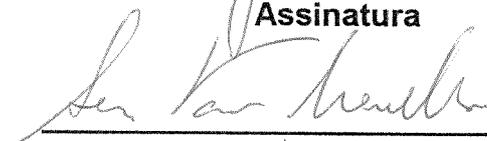
Titulares:

Prof. Dr. Fábio Rúbio Scarano



Assinatura

Prof. Dr. Sérgio Tadeu Meirelles



Assinatura

Prof. Dr. Marcos Silveira Buckeridge



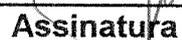
Assinatura

Prof. Dr. Flávio Antonio Maes dos Santos



Assinatura

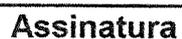
Prof. Dr. Carlos Alfredo Joly



Assinatura

Suplentes:

Prof. Dr. Angelo Cortelazzo



Assinatura

Prof. Dr. Ladaslav Sodek



Assinatura

**Este trabalho é dedicado aos meus pais, irmãos, ao Murilo e ao
Ed que sempre perderam a competição pela minha atenção
para esta tese**

Agradecimentos:

Ao longo dos 5 anos de dedicação a esta tese, muitas pessoas participaram direta ou indiretamente, colaborando, então, com a minha formação após tantas experiências vividas e “sofridas”. A todas o meu agradecimento, e em especial...

Ao meu orientador, prof. Dr. Carlos Alfredo Joly, por ter me proporcionado muitas oportunidades de amadurecimento profissional e pessoal, e pela orientação ao longo destes já quase oito anos de convivência

Aos membros da pré-banca, professores Fábio R. Scarano, Sérgio T. Meirelles e Flávio M. dos Santos, pelas valiosas críticas e sugestões

À Carmen Zieckel, uma grande amiga e companheira de todas as horas

Ao amigo Luis C. Bernacci, por me apresentar o “brejo” da Santa Genebra, pelas boas conversas ao pé das árvores nas nossas maratonas de campo, só equiparadas às nossas idas aos “campos” de futebol...

Aos meus colegas de pós-graduação, especialmente os que compartilharam momentos desde o mestrado, dividindo alegrias, tristezas, preocupações: Alan, Ângela, Ingrid, Renato, Luis, Cláudio Mueller, Simone, Geraldo, Pedroni, Maryland, Andréa, Main, Fábio, Luciana, Teresa, João Luis

À Milene, por me acompanhar na mata e assim tornar um trabalho difícil menos árduo

À Rosana, por ter partilhado comigo, com paciência e carinho, os momentos mais difíceis durante a conclusão desta tese

A todos os docentes do Departamento de Botânica da UNICAMP

Aos funcionários do departamento de Botânica, pelo apoio sempre prestativo, em especial à Isabel e à Ana Lúcia pela imensa colaboração no laboratório, e ao João Carlos e ao Renatão por todo esforço e auxílio na coleta de frutos

Ao Eduardo Arcoverde de Matos, pela paciência e ensinamentos sobre o IRGA e o fluorômetro, este agradecimento também se estende ao Sérgio Tadeu!!!

Ao pesq. Dr. Marcos Buckeridge e prof. Dr. Ângelo Cortelazzo, pelo auxílio na determinação das reservas nas sementes

Aos colegas do departamento de Botânica da UFJF, sobretudo ao Geraldo L. Soares por tanto me ouvir falar em terminar a tese e colaborar com todo apoio, e à Andréa P. Luizi-Ponzo, pelas correções no abstract

Aos meus pais, irmãos e querido sobrinho Murilo, que sempre compreenderam a minha ausência, e me estimularam, compensando a saudade e aliviando as minhas preocupações sempre com muito carinho

Ao Ed, por sua ajuda nos trabalhos de campo e com o computador, dividindo comigo todas as fases deste trabalho e pelo extremo exemplo de companheirismo, compreensão e amor sem fim

Às instituições que apoiaram esta pesquisa: CAPES e FAPESP

À Fundação José Pedro de Oliveira pela autorização para a realização deste trabalho, assim como aos funcionários da Reserva de Santa Genebra pela simpatia e presteza

Ao professor Hermógenes de Freitas Leitão Filho, in memoriam, pelo exemplo que sempre foi, a minha homenagem

Índice:

Agradecimentos.....	iv
Índice	vi
Lista de tabelas	viii
Lista de figuras	ix
Resumo	xi
Abstract	xiii
Introdução geral	1
Caracterização da área de estudo	4
Caracterização das espécies	5
Capítulo I: Aspectos demográficos de 5 espécies arbóreas da mata de brejo da Reserva de Santa Genebra, Campinas, SP.	7
Introdução	8
Material e métodos	11
Área de estudo	11
Flutuação do lençol freático	11
Estudo demográfico	12
Resultados	14
Flutuação do lençol freático	14
Aspectos demográficos	15
Discussão.....	28
Capítulo II: Aspectos ecofisiológicos e metabólicos da germinação de 5 espécies arbóreas tropicais, típicas de ambiente com solo hidricamente saturado.	35
Introdução	36
Material e métodos	41
Coleta de sementes	41
Efeito da normoxia, hipoxia e anoxia na germinação	41
Efeito da normoxia, hipoxia e anoxia na produção de etanol, lactato e malato	42
Efeito da hipoxia e anoxia na viabilidade das sementes	42
Identificação e quantificação das reservas das sementes	43
Análise estatística	44
Resultados	44

Discussão	55
Capítulo III: Efeito do alagamento nas características morfo-anatômicas e no metabolismo radicular de 5 espécies arbóreas da mata de brejo da Reserva de Santa Genebra, Campinas, SP.	62
Introdução	63
Material e métodos	70
Resultados	72
Modificações morfo-anatômicas	72
Metabolismo radicular – acúmulo de etanol, lactato e malato.....	76
Discussão.....	81
Capítulo IV: Efeito do alagamento no crescimento e nas respostas fotossintéticas de cinco espécies arbóreas da mata de brejo da Reserva de Santa Genebra, Campinas, SP.	89
Introdução	90
Material e métodos	94
Crescimento	95
Fotossíntese	95
Análise estatística	96
Resultados	97
Crescimento	97
Fotossíntese	99
Discussão	105
Considerações Finais	109
Referências bibliográficas	116

Lista de Tabelas:

Tabela 1.1 - Taxas de mortalidade em diferentes classes de tamanho em 5 espécies arbóreas da mata de brejo da Reserva de Santa Genebra.	19
Tabela 2.1 - Características da germinação de 5 espécies arbóreas da mata de brejo da Reserva de Santa Genebra, Campinas, SP.	45
Tabela 2.2 - Efeito da hipoxia e anoxia na viabilidade das sementes de 5 espécies arbóreas da mata de brejo da Reserva de Santa Genebra, Campinas, SP.	45
Tabela 2.3 - Principais reservas de sementes de 3 espécies arbóreas da mata de brejo da Reserva de Santa Genebra, Campinas, SP.	46
Tabela 2.4 - Produção de etanol em sementes de <i>Protium heptaphyllum</i> mantidas em hipoxia.	48
Tabela 2.5 – Conteúdo de etanol nas sementes de <i>Cariniana estrelensis</i> mantidas em hipoxia.	52
Tabela 2.6 - Produção de etanol em sementes de <i>Pseudobombax grandiflorum</i> mantidas em hipoxia.	54
Tabela 3.1 - Porosidade radicular de plantas crescidas em condições controle e alagadas por 60 dias.	75
Tabela 4.1 - Massa de matéria seca de 5 espécies de mata de brejo após 30 e 60 dias de crescimento em condições de capacidade de campo e de alagamento.	98

Lista de Figuras:

Figura 1.1 - Flutuação do lençol freático e precipitação mensal em um trecho de mata de brejo da Reserva de Santa Genebra, Campinas, SP.	15
Figura 1.2 – Padrão espacial da população de <i>Tapirira guianensis</i> , mortalidade e natalidade em um trecho de 0,3ha de mata de brejo da Reserva de Santa Genebra, Campinas, SP.	17
Figura 1.3 - Estrutura de tamanho da população de <i>Tapirira guianensis</i> em um trecho de 0,3ha de mata de brejo na Reserva de Santa Genebra, Campinas, SP.	18
Figura 1.4 – Padrão espacial da população de <i>Protium heptaphyllum</i> , mortalidade e natalidade em um trecho de 0,3ha de mata de brejo da Reserva de Santa Genebra, Campinas, SP.	21
Figura 1.5 - Estrutura de tamanho da população de <i>Protium heptaphyllum</i> em um trecho de 0,3ha de mata de brejo na Reserva de Santa Genebra, Campinas, SP.	22
Figura 1.6 – Padrão espacial da população de <i>Talauma ovata</i> , mortalidade e natalidade em um trecho de 0,3 ha de mata de brejo da Reserva de Santa Genebra, Campinas, SP.	23
Figura 1.7 - Estrutura de tamanho da população de <i>Talauma ovata</i> em um trecho de 0,3 ha. de mata de brejo na Reserva de Santa Genebra, Campinas, SP.	24
Figura 1.8 – Padrão espacial da população de <i>Cariniana estrelensis</i> , mortalidade e natalidade em um trecho de 0,3 ha de mata de brejo da Reserva de Santa Genebra, Campinas, SP.	25
Figura 1.9 - Estrutura de tamanho da população de <i>Cariniana estrelensis</i> em um trecho de 0,3 ha de mata de brejo na Reserva de Santa Genebra, Campinas, SP.	26
Figura 1.10 – Padrão espacial da população de <i>Pseudobombax grandiflorum</i> , mortalidade e natalidade em um trecho de 0,3 ha de mata de brejo da Reserva de Santa Genebra, Campinas, SP.	27
Figura 1.11 - Estrutura de tamanho da população de <i>Pseudobombax grandiflorum</i> em um trecho de 0,3 ha de mata de brejo na Reserva Municipal de anta Genebra, Campinas, SP.	28
Figura 2.1 – Conteúdo de etanol, lactato e malato em sementes de <i>Protium heptaphyllum</i> após embebição em condições de normoxia, hipoxia e anoxia. ...	47
Figura 2.2 – Conteúdo de etanol, lactato e malato em sementes de <i>Talauma ovata</i> após embebição em condições de normoxia, hipoxia e anoxia.	49

Figura 2.3 – Conteúdo de etanol, lactato e malato em sementes de <i>Cariniana estrelensis</i> após embebição em condições de normoxia, hipoxia e anoxia.	51
Figura 2.4 – Conteúdo de etanol, lactato e malato em sementes de <i>Pseudobombax grandiflorum</i> após embebição em condições de normoxia, hipoxia e anoxia.	53
Figura 3.1 – Efeito do alagamento na hipertrofia de lenticelas e formação de raízes adventícias em plantas jovens de cinco espécies arbóreas da mata de brejo da Reserva de Santa Genebra, Campinas SP.	73
Figura 3.2 – Efeito de sessenta dias de alagamento na integridade do sistema radicular em plantas jovens de cinco espécies arbóreas da mata de brejo da Reserva de Santa Genebra, Campinas SP.	74
Figura 3.3 - Conteúdo de etanol, lactato e malato em raízes de <i>Tapirira guianensis</i> alagadas.	76
Figura 3.4 - Conteúdo de etanol, lactato e malato em raízes de <i>Protium heptaphyllum</i> alagadas.	78
Figura 3.5 - Conteúdo de etanol, lactato e malato em raízes de <i>Talauma ovata</i> alagadas.	79
Figura 3.6 - Conteúdo de etanol, lactato e malato em raízes de <i>Cariniana estrelensis</i> alagadas.	80
Figura 3.7 - Conteúdo de etanol, lactato e malato em raízes de <i>Pseudobombax grandiflorum</i> alagadas.	81
Figura 4.1 – Assimilação de CO ₂ em plantas controle e alagadas de 5 espécies arbóreas da mata de brejo da Reserva de Santa Genebra, Campinas, SP.	100
Figura 4.2 – Condutância estomática ao vapor d'água em plantas controle e alagadas de 5 espécies arbóreas da mata de brejo da Reserva de Santa Genebra, Campinas, SP.	102
Figura 4.3 – Eficiência fotoquímica do PS II (Fv/Fm) em plantas controle e alagadas de 5 espécies arbóreas da mata de brejo da Reserva de Santa Genebra, Campinas, SP.	103

Resumo: Estratégias adaptativas de espécies arbóreas típicas de ambiente de solo hidricamente saturado: uma abordagem morfológica, bioquímica e ecofisiológica: A saturação hídrica do solo leva a uma rápida exaustão do O₂, o que limita processos como a germinação, o estabelecimento e o crescimento das plantas. Foram objetivos deste trabalho caracterizar alguns aspectos demográficos, identificar as estratégias de sementes e plantas de 5 espécies arbóreas, assim como correlacioná-las com a abundância de cada espécie. Em um trecho de 0,3ha. da área de mata de brejo da Reserva de Santa Genebra, foram localizados e marcados 1853 indivíduos de *Tapirira guianensis*, 287 de *Protium heptaphyllum*, 155 de *Talauma ovata*, 83 de *Cariniana estrelensis* e 52 de *Pseudobombax grandiflorum*, que distribuem-se de forma agregada. As populações de *T. guianensis*, de *P. heptaphyllum* e de *T. ovata* apresentaram um predomínio de indivíduos jovens enquanto as de *C. estrelensis* e de *P. grandiflorum* mostraram um maior número de indivíduos adultos. A frutificação não foi regular para todas as espécies nos 2 anos de estudo, o que resultou em diferentes padrões de natalidade. A mortalidade foi preponderante nas menores classes de tamanho. *T. guianensis*, e *P. heptaphyllum* produzem, irregularmente, grande quantidade de frutos durante a estação chuvosa, levando ao estabelecimento de “tapetes” de plântulas, tolerantes ao alagamento. As outras 3 espécies são dispersas durante a estação seca. Embora *T. ovata* frutifique anualmente, seu recrutamento não é maciço. *C. estrelensis* e *P. grandiflorum* apresentam uma frutificação irregular, não tendo produzido frutos durante o período de estudo. Nenhuma das espécies germina enquanto alagada, mas mantêm a viabilidade por certos períodos de tempo tanto em hipoxia quanto em anoxia. O etanol foi o principal produto do metabolismo anaeróbico acumulado nas sementes, mas *C. estrelensis* e *P. grandiflorum* também acumularam lactato. A produção de malato praticamente não foi influenciada pelas condições hipóxicas e anóxicas. O alagamento experimental em casa de vegetação não reduziu o crescimento das espécies. A hipertrofia de lenticelas foi uma resposta observada na primeira semana de alagamento nas 5 espécies, e as raízes formadas após o tratamento foram sempre mais porosas do que as originais. Com o alagamento os sistemas

radiculares de *T. guianensis*, e *P. heptaphyllum* acumularam grandes quantidades de etanol e lactato e foram deteriorados, sendo que em *T. guianensis* este foi substituído pelo crescimento de raízes adventícias, mais porosas e que passaram a apresentar uma atividade metabólica diferenciada das demais raízes. *P. heptaphyllum* apresentou, além de raízes adventícias, o crescimento de raízes regenerantes, ou seja, que se desenvolveram após o alagamento, a partir da raiz principal ou como ramificações das raízes secundárias. O sistema radicular de plantas de *T. ovata* não foi tão comprometido, e embora o etanol tenha sido o principal produto acumulado, este acúmulo ocorreu em menor proporção do que nas espécies citadas anteriormente, sendo que o de lactato foi somente temporário. Também ocorreu a formação de novas raízes, induzidas pelo alagamento porém diferenciadas das demais, sendo mais brancas, retilíneas e muito mais porosas, ocorrendo principalmente na região mais superficial do sistema radicular. Já a morte do sistema radicular de *C. estrelensis* e *P. grandiflorum* não foi acompanhada pelo crescimento de numerosas raízes como nas demais espécies, restando poucas raízes vivas ao final de 60 dias de alagamento. A hipoxia do sistema radicular promoveu uma tendência de redução tanto da assimilação de CO₂ quanto da condutância estomática ao vapor de água, com sinais de recuperação em algumas espécies ainda enquanto alagadas. A eficiência fotoquímica do fotossistema II (Fv/Fm) praticamente não foi alterada nas folhas de plantas alagadas, exceto por uma pequena redução em *P. grandiflorum*. No entanto folhas de *C. estrelensis* expandidas durante o alagamento foram as únicas a apresentarem menores valores de Fv/Fm que as de plantas controle. Pode-se concluir que a ocorrência destas espécies em ambientes de solo alagado é dependente de estratégias fenológicas, de respostas metabólicas e morfo-anatômicas que facilitam a aeração das raízes possibilitando um controle metabólico que permite o crescimento das plantas em condições hipóxicas.

Abstract: Adaptative strategies of typical tree species of flooded soils environments: a morphological, biochemistry and ecophysiological view. The hydric saturation of soil leads to a rapid O₂ depletion, that limits processes as germination, establishment and plant growth. The goals of the present thesis were to characterize demographic aspects, to identify the adaptative responses of seeds and plants of five tree species that enable their development on the swampy forest, and to correlate these responses with the species abundance. In a 0,3ha. plot of flooded forest of Reserva de Santa Genebra, 1853 plants of *Tapirira guianensis* (Anacardiaceae), 287 of *Protium heptaphyllum* (Burseraceae), 155 of *Talauma ovata* (Magnoliaceae), 83 of *Cariniana estrelensis* (Lecythidaceae) and 52 of *Pseudobombax grandiflorum* (Bombacaceae) were marked, and the five species showed an aggregated distribution. *T. guianensis*, *P. heptaphyllum* and *T. ovata* populations showed a predominance of seedlings and saplings whereas the populations of *C. estrelensis* and *P. grandiflorum* showed a great number of adult trees. The fruit output was not regular for all species what resulted in different patterns of natality, and the death rate was predominant on the smaller size classes. *T. guianensis* e *P. heptaphyllum* fruit on an irregular pattern, but the great quantity of fruits produced during the rainy season leads to the establishment of a flooding tolerant seedling carpet. The other three species disperse their seeds during the dry season. Though *T. ovata* produces fruits every year, its recruitment is not massive. *C. estrelensis* and *P. grandiflorum* showed an irregular fruit output without recruitment. No one of the species was able to germinate when submersed but the seeds kept their viability for a long time (several days) under hypoxic and anoxic conditions. The ethanol was the main product of anaerobic metabolism accumulated on the seeds, but *C. estrelensis* and *P. grandiflorum* also accumulated lactate. Hypoxic and anoxic conditions did not induce the malate production. The experimental flooding at a green house did not reduce the plant growth. The five species showed lenticels hypertrophy after a week of flooding, and the new roots induced by flooding were much more aerenchymatous than the original ones. Great quantities of ethanol and lactate accumulated on the flooded root system of *T. guianensis* and *P. heptaphyllum*,

which were degenerated and replaced by new roots. The root system of *T. guianensis* was substituted by the adventitious roots growth, which were more porous and also showed a distinguished metabolic activity. Besides the adventitious roots *P. heptaphyllum* also showed growth of regenerant roots, that is, development of new roots after flooding, from the main root or as branches of secondaries ones. The flooded root system of *T. ovata* plants was not compromised, and although ethanol was the main product of metabolism, its accumulation was smaller than on the other species and the lactate accumulation was only temporary. The flooding also induced new roots formation, much more aerenchymatous, and very different from the originals. These were whiter, without ramification, growing near at the soil surface. Nevertheless, the death of the root system of *C. estrelensis* and *P. grandiflorum* was not followed by the growth of numerous roots as it did on the other species, remaining a few live roots after 60 days of flooding. The hypoxic conditions on the root system led to partial reduction of CO₂ assimilation and stomatal conductance, followed by recovery signs during the flooding treatment. The quantum yield of photosystem II (Fv/Fm) was not modified on the leaves of flooded plants except by a light reduction on *P. grandiflorum*. Nevertheless, the new leaves of *C. estrelensis*, expanded during the flood, were the unique to show values of Fv/Fm smaller than the control ones. In fact, the occurrence of these species on flooded forests is due to phenologic strategies, metabolic and morpho-anatomic responses which make possible partial root aeration. These features provide the metabolic control that enable the plant growth under hypoxic conditions.

Introdução Geral:

Florestas tropicais não perturbadas são auto-sustentáveis, mediante processos locais de mortalidade, crescimento e regeneração, através de um equilíbrio dinâmico, no qual a perda de árvores é continuamente repostas por novas recrutadas (Swaine et al. 1987). O estabelecimento de novos indivíduos (recrutamento) ou a sua mudança de classe de tamanho (crescimento), são influenciados por muitos fatores, bióticos e abióticos, como a oferta de sementes e sua dispersão, a disponibilidade de micro-sítios favoráveis à germinação e ao estabelecimento, a predação e a competição (Crawley 1990) e a abertura de clareiras (Hartshorn 1980, Vázquez-Yanes & Orozco-Segovia 1984, Chandrashekara & Ramakrishnan 1993), entre outros.

Uma situação comumente observada em florestas tropicais é a germinação rápida e simultânea de sementes, logo após a sua dispersão (Vázquez-Yanes & Orozco-Segovia 1984, 1993). Muito embora a rápida germinação possa ser uma forma de fugir à predação e aos parasitas (Vázquez-Yanes & Orozco-Segovia 1993), as plântulas recém germinadas também são expostas a uma série de situações que podem impedir seu estabelecimento, como queda de árvores, fenômenos catastróficos, sombreamento, competição e predação (Whittaker & Turner 1994). No entanto, nem todas as sementes de florestas tropicais são susceptíveis aos efeitos deletérios do ambiente. A presença de uma casca dura na semente possibilita a sua manutenção por um período prolongado no solo, e diminui o risco de predação (Ng 1978). Um longo período de viabilidade das sementes também pode ser requerido por espécies que germinam e se estabelecem em

ambientes que estão presentes apenas ocasionalmente na floresta, como as clareiras (Vázquez-Yanes & Orozco-Segovia 1993).

Nas formações florestais sujeitas à saturação hídrica do solo, processos como a dispersão de sementes, a germinação e o subsequente estabelecimento das plântulas estão sujeitos aos efeitos sazonais do alagamento, tanto em função da frequência, duração e intensidade do estresse (Streng et al. 1989, Jones et al. 1994, Lobo & Joly 1995, 1996). Desta forma a distribuição espacial das espécies ao longo de um gradiente perpendicular ao rio, bem como a composição e a estrutura da vegetação são influenciadas pelo regime de inundação (Joly 1994a).

A saturação hídrica elimina os espaços de ar do solo limitando as trocas gasosas com a atmosfera, e em poucas horas as raízes e os microrganismos consomem o oxigênio presente na água intersticial, criando um ambiente hipóxico ou anóxico. Devido à baixa taxa de difusão do O_2 em meio aquoso, apenas uns poucos milímetros da superfície conseguem manter um ambiente aeróbico (Drew 1992). Este rápido decréscimo na quantidade de O_2 disponível no solo afeta não somente o processo respiratório de raízes e microrganismos, como, também, altera as características físico-químicas, edáficas e pode levar ao acúmulo de substâncias fitotóxicas (Ponnamperuma 1984) além de interferir no metabolismo germinativo de sementes dispersas e embebidas nesta condição (Steege 1994, Jordan & Hartman 1995).

Crawford & Brändle (1996) apresentaram um diagrama resumindo a diversidade de adaptações que podem ser observadas em plantas superiores, e que

contribuem para a tolerância ao alagamento. Segundo estes autores as adaptações se dividem, praticamente, em dois ramos, um dos quais representa as respostas que constituem a estratégia de evitar o déficit de oxigênio através de adaptações morfo-anatômicas e/ou pela difusão de oxigênio da parte aérea para as raízes, possibilitando a sua aeração. O outro ramo representa estratégias de adaptação ao déficit de oxigênio, seja através da redução das taxas metabólicas, da remoção dos produtos tóxicos, ou ainda, através de alterações metabólicas, todas as quais envolvem uma série de respostas bioquímicas e fisiológicas. Joly (1991) afirma que para espécies tropicais, muitas vezes a estratégia consiste de uma combinação de adaptações morfo-anatômicas e metabólicas.

Muitas publicações sobre tolerância à inundação principalmente durante as décadas de 70 e 80 abordaram os mais diversos aspectos das conseqüências do alagamento de espécies sensíveis e tolerantes (revisados por Hook & Crawford 1978, Kozlowski 1984a, Crawford 1987, Jackson et al. 1991). Muita polêmica foi constatada, seja por diferenças metodológicas, experimentais ou conceituais. No entanto, gerou-se muita informação que vem sendo aperfeiçoada com o advento de técnicas mais aprimoradas (Fox et al. 1995, Sachs et al. 1996, Dolferous et al. 1997). Contudo, todo este avanço tem ainda os esforços voltados ao estudo da tolerância ao alagamento de espécies de regiões temperadas e ou de interesse econômico-agrícola, muito embora, grande parte das áreas alagáveis, no mundo, encontram-se na região tropical.

Estudos com espécies brasileiras, principalmente arbóreas de matas ciliares foram iniciados na década de 80 (Joly & Crawford 1982) e têm sido

incrementados, recentemente, devido à preocupação atual com a preservação de matas ciliares e a recuperação de ambientes degradados (Marques et al. 1992, 1996, Lieberg e Joly 1993, Lobo & Joly 1995, 1996, Okamoto 1995, Pimenta et al. 1996).

No sentido de ampliar este conhecimento o objetivo deste trabalho foi elucidar as respostas que compõem estratégias adaptativas de 5 espécies arbóreas ocorrentes numa área de mata de brejo (senso Leitão Filho 1982) na Reserva de Santa Genebra, Campinas, SP. Para isto, buscou-se analisar diversas abordagens, que vêm a constituir os 4 capítulos desta tese. Estas envolvem aspectos demográficos (Capítulo 1), metabolismo da germinação em condições de restrição de oxigênio (Capítulo 2), metabolismo radicular e modificações morfo-anatômicas em plantas alagadas (Capítulo 3) e respostas de crescimento e fotossíntese de plantas alagadas (Capítulo 4). Como objetivo secundário, pretendeu-se aumentar o corpo de informações padronizadas e comparáveis para um maior número de espécies, para que se possa estimular e direcionar a pesquisa sobre tolerância à inundação de espécies tropicais.

Caracterização da área de estudo:

A Reserva de Santa Genebra localiza-se a 22° 49' S e 47° 06' W, no município de Campinas, SP, compreendendo uma área de 251,77 ha. de floresta nativa denominada de floresta mesófila semidecídua. Recebe a influência climática de um período chuvoso de outubro a março e de um mais seco e frio, de abril a setembro. Devido a diferenças de relevo, 85% da área da reserva é ocupada pela

floresta semidecídua, enquanto 15% apresenta uma vegetação de baixada, denominada de floresta semidecídua higrófila ou mata de brejo (Morellato & Leitão Filho 1995).

O termo mata de brejo, utilizado ao longo desta tese, refere-se à denominação utilizada por Leitão Filho (1982) para as formações florestais no estado de São Paulo que ocupam áreas de solo hidricamente saturado durante grande parte do ano. Nestas florestas o afloramento do lençol freático limita o número de espécies aptas a sobreviver neste ambiente, resultando numa menor riqueza florística que as demais formações florestais.

Foram escolhidas cinco espécies de acordo com dois parâmetros: a facilidade de reconhecimento das plantas e a abundância dos indivíduos, na tentativa de elucidar se as respostas ao alagamento apresentadas por espécies comuns são semelhantes às apresentadas por espécies menos freqüentes.

Caracterização geral das espécies (segundo Lorenzi 1992):

Tapirira guianensis Aubl. (Anacardiaceae) ocorre ao longo de todo o território brasileiro, principalmente em terrenos úmidos, em quase todas as formações vegetais, sendo perenifólia e heliófita. Floresce nos meses de agosto a dezembro e frutifica no período de janeiro a março, sendo os frutos dispersos por animais.

Protium heptaphyllum (Aubl.) March. (Burseraceae) ocorre em todo o Brasil em terrenos arenosos, secos e úmidos, sendo característica da floresta

latifoliada semidecídua e freqüente em florestas ciliares, também é perenifólia e heliófita. Floresce nos meses de agosto e setembro e frutifica nos meses de novembro e dezembro, apresentando frutos zoocóricos. Na área de estudo foram observados frutos maduros entre janeiro e março.

Talauma ovata St. Hil. (Magnoliaceae) ocorre desde o sul de Minas Gerais até o norte do Rio Grande do Sul. Freqüente na mata pluvial atlântica, é característica de planícies aluviais ao longo de rios e várzeas úmidas. É perenifolia, heliófita e seletiva higrófito. Floresce nos meses de outubro a dezembro e frutifica em agosto e setembro. Os frutos são secos, deiscentes e as sementes dispersas por pássaros. Na área de estudo frutos maduros foram observados a partir do mês de maio, estendendo-se até agosto.

Cariniana estrelensis (Raddi) Kuntze (Lecythidaceae) ocorre desde o sul da Bahia até o Rio Grande do Sul na floresta pluvial atlântica, na floresta subtropical e nas florestas de galeria do Brasil central e Acre. É semidecídua no inverno, característica da floresta clímax, heliófita ou de luz difusa, seletiva higrófito. Floresce nos meses de outubro a dezembro e frutifica de julho a setembro. Os frutos são secos, deiscentes, e as sementes aladas são dispersas pelo vento.

Pseudobombax grandiflorum (Cav) A. Rob. (Bombacaceae) ocorre nas florestas pluviais nos estados de SP, RJ, MG e MS, nos fundos de vales, beiras de rios e várzeas. É decídua, heliófita ou de luz difusa. Floresce nos meses de julho a setembro e frutifica em setembro e outubro. As sementes são dispersas pelo vento.

CAPÍTULO I

Aspectos demográficos de 5 espécies arbóreas da mata de brejo da Reserva de Santa Genebra, Campinas, SP.

Introdução:

As florestas tropicais apresentam grandes populações de plântulas que permanecem por muito tempo no ambiente sombreado do sub-bosque, em um estado suprimido, constituindo um banco de plântulas (Ng 1978, Grime 1979, Garwood 1983, Streng et al. 1989, Swaine 1996). Processos que influenciam a regeneração como produção de sementes, dispersão, emergência de plântulas, sobrevivência e crescimento determinam a composição do banco de plântulas (Grubb 1977). Esta variação temporal e espacial na composição e dinâmica do banco de plântulas tem um papel importante para o padrão de substituição de espécies após um distúrbio (Brokaw 1986).

Muitos fatores, bióticos e abióticos, interferem no estabelecimento das plântulas e, conseqüentemente, no recrutamento e padrão espacial. Janzen (1970) e Connell (1971 ambos apud Hubbell 1980) propuseram que as sementes e plântulas abaixo da planta-mãe sofrem uma elevada mortalidade por predadores especialistas que se concentram no denso tapete de plântulas. Muitos estudos têm identificado micro-sítios favoráveis ao estabelecimento das plântulas a distâncias variáveis, mas que geralmente localizam-se fora da copa da planta mãe, enquanto que para algumas espécies é maior em clareiras (Augspurger 1984, Howe et al. 1985, Garwood 1986, Schupp 1988, Streng et al. 1989, Turner 1990). Uma situação intermediária foi observada por Cintra & Horna (1997) para *Dipteryx micrantha* e *Astrocarium murumuru* que sobrevivem melhor no ambiente sombreado, no entanto em locais mais próximos às clareiras do que distante destas. A heterogeneidade do substrato também é importante para o estabelecimento e padrão de distribuição nas comunidades vegetais (Huenneke & Scharitz 1990). Especialmente em florestas que

são periódica ou permanentemente alagadas as variações microtopográficas são importantes, pois determinadas espécies só ocorrem em locais de terreno um pouco mais elevados que evitam ou reduzem o efeito da inundação (Streng et al. 1989, Huenneke & Scharitz 1990, Scarano et al. 1997). Por outro lado, algumas espécies ocorrem predominantemente em locais mais baixos (Blom et al. 1990, Lobo 1993).

Taxas de mortalidade de plântulas são extremamente elevadas, principalmente logo após o estabelecimento e a exaustão das reservas das sementes (Clark & Clark 1985, Howe et al. 1985, Garwood 1986, Turner 1990, Forget 1991, Alvarez-Buylla & Martinez-Ramos 1992, Osunkjoya et al. 1992, De Steven 1994). A identificação das causas de mortalidade nem sempre é possível ou tida como objeto de estudo. No entanto, muitos fatores têm sido estabelecidos como o dano físico devido à queda de ramos ou folhas, a perda do substrato de fixação, sombreamento, predação, susceptibilidade a patógenos, competição, seca, alagamento, entre outros (Augspurger 1984, Clark & Clark 1984 e 1985, Howe et al. 1985, Swaine et al. 1987, Streng et al. 1989, Turner 1990, Forget 1992, Alvarez-Buylla & Martinez-Ramos 1992, Osunkjoya et al. 1992, Jones et al. 1994, Korning & Balslev 1994).

A sobrevivência das plântulas depende tanto dos atributos fisiológicos quanto das interações bióticas (Schupp et al. 1989). Algumas espécies apresentam, ainda, um mecanismo de escape de possíveis fatores determinantes de mortalidade, através do controle fenológico que afasta temporalmente a plântula dos fatores de estresse (Crawford 1989, Streng et al. 1989, Kubitzki & Ziburski 1994, Lobo & Joly 1996).

Alguns estudos realizados em áreas de floresta sujeitas ao alagamento têm mostrado que a produção de sementes é elevada, resultando em uma grande produção de plântulas (Streng et al. 1989, Mingguang et al. 1996, Scarano et al. 1997). No entanto, os padrões de recrutamento e mortalidade das plântulas são influenciados pelas variações no nível, frequência e duração do alagamento (Streng et al. 1989, Huenneke & Scharitz 1990, Mingguang et al. 1996).

Há poucas informações a respeito de germinação em florestas tropicais, e o subsequente estabelecimento das plântulas. Garwood (1983) observou que embora haja 2 picos de dispersão das sementes, há somente um pico de emergência das plântulas que ocorre durante a estação chuvosa na floresta tropical sazonal da ilha de Barro Colorado. Scarano et al. (1997) observaram que a germinação e o estabelecimento de espécies em áreas de solo permanentemente alagado depende da presença de micro-sítios favoráveis, de características adaptativas das sementes (capacidade de flutuar, dormência) e também da propagação vegetativa.

As condições adversas proporcionadas pela inundação também são constatadas pela menor riqueza de espécies (maiores de 10cm de diâmetro à altura do peito) nas florestas inundadas da Amazônia em relação às de terra firme, sem que estas apresentem diferenças quanto à densidade de árvores (Campbell et al. 1986 apud Campbell et al. 1992). Situação semelhante é observada na menor riqueza florística das matas de brejo e ciliares em relação às matas de planalto no estado de São Paulo (Leitão Filho 1982).

Joly & Crawford (1982) verificaram muitas diferenças nas respostas ao alagamento entre espécies tolerantes (de mata ciliar) e espécies sensíveis (de

cerrado). Dentre as espécies que geralmente ou ocasionalmente ocupam áreas sujeitas ao alagamento, surgem questões ainda pouco exploradas nestas formações vegetais: existem respostas de caráter fisiológico, metabólico, fenológico, etc., que apresentadas por determinadas espécies favoreçam o seu estabelecimento em detrimento de outras? Existe um padrão de resposta ao alagamento comum às espécies abundantes?

Foram objetivos deste capítulo caracterizar o padrão espacial e a estrutura de tamanho de cinco espécies arbóreas de densidades diferentes num trecho de mata de brejo, quantificar as taxas anuais de natalidade e mortalidade assim como de incremento em altura e diâmetro dos indivíduos jovens, com o intuito de avaliar aspectos ecológicos que possam auxiliar na definição de estratégias adaptativas.

Material e métodos:

1. Área de estudo:

No interior de uma das áreas de brejo da Reserva de Santa Genebra foram demarcadas 120 parcelas contíguas de 5x5m, delimitadas por estacas e cercadas por barbante plástico, abrangendo uma área de 30x100m (0,3 ha).

2. Avaliação da flutuação do lençol freático:

Com o objetivo de caracterizar a flutuação do lençol freático, foram instalados 5 poços ao longo dos 100m da área de estudo, utilizando-se um trado. No local de cada perfuração foi instalado um cano de PVC, com 10cm de diâmetro,

perfurado lateralmente, e com sua extremidade superior vedada com uma lata. Os poços foram instalados durante a estação seca e tiveram a profundidade máxima de 55cm. O acompanhamento do nível do lençol foi feito quinzenalmente, medindo-se a distância da lâmina de água à superfície do solo, utilizando-se um metro duplo.

3. Estudo Demográfico:

Inicialmente, em julho de 1994, todos os indivíduos de *T. guianensis*, *P. heptaphyllum*, *T. ovata*, *C. estrelensis* e *P. grandiflorum* presentes nas 120 parcelas foram marcados com uma fita plástica numerada. Tiveram, também, o registro de sua altura (estimada para indivíduos maiores que 2m e medida com um metro duplo, para os menores), do diâmetro da base do caule (avaliado através de um paquímetro, ou calculado através da circunferência para as plantas maiores) e da sua posição dentro da parcela (anotada por coordenadas x e y com referência aos limites de cada parcela) em uma planilha de campo. O levantamento estendeu-se até dezembro de 1994.

Um ano após o mapeamento e registro das medidas iniciais, as parcelas foram revisitadas e todos os indivíduos menores que 2 m de altura foram procurados para a avaliação do crescimento, através da tomada das novas medidas de altura e diâmetro. Todos os indivíduos foram considerados para o cálculo do crescimento, mesmo os que apresentaram valores menores para altura e diâmetro, exceto uma ou outra planta com sinais evidentes de quebra, que foram desconsideradas da amostra.

Plantas maiores que 2m de altura foram acompanhadas para verificar se permaneceram vivas. Plantas recém germinadas foram numeradas, mapeadas e tiveram a altura e o diâmetro registrados, este mesmo procedimento foi aplicado a plantas maiores porém sem numeração e com coordenadas novas (não encontradas no censo inicial), sendo que estas foram incluídas na população de 1994 para cálculo da mortalidade e natalidade. Desta forma, as taxas de natalidade e mortalidade (m_p) foram calculadas como a porcentagem de indivíduos recém germinados em 1995, ou mortos (não encontrados), em relação ao número de indivíduos marcados em 1994 (juntamente com os encontrados em 1995), respectivamente, a mortalidade também foi calculada segundo o modelo exponencial (m_e) (Swaine & Lieberman 1987), de acordo com as seguinte fórmulas:

$$m_p = 100(N_0 - N_1)/tN_0 \quad m_e = 100(\ln N_0 - \ln N_1)/t$$

onde N_0 é o tamanho de cada população em 1994 e N_1 é o número de sobreviventes em 1995. Como o acompanhamento das plantas na mata ocorreu no período de julho a dezembro, para todas as espécies, houve uma sub-estimativa de taxas de natalidade e mortalidade para as espécies que frutificaram antes desta data, no início do ano (no caso *T. guianensis* e *P. heptaphyllum*).

A análise da estrutura de população para cada espécie foi feita através da proporção de indivíduos distribuída nas seguintes classes de altura: primeira classe: plântulas, segunda: maior que plântula e menor ou igual a 0,5m; terceira: maior que 0,5m e menor ou igual a 2,0m; quarta: maior que 2,0m e menor ou igual a 5,0m; quinta: maior que 5,0m e menor ou igual a 10,0m e sexta: maior que 10,0 m. O termo plântula foi adotado para plantas recém germinadas que apresentavam os

cotilédones ou, na ausência destes, o primeiro par de folhas (principalmente para *P. heptaphyllum* que é criptocotiledonar com reserva hipógea, senso Garwood 1996). Foram consideradas também como plântulas as plantas que apresentaram uma altura menor ou igual à observada para o maior indivíduo da respectiva espécie que se enquadrou no primeiro critério descrito. Assim, as alturas máximas consideradas para plântulas foram: *T. guianensis*: 15cm, *P. heptaphyllum*: 12cm, *T. ovata*: 11,5cm, *C. estrelensis*: 10cm e *P. grandiflorum*: 13cm.

O padrão espacial de cada espécie foi avaliado através do cálculo do índice de dispersão de Morisita, com a utilização do programa Negbinom que acompanha o livro de Krebs (1985).

Resultados:

1. Flutuação do lençol freático:

O acompanhamento do nível do lençol freático teve início no mês de setembro de 1994, após 40 dias sem chuva, portanto, pode-se sugerir que o lençol situava-se no seu nível mais baixo, oscilando entre 40 a 55cm ou mais de profundidade. As constantes oscilações observadas no seu nível tornaram-se mais pronunciadas com o início das chuvas em dezembro. O acompanhamento foi feito ao longo de um ano, e observou-se que a sua flutuação claramente acompanha a precipitação (Figura 1.1). Pode-se observar, também, que existe uma variação microtopográfica que possibilita a ocorrência de locais que apresentam o solo saturado durante muitos meses (Figura 1.1 - pontos 1 e 3, ver localização destes na Figura 1.2), e locais em que o lençol freático não aflora (Figura 1.1 - pontos 2, 4 e 5).

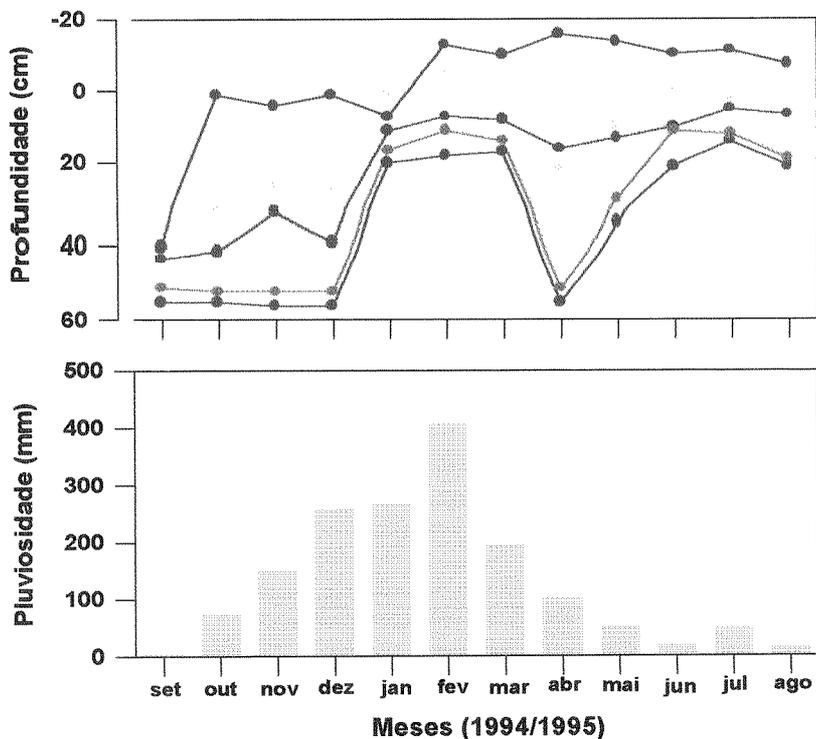


Figura 1.1 - Flutuação do lençol freático e precipitação mensal em um trecho de mata de brejo da Reserva de Santa Genebra, Campinas, SP. Os pontos de medida do lençol foram distribuídos ao longo da faixa de 100m da área de estudo, a distâncias de 25m. : Ponto 1, * : Ponto 2, • : Ponto 3, ◊ : Ponto 4, ◑ : Ponto5. A localização dos pontos é mostrada na Figura 1.2.

2. Aspectos demográficos:

Muitas diferenças foram constatadas, ao nível populacional, nos 0,3ha da área de estudo. No primeiro ano (1994) foram identificadas e mapeadas 1729 plantas de *T. guianensis*, 287 de *P. heptaphyllum*, 155 de *T. ovata*, 83 de *C. estrelensis* e 52 de *P. grandiflorum*. No segundo censo (1995), plantas encontradas que não eram plântulas recém germinadas foram incluídas na população de 1994. Estes indivíduos remanescentes podem não ter sido registrados em 1994 por falha

na amostragem, mas, também, pela deciduidade das folhas de *C. estrelensis* e *P. grandiflorum*, assim como pela capacidade de recuperação após a perda de folhas que as demais espécies parecem apresentar (embora não quantificada). Desta forma, pertencentes à população de 1994, foram identificados e mapeados 1932 plantas de *T. guianensis*, 408 de *P. heptaphyllum*, 203 de *T. ovata*, 93 de *C. estrelensis* e 64 de *P. grandiflorum*.

As 5 populações apresentaram Índice de dispersão de Morisita maior do que 1, o que indica uma distribuição agregada.

Plantas de *T. guianensis*, a espécie mais abundante foram encontradas praticamente em todas as parcelas em 1994 (Figura 1.2). sendo que muitas vezes durante o mapeamento, foram observados "tapetes" de plântulas de tamanho uniforme, resultantes da frutificação no início de 1994. A distribuição de frequência por classes de tamanho (Figura 1.3) embora diferentes de um ano para outro ($\chi^2 = 44,15$; g.l.=5; $P < 0,001$) mostra o grande predomínio (90% aproximadamente) de plantas menores do que 50cm de altura.

Em decorrência da ausência de frutificação na área de estudo no início de 1995 e da provável falta de dormência das sementes não foram amostrados novos indivíduos no estágio de plântulas, obtendo-se, portanto, 0% de natalidade. Assim, a classe constituída pelas plântulas em 1995 foi formada pelas plantas estabelecidas em 1994, assim como pelas que já estavam presentes nesta data e que não ultrapassaram a altura de 15cm em 1995.

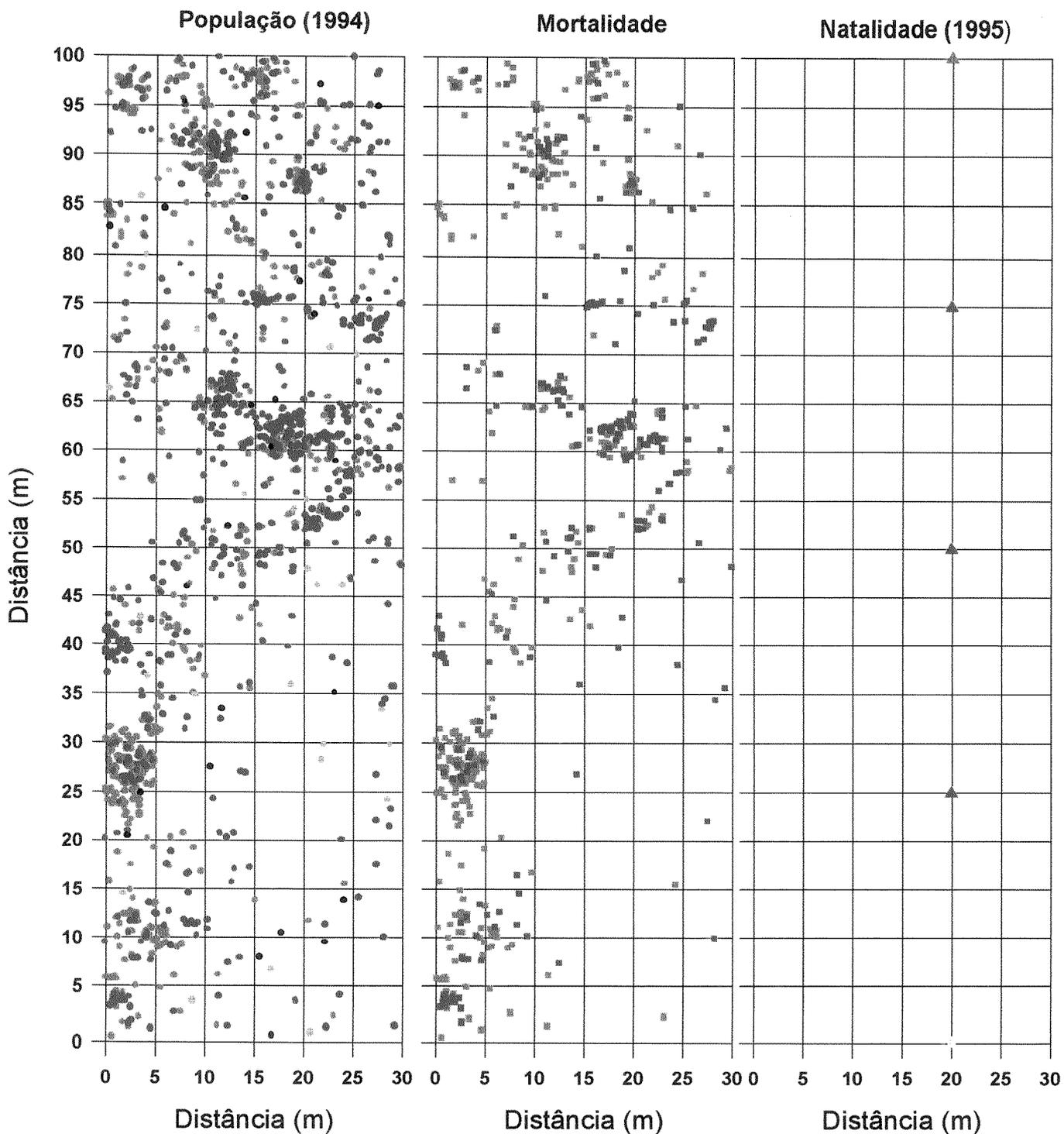


Figura 1.2 – Padrão espacial da população de *Tapirira guianensis*, mortalidade e natalidade em um trecho de 0,3ha de mata de brejo da Reserva de Santa Genebra, Campinas, SP.

• : plântulas, • : 15,0cm < plantas < 50,0cm; • : 50,0cm < plantas < 2,0m;
 • : 2,0m < plantas < 5,0m; • : 5,0m < plantas < 10,0m; • : plantas maiores que 10,0m.
 A natalidade em 1995 foi de 0%, e os símbolos neste quadro representam a posição dos pontos de medida do lençol freático.

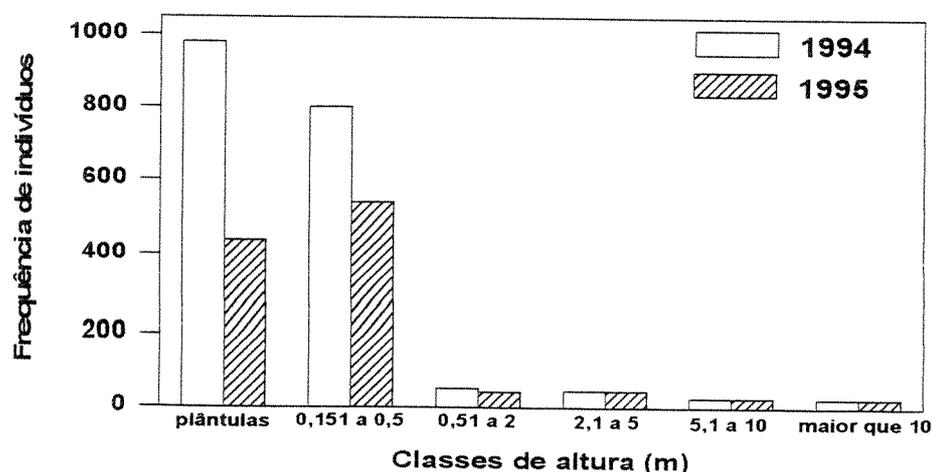


Figura 1.3 - Estrutura de tamanho da população de *Tapirira guianensis* em um trecho de 0,3ha de mata de brejo na Reserva de Santa Genebra, Campinas, SP.

Pode-se constatar uma elevada taxa de mortalidade, totalizando 43%, que variou entre as diferentes classes de tamanho (Figuras 1.2 e Tabela 1.1) e foi concentrada nas plântulas (55,5%). No início do ano de 1996, poucos indivíduos foram observados com frutos, indicando que o investimento na frutificação não é regular.

Apesar da elevada taxa de mortalidade das plantas, concentrada nas menores classes de tamanho, e da ausência de natalidade em 1995, que ocasionaram diferenças na estrutura de tamanho da população entre os dois anos, esta não deixou de apresentar o predomínio de plantas menores que 50cm de altura (Figura 1.3).

Tabela 1.1- Taxas de mortalidade em diferentes classes de tamanho em 5 espécies arbóreas da mata de brejo da Reserva de Santa Genebra, Campinas, SP. (No: população de 1994, Ni: sobreviventes em 1995, mp: mortalidade calculada pela proporção de indivíduos mortos em relação aos vivos, me: calculada pelo modelo exponencial segundo Swaine et al. 1987).

Classes	<i>T. guianensis</i>	<i>P. heptaphyllum</i>	<i>T. ovata</i>	<i>C. estrelensis</i>	<i>P. grandiflorum</i>
Plântulas:					
No	976	117	31	0	6
Ni	434	75	10	0	0
Mp (%)	55,5	35,6	67,7	0	100
15,0 * a 50cm					
No	801	168	102	20	11
Ni	526	149	85	19	11
Mp (%)	34,3	10,1	16,6	5,0	0
50,1 a 200cm					
No	53	41	49	51	20
Ni	43	41	47	50	20
Mp (%)	18,9	0	4,1	2,0	0
População total					
No	1932	408	203	93	64
Ni	1105	347	163	91	58
Mp (%)	43	14,9	19,7	2,1	9,4
Me (%)	56,2	16,2	21,9	2,2	9,8

*: 12,0 para *P. heptaphyllum*, 11,5 para *T. ovata*, 10,0 para *C. estrelensis* e 13,0 para *P. grandiflorum*

A avaliação do crescimento (para indivíduos com altura menor que 2,0m em 1994) mostrou um incremento médio de $4,0 \pm 4,5$ cm (média \pm desvio padrão, n=785) em altura, com uma planta apresentando um incremento de 54,0cm. Reduções no comprimento da parte aérea muitas vezes observada, podem ter sido consequência de erros de medida, de soterramento da base do caule por carreamento do solo (constatada pelo enterramento das plaquetas de identificação) e pela quebra do eixo principal de crescimento. Já, o incremento no diâmetro da base foi muito pequeno, em média $0,16\text{mm} \pm 0,89$ (média \pm desvio padrão n=785).

A população de *P. heptaphyllum*, a segunda mais abundante, apresentou em 1994 aproximadamente 70% dos indivíduos com até 50cm de altura

(Figuras 1.4 e 1.5) mostrando, também, um grande predomínio de plantas jovens. Em 1994 não foram observadas plantas recém germinadas, sugerindo a ausência de frutificação no início deste ano, portanto, plântulas referem-se somente às plantas menores do que 12cm, oriundas de frutificações anteriores. A mortalidade em 1995 foi de 14,9% no total (Tabela 1.1), também concentrada nas menores plantas (35,6%). Após a frutificação no início do ano de 1995, houve uma taxa de 98% de natalidade, ou seja, um incremento de 401 plântulas distribuídas em 53 parcelas (Figura 1.4).

Assim a estrutura de tamanho das populações de 1994 e 1995 foram diferentes ($\chi^2 = 128,6$; g.l. = 5; $P < 0,001$) mostrando um incremento significativo de plântulas. A ausência de frutificação no início de 1996 revela uma irregularidade na frutificação ou, ao menos, uma frequência bi-anual, o que é sugerida, também, pela ausência de um grande número de plântulas no censo de 1994.

Foi observado um crescimento médio de $8,7 \pm 12,3$ cm (média \pm desvio padrão $n=149$) em altura, com duas plantas crescendo 63,0cm, e $0,74 \pm 1,09$ mm (média \pm desvio padrão $n=149$) em diâmetro da base.

Vale lembrar que tanto *T. guianensis* quanto *P. heptaphyllum* dispersam suas sementes durante os meses de dezembro a março e portanto, a germinação e o estabelecimento das plântulas ocorrem no período em que o lençol freático está mais superficial (Figura 1.1).

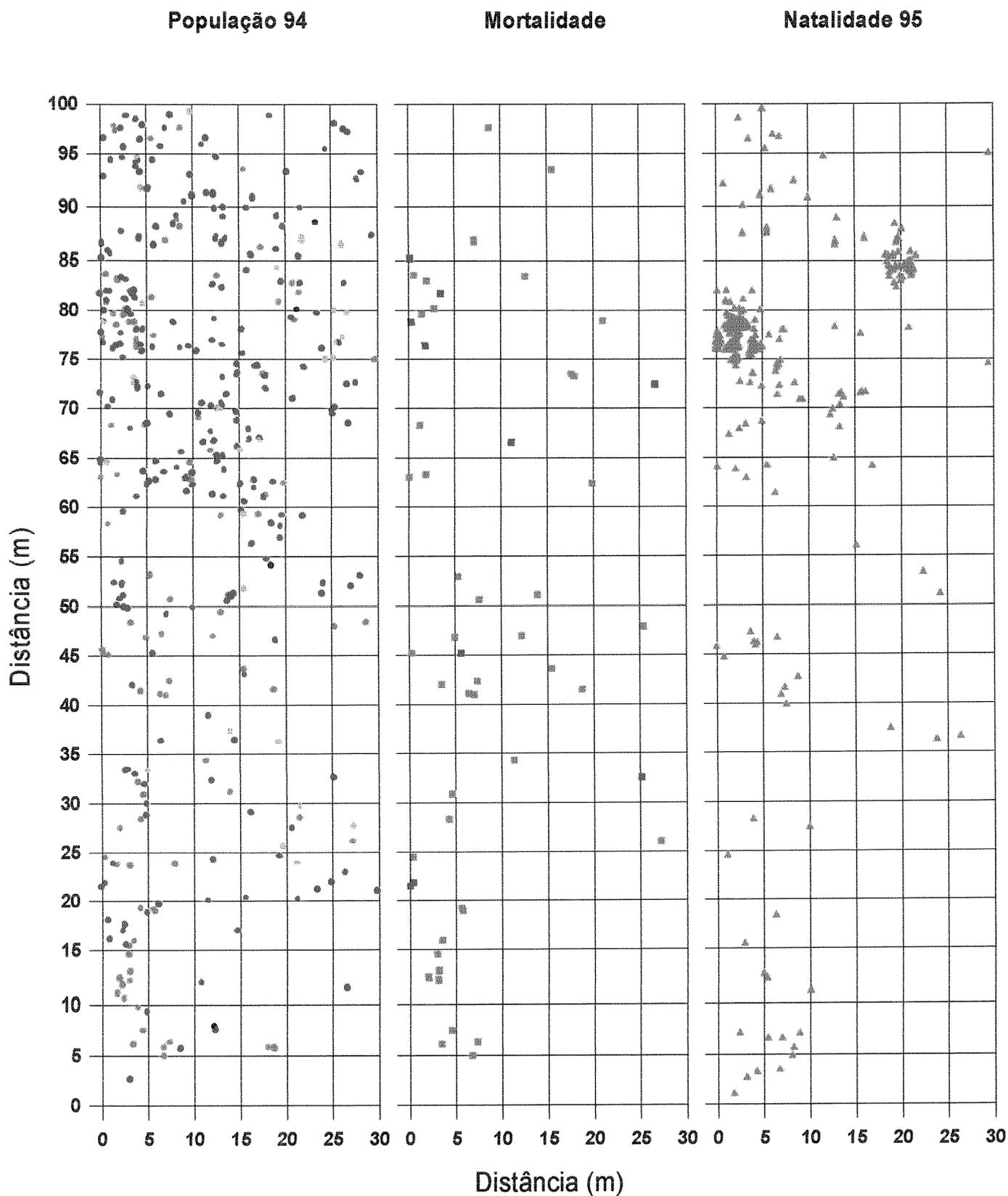


Figura 1.4 – Padrão espacial da população de *Protium heptaphyllum*, mortalidade e natalidade em um trecho de 0,3ha de mata de brejo da Reserva de Santa Genebra, Campinas, SP.

• : plântulas; • : 12,0cm < plantas < 50,0cm; • : 50,0cm < plantas < 2,0m;
 • : 2,0m < plantas < 5,0m; • : 5,0m < plantas < 10,0m; • : plantas maiores que 10,0m.

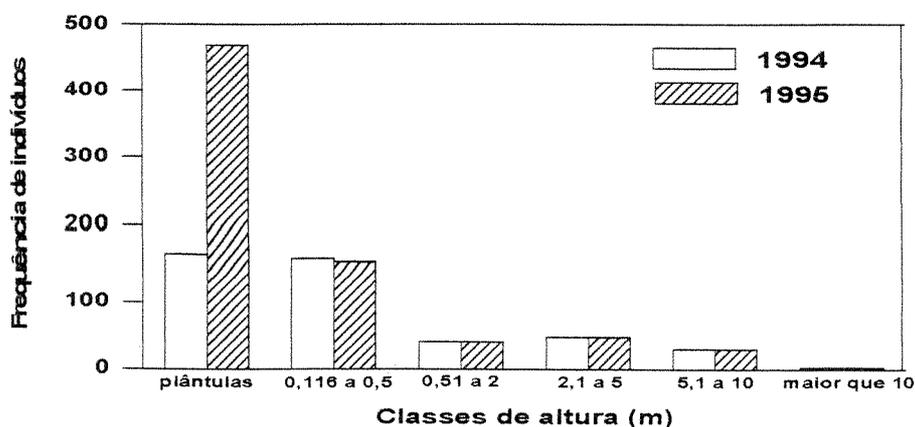


Figura 1.5 - Estrutura de tamanho da população de *Protium heptaphyllum* em um trecho de 0,3ha de mata de brejo na Reserva de Santa Genebra, Campinas, SP.

T. ovata é a única espécie que apresentou uma frutificação regular, anual, seguida de recrutamento das plântulas. Como as demais espécies citadas anteriormente, também apresenta um predomínio de indivíduos menores do que 50cm de altura (Figura 1.6 e 1.7). Constatou-se uma taxa de 19,7% de mortalidade total (Tabela 1.1), observada principalmente nas plântulas (67,7%) que só apresentavam folhas cotiledonares. Apesar de uma grande produção de frutos observou-se o estabelecimento de somente 27 novas plantas, proporcionando uma natalidade de 13,3% (Figura 1.6). A semelhança entre as taxas de natalidade e mortalidade não ocasionou diferenças na estrutura da população entre 1994 e 1995 (Figura 1.7, $\chi^2 = 1,54$; g.l.= 5; $0,9 < P < 0,95$). O crescimento médio observado na mata foi de $8,1 \pm 12,9$ cm (média \pm desvio padrão n=90) em altura, com crescimento máximo de 35cm por duas plantas, e de $0,99 \pm 1,2$ mm (média \pm desvio padrão n=90) em diâmetro da base.

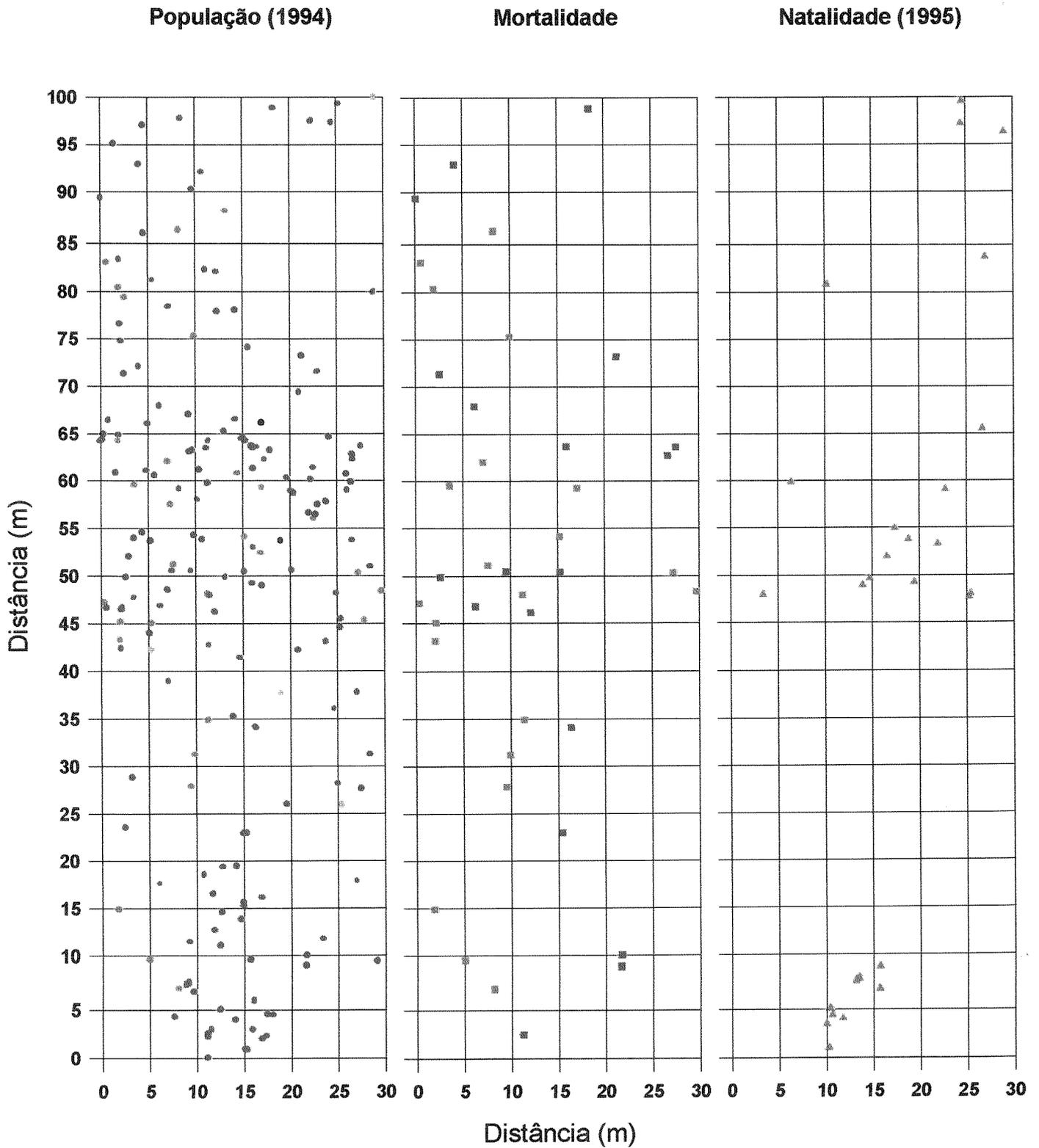


Figura 1.6 – Padrão espacial da população de *Talauma ovata*, mortalidade e natalidade em um trecho de 0,3ha de mata de brejo da Reserva de Santa Genebra, Campinas, SP.

● : plântulas; ● : 12,0cm < plantas < 50,0cm; ● : 50,0cm < plantas < 2,0m;
 ● : 2,0m < plantas < 5,0m; ● : 5,0m < plantas < 10,0m; ● : plantas maiores que 10,0m.

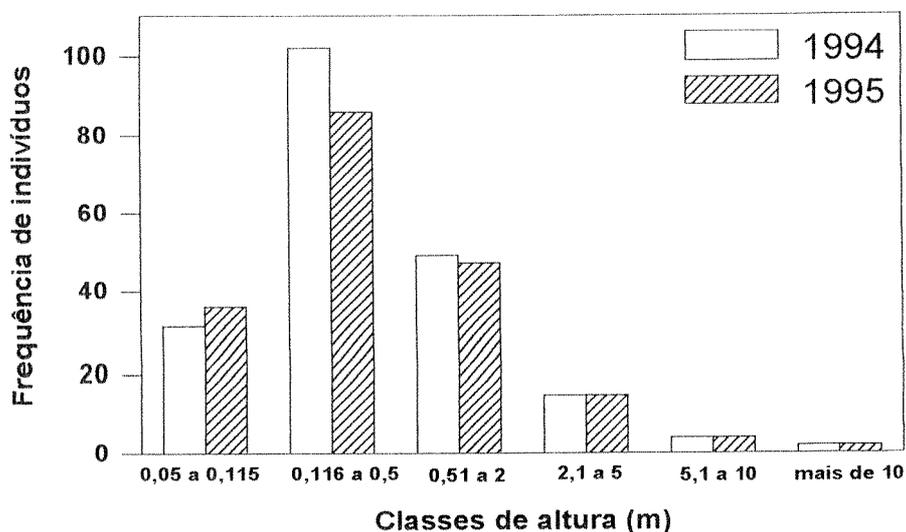


Figura 1.7 - Estrutura de tamanho da população de *Talauma ovata* em um trecho de 0,3 ha de mata de brejo na Reserva de Santa Genebra, Campinas, SP.

C. estrelensis, é a espécie que apresentou o menor número de plantas menores que 50cm (Figura 1.8), portanto com uma maior proporção de plantas já estabelecidas, conferindo uma estrutura de população diferente das espécies anteriores (Figura 1.9), e semelhante entre os dois anos ($\chi^2 = 1,0$; g.l.= 5; $0,95 < P < 0,975$). Apesar da presença de alguns adultos reprodutivos na área de estudo e proximidades, não foi encontrada alguma plântula recém germinada tanto em 1994 quanto em 1995, conseqüentemente, a taxa de natalidade registrada foi de 0%. Esta espécie apresentou, também, a menor taxa de mortalidade total, de 2,1%, em função da morte de duas plantas (Figura 1.8 e Tabela 1.1). O aumento médio em altura foi de $6,0 \pm 9,8$ cm (média \pm desvio padrão, n=60) e crescimento máximo de 20,0cm, e de $0,47 \pm 1,57$ mm (média \pm desvio padrão, n=60) de incremento no diâmetro. Com a deciduidade das folhas, foi freqüente a observação de quebra da extremidade do ramo, seguida de um rápido crescimento de ramos laterais.

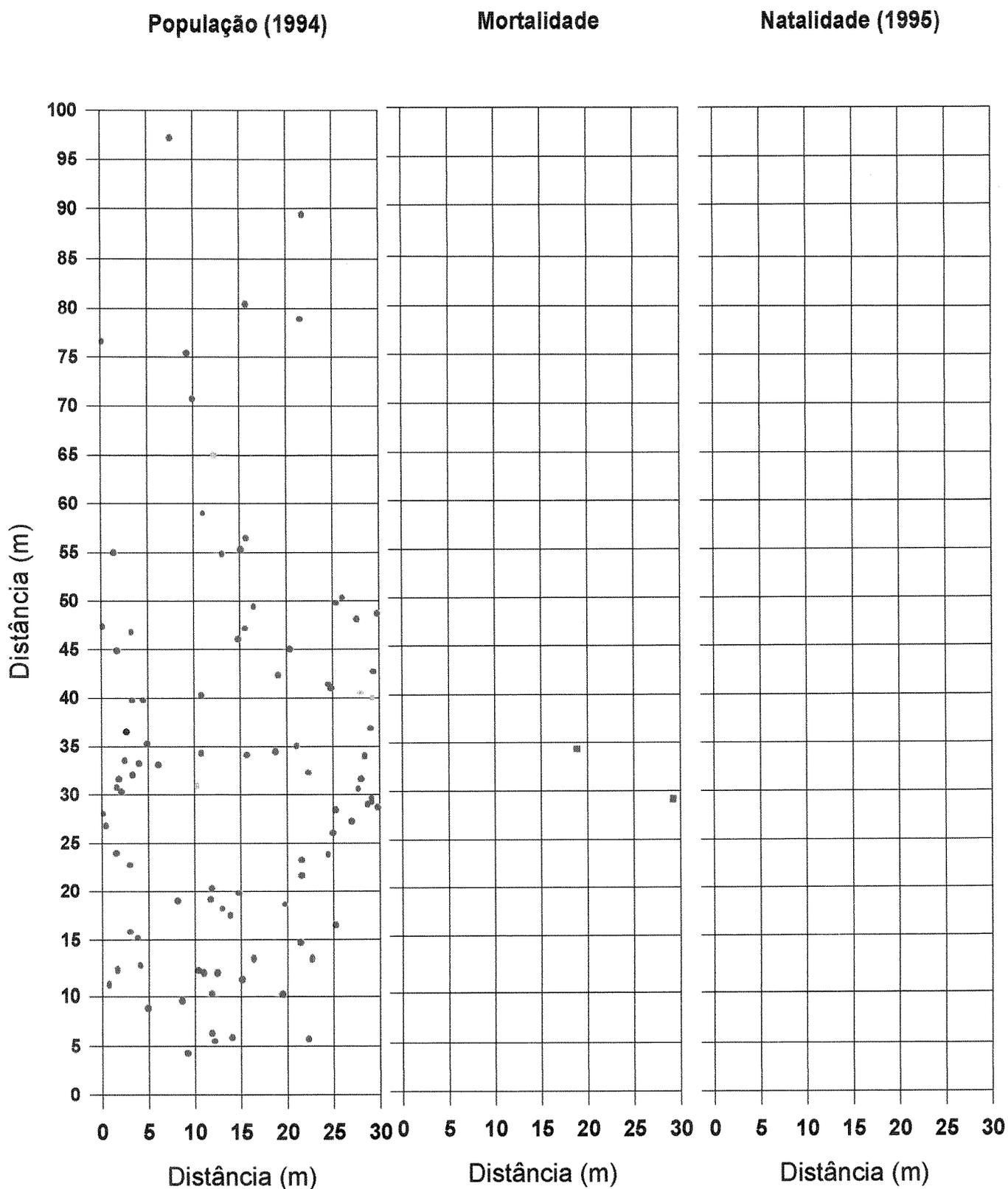


Figura 1.8 – Padrão espacial da população de *Cariniana estrelensis*, mortalidade e natalidade em um trecho de 0,3ha de mata de brejo da Reserva de Santa Genebra, Campinas, SP.

● : plântulas; ● : 18,0cm < plantas < 50,0cm; ● : 50,0cm < plantas < 2,0m;
 ● : 2,0m < plantas < 5,0m; ● : 5,0m < plantas < 10,0m; ● : plantas maiores que 10,0m.

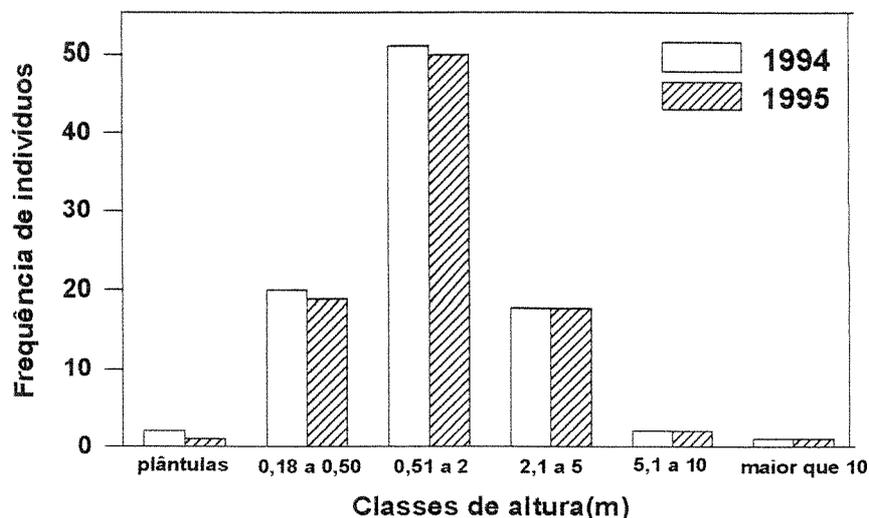


Figura 1.9 - Estrutura de tamanho da população de *Cariniana estrelensis* em um trecho de 0,3ha de mata de brejo na Reserva de Santa Genebra, Campinas, SP.

Já, *P. grandiflorum* é a espécie cuja população foi a menor das estudadas (Figura 1.10) e ainda assim, apresentou indivíduos em todas as classes de tamanho (Figura 1.11), no entanto com o predomínio de indivíduos maduros. Observou-se uma taxa de 0% de natalidade, embora alguns indivíduos tenham frutificado nas proximidades da área de estudo, e 9,4% de mortalidade (Tabela 1.1), concentrada em plântulas menores que 13cm (100%). Estas taxas não levaram a diferenças significativas na estrutura da população em 1994 e 1995 ($\chi^2 = 6,6$; g.l. = 5; $0,2 < P < 0,3$). Plantas menores que 2,0m cresceram em média $6,7\text{cm} \pm 11,3$ (média \pm desvio padrão, n=21) em altura, com crescimento máximo de 34,0cm, e $1,14\text{mm} \pm 2,12$ (média \pm desvio padrão n=21) em diâmetro.

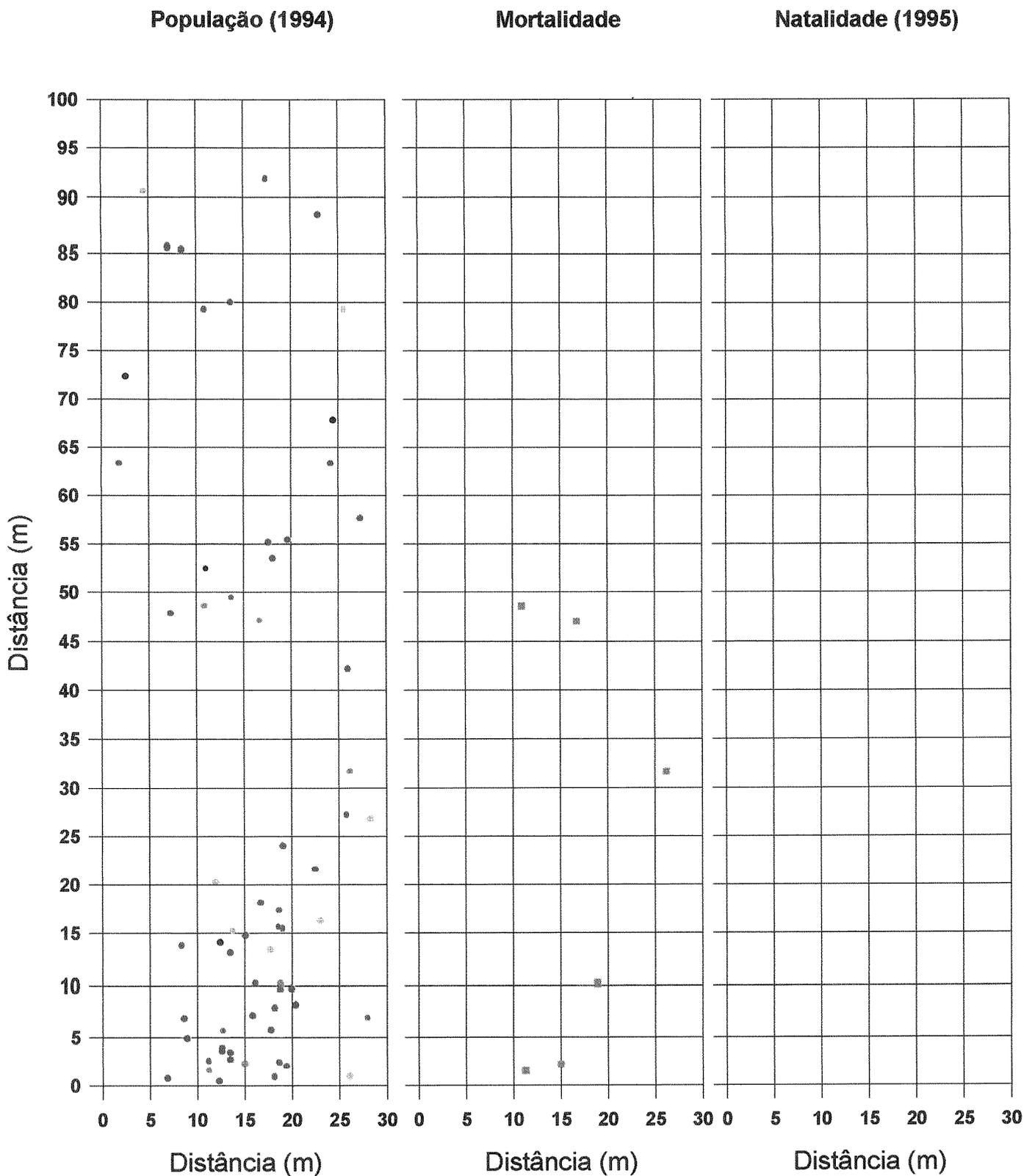


Figura 1.10 – Padrão espacial da população de *Pseudobombax grandiflorum*, mortalidade e natalidade em um trecho de 0,3ha de mata de brejo da Reserva de Santa Genebra, Campinas, SP.

• : plântulas; • : 18,0cm < plantas < 50,0cm; • : 50,0cm < plantas < 2,0m;
 • : 2,0m < plantas < 5,0m; • : 5,0m < plantas < 10,0m; • : plantas maiores que 10,0m.

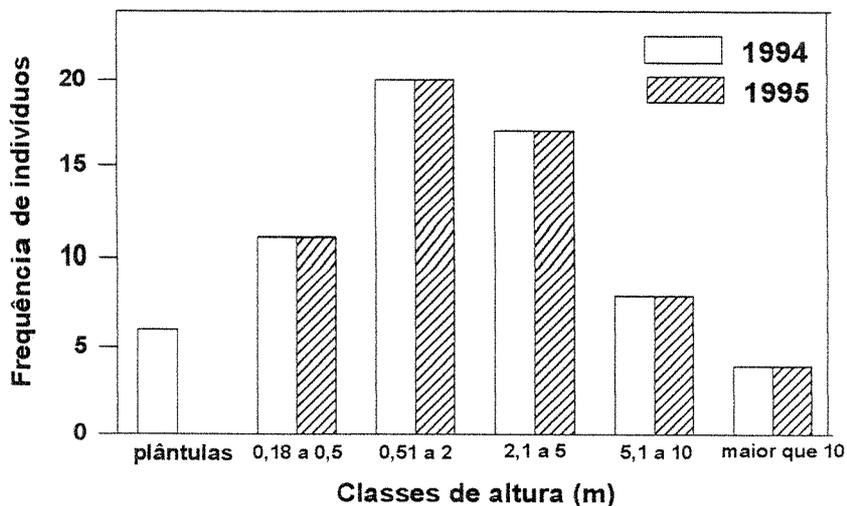


Figura 1.11 - Estrutura de tamanho da população de *Pseudobombax grandiflorum* em um trecho de 0,3 ha de mata de brejo na Reserva Municipal de anta Genebra, Campinas, SP.

Discussão:

Variações na frequência de recrutamento com espécies produzindo novas coortes continuamente e outras esporadicamente é uma situação comum nas florestas tropicais e influenciam a dinâmica do banco de plântulas (Garwood 1983, Connell et al. 1984, De Steven 1994, Lieberman 1996). Entre as espécies deste estudo, somente *T. ovata* apresentou uma frutificação regular. Segundo Runkle (1989), espécies que frutificam irregularmente geralmente o fazem de maneira maciça (como observado para *T. guianensis* e *P. heptaphyllum*), e como consequência há a formação de um estoque de indivíduos de vida longa, que sobrevivem muitos anos, compensando o declínio sofrido nos anos anteriores.

Populações que apresentam um grande número de indivíduos nas menores classes de tamanho e uma menor proporção de indivíduos nas classes maiores são consideradas capazes de regeneração a partir de sementes (Swaine et al. 1987), sendo tolerantes à sombra (Hubbell & Foster 1987). Já, espécies que apresentam pouca regeneração supõe-se que sejam intolerantes à sombra, uma vez que grandes clareiras aparecem com pouca frequência (Hartshorn 1978, Hubbell & Foster 1987) e ainda, devido a altas taxas de crescimento dos juvenis (Hartshorn 1978). No entanto, Hubbell & Foster (1987) demonstraram que pode ocorrer uma grande variação espacial na estrutura de tamanho das populações, sendo as distribuições diamétricas na forma de J reverso menos frequentes entre espécies que requerem clareiras, que geralmente (mas nem sempre) apresentam distribuições de classes de tamanho com predomínio das classes com indivíduos maiores.

Seguindo estas considerações, *T. guianensis*, *P. heptaphyllum* e *T. ovata* poderiam ser categorizadas como tolerantes à sombra, o que estaria de acordo com a apresentação de Felfilli (1997) para *T. guianensis* e *T. ovata*. No entanto, Gandolfi et al. (1995) consideraram estas duas espécies como secundárias iniciais em uma floresta mesófila semidecídua, ou seja, requerendo maior disponibilidade de luz para a sobrevivência e crescimento das plantas. Uma análise contrastante foi apresentada por Schiavini (1992) comentando que *T. ovata* atua como pioneira na colonização de matas de galeria e sua permanência nas matas já estruturadas parece ser conseqüência mais da longevidade dos adultos do que do recrutamento, que acaba sendo baixo mais em função da falta de condições favoráveis ao estabelecimento do que da disponibilidade de sementes. No entanto, na área deste estudo, embora *T. ovata* frutifique todos os anos, oferecendo frutos

maduros por um período razoavelmente grande (junho a agosto – período observado na área de estudo), este ocorre no período mais seco, no qual a área de brejo acaba atuando como um refúgio para os animais na floresta mesófila semidecídua. Embora as sementes de *T. ovata* sejam recobertas por uma sarcotesta vermelha, e portanto facilmente visualizáveis, raras vezes estas foram observadas no solo da floresta, permitindo a sugestão de que sejam avidamente ingeridas pelos pássaros e outros frugívoros, logo após a sua exposição (fruto seco deiscente), uns atuando como dispersores e outros como predadores, reduzindo a disponibilidade de sementes viáveis. Esta ausência de um banco de plântulas de *T. ovata* já foi observada em outra mata de brejo no estado de São Paulo (Lobo 1993).

De qualquer modo, em ambientes propensos ao encharcamento do solo, *T. guianensis*, *P. heptaphyllum* e *T. ovata* são espécies freqüentemente encontradas (Salvador 1987, Schiavini 1992, Silva et al. 1994, Felfilli 1995). Já, *C. estrelensis* e *P. grandiflorum* são freqüentemente menos citadas para estas formações florestais. A presença de baixa proporção de jovens destas duas espécies em relação aos indivíduos maiores pode refletir um recrutamento irregular (Steege et al. 1993), assim como a ausência de condições favoráveis ao estabelecimento das plantas (Hubbell & Foster 1987). As maiores árvores observadas entre as espécies estudadas são as de *C. estrelensis* e *P. grandiflorum*, tanto na área amostrada quanto nos arredores, principalmente quanto à área basal (dados não apresentados), o que talvez permita a sugestão de que sejam árvores antigas, que primeiramente ocuparam a floresta (secundárias iniciais). No entanto, Gandolfi et al. (1995) citaram *C. estrelensis* como secundária tardia, ou seja, desenvolvendo-se à sombra. Felfilli (1997) também observou plantas de *C.*

estrelensis ocorrendo à baixa densidade no sub-bosque de uma floresta de galeria. A autora comentou que ou a espécie está iniciando a sua colonização na área, ou há um fator limitante para o seu crescimento, uma vez que grandes árvores da espécie ocorrem em florestas similares na região de seu estudo. Compensando o pequeno número de plântulas, *C. estrelensis* e *P. grandiflorum* apresentaram as menores taxas de mortalidade nas classes subseqüentes.

O pequeno período de acompanhamento das espécies no campo, neste estudo, não permite conclusões sobre probabilidades de estabelecimento, mesmo devido à irregularidade da frutificação. No entanto, vale lembrar que nas matas de brejo, a saturação hídrica do solo atua como um fator limitante ao estabelecimento da maioria das espécies, restringindo a sua diversidade florística, mesmo em relação às áreas de mata ciliar. Da mesma forma, pode exercer uma pressão sobre a abundância de plântulas das espécies que aí ocorrem, tanto em função da tolerância destas como da amplitude de ocorrência do estresse, além de outros fatores bióticos como abióticos.

Apesar da presença de grande quantidade de plântulas de *T. guianensis*, *P. heptaphyllum* e *T. ovata* (em relação às outras duas espécies), estas apresentaram altas taxas de mortalidade (55; 35 e 68% respectivamente). Taxas de mortalidade semelhantes a estas foram observadas em *Virola michelli* (52,2% - Forget 1991), *Trichilia tuberculata*, *Tetragastris panamensis* e *Quararibea asterolepsis* (31 a 50% - De Steven 1994) em florestas tropicais muito úmidas, assim como em áreas alagáveis em florestas fora dos trópicos (Streng et al. 1989).

A ausência de mortalidade para árvores maiores que 2,0m de altura para todas as espécies no período deste estudo está de acordo com a baixa taxa de mortalidade anual observada em outras florestas (Campbell et al. 1992, Korning & Balslev 1994, Felfilli 1995).

Uma comparação entre áreas próximas sugere que a vegetação sob influência do solo alagado apresenta taxas anuais de mortalidade levemente maiores do que a vegetação sob terra firme (Korning & Balslev 1994). Alagamentos ocasionais, em áreas pouco propensas a este estresse, aumentam a mortalidade de árvores assim como a susceptibilidade destas ao ataque de patógenos (Mori & Becker 1991).

Contudo, as 5 espécies apresentaram um padrão geral bem documentado de mortalidade dependente de tamanho (Tabela 1.1), ou seja, com as plântulas experimentando as maiores taxas (Clark & Clark 1985, Turner 1990, Korning & Balslev 1994). O aumento da sobrevivência com o aumento de tamanho ou de idade observado para as espécies neste estudo (Tabela 1.1) também foi observado por outros autores como Streng et al. (1989), Turner (1990), De Steven (1994). Em plantas de *Dipteryx panamensis* Clark & Clark (1985) observaram que a sobrevivência das plântulas foi positivamente correlacionada com a área foliar. Como o alagamento do solo é extremamente prejudicial ao sistema radicular, pode-se sugerir que as plântulas são principalmente afetadas por apresentarem um sistema radicular ainda pouco desenvolvido e mais susceptível aos efeitos deletérios do alagamento, deixando-as mais vulneráveis.

Assim, além dos diversos fatores de mortalidade que afetam as plântulas em florestas tropicais como herbivoria, influência da serapilheira, impacto da chuva, falta de recursos como água e luz, etc. (Ng 1978, Swaine et al. 1987, Streng et al. 1989) pode-se acrescentar a estes, o carreamento de solo pela movimentação da água nas matas de brejo, comprometendo as plantas com o sistema radicular não bem desenvolvido.

O crescimento de plântulas no ambiente sombreado do sub-bosque das florestas é caracteristicamente lento (Streng et al. 1989, De Steven 1994, Jones et al. 1994, Kitagima 1994). O incremento médio observado neste estudo, para plantas menores que 2m variou de 5 a 20cm por ano, com poucas plantas apresentando um grande crescimento, enquanto a maioria cresce pouco ou não cresce. Grandes incrementos em altura em plantas do sub-bosque têm sido associados à abertura ou à proximidade de clareiras (Turner 1990, De Steven 1994).

Apesar das baixas taxas de crescimento, após o primeiro ano de vida a sobrevivência das plantas aumenta (observada pela menor mortalidade nas maiores classes de tamanho). Kitagima (1994) justifica que a alocação de recursos para a defesa em detrimento do crescimento é especialmente importante, principalmente em uma pequena escala de tempo, enquanto não ocorre a abertura de pequenas clareiras.

Assim, pode-se concluir que a diferença na densidade de indivíduos pode ser consequência dos diferentes investimentos na frutificação e recrutamento das plantas. A predação de sementes pré ou pós dispersão também é um fator determinante para o recrutamento (Howe et al. 1985, Schupp 1988, Forget 1992).

A saturação hídrica do solo das matas de brejo, além de comprometer o funcionamento das raízes pela limitação de O_2 , entre outras modificações, também interfere na germinação e estabelecimento das plantas que, para muitas espécies ficam restritos à disponibilidade de micro-sítios favoráveis no chão da floresta (Streng et al. 1989, Jones et al. 1994, Jordan & Hartman 1995, Scarano et al. 1997). Estes aspectos serão abordados no próximo capítulo.

CAPÍTULO II

Aspectos ecofisiológicos e metabólicos da germinação de 5 espécies arbóreas tropicais, típicas de ambiente com solo hidricamente saturado.

Introdução:

A semente ocupa uma posição crítica na história de vida das plantas, pois suas características fisiológicas e bioquímicas determinam o sucesso do estabelecimento de um novo indivíduo (Bewley & Black 1994). Além disto, o conjunto de características morfológicas e fisiológicas das sementes podem refletir, ao menos em parte, respostas a pressões seletivas do ambiente passado (Vázquez-Yanes & Orozco-Segovia 1993).

Florestas tropicais apresentam uma grande variabilidade de condições microclimáticas e de oferta de recursos (Brokaw 1985, Clark & Clark 1987, Denslow 1987, Lee 1987). Este fato aliado à necessidade de condições ambientais específicas que as sementes da maioria das espécies apresentam para germinar denotam a importância dos micro-sítios para o sucesso da germinação e estabelecimento da plântula (Harper et al. 1964, Chambers & MacMahon 1994).

O processo de germinação inicia-se com a hidratação da semente, ou embebição, que é caracterizada por 3 fases. A fase I é meramente o resultado de um processo físico de absorção de água, dependente da diferença entre o potencial de água da semente e do meio que a contém, e influenciado pela composição da semente, taxa de respiração e temperatura. A fase II, ou de transição, envolve pouco movimento de água e um metabolismo ativo que prepara para a fase III de nova absorção de água que leva à protrusão da radícula. Esta, por sua vez, é considerada um processo de expansão e alongamento, que, portanto, não requer divisão celular (Bewley & Black 1994).

Com a embebição, inicia-se uma cadeia de eventos como hidratação proteica, síntese de macromoléculas, respiração, entre outros, que levam à protrusão da radícula (Bewley & Black 1994). No início da germinação, a principal fonte de ATP para a semente é a fosforilação oxidativa, que tem o oxigênio como aceptor final de elétrons (Bewley & Black 1994, Fox et al. 1994). Na ausência de oxigênio, o metabolismo respiratório cessa, deixando de produzir 36 moles de ATP por mol de glicose respirada. O metabolismo passa a ser fermentativo, produzindo somente 2 moles de ATP por mol de glicose (Fox et al. 1994). Portanto, a hidratação das sementes no ambiente de mata ciliar ou de matas de brejo quando o solo está hidricamente saturado pode comprometer a capacidade germinativa de algumas espécies devido à deficiência de oxigênio imposta às sementes, restringindo a sua respiração aeróbica.

Durante a germinação, as sementes podem passar por períodos naturais de hipoxia (poucas horas a muitos dias), tanto devido à impermeabilidade da casca ao oxigênio quanto pela sua alta demanda após a aceleração do metabolismo (Leblova 1978, Crawford 1992, Bewley & Black 1994). Muito embora situações de hipoxia possam ser comuns às sementes, poucas são as espécies capazes de germinar com sucesso em condições limitadas de oxigênio (ver a seguir).

Heichel & Dey (1972 apud Al-Ani et al. 1985) observaram que sementes de monocotiledôneas germinam em pressões parciais de oxigênio tão baixas quanto 2 KPa, enquanto as de dicotiledôneas requerem pressões parciais maiores. De forma semelhante Al-Ani et al. (1985) observaram que sementes que possuem amido como reserva principal germinam a pressões parciais abaixo de 0,1

KPa, enquanto as que possuem lipídeos como reserva não germinam quando expostas a menos do que 1 KPa O₂.

A germinação sob água já foi observada para muitas espécies (Morinaga 1926 apud Small et al. 1989, Kozłowski 1984b), inclusive algumas brasileiras como *Inga affinis* (Lieberg & Joly 1993) *I. fagifolia* e *I. luschnatiana* (Okamoto 1998), *Sesbania virgata* (Okamoto 1995) e espécies de *Ludwigia*, que germinam flutuando (Ana Odete dos Santos Vieira, comunicação pessoal). No entanto, a maioria das espécies perde a viabilidade se submersa por períodos prolongados (Hook 1984, Steege 1994, Scarano et al. 1997).

Já, a germinação sob anoxia foi observada em poucas espécies. Sementes das monocotiledôneas *Oryza sativa* (arroz) e *Echinochloa phyllopogon* são capazes de expandir o coleoptile em completa ausência de oxigênio. Embora não ocorra divisão celular, esta resposta permite à plântula, no seu ambiente natural, deixar o substrato anóxico e atingir zonas alagadas mais aeradas para completar o desenvolvimento (Vanderzee & Kennedy 1981, Fox et al. 1994). Outras espécies capazes de germinar sob anoxia incluem *Chorisia speciosa* (Joly & Crawford 1983), *Erythrina caffra* (Small et al. 1989), *Trapa natans*, *Scirpus mucronatus* e *Nuphar luteum* (Menegus et al. 1992) e *I. fagifolia* (Okamoto 1998). *C. speciosa* apenas protrai a radícula em uma mucilagem que envolve a semente durante a embebição, enquanto *E. caffra* e *T. natans* exibem alongamento da radícula sob anoxia. *S. mucronatus* e *N. luteum* apresentam o desenvolvimento de um órgão semelhante ao coleoptile, sendo que o desenvolvimento de raízes e folhas só ocorre na presença de O₂.

O sucesso da germinação de *O. sativa* sob anoxia tem sido atribuído a uma elevada capacidade de fermentação e eliminação do etanol produzido (Kennedy et al. 1987). A manutenção de elevadas taxas de fermentação é proporcionada pela capacidade de degradar o amido em anoxia (Perata et al. 1992, Guglielminetti et al. 1995a).

Já *E. phyllopogon* que também conta com uma capacidade aparente de degradar amido (Kennedy et al. 1980), apresenta uma combinação entre fermentação e atividade de enzimas do ciclo dos ácidos tricarbóxicos e via pentose fosfato (Fox et al. 1994), podendo utilizar o nitrato como aceptor final de elétrons (Kennedy et al. 1983).

Sementes de outros cereais, como trigo e cevada, ao contrário do arroz, não germinam sob anoxia e não são capazes de degradar grãos-de-amido (Guglielminetti et al. 1995a). Consomem rapidamente os açúcares livres, levando à exaustão dos substratos respiratórios, o que compromete a germinação e a viabilidade das sementes (Perata et al. 1997).

O conteúdo de adenilatos, ou suas proporções, a carga energética $[(ATP + 1/2ADP)/ATP + ADP + AMP]$ (Pradet & Bomsel 1978), estão correlacionados com a capacidade de sobrevivência ou de germinação em condições limitadas de oxigênio. Sementes de alface não germinam em anoxia, mas mantêm-se viáveis por 3 semanas nesta condição, apresentando uma carga energética extremamente baixa (0,3) (Raymond & Pradet 1980). Este baixo valor representa uma baixa disponibilidade de energia que acaba preservando as células por impedir a degradação proteica,

sendo que valores intermediários (0,4 a 0,6) são letais (Olden & Goldberg 1978 apud Raymond & Pradet 1980).

Estudos envolvendo germinação sob hipoxia ou anoxia em sementes que não sejam de cereais não são muito numerosos. A maioria das espécies arbóreas tropicais apresentam sementes que não germinam mas que mantêm-se viáveis em condições hipóxicas ou anóxicas por determinados períodos de tempo (Marques et al. 1992, Scarano & Crawford 1992, Kubitzki & Ziburski 1994, Okamoto 1995, 1998, Lobo & Joly 1996, Kolb 1998).

Sementes de *T. guianensis* e de *P. heptaphyllum* são dispersas durante a estação chuvosa e as de *T. ovata*, *C. estrelensis* e *P. grandiflorum* durante a estação seca, com diferenças quanto ao estabelecimento das plântulas (Capítulo I). Surge, então, a seguinte questão: existem diferenças fisiológicas na germinação destas 5 espécies que favoreçam ou dificultem o estabelecimento das plântulas de maneira a influenciar a sua abundância?

Este trabalho pretende determinar o potencial germinativo de 5 espécies ocorrentes na mata de brejo da Reserva de Santa Genebra, Campinas, SP, buscando avaliar o efeito da hipoxia e anoxia na germinação, na viabilidade e na produção de etanol, lactato e malato pelas sementes, buscando correlacionar as respostas fisiológicas com o comportamento ecológico e fenológico observado para cada espécie no Capítulo I.

Material e Métodos:

1. Coleta de sementes:

Sementes de *Tapirira guianensis*, *Protium heptaphyllum* e *Talauma ovata* foram coletadas na área de estudo, enquanto que as sementes de *Cariniana estrelensis* foram coletadas nos municípios paulistas de Ribeirão Preto e Tietê e no campus da UNICAMP, e as de *Pseudobombax grandiflorum* foram coletadas somente no campus da UNICAMP, devido à ausência de frutificação destas duas espécies na área de estudo. Foram utilizadas pelo menos 3 indivíduos parentais de cada espécie.

T. guianensis e *P. heptaphyllum* apresentaram uma frutificação irregular com taxas elevadas de predação das sementes, desta forma alguns experimentos não foram realizados por falta de sementes viáveis (item 2 incompleto e 3 a 5 para *T. guianensis* e 5 para *P. heptaphyllum*). Antes de submetidas aos tratamentos, fez-se uma análise prévia das sementes, na tentativa de eliminar as que estivessem predadas.

2. Efeito da normoxia, hipoxia e anoxia na germinação:

As sementes foram pesadas, lavadas em solução de micostatin (1000 units/ml) e submetidas às seguintes condições: **normoxia (controle)**, na qual as sementes foram postas para germinar em placas do tipo Gerbox sobre papel de filtro umedecido com água destilada; **hipoxia**, na qual as sementes foram mantidas submersas em um béquer com 100 ml de água destilada e com a superfície vedada, sendo que a submersão total foi garantida pelo envolvimento das sementes em um

pacote confeccionado com uma camada de gaze; e **anoxia**, na qual as sementes foram postas para germinar em placas plásticas, do tipo Petri, e mantidas em jarras anaeróbicas (Oxoid). Estas jarras contêm 2 *sachets* (um dos quais gera uma atmosfera anaeróbica (N₂, H₂ e CO₂) e outro atua como indicador), e um catalisador que acelera a remoção de oxigênio.

Todos os tratamentos foram conduzidos com 5 repetições com 10 sementes, mantidas em câmara de germinação FANEM, sob luz branca com fotoperíodo de 12 horas e temperatura de $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$. A protrusão da radícula foi considerada como critério de germinação. Os tempos de tratamento variaram de acordo com o tempo de germinação de cada espécie.

3. Efeito da normoxia, hipoxia e anoxia na produção de etanol, lactato e malato:

Cinco repetições com aproximadamente 0,5g de semente (4 a 6 sementes) foram mantidas por intervalos variados de tempo em condições de normoxia, hipoxia e anoxia. Ao final de cada tempo de tratamento as amostras foram colocadas em N₂ líquido, extraídas em HClO₄ (6%), centrifugadas e o sobrenadante neutralizado com K₂CO₃ (5M) e congelado. A quantificação posterior de etanol, lactato e malato foi realizada enzimaticamente com a utilização de kits da Boehringer, através do registro da redução de NAD em espectrofotômetro a 340 nm (Joly & Brändle 1995).

4. Efeito da hipoxia e anoxia na viabilidade das sementes:

Para os tratamentos de hipoxia e anoxia descritos acima, foram adicionadas 2 repetições com 10 sementes, que ao final de cada tempo foram

lavadas e transferidas para condições normais de oxigênio, semelhantes à condição controle, em câmara de germinação. Fez-se, então, um acompanhamento da germinação para avaliar a capacidade de recuperação das sementes mantidas em hipoxia e anoxia.

5. Identificação e quantificação das reservas das sementes:

A determinação das reservas das sementes foi realizada após a finalização de todos os experimentos, a fim de identificar a reserva principal, somente das espécies *T. ovata*, *C. estrelensis* e *P. grandiflorum* devido à indisponibilidade de sementes de *T. guianensis* e de *P. heptaphyllum*. Uma nova coleta foi realizada, as sementes foram colocadas em estufa de secagem a 50°C por 72h e após este período foram trituradas em moinho.

A quantificação de lipídeos foi feita por gravimetria após lavagem constante do material em hexano-etanol (2:1) com a utilização do aparelho Soxhlet, em uma amostra com 0,5g de material seco por espécie. Açúcares livres e polissacarídeos foram extraídos e quantificados colorimetricamente de acordo com Buckeridge & Dietrich (1996) em duas amostras de 25mg de material por espécie. Amido (3 amostras) e proteínas (2 amostras) foram quantificados após extração em MCW (metanol-clorofórmio-água), com as proteínas solubilizadas em NaOH (0,1N) e determinadas pelo método de Bradford (1976), e o amido hidrolisado em ácido perclórico (30%) e quantificado pelo método da antrona, com base numa reta padrão de glicose.

6. Análise estatística:

Os valores de média e desvio padrão referentes à germinação e expressos como porcentagem foram calculados após a transformação dos valores de porcentagem para arco seno da raiz quadrada de (p), sendo p o valor decimal da porcentagem, e depois reconvertidos. A análise estatística da produção de etanol, lactato e malato foi feita através da análise de variância (ANOVA) seguida do teste de Tukey 5% (Zar 1984).

Resultados:

Todas as espécies apresentaram sementes fotoblásticas neutras (Tabela 2.1). A presença do arilo em *P. heptaphyllum* e em *T. ovata* impede a germinação das sementes, devendo, portanto, ser removido. Sementes mantidas em condições de normoxia (controle) e na luz apresentaram um potencial germinativo de 58 a 91%, e tanto condições de hipoxia quanto de anoxia foram inibitórias para a germinação das 5 espécies (Tabela 2.1).

A viabilidade pós tratamento em hipoxia e anoxia variou bastante entre as espécies, sendo que algumas vezes a hipoxia mostrou-se mais severa do que a anoxia (Tabela 2.2). Sementes de *P. grandiflorum* perderam completamente a viabilidade após 8 e 10 dias em hipoxia ou anoxia, respectivamente, enquanto que para *P. heptaphyllum* e *C. estrelensis* ambas as situações inviabilizaram as sementes com 15 dias. *T. ovata* ainda mostrou uma baixa viabilidade até 20 dias em hipoxia, e para *T. guianensis* poucas informações foram obtidas.

Tabela 2.1 – Características da germinação de 5 espécies arbóreas da mata de brejo da Reserva de Santa Genebra, Campinas, SP. Os valores de germinação representam a média \pm desvio padrão, $n=5$, após transformação para arco seno da raiz quadrada da porcentagem).

Espécie	Tempo de Germinação (dias)		Germinação (%)			
	Início	Final	Normoxia		Hipoxia	Anoxia
			Luz	Escuro	Luz	Luz
<i>T. guianensis</i>	2	10	75,0 \pm 3,0	62,0 \pm 7,5	0	0
<i>P. heptaphyllum</i>	6	15	60,0 \pm 5,2	39,0 \pm 2,3	0	0
<i>T. ovata</i>	14	30	91,0 \pm 3,0	90,0 \pm 9,2	0	0
<i>C. estrelensis</i>	13	30	87,0 \pm 5,0	69,0 \pm 3,5	0	0
<i>P. grandiflorum</i>	4	15	58,0 \pm 4,0	33,0 \pm 3,1	0	0

Tabela 2.2 – Efeito da hipoxia e anoxia na viabilidade das sementes de 5 espécies arbóreas da mata de brejo da Reserva de Santa Genebra, Campinas, SP. (Os valores representam o resultado de 2 repetições com 10 sementes cada, hífen representa tempo de tratamento não testado).

Tempo		Viabilidade pós tratamento (%)				
		<i>T. guianensis</i>	<i>P. heptaphyllum</i>	<i>T. Ovata</i>	<i>C. estrelensis</i>	<i>P. grandiflorum</i>
2,5 dias	hipoxia	-	-	0 e 0	20 e 20	40 e 90
	anoxia	100 e 100	-	20 e 50	0 e 10	60 e 70
4 dias	hipoxia	-	-	-	-	30 e 30
	anoxia	-	-	-	-	40 e 60
5 dias	hipoxia	-	0 e 10	60 e 90	0 e 0	-
	anoxia	-	0 e 10	90 e 90	50 e 70	-
8 dias	hipoxia	-	-	-	-	10 e 10
	anoxia	-	-	-	-	0 e 0
10 dias	hipoxia	-	0 e 0	40 e 40	-	0 e 0
	anoxia	10 e 30	0 e 10	30 e 40	-	0 e 0
15 dias	hipoxia	-	0 e 0	-	0 e 0	-
	anoxia	-	0 e 0	-	0 e 0	-
20 dias	hipoxia	-	-	0 e 30	-	-
	anoxia	-	-	0 e 0	-	-

Tabela 2.3 – Principais reservas de sementes de 3 espécies arbóreas da mata de brejo da Reserva de Santa Genebra, Campinas, SP. (Os valores indicam a média \pm desvio padrão).

Espécie	Tipo de reserva ($\mu\text{g}/\text{mg}$ peso seco semente)				
	Polissacari- deos totais (n=2)	Açúcar solúvel (n=2)	Amido (n=3)	Proteínas (n=2)	Lipídeos (n=1)
<i>T. ovata</i>	20,6 \pm 0,07 (2%)	16,8 \pm 0,8 (1,7%)	6,5 \pm 0,7 (0,6%)	115,0 \pm 4,5 (11,5%)	429,5 (43%)
<i>C. estrelensis</i>	26,4 \pm 2,6 (2,6%)	20,4 \pm 2,3 (2,0%)	8,7 \pm 0,1 (0,8%)	51,7 \pm 5,5 (5,2%)	329,6 (33%)
<i>P. grandiflorum</i>	30,9 \pm 2,4 (3,0%)	26,8 \pm 2,3 (2,7%)	8,5 \pm 0,2 (0,9%)	36,4 \pm 4,3 (3,6%)	203,5 (20,3%)

Protium heptaphyllum: o conteúdo de etanol, lactato e malato em sementes de *P. heptaphyllum* foi semelhante nos 3 tratamentos de normoxia, hipoxia e anoxia, sendo que o etanol foi o principal produto do metabolismo anaeróbico (Figura 2.1). Seu acúmulo foi máximo após 2,5 dias de tratamento, e após 5 dias o conteúdo na semente estava semelhante ao nível inicial (Figura 2.1a). Esta diminuição no conteúdo de etanol nas sementes aos 5 dias foi acompanhada por uma grande quantidade de etanol na solução, indicando que o mesmo foi liberado para o meio (Tabela 2.4). Ao final de 10 dias sob hipoxia praticamente não se detectou a presença de etanol nas sementes nem na solução (Figura 2.1a e Tabela 2.4). Os níveis de lactato e malato praticamente não variaram entre os tratamentos (Figura 2.1b,c), não sendo, portanto, produto do metabolismo anaeróbico nesta espécie.

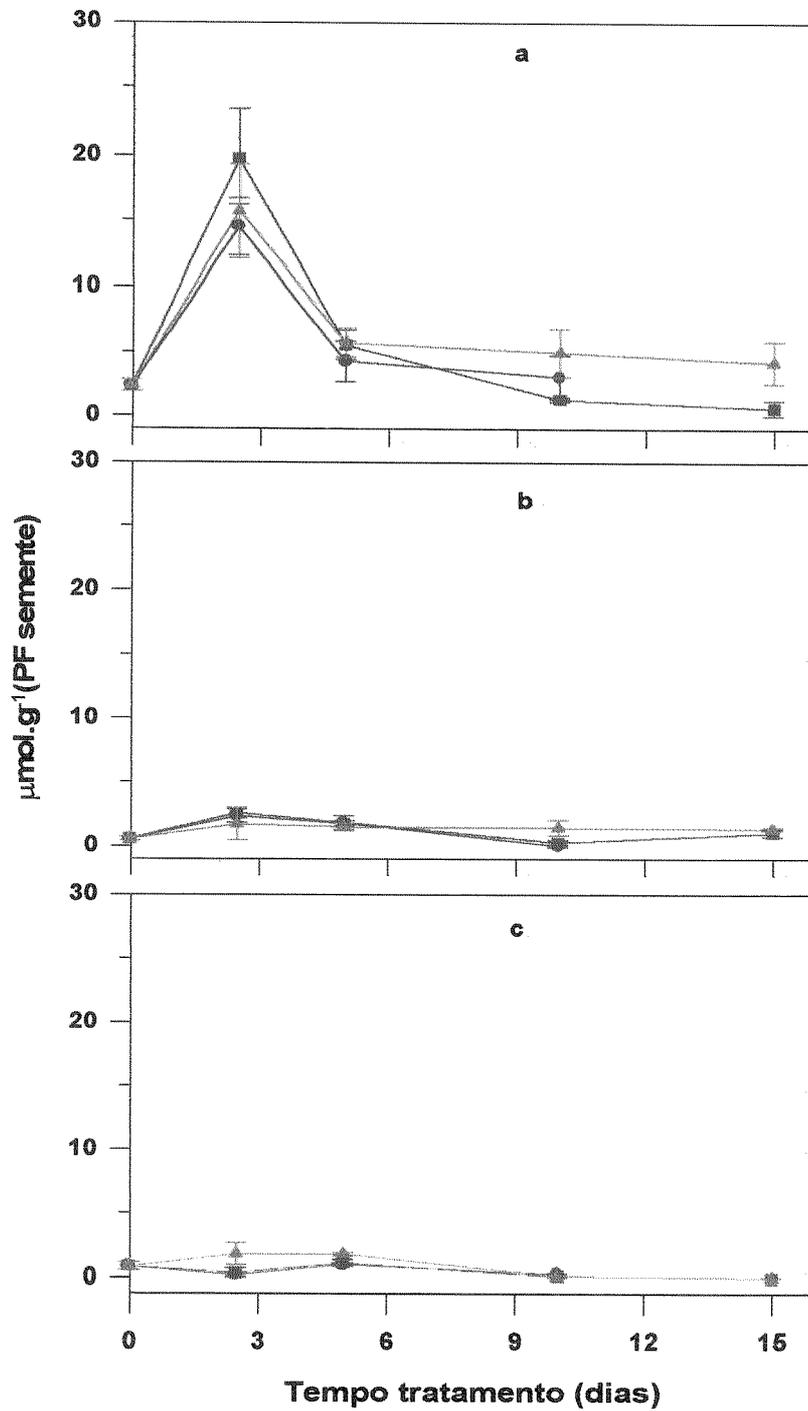


Figura 2.1 – Conteúdo de etanol (a), lactato (b) e malato (c) em sementes de *Protium heptaphyllum* após embebição em condições de normoxia (●), hipoxia (■) e anoxia (▲). Os valores representam a média \pm erro padrão de 4 repetições.

Tabela 2.4 - Produção de etanol em sementes de *Protium heptaphyllum* mantidas em hipoxia. Os valores representam a média \pm desvio padrão, n=4, após transformação para arco seno da raiz quadrada da porcentagem).

Tempo de tratamento	Etanol		
	SEMENTE	SOLUÇÃO	TOTAL
5 dias			
($\mu\text{mol g}^{-1}$ semente)	4,9 \pm 2,2	16,9 \pm 21,2	21,8 \pm 22,7
(%)	33,4 \pm 3,7	66,6 \pm 3,7	
10 dias			
($\mu\text{mol g}^{-1}$ semente)	1,4 \pm 0,3	0,9 \pm 0,8	2,3 \pm 1,0
(%)	75,3 \pm 10,4	25,7 \pm 10,4	
15 dias			
($\mu\text{mol g}^{-1}$ semente)	0,7 \pm 0,8	0	0,73 \pm 0,8
(%)	100	0	

Talauma ovata: da mesma maneira que em sementes de *P. heptaphyllum*, não se observou diferenças entre os tratamentos no conteúdo de etanol, lactato e malato em sementes de *T. ovata*, exceto pela maior produção de etanol em sementes escarificadas mantidas em normoxia em relação às mantidas em anoxia (Figura 2.2). Apesar da semelhança dos metabólitos entre sementes intactas e escarificadas (Figura 2.2) a escarificação das sementes aparentemente leva a uma redução na viabilidade das sementes mantidas em hipoxia e em anoxia, em relação às sementes intactas (dados não apresentados). Novamente o etanol foi o metabólito que mostrou variações de conteúdo em grande escala, enquanto lactato (Figura 2.2 c,d) e malato (Figura 2.2 e,f) praticamente não variaram. Etanol, lactato e malato não foram detectados em solução, indicando que não há liberação destes para o meio.

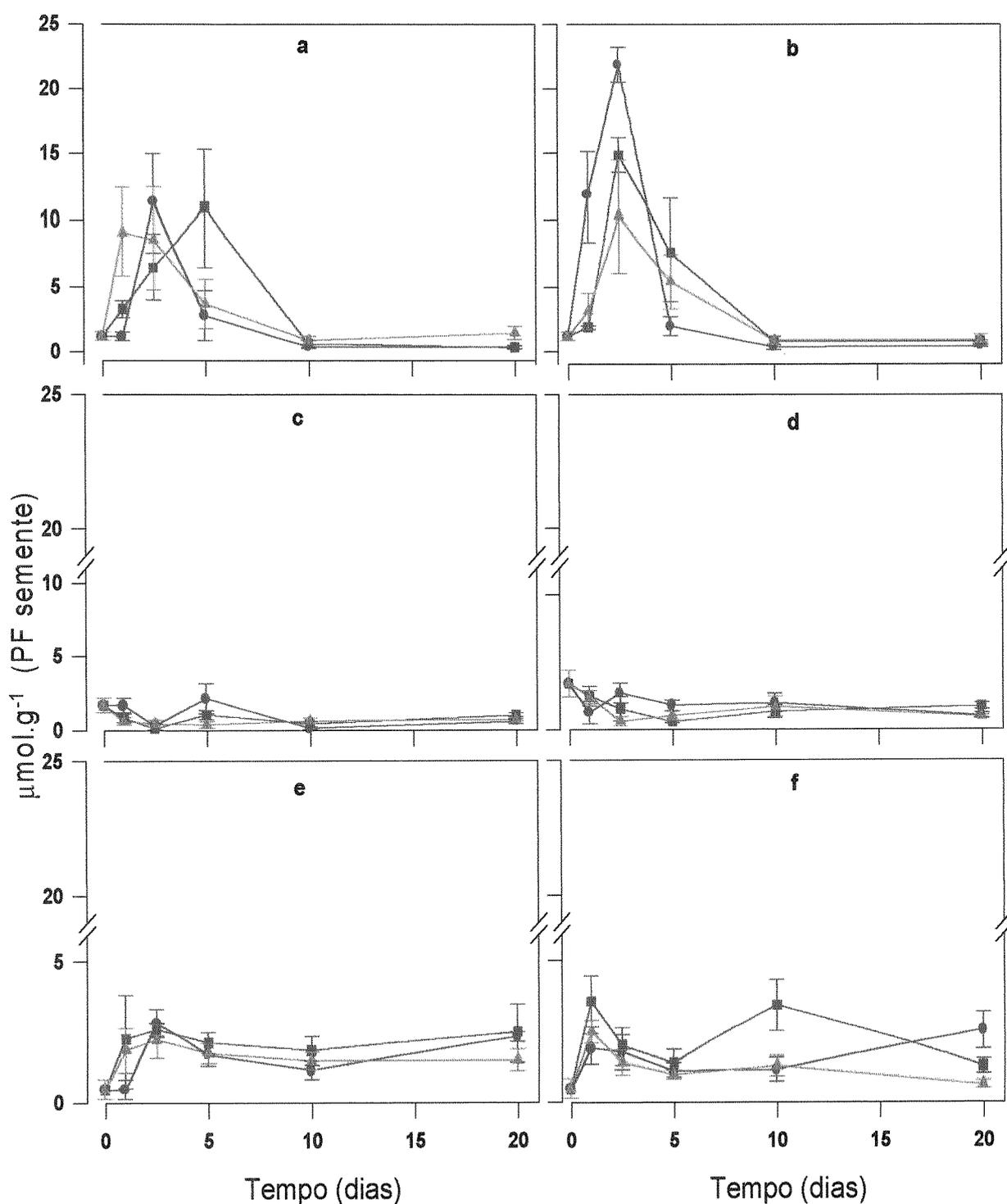


Figura 2.2 – Conteúdo de etanol (a,b), lactato (c,d) e malato (e,f) em sementes de *Talauma ovata* após embebição em condições de normoxia (●), hipoxia (■) e anoxia (▲). a,c,e: sementes intactas; b,d,f: sementes escarificadas. Os valores representam a média \pm erro padrão de 5 repetições.

Cariniana estrelensis: ao contrário das duas espécies anteriores, diferenças significativas na produção de etanol, lactato e malato foram observadas entre os três tratamentos de normoxia, hipoxia e anoxia em sementes de *C. estrelensis*. No início houve um acúmulo de etanol semelhante entre os 3 tratamentos (Figura 2.3), e também foi observada uma grande quantidade de etanol na solução (Tabela 2.5). Após 5 dias o seu conteúdo nas sementes manteve-se elevado somente em anoxia, sendo significativamente maior do que em normoxia e hipoxia ($p < 0,05$) (Figura 2.3a), no entanto, grande quantidade de etanol ainda foi encontrada em solução ($\pm 85\%$). Já com 15 dias seu conteúdo foi praticamente nulo, indicando que a sua produção praticamente cessou neste intervalo de tempo (Tabela 2.5).

O lactato também foi um produto importante do metabolismo anaeróbico. Houve um aumento progressivo no seu conteúdo a partir do primeiro dia até ao final de 5 dias de hipoxia e anoxia, alcançando níveis significativamente maiores ($p < 0,05$) que o de sementes mantidas em normoxia. Aos 15 dias o conteúdo nas sementes já era menor, no entanto em hipoxia o seu valor ainda era maior que nos demais tratamentos ($p < 0,05$). Não houve variação significativa nas sementes em normoxia (Figura 2.3 b).

A embebição em condições de normoxia levou a um aumento no conteúdo de malato que aos 5 dias foi significativamente maior que nos demais tratamentos ($p < 0,05$), enquanto que seus níveis praticamente não se alteraram em hipoxia e anoxia (Figura 2.3 c). Lactato e malato não foram detectados em solução.

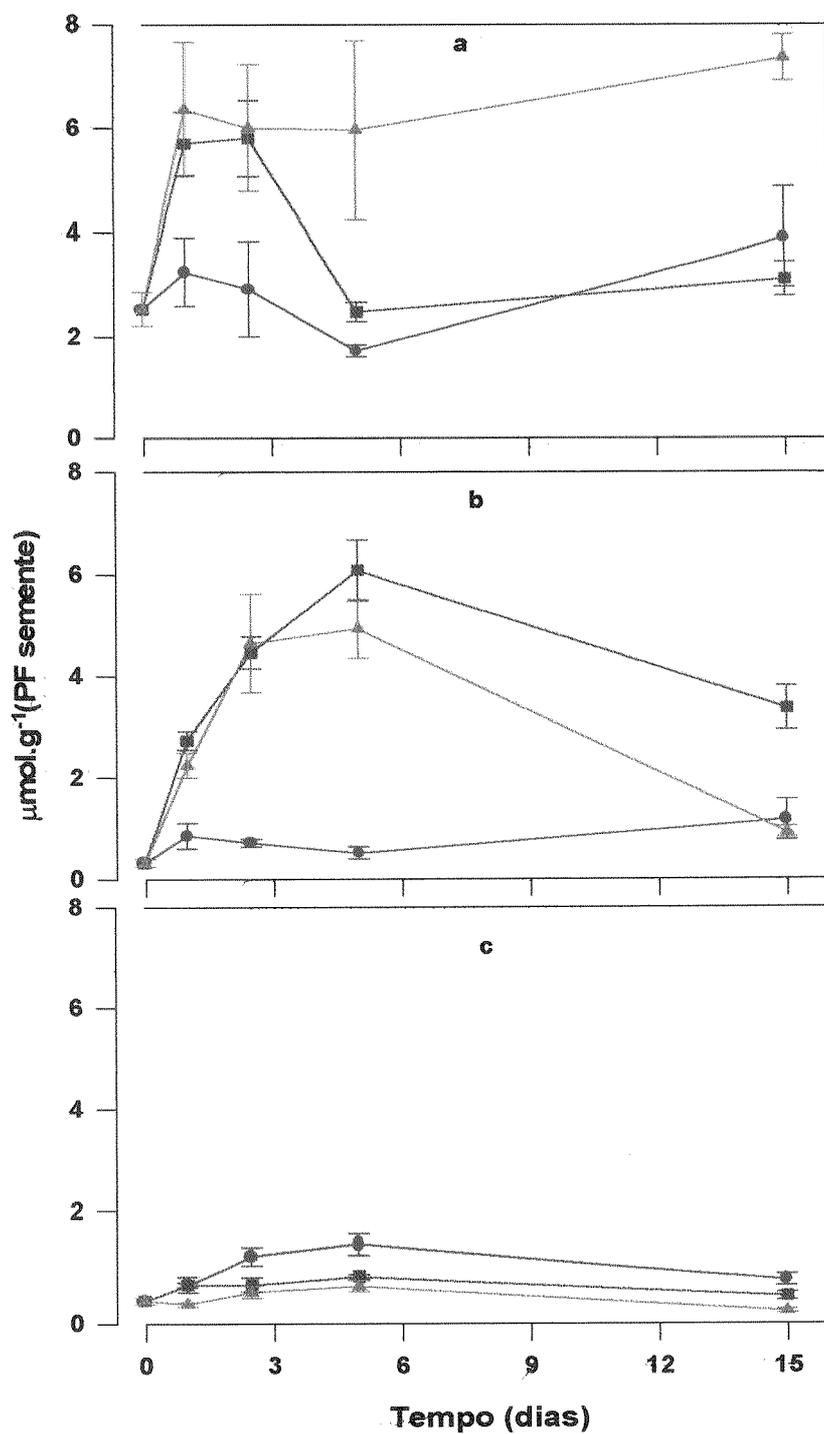


Figura 2.3 – Conteúdo de etanol (a), lactato (b) e malato (c) em sementes de *Cariniana estrelensis* após embebição em condições de normoxia (●), hipoxia (■) e anoxia (▲). Os valores representam a média \pm erro padrão de 5 repetições.

Tabela 2.5 – Conteúdo de etanol nas sementes de *Cariniana estrelensis* mantidas em hipoxia. Os valores indicam a média \pm desvio padrão, n=5, após transformação para arco seno da raiz quadrada da porcentagem).

Tempo de tratamento	Etanol		
	SEMENTE	SOLUÇÃO	TOTAL
1 dia			
($\mu\text{mol g}^{-1}$ semente)	$5,7 \pm 1,1$	$10,5 \pm 4,6$	$16,2 \pm 3,4$
(%)	$41,0 \pm 0,4$	$59,0 \pm 0,41$	
2,5 dias			
($\mu\text{mol g}^{-1}$ semente)	$4,8 \pm 2,23$	$8,2 \pm 2,66$	$13,0 \pm 3,7$
(%)	$35,6 \pm 2,1$	$64,4 \pm 2,1$	
5 dias			
($\mu\text{mol g}^{-1}$ semente)	$2,5 \pm 0,4$	$17,3 \pm 9,8$	$19,8 \pm 8,5$
(%)	$15,7 \pm 1,5$	$84,3 \pm 1,5$	
15 dias			
($\mu\text{mol g}^{-1}$ semente)	$3,14 \pm 1,1$	0	$3,14 \pm 1,1$
(%)	100	0	

Pseudobombax grandiflorum: após o primeiro dia, a embebição de sementes de *P. grandiflorum* em condições de anoxia levou a uma produção de etanol significativamente maior do que a observada em condições de normoxia ou hipoxia ($p < 0,05$), atingindo um pico no quarto dia. O aumento no conteúdo de etanol nas sementes em condições de normoxia e hipoxia ocorreu somente após quatro dias de tratamento ($p < 0,05$). A maior parte do etanol produzido foi encontrada na solução até o oitavo dia de tratamento, indicando a sua capacidade de eliminação. Após 10 dias havia pouco etanol tanto nas sementes quanto na solução (Figura 2.4a e Tabela 2.6), sugerindo a parada de sua produção.

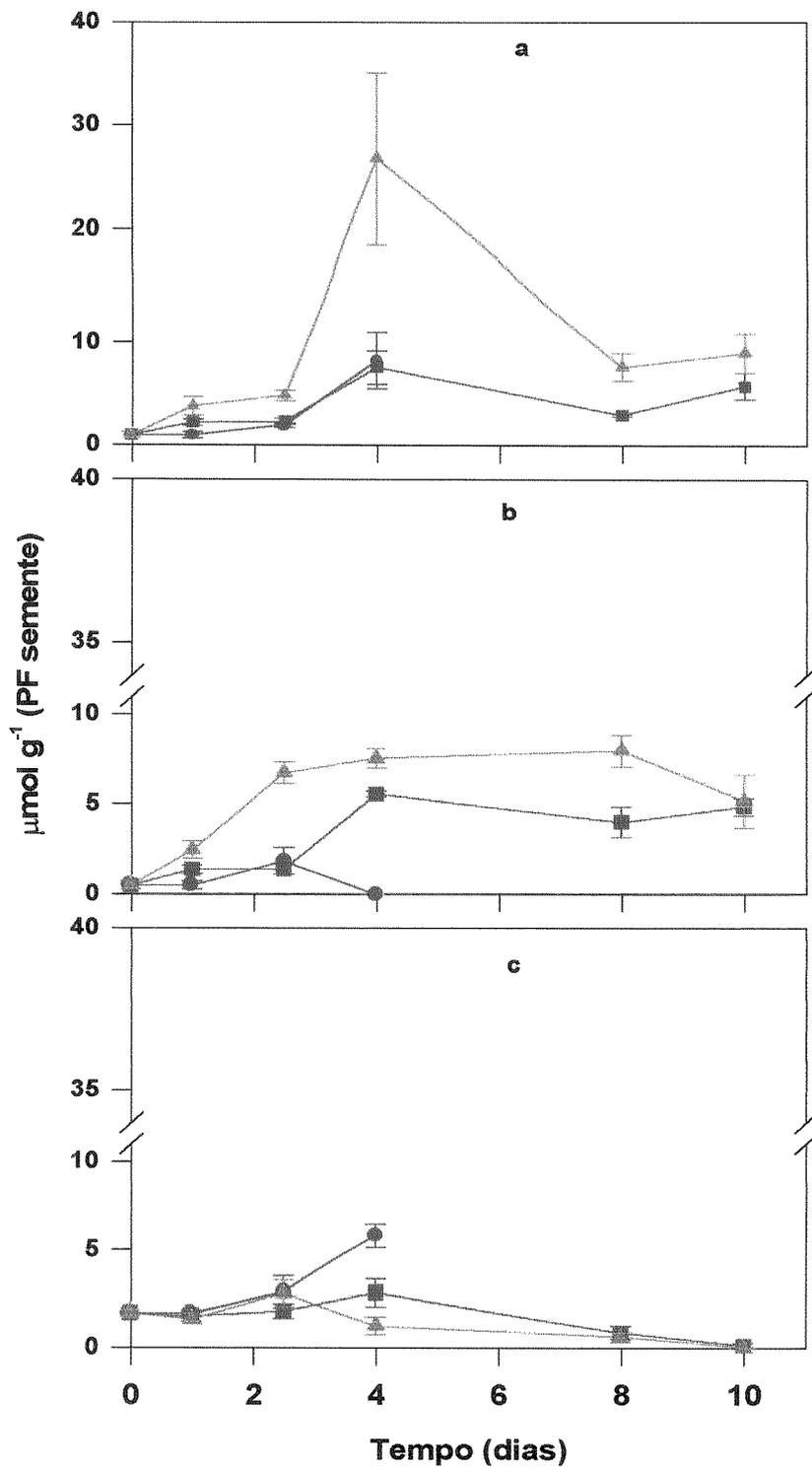


Figura 2.4 – Conteúdo de etanol (a), lactato (b) e malato (c) em sementes de *Pseudobombax grandiflorum* após embebição em condições de normoxia (°), hipoxia (■) e anoxia (▲). Os valores representam a média \pm erro padrão de 5 repetições.

Tabela 2.6 - Produção de etanol em sementes de *Pseudobombax grandiflorum* mantidas em hipoxia. Os valores indicam a média \pm desvio padrão, n=5, após transformação para arco seno da raiz quadrada da porcentagem).

Tempo de tratamento	Etanol		
	SEMENTE	SOLUÇÃO	TOTAL
1 dia			
($\mu\text{mol g}^{-1}$ semente)	2,2 \pm 0,6	9,4 \pm 1,7	11,6 \pm 1,8
(%)	18,7 \pm 0,4	81,2 \pm 0,4	
2,5 dias			
($\mu\text{mol g}^{-1}$ semente)	2,3 \pm 0,6	2,6 \pm 1,0	4,9 \pm 1,3
(%)	51,0 \pm 2,4	49,0 \pm 2,4	
4 dias			
($\mu\text{mol g}^{-1}$ semente)	7,6 \pm 3,3	15,4 \pm 6,5	23,0 \pm 7,4
(%)	33,5 \pm 1,2	66,5 \pm 1,2	
8 dias			
($\mu\text{mol g}^{-1}$ semente)	2,9 \pm 0,3	8,7 \pm 3,0	11,6 \pm 3,3
(%)	26,7 \pm 0,6	73,3 \pm 0,6	
10 dias			
($\mu\text{mol g}^{-1}$ semente)	5,8 \pm 2,6	1,1 \pm 0,4	6,9 \pm 2,8
(%)	84,5 \pm 1,9	14,5 \pm 1,9	

Lactato também foi produzido em condições de hipoxia e anoxia, embora em menor proporção do que o etanol. Após 2,5 dias o conteúdo nas sementes em anoxia era significativamente maior do que em normoxia e hipoxia ($p < 0,05$), e manteve-se elevado até o fim do tratamento (Figura 2.4b). Em condições de hipoxia o aumento na produção de lactato ocorreu somente no quarto dia de tratamento e praticamente não variou quando em normoxia.

Variações nos níveis de malato foram observadas em sementes mantidas em normoxia após o quarto dia de tratamento, quando observou-se que a quantidade de malato era significativamente maior do que em hipoxia e anoxia

($p < 0,05$). Já, uma diminuição significativa no seu conteúdo foi observada ao final dos tratamentos em hipoxia e anoxia (Figura 2.4c).

O pico de etanol aos 4 dias em sementes mantidas em anoxia, assim como o de lactato em hipoxia e de etanol e malato em normoxia (Figura 2.4) coincidem com o início da germinação aos 4 dias (Tabela 2.1). Pode-se sugerir estes aumentos nos conteúdos dos metabólitos sejam decorrentes de uma aceleração metabólica prévia à protrusão da radícula. Assim, a aceleração do metabolismo em normoxia leva a um pequeno aumento de etanol, provavelmente em função da maior demanda por O_2 , e nos tratamentos com restrição de O_2 esta resulta num pico de etanol e lactato acompanhados da ausência de germinação.

Discussão:

Embora todas as espécies em questão neste estudo sejam encontradas em áreas de solo hidricamente saturado durante boa parte do ano, suas sementes são incapazes de germinar em condições de hipoxia e anoxia. Esta situação se torna mais surpreendente ao considerarmos que sementes de *T. guianensis* e de *P. heptaphyllum* são dispersas durante a estação chuvosa (janeiro e fevereiro). Sementes de *T. ovata*, *C. estrelensis* e *P. grandiflorum* são dispersas durante o inverno, a estação mais seca, no entanto, nas matas de brejo ainda existem áreas de solo encharcadas, devido a variações microtopográficas (Figura 1.1 – Capítulo I).

Além de inibir a germinação, condições de hipoxia e anoxia reduzem a viabilidade das sementes em poucos dias. No entanto, vale lembrar que nas condições experimentais estas situações foram contínuas ao longo do tempo, enquanto em situações naturais, a flutuação do lençol freático proporciona condições hipóxicas e anóxicas intermitentes, ao menos em alguns locais, possibilitando a germinação.

Das cinco espécies estudadas, as três que apresentam sementes dispersas na estação seca apresentam lipídeos como principal reserva (*T. guianensis* e *P. heptaphyllum* não foram analisadas). Armazenar carbono na forma de lipídeos pode ser apropriado pois estes contêm maior quantidade de energia em menor volume de massa (Crawford 1989). No entanto, a demanda por O₂ para a respiração dos lipídeos é maior (Al-Ani et. al. 1985, Raymond et al. 1985, Crawford 1992, Dey & Harborne 1997), podendo representar, ao menos aparentemente, uma desvantagem em ambientes propensos à inundação.

Quando expostas a baixas pressões parciais de O₂, a carga energética de sementes com reserva lipídica é reduzida mais rapidamente do que sementes que armazenam carboidratos como reserva (Raymond et al. 1985).

Outra evidência da vantagem de sementes com carboidratos como reserva principal, considerando a germinação em condições hipóxicas, é observada em *Sesbania virgata*, que tanto são capazes de germinar quando submersas, como mantém 100% de viabilidade mesmo após 15 dias de anoxia (Okamoto 1995). Como a maioria das leguminosas, sementes de *Sesbania* apresentam carboidratos na forma de oligossacarídeos da família rafinose (açúcar livre) e galactomananos

(polissacarídeo de parede) como principais reservas (Buckeridge & Dietrich 1996). Sementes de *Inga* também apresentam amido como reserva (ver Okamoto 1998).

Açúcares livres representaram, em média, 2% do peso seco de sementes de *T. ovata*, *C. estrelensis* e *P. grandiflorum*, uma fração muito pequena. *Tabebuia cassinoides*, também uma espécie típica de ambientes encharcados, apresenta, aproximadamente, 17% do peso seco da semente como açúcar livre. Apesar das sementes desta espécie não germinarem em hipoxia ou anoxia, mantêm parcialmente a viabilidade por até 20 e 15 dias nestas condições, respectivamente (Kolb 1998). Açúcares livres raramente são o principal carboidrato de reserva, no entanto há evidências de que estes podem ser importantes substratos para a respiração possibilitando a germinação e, quando presentes em grandes quantidades suportam, também, o crescimento inicial de plântulas (Bewley & Black 1994, Ziegler 1995).

Como a mobilização de reservas é um evento pós-germinativo (Botha et al. 1992, Bewley & Black 1994, Kermode 1995) a presença de pequenas quantidades de açúcares livres podem inviabilizar a germinação em hipoxia devido à insuficiente produção de energia.

Contudo, a presença de grandes quantidades de carboidratos como reserva não representa a capacidade de germinar em anoxia, uma vez que a degradação do amido na ausência de O₂ só foi observada em *O. sativa* e *E. phyllopogon* e é ausente em outros cereais ricos em amido (Perata et al. 1992, Guglielminetti et al. 1995a, b).

Sementes que germinam em baixas pressões parciais de O₂ ou em anoxia apresentam uma fermentação alcoólica ativa, com produção de lactato muito baixa ou quase nula (Rumpho & Kennedy 1981, Joly & Crawford 1983, Raymond et al. 1985, Small et al. 1989, Okamoto 1998).

Tanto etanol quanto lactato são considerados tóxicos para as plantas se acumulados em grandes quantidades. O etanol por afetar a integridade da membrana plasmática pela solubilização de lipídeos (Crawford 1978) ou quando oxidado a acetaldeído (Perata et al. 1986) e o lactato por acidificar o citoplasma (Roberts et al. 1985). Entretanto, recentemente estas considerações têm sido refutadas (Jackson et al. 1982, Perata & Alpi 1991), e a eliminação destes metabólitos para o meio externo tem sido uma resposta comum em espécies tolerantes (Rumpho & Kennedy 1981, Small et al. 1989).

Chorisia speciosa (Joly & Crawford 1983) e *Erythrina caffra* (Small et al. 1989) capazes de prostrar a radícula em anoxia, *Sesbania virgata* (Okamoto 1995) e algumas espécies de *Inga* (Okamoto 1998) que germinam submersas, são espécies arbóreas tropicais cuja germinação e produção de etanol e lactato pelas sementes foram estudadas em condições de déficit de O₂. Nestas espécies, invariavelmente o etanol foi o principal metabólito acumulado e também eliminado para o meio, com pouca produção de lactato (em relação ao etanol produzido), possibilitando o sucesso da germinação.

De maneira semelhante, as quatro espécies deste estudo apresentaram o etanol como principal produto da fermentação podendo ser eliminado para o meio (exceto em *T. ovata*), sendo que duas delas, *C. estrelensis* e *P. grandiflorum* apresentaram, também, um acúmulo considerável de lactato. No

entanto, diferentemente das espécies citadas anteriormente não houve germinação em hipoxia, o que permite a sugestão de que a fermentação não gerou energia suficiente. Outro aspecto que reforça esta colocação é que tanto *T. ovata* quanto *C. estrelensis*, que requerem mais tempo para que a germinação ocorra, com 10 dias de tratamento houve uma redução na produção de etanol (Figuras 2.2 e 2.3 e Tabela 2.5) sugerindo a exaustão de substrato respiratório, acompanhada pela ausência de germinação e baixa viabilidade das sementes após transferência para normoxia (Tabela 2.2).

Como em *C. estrelensis* e *P. grandiflorum*, o lactato também foi produzido em sementes de *T. cassinoides* sob as mesmas condições experimentais (Kolb 1998), assim como em sementes de várias espécies de *Inga* (Okamoto 1998). A produção de lactato tem sido mencionada como transitória nos períodos iniciais de deficiência de O₂, antecedendo a produção de etanol (Roberts et al. 1985, Davies 1986), principalmente em tecidos de raiz, sendo que seu acúmulo em condições prolongadas de hipoxia ou anoxia pode ser prejudicial (Ricard et al. 1994). A ausência de produção de lactato nas espécies que germinam ou mantêm a viabilidade por longos períodos em anoxia (Raymond et al. 1985, Okamoto 1995) reforçam esta idéia. Desta forma, a produção e acúmulo de lactato nas sementes de *C. estrelensis* e *P. grandiflorum*, uma vez que não houve eliminação deste para o meio, pode levar a uma acidificação das sementes e contribuir para o curto período de viabilidade destas sob condições restritas de oxigênio, e provavelmente de substrato respiratório.

A ausência de acúmulo de malato sob hipoxia ou anoxia observada neste estudo está de acordo com as observações de Raymond et al. (1985), tanto em sementes com amido como reserva principal ou lipídeos.

A grande atividade fermentativa observada nas sementes de *P. heptaphyllum*, *T. ovata*, *C. estrelensis* e de *P. grandiflorum* em condições restritas de O_2 , provavelmente não foi suficiente para gerar a energia necessária para a germinação. A redução da viabilidade pós hipoxia e anoxia poderia ser resultante da falta de substrato respiratório. Assim, pode-se supor que quando em hipoxia ou anoxia a impossibilidade de gerar grandes quantidades de ATP, talvez devido à baixa quantidade de açúcar disponível, possa levar a outros danos metabólicos que inviabilizam a germinação posteriormente.

Outra possibilidade para a redução da viabilidade das sementes é a ocorrência de um dano pós-anóxico, quando restauradas as condições de aeração, uma vez que muitas formas ativas de O_2 (como radical superóxido O_2^- , peróxido de hidrogênio H_2O_2 e radicais hidroxílicos OH^\cdot) são extremamente tóxicos às células vegetais, e condições anóxicas nos tecidos favorecem a sua formação. A reação destes radicais com o etanol, levando a uma rápida formação de acetaldeído; ou a peroxidação de lipídeos causando danos às membranas, podem estar relacionados com a intolerância das espécies a estas condições (revisado por Pfister-Sieber & Brändle 1994).

Desta forma, como as espécies em questão possuem sementes que não germinam em condições restritas de oxigênio, e no entanto todas as populações se regeneram a partir de sementes, pode-se concluir que existem ao menos duas estratégias de estabelecimento. *T. guianensis* e *P. heptaphyllum* frutificam durante a

estação chuvosa, de maneira irregular, alternando anos de grande produção de sementes, com anos de baixa ou ausência de frutificação. Para estas duas espécies a probabilidade de germinação talvez esteja associada à presença de microsítios favoráveis (locais com solo não saturado) associada ao grande número de sementes produzidas. Já, *T. ovata*, *C. estrelensis* e *P. grandiflorum* parecem ter solucionado o problema da não germinação em condições de hipoxia através do controle fenológico da frutificação em períodos mais secos.

Uma outra estratégia observada para espécies tropicais sujeitas à inundação é observada nas florestas Amazônicas (de várzea e de igapó). Nestes locais muitas espécies dispersam as sementes durante o período da cheia e a germinação só ocorre quando o nível da água diminui, expondo o solo da floresta, o que requer uma viabilidade longa das sementes, além da capacidade de flutuação na água (Kubitzki & Ziburski 1994).

O estabelecimento das plântulas recém germinadas nas matas ciliares e matas de brejo será, de qualquer forma, influenciado pela flutuação do lençol freático, que acaba impondo uma situação de restrição de oxigênio às raízes. Este é o objetivo de estudo do próximo capítulo.

CAPÍTULO III

Respostas morfo-anatômicas e metabólicas induzidas pela saturação hídrica do solo em plantas de 5 espécies arbóreas da mata de brejo da Reserva de Santa Genebra, Campinas, SP.

Introdução:

As principais causas do alagamento do solo na região tropical são a extravasão dos rios e a flutuação do lençol freático, causados por elevados índices de precipitação durante a estação chuvosa. Os regimes de alagamento podem variar tanto sazonalmente como em relação a sua duração e profundidade, definindo, assim, características abióticas particulares, importantes na determinação da distribuição das espécies (Joly 1986, Rodrigues 1989, Blom et al. 1990, Schnitzler et al. 1992 apud Blom & Voeselek 1996).

O alagamento impede a aeração do solo pois os espaços de ar são preenchidos pela água. O rápido consumo de O_2 pelas raízes e microorganismos do solo e o seu baixo coeficiente de difusão na água levam a sua exaustão, exceto nas camadas superficiais do solo (Armstrong et al. 1991, Drew 1992).

O desaparecimento do O_2 leva a uma série de alterações nas propriedades físico-químicas do solo, incluindo acúmulo de íons reduzidos, ácidos orgânicos e compostos voláteis que podem ser prejudiciais às raízes quando acumulados (Ponnamperuma 1984). No entanto, o déficit inicial de oxigênio parece ser a causa primária de injúria para as plantas, uma vez que o tempo necessário para a diminuição do potencial redox do solo e para o acúmulo de fitotoxinas atingir níveis tóxicos pode é mais longo (Drew 1992).

Sementes e órgãos subterrâneos como raízes e rizomas são diretamente afetados pela ausência de oxigênio, enquanto a parte aérea das plantas é indiretamente afetada em consequência das alterações nas funções radiculares (Vartapetian & Jackson 1997).

Concentrações reduzidas de O₂ no solo afetam o metabolismo radicular, impedindo o funcionamento da fosforilação oxidativa, responsável pela regeneração de NAD⁺ e concomitante produção de ATP, desviando o metabolismo para vias fermentativas (Fox et al. 1994, Blom & Voesenek 1996).

Embora muitos metabólitos tenham sido considerados como produto da fermentação (Crawford 1978, Davies 1980), atualmente, somente alguns são amplamente aceitos: etanol, lactato, alanina, succinato e ácido gama-amino-butírico (Menegus et al. 1989, Fan et al. 1992, Roberts et al. 1992, Dolferus et al. 1997). O acúmulo de malato tem sido uma resposta menos freqüente e muito polemizada (Keeley 1978, Ernst 1990, Menegus et al. 1992, Roberts et al. 1992, Joly 1994b, Pfister-Sieber & Brändle 1994).

A baixa produção de ATP gerada pela fermentação é compensada por uma aceleração da glicólise, conhecida como Efeito Pasteur, que requer um suprimento ilimitado de carboidratos (Pradet & Bomsel 1978, Drew 1992, Pfister-Sieber & Brändle 1994). Embora muitas vezes considerados tóxicos, tanto etanol quanto lactato podem ser eliminados das raízes (Joly & Crawford 1982, Mendelsohn & Mckee 1987, Xia & Saglio 1992).

Condições de hipoxia como de anoxia levam a um acúmulo substancial de etanol nas raízes (Smith & Ap Rees 1979, Joly & Crawford 1982, Good & Muench 1993), e sua produção parece essencial para a sobrevivência em anoxia, uma vez que mutantes sem ADH morrem na ausência de oxigênio (Harberd & Edwards 1982 apud Good & Muench 1993).

Davies (1980, 1986) e Roberts et al. (1984) propuseram que o lactato é formado no início da anaerobiose, levando a uma diminuição do pH e consequente desvio para a produção de etanol, através da indução da atividade da piruvato descarboxilase. A ausência de controle do pH citoplasmático em espécies não tolerantes levaria à morte por acidose citoplasmática (Roberts et al. 1985). Entretanto alguns estudos mais recentes mostram resultados contraditórios à hipótese de Davies-Roberts. Saint-Ges et al. (1991) observaram que não houve relação tempo-dependente entre a queda brusca de pH no início da anoxia com a manutenção da produção de lactato, e que a acidificação observada foi concomitante com a redução do nível de nucleotídeos trifosfato em ápices de raiz de milho. Menegus et al. (1991) também observaram uma acidificação do citoplasma de coleóptiles de arroz sob anoxia, mesmo com uma produção muito baixa de lactato, concluindo que o controle do pH citoplasmático envolve outros eventos além da produção de ácidos carboxílicos. Rivoal & Hanson (1993) constataram o lactato como principal produto da fermentação em algumas espécies do gênero *Limonium*, que produzem, também, etanol e alanina.

A produção de alanina também tem sido uma resposta encontrada em raízes submetidas a restrições de oxigênio (Smith & Ap Rees 1979, Good & Muench 1993), e a atividade da enzima alanina aminotransferase foi correlacionada com o grau de deficiência de O₂ (Good & Crosby 1989). Ao contrário da ADH e LDH, a atividade da alanina aminotransferase não regenera NAD⁺, portanto, Good & Crosby (1989) sugeriram que a alanina representa uma economia de C e N, pois ela é mantida no tecido, enquanto o etanol é eliminado. No entanto, dependendo da via biossintética o acúmulo de alanina pode contribuir para reduzir o pH (Roberts et al. 1992).

Condições de pré-tratamento em hipoxia melhoram a sobrevivência em anoxia (Saglio et al. 1988, Johnson et al. 1989) devido a inúmeras modificações metabólicas e energéticas, de algum modo ligadas à expressão gênica (Ricard et al. 1994). São características de raízes aclimatadas: maiores níveis de ATP e de carga energética (Saglio et al. 1988), manutenção da taxa glicolítica (Saglio et al. 1988, Xia & Saglio 1992, Rivoal & Hanson 1994), controle do pH (Xia & Roberts 1994), menor produção e maior capacidade de eliminação do lactato (Xia & Saglio 1992, Rivoal & Hanson 1994) através de um provável mecanismo de transporte na membrana (Xia & Roberts 1994, Ratcliffe 1995). Xia et al. (1995) sugerem que a aclimatação também resulta em modificações na afinidade das enzimas por ATP.

A tolerância a curtos períodos de restrição de O₂ é proporcionada por ajustes metabólicos (Blom & Voesenek 1996). Dependendo da época do ano e do órgão exposto, a tolerância à anoxia pode variar de poucos dias a meses (Barclay & Crawford 1982, Crawford & Brändle 1996). Espécies rizomatosas como *Typha latifolia*, *Schoenoplectus lacustris* e *Scirpus maritimus* (Barclay & Crawford 1982) desenvolvem a parte aérea em anoxia a partir de gemas pré-formadas, no entanto, no caso de *S. maritimus*, com baixa incorporação de matéria seca (Barclay & Crawford 1982). Outra espécie capaz de desenvolver a parte aérea, a partir do tubérculo, em anoxia é *Potamogeton pectinatus*, uma monocotiledônea aquática. Summers & Jackson (1994) reportaram que esta espécie é capaz de alongar os internós e emitir a primeira folha através de expansão e de divisão celular! A presença do tubérculo reflete a necessidade de transporte de substrato respiratório, como o amido.

A manutenção de elevado fluxo glicolítico tem sido uma resposta comum entre as espécies mais tolerantes à restrição de O_2 (Joly & Crawford 1982, Mayne & Kende 1986, Hanhijärvi & Fagerstedt 1995) e é consistente com o aumento da atividade de várias enzimas envolvidas no metabolismo de açúcar (Ricard et al. 1994). Mais do que isto, a anoxia induz a síntese de proteínas (ANP – proteínas anaeróbicas), que constituem um conjunto de poucas enzimas, principalmente envolvidas com a glicólise e fermentação (ver Sachs et al. 1996).

Além da presença de grandes reservas de carboidratos, a tolerância à anoxia também pode ser dependente da capacidade de conservar ou de utilizar as reservas de maneira mais adequada (Barclay & Crawford 1983, Crawford 1989, Hanhijärvi & Fagerstedt 1995).

A participação de algumas enzimas, em detrimento de outras, pode levar a uma maior produção de ATP. A hidrólise de sacarose via sacarose sintase (em vez da invertase) aumenta a produção para 3 moléculas de ATP e da mesma forma a participação da fosfofrutoquinase dependente de PPi (e não de ATP) também aumenta a produção de ATP (Mertens et al. 1990, Fox et al. 1994, Plaxton 1996).

Apesar de algumas evidências favorecendo a atividade da PPi -PFK no sentido glicolítico, como concentrações de PPi favoráveis, maiores do que o K_m da enzima (Kombrink et al. 1984 apud Taiz 1986, Edwards et al. 1984), Xia et al. (1995) questionam o envolvimento de enzimas dependentes de PPi no controle metabólico em raízes de milho mantidas em anoxia.

Além do controle metabólico, a tolerância à deficiência de O₂ também envolve adaptações através de características morfo-anatômicas que facilitam a aeração das raízes, evitando ou minimizando os efeitos da restrição de oxigênio.

Com o alagamento e a submersão da base do caule, é muito comum a ocorrência da hipertrofia de lenticelas e da própria região caule-colo (Sena Gomes & Kozlowski 1980, Joly & Crawford 1982, Newsome et al. 1982, Kozlowski 1984b; Lobo & Joly 1995, Joly 1996, Marques et al. 1996, Pimenta et al. 1996). Nesta região também ocorre a iniciação de raízes adventícias (Sena Gomes & Kozlowski 1980, Newsome et al. 1982), geralmente mais porosas (Drew et al. 1985, Laan et al. 1989) devido ao desenvolvimento de aerênquima. Plantas alagadas podem apresentar, ainda, um enraizamento superficial (Justin & Armstrong 1987, Armstrong et al. 1991, Lobo & Joly 1995, Blom & Voesenek 1996) que acaba substituindo o sistema radicular original.

A importância destas estruturas em melhorar o desempenho e a sobrevivência das plantas alagadas tem sido mostrada por diversos autores. Lenticelas hipertróficas atuam como pontos de entrada de O₂ (Kozlowski 1984b, Joly 1996) e de liberação de compostos voláteis potencialmente tóxicos (Chirkova & Gutmann 1972 apud Hook 1984, Hook & Sholtens 1978, Crawford et al. 1987). Raízes adventícias atuam na absorção de água, nutrientes e produção de hormônios (Sena Gomes & Kozlowski 1980, Vartapetian & Jackson 1997).

O desenvolvimento de aerênquima, tanto nas raízes adventícias quanto nas superficiais e na região cortical da base do caule, possibilita o transporte de O₂ da parte aérea até as raízes e a liberação de produtos voláteis (Armstrong et al.

1991). Isto por que o aerênquima diminui a resistência difusiva longitudinal e diminui a demanda metabólica de O_2 por unidade de volume celular, o que aumenta o seu suprimento para o ápice radicular. Outro fator que colabora para a sobrevivência da planta em hipoxia ou anoxia é a perda radial de O_2 através da raiz, que permite a oxidação da rizosfera, possibilitando a remoção oxidativa de fitotoxinas (revisado por Armstrong et al. 1994).

Alterações nas características morfo-anatômicas estão ligadas a modificações nos níveis hormonais em decorrência da hipoxia do sistema radicular. O conhecimento sobre a participação dos fitormônios no controle destas respostas tem sido amplamente revisado (Reid & Bradford 1984, Jackson 1985, Armstrong et al. 1994, Drew et al. 1994, Blom & Voesenek 1996, Vartapetian & Jackson 1997).

Considerando que há diferenças na abundância de plântulas (Capítulo I) e que o período da dispersão das sementes diferem (Capítulo II) entre as cinco espécies neste estudo, outro aspecto a ser avaliado é a resposta apresentadas pelas plantas quando submetidas à saturação hídrica do solo. Com o intuito de avaliar a capacidade de estabelecimento das plântulas no seu ambiente natural, e averiguar se as espécies mais abundantes na mata sofrem menos efeito do alagamento experimental, foram objetivos deste capítulo caracterizar as modificações morfo-anatômicas como hipertrofia de lenticelas, formação de novas raízes e a porosidade destas, e quantificar a produção de etanol, lactato e malato pelas raízes de plântulas alagadas das 5 espécies.

Material e métodos:

Plântulas de todas as espécies, oriundas dos testes de germinação, foram transplantadas para sacos (2 l) confeccionados com tela de nylon, tipo sombrite, contendo areia grossa e mantidas em casa de vegetação. Antes do início do experimento as plantas receberam solução nutritiva de Hoagland (10%) quinzenalmente.

O experimento foi montado ao longo do verão, com a idade das plantas variando entre 6 meses e 2 anos entre as espécies. As plantas foram alagadas em tanques de aproximadamente 250 litros e plantas controle receberam rega duas vezes ao dia, com ambos tratamentos sendo mantidos sob sombrite (50%).

Modificações morfo-anatômicas como a hipertrofia de lenticelas e formação de raízes adventícias foram acompanhadas visualmente e fotografadas. A porosidade foi determinada pelo método do picnômetro (Jensen et al. 1969) nas raízes de plantas controle e das plantas alagadas. A porosidade foi calculada pela seguinte fórmula:

$$\% \text{ porosidade} = 100 \times (P_h - P_{r+a}) / (P_a + P_r - P_{r+a})$$

onde P_r é o peso fresco das raízes, P_a é o peso do picnômetro com água, P_{r+a} é o peso do picnômetro com água e as raízes intactas e P_h é o peso do picnômetro com as raízes maceradas (homogeneizadas).

A produção de etanol, lactato e malato foi avaliada em cada espécie após 0 (controle); 1; 2; 5; 12; 30 e 60 dias de alagamento. Ao final de cada tempo 5 plantas por espécie foram retiradas do tratamento, com as raízes sendo rapidamente lavadas e secadas. Segmentos apicais de aproximadamente 3cm foram cortados,

colocados em nitrogênio líquido e pesados (aproximadamente 0,5g). Quando presentes, raízes adventícias ou induzidas pelo alagamento foram amostradas separadamente. A seguir as raízes foram maceradas em HClO₄ (6%), o extrato foi centrifugado, neutralizado, e as amostras foram congeladas, de maneira semelhante às sementes (Capítulo II). A quantificação dos metabólitos foi realizada através da análise enzimática com utilização de kits da Boehringer, através da variação de absorvância ocasionada pela redução do NAD⁺ a 340nm. Os ensaios foram feitos de acordo com as indicações sugeridas nos kits. A análise da quantificação destes metabólitos foi realizada considerando-se duas fases: uma durante o início do alagamento (considerado até 12 dias) e outra no período final, após 30 e 60 dias, correspondendo ao metabolismo das raízes formadas com o alagamento, exceto em *T. ovata*. Devido à perda de uma ou outra amostra ao final da extração e às vezes à ocorrência de um valor extremamente díspar dos demais, foram utilizadas 4 amostras para as análises, a partir de 4 plantas, exceto em *T. ovata* (n=5).

Análise estatística: a análise estatística foi realizada através da análise de variância (ANOVA) e teste de comparações múltiplas de Tukey (5%) (Zar 1984), com a transformação dos dados para Log (x+1) para as medidas de etanol, lactato e malato.

Resultados:

Modificações morfo-anatômicas:

Hipertrofia de lenticelas e enraizamento adventício: ao final de uma semana de alagamento, todas as espécies apresentaram início de hipertrofia de lenticelas, uma resposta ampla e uniformemente observada em todas as plantas (Figura 3.1). *T. ovata*, *C. estrelensis* e *P. grandiflorum* apresentaram, também, lenticelas hipertróficas na raiz principal, junto à saída das raízes laterais. O enraizamento adventício ocorreu até o final da segunda semana de maneira freqüente e regular em *T. guianensis*, passando a ser o componente principal do seu sistema radicular, e de maneira irregular em *P. grandiflorum* (Figura 3.2).

Após um período de 30 dias, ocorreu a iniciação e o crescimento de numerosas raízes adventícias em *P. heptaphyllum* que acabaram sendo o componente principal do sistema radicular juntamente com raízes formadas após o alagamento, regenerantes do sistema radicular original (Figura 3.2). As demais espécies (exceto *C. estrelensis*) também apresentaram enraizamento adventício, porém mais irregular em relação ao surgimento e à freqüência observada. A formação de novas raízes, mais brancas e retilíneas (induzidas), na maioria das vezes em uma posição mais próxima à superfície, partindo da raiz principal, foi observada em *T. ovata*, *C. estrelensis* e *P. grandiflorum*. De uma maneira geral, o sistema radicular de *T. guianensis* foi o mais prejudicado, pois ao final de 12 dias havia poucas raízes vivas, sendo aos poucos substituído pelo crescimento das raízes adventícias. O mesmo aconteceu para *P. heptaphyllum*, porém após 30 dias. O sistema radicular de *T. ovata* foi o menos prejudicado, enquanto para *P. grandiflorum* restavam poucas

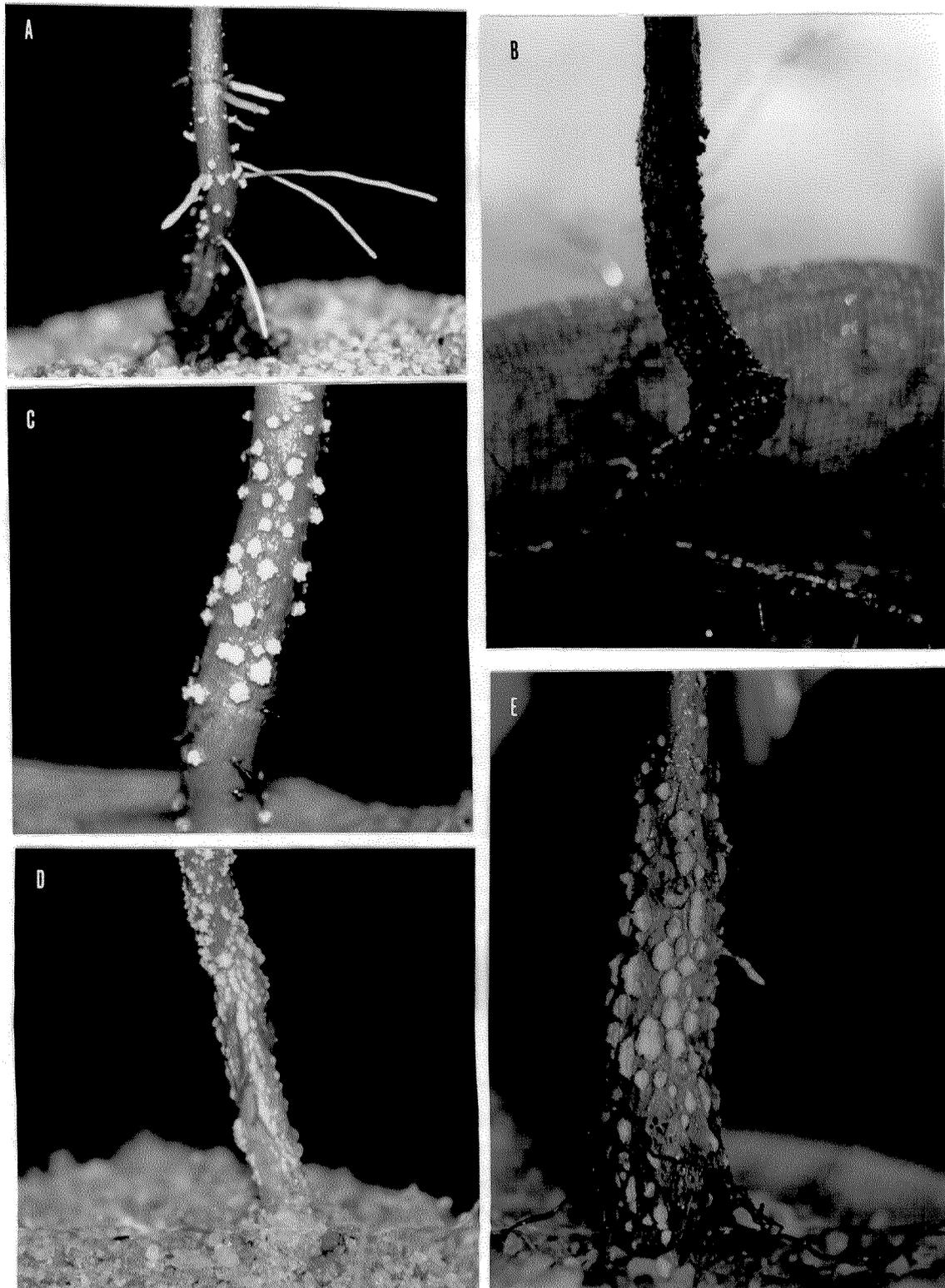


Figura 3.1 - Efeito do alagamento na hipertrofia de lenticelas e formação de raízes adventícias em plantas jovens de cinco espécies arbóreas da mata de brejo da Reserva de Santa Genebra, Campinas, SP. **A:** *Tapirira guianensis*, **B:** *Protium heptaphyllum*, **C:** *Talauma ovata*, **D:** *Cariniana estrelensis*, **E:** *Pseudobombax grandiflorum*.

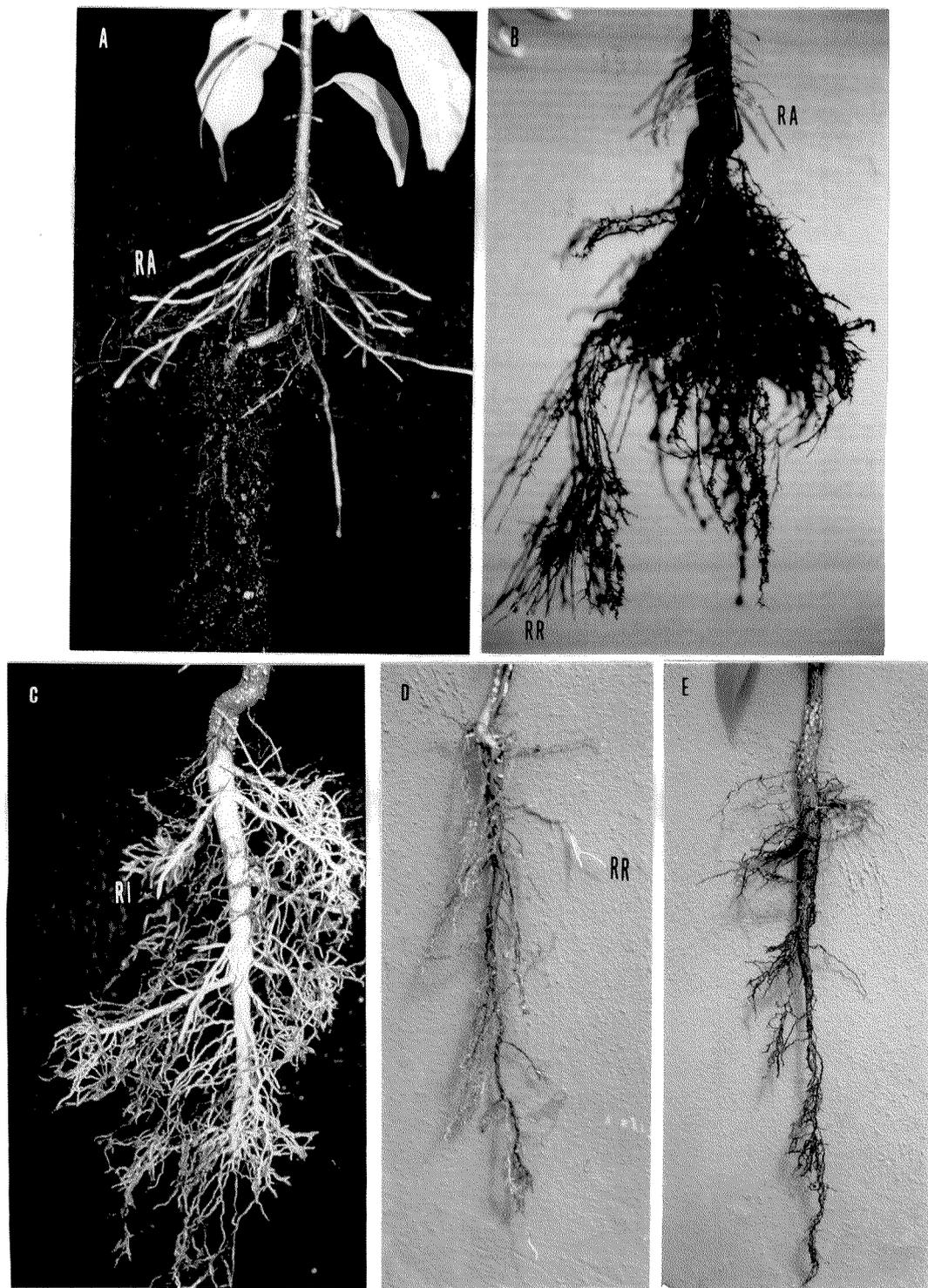


Figura 3.2 - Efeito de sessenta dias de alagamento na integridade do sistema radicular em plantas jovens de cinco espécies arbóreas da mata de brejo da Reserva de Santa Genebra, Campinas, SP. **A:** *Tapirira guianensis*, **B:** *Protium heptaphyllum*, **C:** *Talauma ovata*, **D:** *Cariniana estrelensis*, **E:** *Pseudobombax grandiflorum*. **RA:** raízes adventícias, **RI:** raízes induzidas, **RR:** raízes regenerantes.

raízes vivas ao final de 60 dias. Respostas de crescimento de raízes em plantas alagadas de *C. estrelensis* consistiram no crescimento de algumas raízes laterais do sistema radicular original (regenerantes) e na formação ocasional de poucas raízes novas, brancas, mais espessas e retilíneas (induzidas).

Porosidade radicular: o alagamento aumentou a presença de espaços intercelulares nas raízes adventícias ou superficiais, nas 5 espécies estudadas (Tabela 3.1).

Tabela 3.1 - Porosidade radicular de plantas crescidas em condições controle e alagadas por 60 dias. Os valores indicam a média \pm erro padrão (após transformação para arcoseno da raiz quadrada de p), com o número de amostras entre parênteses. Análise de variância seguida de Teste de Tukey, **ad**: raízes adventícias; **ind**: raízes formadas com o alagamento, mais brancas e espessas, geralmente mais superficiais; **or**: raízes do sistema radicular original, em crescimento; **reg**: regenerantes do sistema radicular original.

Porosidade Radicular (%)			
Espécies	Raízes controle	Raízes alagadas	ANOVA
<i>Tapirira guianensis</i>	2,2 \pm 0,5 (7)	5,0 \pm 2,4 (7) ^{ad}	p < 0,05
<i>Protium heptaphyllum</i>	1,5 \pm 0,9 (6)	3,2 \pm 0,9 (6) ^{reg}	p < 0,05
<i>Talauma ovata</i>	3,2 \pm 0,2 (5)	3,1 \pm 0,5 (3) ^{or} 10,2 \pm 2,0 (5) ^{ind}	p < 0,05
<i>Cariniana estrelensis</i>	2,5 \pm 1,1 (6)	4,5 \pm 0,8 (3) ^{or} 8,6 \pm 1,3 (3) ^{or}	p < 0,05
<i>Pseudobombax grandiflorum</i>	1,2 \pm 0,3 (6)	7,1 \pm 1,1 (6) ^{ind}	p < 0,05

Metabolismo radicular - acúmulo de etanol, lactato e malato:

Tapirira guianensis: durante o início do tratamento ocorreu um aumento de aproximadamente 6 vezes no conteúdo de etanol nas raízes, que se manteve até aos 12 dias, sendo significativamente maior que nas plantas controles ($p < 0,05$) (Figura 3.3). Já, o aumento de lactato foi lento, porém atingiu valores extremamente elevados nas raízes alagadas por 5 e 12 dias, significativamente maiores que os tempos iniciais ($p < 0,05$). Os níveis de malato não variaram ao longo de todo o tratamento.

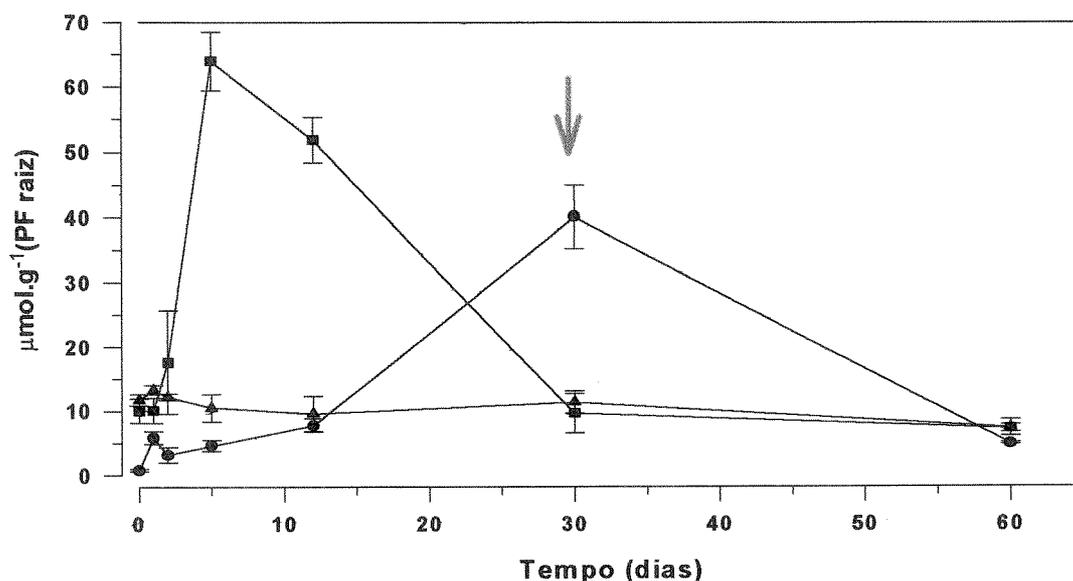


Figura 3.3 - Conteúdo de etanol (°), lactato (■) e malato (▲) em raízes de *Tapirira guianensis* alagadas. O tempo 0 representa as medidas em plantas controles. As medidas de 30 e 60 dias foram feitas em raízes adventícias, formadas após o alagamento, indicadas no gráfico pela seta. Os valores representam a média \pm erro padrão ($n=4$).

Após 30 dias as medidas foram realizadas somente nas raízes adventícias, em decorrência da morte do sistema radicular original, por volta de 10 a 12 dias. Nestas novas raízes os valores de etanol foram extremamente elevados

após 30 dias, significativamente maior que os demais tempos de tratamento ($p < 0,05$). Ao final de 60 dias estes valores já se encontram reduzidos, porém ainda maiores que os de plantas controle ($p < 0,05$). Esta redução sugere uma menor produção de etanol por estas raízes, ou uma maior capacidade de eliminação deste para o meio. Os níveis de lactato nas raízes adventícias foram iguais ao das plantas controle, indicando que há alguma alteração metabólica ou fisiológica nestas raízes em relação às originais (Figura 3.3).

Protium heptaphyllum: nesta espécie o alagamento levou a um aumento na produção dos 3 metabólitos ensaiados. No período inicial houve um pequeno aumento de etanol que tornou-se significativamente maior aos 12 dias ($p < 0,05$), e uma tendência de acúmulo de lactato porém não significativa ($p > 0,05$). Houve uma tendência de acúmulo de malato desde o início da hipoxia que, no entanto, foi significativa somente ao final de 12 dias ($p < 0,05$). Com a morte do sistema radicular próxima aos 30 dias de tratamento, medidas realizadas nas raízes adventícias mostraram níveis maiores de etanol e malato do que plantas controle ($p < 0,05$) semelhantes aos observados nas raízes alagadas por até 12 dias, assim como níveis reduzidos de lactato (Figura 3.4). Isto demonstra que diferentemente das raízes adventícias de *T. guianensis*, as de *P. heptaphyllum* não mostraram um controle metabólico diferente das raízes do sistema radicular original, a não ser pela pequena quantidade de lactato encontrada nestas raízes.

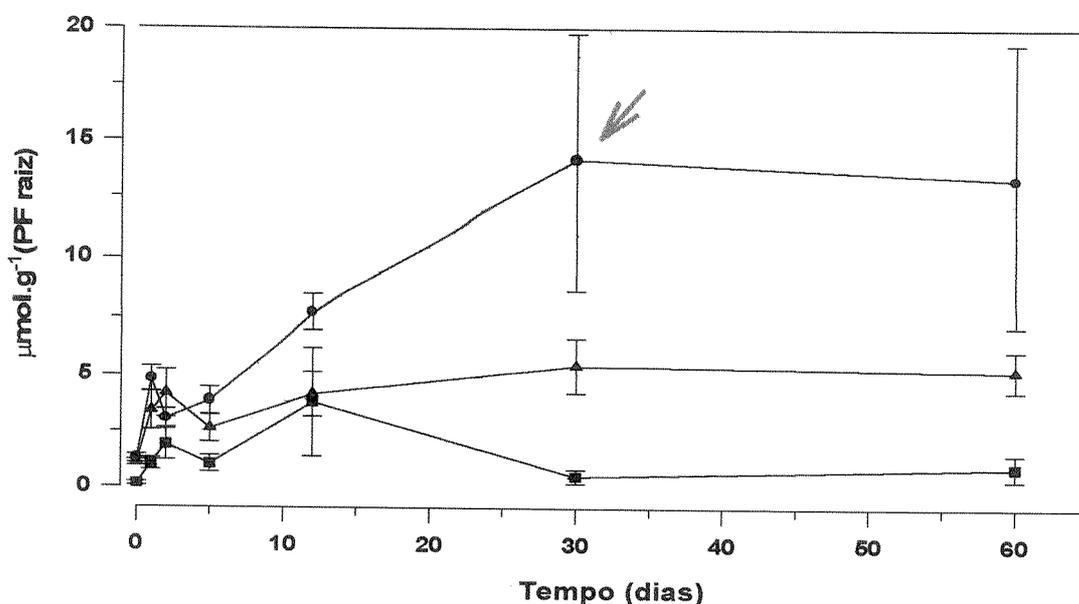


Figura 3.4 - Conteúdo de etanol (•), lactato (■) e malato (▲) em raízes de *Protium heptaphyllum* alagadas. O tempo 0 representa as medidas em plantas controles. As medidas de 30 e 60 dias foram feitas em raízes induzidas pelo alagamento, indicadas no gráfico pela seta. Os valores representam a média \pm erro padrão (n=4).

Talauma ovata: esta espécie mostrou as menores variações no conteúdo de etanol, lactato e malato nas plantas alagadas. Aos 2 dias observou-se um aumento significativo no conteúdo de lactato ($p < 0,05$), sendo que aos 5 dias seu nível já era semelhante às plantas controles. As variações no conteúdo de etanol não foram significativas até 12 dias de hipoxia, e uma maior quantidade de malato foi observada ao longo do alagamento ($p < 0,05$). Diferente das demais espécies, o sistema radicular de *T. ovata* não foi tão prejudicado, ocorrendo a morte de somente algumas raízes laterais. Após 30 dias foram quantificados maiores níveis de etanol ($p < 0,05$) e malato ($p < 0,05$) e muito pouco lactato, sendo que aos 60 dias houve uma redução nos níveis de etanol (Figura 3.5). Amostras de raízes induzidas pelo alagamento (n=2) mostraram conteúdos dos metabólitos semelhantes às raízes originais (n=3) e foram apresentadas em conjunto.

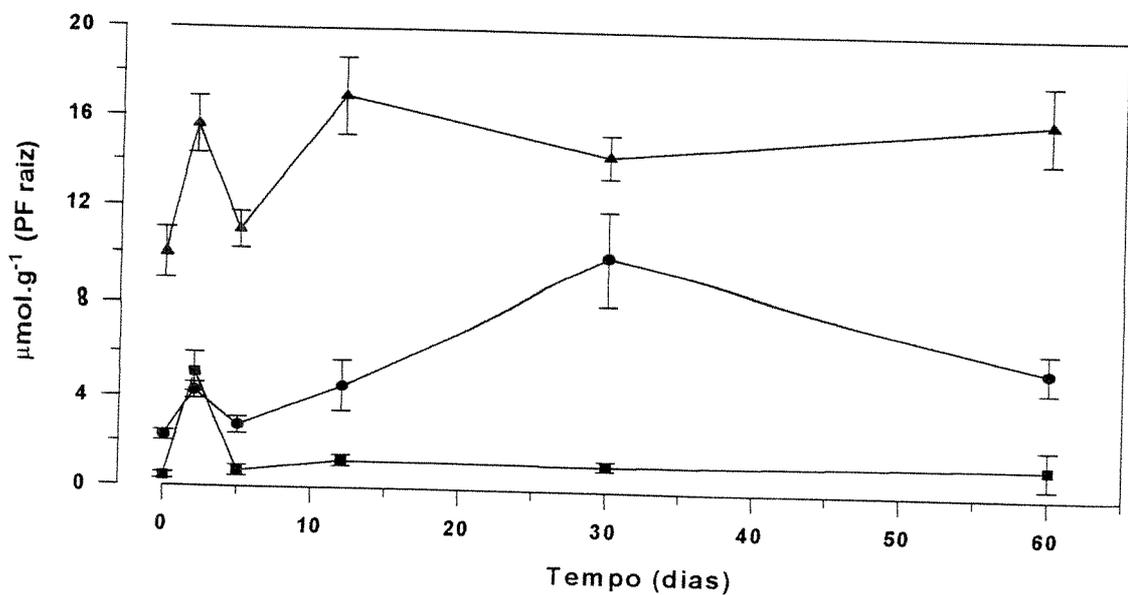


Figura 3.5 - Conteúdo de etanol (•), lactato (■) e malato (▲) em raízes de *Talauma ovata* alagadas. O tempo 0 representa as medidas em plantas controles. As medidas de 60 dias foram feitas nas raízes originais e nas induzidas. Os valores representam a média \pm erro padrão (n=5).

Cariniana estrelensis: o alagamento levou a um acúmulo de etanol desde o início, que se manteve até o final do tratamento, sendo significativamente maior que em plantas controles ($p < 0,05$), atingindo o pico aos 19 dias. Houve, também, um brusco aumento inicial na produção de lactato ($p < 0,05$) seguido de uma redução aos 5 dias, porém seu nível manteve-se um pouco elevado até o final do experimento (Figura 3.6). Ocorreu uma tendência de redução no conteúdo de malato já no início do alagamento que, no entanto, recuperou o valor encontrado nas plantas controle ao final de 30 e 60 dias (Figura 3.6). Diferentemente das demais espécies, o sistema radicular de *C. estrelensis* não foi regularmente substituído por novas raízes, restando apenas o crescimento de raízes secundárias principalmente próximas à superfície. Estas continuaram a produzir etanol, pouco lactato e mantiveram os níveis de malato semelhante às plantas controle, mostrando um

menor controle metabólico juntamente com uma menor capacidade de regeneração das raízes.

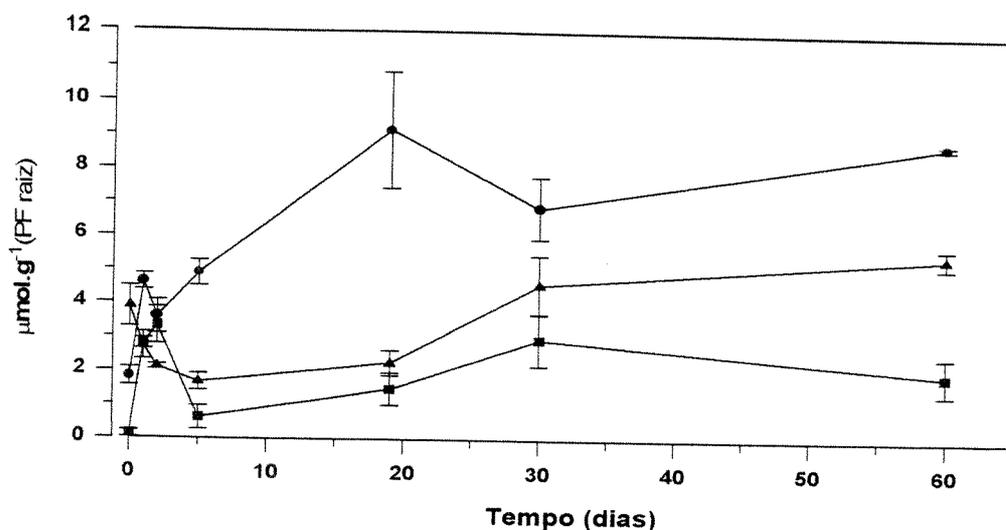


Figura 3.6 - Conteúdo de etanol (\bullet), lactato (\blacksquare) e malato (\blacktriangle) em raízes de *Cariniana estrelensis* alagadas. Medidas de 30 e 60 dias foram feitas em raízes secundárias em crescimento durante o alagamento. Os valores representam a média \pm erro padrão (n=4).

Pseudobombax grandiflorum: nesta espécie os conteúdos de etanol, lactato e malato foram mais variáveis, apresentando muitas oscilações, porém com poucas diferenças significativas entre os tempos de tratamento, sendo sempre semelhantes aos observados nas plantas controles. Tanto o etanol quanto lactato apresentaram pequenas variações nos seus conteúdos nas raízes, indicando que não foram produzidos em grande escala, ou foram eliminados em grande quantidade. Houve uma tendência a um acúmulo de malato, embora não significativa (Figura 3.7). No entanto, o sistema radicular original foi bastante prejudicado, com poucas raízes formadas após o alagamento.

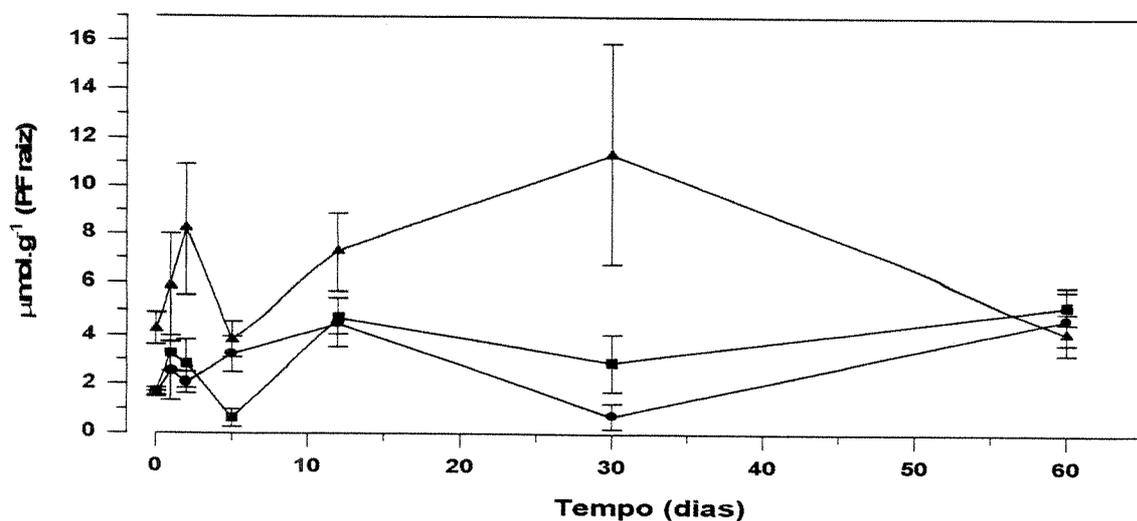


Figura 3.7 - Conteúdo de etanol (•), lactato (■) e malato (▲) em raízes de *Pseudobombax grandiflorum* alagadas. As medidas de 30 e 60 dias foram feitas em raízes secundárias em crescimento durante o alagamento (tanto regenerantes quanto induzidas). Os valores representam a média \pm erro padrão (n=4).

Discussão:

A análise da produção de etanol, lactato e malato mostrou comportamentos muito diferentes nas raízes das 5 espécies deste estudo. O etanol sempre esteve presente em resposta à hipoxia do sistema radicular, embora em quantidades e padrões extremamente diferentes entre as espécies.

Raízes de *T. guianensis* formadas após o alagamento (adventícias) mostraram um maior conteúdo de etanol do que raízes pré-formadas (originais), no entanto, apresentando uma grande redução após 60 dias. Estas raízes, crescendo na região mais superficial da água e sendo mais porosas, podem ter um acesso mais facilitado ao O_2 e, conseqüentemente, um metabolismo aeróbico parcial, responsável pela redução nos níveis de etanol. Contrastando com *T. guianensis* o

conteúdo de etanol continuou elevado nas raízes adventícias e regenerantes de *P. heptaphyllum* após 60 dias de alagamento. Apesar da semelhança na porosidade entre as raízes adventícias de *T. guianensis* e as de *P. heptaphyllum* (Tabela 3.1), nesta última o crescimento das raízes é menos superficial (Figura 3.2), provavelmente com menor acesso ao O₂.

Apesar de mais porosas, as raízes de *T. ovata* induzidas pelo alagamento assim como as regenerantes de *C. estrelensis* também apresentaram maior conteúdo de etanol do que as raízes originais, embora em escala menor do que em *T. guianensis* e *P. heptaphyllum*.

As diferenças na escala de produção dos metabólitos observada entre estas espécies podem refletir diferenças de controle metabólico ou na capacidade de eliminação de etanol para o meio (não investigada). Dolferous et al. (1997) sugerem que a presença de 2 conjuntos de enzimas (codificados por genes diferentes) da fermentação alcoólica (*adh 1*, *adh 2*, *pdh 1* e *pdh 2*) em *Arabidopsis*, sendo um destes constitutivo (*adh 2* e *pdh 2*) e o outro induzido por condições hipóxicas (*adh 1* e *pdh 1*). Como a ADH-1 tem uma atividade específica de 10 a 20 vezes maior do que a ADH-2 (Drew et al. 1994) pode-se sugerir que a maior produção de etanol pelas raízes adventícias de *T. guianensis*, por exemplo, seja resultado da indução e síntese de isoenzimas pela hipoxia, com o alagamento.

A quantificação de etanol por períodos prolongados de hipoxia (alagamento) em outras espécies tem evidenciado que a manutenção da fermentação alcoólica é uma resposta comum em espécies tolerantes. Joly & Crawford (1982) observaram um acúmulo de etanol em raízes de *Sebastiania*

klotzchiana por 32 dias e Joly (1994) sugeriu que grande parte do etanol é eliminado para o meio. Mendelssohn & Mckee (1987) demonstraram que o aumento na atividade da ADH em raízes de *Spartina alterniflora*, também tolerante ao alagamento, está associado a uma maior carga energética em raízes alagadas. Espécies rizomatosas altamente tolerantes também apresentam uma produção de etanol prolongada por muitos dias (Hanhijärvi & Fagerstedt 1995, Joly & Brändle 1995).

O acúmulo de lactato foi consideravelmente elevado e prolongado em *T. guianensis* e *P. heptaphyllum*, embora nesta última em menor quantidade. Já em *T. ovata* e *C. estrelensis* houve um pico inicial seguido de uma redução, principalmente em *T. ovata*. Raízes formadas com o alagamento, de uma maneira geral, não produziram lactato, indicando um controle metabólico diferente entre estas raízes e as pré-formadas, principalmente em *T. guianensis* e *P. heptaphyllum*.

A produção e o acúmulo de lactato em condições de hipoxia ou anoxia são freqüentemente citados como uma resposta breve e imediata ao início do estresse e suplantada pela posterior produção de etanol (Smith & ap Rees 1979, Davies 1980, 1986). No entanto, Rivoal & Hanson (1993) observaram uma produção de lactato em maior proporção de etanol em algumas espécies de *Limonium* por 8 horas de hipoxia. Já a produção prolongada, embora em menor proporção que a de etanol foi observada em rizomas de *Hedychium coronarium* (Joly & Brändle 1995).

O controle do pH citoplasmático é considerado preponderante para a sobrevivência em condições de hipoxia e anoxia (Roberts et al. 1985, Xia & Roberts 1994). O lactato tem sido apontado como o principal responsável pela acidificação (Roberts et al. 1984, 1992) e Menegus et al. (1989) observaram que espécies

tolerantes, quando em anoxia, mostram uma razão succinato/lactato maior do que 1, enquanto que em espécies sensíveis esta razão é menor. No entanto, alguns autores têm evidenciado outras causas como o decréscimo na quantidade de ATP (extrusão de H⁺), descarboxilação de malato, fermentação à alanina (Saint-Ges et al. 1991, Ricard et al. 1994, Xia & Saglio 1992, Xia & Roberts 1994).

Desta forma, a grande produção de lactato pode não ser a única causa de morte do sistema radicular de *T. guianensis*, embora Ricard et al. (1994) sugeriram que o acúmulo de lactato sob anoxia prolongada pode ser responsável por muitos danos. Já, a ausência de produção de lactato nas raízes novas, de todas as espécies, sugere um controle metabólico diferente, com a hipoxia levando apenas à produção de etanol, e às vezes, recuperação dos níveis de malato. Uma das possíveis causas é a maior porosidade e a posição mais superficial destas, o que possibilita um metabolismo aeróbico, mesmo que parcial.

A produção de malato não foi influenciada pela hipoxia em raízes de *T. guianensis* e *P. heptaphyllum*, as duas espécies que mais acumularam etanol e lactato. No entanto, respostas contrastantes foram observadas em *T. ovata*, que mostrou um acúmulo de malato ao longo da hipoxia, e em raízes de *C. estrelensis* que mostrou uma redução no seu conteúdo.

O acúmulo de malato em resposta à deficiência de O₂ tem sido objeto de muita controvérsia na literatura. Alguns estudos com órgãos excisados têm mostrado que a anoxia não influencia, ou causa uma redução no conteúdo de malato (Smith & Ap Rees 1979, Fan et al. 1992). Roberts et al. (1992) sugeriram que a redução na concentração de malato pode ser conseqüência da sua

descarboxilação e subsequente produção de etanol, colaborando para a alcalinização do citoplasma. Joly (1994b) observou que plantas jovens de algumas espécies arbóreas quando alagadas, ou seja, em condições de hipoxia, acumulam malato e parte deste pode ser oxidado no ciclo de Krebs com o oxigênio difundido da parte aérea, facilitado por alterações morfo-anatômicas, e promovendo uma produção de energia através da respiração aeróbica parcial. Esta interpretação pode ser aplicada à *T. ovata*.

Quantificações por períodos mais prolongados de hipoxia ou anoxia mostraram acúmulo de etanol e lactato (mas não de malato) em rizomas de *Acorus calamus*, uma espécie tolerante, após 16 dias de anoxia (Joly & Bründle 1995), e de malato em raízes de *Nyssa sylvatica* alagadas por um mês e por um ano (Keeley 1978). Este acúmulo de malato em *N. sylvatica* após 1 ano, acompanhado da redução no conteúdo de etanol, sugere que o malato pode ser acumulado em função de outros eventos que não a hipoxia, como por exemplo uma alteração no equilíbrio iônico (Keeley 1978).

As modificações morfo-anatômicas observadas neste estudo, como hipertrofia de lenticelas e formação de raízes mais porosas são características que favorecem a difusão de O₂. Alguns testes montados com plantas postas em ágar com uma substância redutora (ditionito de sódio) e um indicador de oxidação (azul de metileno) (Armstrong & Armstrong 1988) mostraram a difusão de O₂ em plântulas de *T. ovata*, *C. estrelensis* e *P. grandiflorum* (dados não apresentados).

Segundo Drew et al. (1985) o movimento de O₂ pode alcançar uma distância de até 21cm nas raízes com 10% de porosidade quando mantidas em

hipoxia, proporcionando um grande aumento na carga energética. Em algumas espécies de *Rumex* o desenvolvimento e crescimento de novas raízes laterais em decorrência do alagamento foram correlacionados com a capacidade de formar aerênquima. Neste gênero de plantas herbáceas, espécies não tolerantes apresentam uma baixa porosidade (3 a 6%) quando alagadas, enquanto espécies tolerantes ou moderadamente tolerantes apresentam 25 a 35% e 15 a 22%, respectivamente (Laan et al. 1989). *Tabebuia cassinoides*, uma espécie arbórea tolerante (cujo crescimento de plantas alagadas é maior do que de plantas não alagadas) apresenta uma porosidade média de 12% em raízes formadas com o alagamento (Kolb 1998). Nestes parâmetros, a porosidade observada nas plantas alagadas deste estudo mostra-se pequena, no entanto, quando comparadas com as raízes originais (controle) representa um aumento de mais de 100% de espaços de ar entre as células.

Mesmo considerando-se o potencial de difusão de O₂, seu efeito foi pouco evidenciado no metabolismo radicular das espécies neste estudo. A grande redução no conteúdo de etanol em raízes de *T. guianensis* (e parcial em *T. ovata*) após 60 dias de alagamento pode ser consequência de um melhor contato com o O₂ pelas inúmeras raízes adventícias, mais porosas e de crescimento superficial. Em *P. heptaphyllum*, os grandes valores de erro padrão observados após 30 e 60 dias podem refletir diferenças individuais que se ressaltam com o estresse (Fagerstedt & Crawford 1987), com algumas plantas produzindo menos etanol do que outras, ou com maior capacidade de eliminação. Segundo Armstrong et al. (1991) raízes adventícias de crescimento superficial e de baixa porosidade, como as observadas em *T. guianensis* e *P. heptaphyllum* sobrevivem, em ambientes hipóxicos, pela

exploração horizontal da superfície mais aerada, juntamente com a suplementação por algum transporte interno de O₂.

Já, em *C. estrelensis* e *P. grandiflorum*, apesar da hipertrofia de lenticelas houve pouca formação de novas raízes e, embora as plantas possam permanecer alagadas por um ano o seu crescimento é aparentemente lento (observação não quantificada), provavelmente por serem dependentes de poucas raízes ativas, presentes em um sistema radicular muito comprometido (Figuras 3.1 e 3.2). Entretanto, vale lembrar que a perda radial de O₂ pelas raízes novas, mais porosas, é extremamente importante para melhorar a absorção de nutrientes e impedir a absorção de fitotoxinas (Blom et al. 1990, Armstrong et al. 1994) o que possibilita a sobrevivência em condições de hipoxia.

Adaptações morfo-anatômicas como enraizamento adventício e superficial e desenvolvimento de aerênquima são consideradas estratégias que evitam o estresse pela falta de O₂ (Crawford 1989, Drew et al. 1994, Armstrong et al. 1994). Apesar destas respostas realmente serem efetivas no transporte de O₂, muitas vezes este não satisfaz a demanda metabólica (Mendelsohn & Mackee 1987, Huang & Johnson 1995, Lobo & Joly 1996), com a participação concomitante de processos aeróbicos quanto anaeróbicos, também observada neste estudo.

Assim, as cinco espécies apresentam capacidades e investimentos distintos durante o crescimento em solo alagado, que podem refletir, ao menos em parte, o sucesso no seu estabelecimento no ambiente natural. *T. guianensis* e *P. heptaphyllum* são espécies com um grande número de plantas estabelecidas, que pode ser conseqüência do seu potencial de investimento no sistema radicular. Já, *T.*

ovata embora presente em menor abundância, não apresenta um comprometimento do sistema radicular, como observado em *C. estrelensis* e *P. grandiflorum*, as espécies menos abundantes e com pequena regeneração.

As condições de crescimento das plantas influenciam o padrão de alocação de recursos (Lambers & Poorter 1992), sendo que os níveis de carboidrato são determinados pelo balanço entre consumo na respiração e crescimento, acesso às reservas armazenadas e produção pela fotossíntese (Setter et al. 1987). Uma vez que o alagamento afeta indiretamente o desenvolvimento da parte aérea, responsável pela assimilação, e esta é dependente de muitas funções radiculares, torna-se necessária uma compreensão das respostas da parte aérea de plantas alagadas, objeto de estudo do próximo capítulo.

CAPÍTULO IV

**Efeito do alagamento no crescimento e na capacidade
fotossintética de cinco espécies arbóreas da mata de brejo da
Reserva de Santa Genebra, Campinas, SP.**

Introdução:

Muitas respostas fisiológicas da parte aérea de plantas alagadas são similares às induzidas pela seca (Bradford & Hsiao 1982). Uma rápida diminuição da condutância estomática, murchamento, diminuição do potencial de água foliar, clorose, senescência e abscisão são características freqüentemente observadas em espécies herbáceas e arbóreas alagadas (Kozlowski 1984b, Kozlowski & Pallardy 1984). Estas alterações podem ser atribuídas à diminuição ou parada de absorção de água pelas raízes alagadas, em função do aumento da resistência radicular ao fluxo de água (Kramer & Kozlowski 1960 apud Pereira & Kozlowski 1977) ou de mudanças na superfície de absorção das raízes (Ramos & Kaufmann 1979, Vartapetian & Jackson 1997). No entanto, o rápido decréscimo na condutividade foliar observado em algumas espécies (Neuman & Smit 1991, Zaerr 1983, Else et al. 1996) não pode ser atribuído a alterações no crescimento e desenvolvimento radicular, devendo, portanto, ser conseqüência de mudanças na permeabilidade das membranas das raízes (Harrington 1987). Everard & Drew (1987) sugeriram que a anoxia no sistema radicular reduz a energia metabólica necessária para a manutenção da estrutura de membrana requerida para o movimento de água.

Embora o rápido fechamento estomático, mesmo que parcial, seja uma resposta freqüentemente observada em plantas alagadas, tanto tolerantes quanto sensíveis (Pereira & Kozlowski 1977, Kozlowski & Pallardy 1979, Newsome et al. 1982, Tang & Kozlowski 1982, Zaerr 1983), o seu mecanismo de controle não é completamente (Kozlowski & Pallardy 1984, Else et al. 1996, Vartapetian & Jackson 1997). Muitas vezes o fechamento estomático não é acompanhado de redução do turgor foliar (Pereira & Kozlowski 1977, Pezeshki & Chambers 1986, Harrington

1987), e algumas espécies não apresentam alterações na condutividade hidráulica das raízes e na condutância estomática quando alagadas (Harrington 1987).

Por muito tempo o fechamento estomático em plantas alagadas foi atribuído a um aumento na concentração de ácido abscísico (ABA) produzido nas raízes e transportado às folhas (Jackson 1985, Neuman & Smit 1991). A ocorrência de uma resposta de fechamento estomático atenuada em mutantes com deficiência na biossíntese de ABA reforça este fato (Jackson & Hall 1987). No entanto, Else et al. (1996) consideram que houve erros durante a quantificação de ABA em plantas alagadas, por diversos métodos, devido à interferência de uma outra substância análoga. Estes mesmos autores detectaram a presença de um outro componente, ainda não identificado, que pode se constituir num mensageiro positivo que leve ao fechamento estomático. Baixos níveis de ABA em raízes hipóxicas são condizentes com a necessidade de O₂ para a sua biossíntese (Creelman et al. 1987).

Independente do seu mecanismo de controle, o aumento da resistência foliar, indicando o fechamento estomático, assim como a epinastia, são respostas importantes que diminuem a transpiração, reduzindo o risco de desidratação e mantendo o turgor foliar (Jackson & Kowaleska 1983, Vartapetian & Jackson 1997).

Espécies sensíveis ao alagamento têm mostrado uma incapacidade de reassumir o funcionamento estomático ainda sob hipoxia (Harrington 1987, Pezeshki 1993). Já, espécies tolerantes mostram uma menor redução da condutância foliar (Pereira & Kozlowski 1977, Pezeshki 1993) e, até mesmo, uma reabertura estomática durante o alagamento (Regehr et al. 1975, Sena Gomes & Kozlowski 1980, Pezeshki & Chambers 1986, Pezeshki 1993). Outra resposta considerada

adaptativa foi observada em *Ulmus americana* (Newsome et al. 1982) como a ausência de fechamento estomático em folhas expandidas durante o alagamento.

Contudo, com a diminuição da condutância estomática ocorre uma redução na fotossíntese de plantas alagadas (Regehr et al. 1975, Zaerr 1983, Pezeshki 1993), sendo que a sua recuperação também foi observada nas espécies tolerantes (Zaerr 1983, Pezeshki 1993). Embora não muito frequente, algumas espécies tolerantes não mostram redução da fotossíntese quando alagadas (Pezeshki & Chambers 1986).

Além da limitação estomática a fotossíntese pode ser inibida por uma redução na capacidade fotossintética (Pezeshki 1993), constatada pela incapacidade de exaurir o CO₂ intracelular. Há evidências de que a deficiência de citocininas nas folhas de plantas alagadas limita a regeneração da RUBISCO, diminuindo a capacidade fotossintética (Bradford & Hsiao 1982, Bradford 1983).

Björkman & Powles (1984) sugeriram que o fechamento estomático contribui para o declínio na fotossíntese em situações de estresse hídrico de curta duração, enquanto a inibição não estomática seria o principal fator em plantas sujeitas a estresse hídrico prolongado. Esta inibição pode ocorrer por um bloqueio na atividade do fotossistema II (PS II) e concomitante desacoplamento da fotofosforilação.

A análise da fluorescência da clorofila tem sido uma ferramenta muito utilizada para avaliar aspectos da fotossíntese, constituindo-se num método quantitativo, não invasivo, permitindo o estudo de folhas intactas (Van Kooten & Snel 1990). Uma vez que muitos fatores de estresse afetam o funcionamento do PS II, a

fluorescência da clorofila a pode ser usada como uma ferramenta para quantificar a resposta ao estresse (Bolhàr-Nordenkampf & Öquist 1993).

O conceito de tolerância ao alagamento não é exercido com critérios bem estabelecidos na literatura. *Fraxinus pennsylvanica*, uma espécie arbórea considerada tolerante ao alagamento, apresenta necrose e abscisão foliar e redução na incorporação de matéria seca quando alagada experimentalmente (Sena Gomes & Kozlowski 1980). No entanto, apresenta a capacidade de reassumir o funcionamento estomático após 15 dias de alagamento (Pezeshki & Chambers 1986).

Joly & Crawford (1982) adotaram a capacidade de incorporação significativa de matéria seca após um período de 30 dias de alagamento como critério para a tolerância ao alagamento. Estes autores observaram que espécies que não ocorrem em áreas sazonalmente alagadas são sensíveis à saturação hídrica do solo, não apresentando crescimento significativo.

A redução na incorporação de matéria seca pode ocorrer, muitas vezes, em função da abscisão das folhas e deterioração do sistema radicular, o que não impede a sobrevivência das plantas mesmo após longos períodos de alagamento. Já *Tabebuia cassinoides* surpreende pelo fato de apresentar um maior crescimento das plantas alagadas em relação às crescidas na capacidade de campo (Kolb 1998).

Considerando que o alagamento afeta drasticamente o sistema radicular de *T. guianensis* e de *P. heptaphyllum*, levando a sua completa substituição por novas raízes, e ocasiona a morte com pouca reposição das raízes em *C. estrelensis* e *P. grandiflorum*, enquanto não compromete muito o sistema radicular de *T. ovata* (Capítulo III) pode-se esperar que as respostas apresentadas pela parte aérea das

plantas destas 5 espécies sejam, também, diferenciadas uma vez que estas podem ser indiretamente influenciadas pelas funções radiculares, principalmente quanto à condutividade hidráulica.

São objetivos deste capítulo avaliar a capacidade de incorporação de matéria seca de plantas de 5 espécies arbóreas submetidas ao alagamento do sistema radicular e analisar as respostas fotossintéticas através da avaliação das trocas gasosas de CO₂ e água e da emissão de fluorescência da clorofila *a* do PS II.

Material e métodos:

Antes do início dos experimentos buscou-se determinar a melhor condição de luz para o crescimento das plantas sem limitar a assimilação e sem proporcionar um excesso que pudesse levar à fotoinibição, uma vez que estas crescem, naturalmente, no ambiente sombreado das matas de brejo. Assim, foram realizadas curvas de resposta à luz em 3 plantas de cada espécie (uma folha por planta) crescidas em casa de vegetação, para a avaliação do ponto de saturação à luz. As curvas foram realizadas com o auxílio de telas tipo clarite e sombrite que atenuavam a radiação solar incidente nas folhas, e as medidas foram tomadas após curtos períodos de aclimação. Desta forma pode-se constatar que com uma densidade de fluxo de fons fotossinteticamente ativos (PPFD) de aproximadamente 400 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ obtinha-se a taxa máxima de assimilação que foi observada mesmo com 800 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ (o valor máximo testado), para todas as espécies. Isto levou à colocação de uma tela sombrite adequada sobre as bancadas, e a monitorar valores de PPFD entre 400 e 600 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ para as medidas de trocas gasosas durante o experimento de alagamento das plantas.

Curvas de andamento diário foram realizadas antes do início do alagamento em 3 plantas por espécie (uma folha por planta) para verificar se alguma apresentava depressão na taxa de assimilação durante o período da manhã. Assim pode-se propor uma seqüência de espécies para as medidas de trocas gasosas, ao longo do experimento, sendo *T. ovata*, *C. estrelensis*, *P. heptaphyllum*, *P. grandiflorum* e *T. guianensis*.

O efeito da saturação hídrica do solo no crescimento das plantas foi analisado através de alagamento artificial em casa de vegetação, nas mesmas condições descritas no Capítulo III.

Crescimento: Antes de iniciar o experimento, foi separado um lote homogêneo de cada espécie (com 6 meses de idade, em média) para a quantificação da massa de matéria seca no início e após 30 e 60 dias de tratamento (controle e alagado, 6 plantas por tratamento). A massa de raízes, caules e folhas foi analisada separadamente, após secagem em estufa a 80° por 5 dias.

Fotossíntese: As medidas das trocas gasosas foram realizadas com sistema de medição portátil IRGA (infra-red gas analyser, ADC, modelo LCA 4, Grã-Bretanha), que possui sensores que permitem a monitoração de parâmetros como PPF, temperatura do ar e da folha e a umidade relativa do ar. A folha intacta foi mantida em uma câmara que promove um fluxo de entrada e saída de ar, através de uma ventoinha, e a posterior leitura comparativa da concentração dos gases CO₂ e vapor d'água. Parâmetros como assimilação de CO₂, condutância estomática ao vapor de água, transpiração, entre outros, são diretamente fornecidos pelo programa que acompanha o equipamento.

O efeito do alagamento sobre o comportamento fotossintético foi avaliado através de medidas das trocas gasosas em 5 plantas controle e 5 plantas alagadas de cada espécie (uma folha por planta, sendo esta a última completamente expandida), após 0, 2, 5, 11, 23, 34, 37, 44 e 60 dias de tratamento. As medidas foram feitas a partir das 9 horas da manhã, quando já havia luz suficiente para a saturação fotossintética, com níveis de PPFD entre 400 e 600 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$, obtendo-se valores representativos da taxa máxima de assimilação de uma folha por planta.

A avaliação da emissão da fluorescência da clorofila *a* foi realizada com um medidor de fluorescência com modulação de amplitude de pulso, o PAM 2000 (Walz, Alemanha). As folhas foram temporariamente mantidas a uma distância e ângulo constantes da fibra ótica de leitura, com o auxílio de cliques foliares que acompanham o instrumento. As medidas foram realizadas durante o amanhecer, nas plantas utilizadas para as trocas gasosas, nos mesmos tempos de tratamento. Estas medidas realizadas ao amanhecer permitem a quantificação da fluorescência mínima (F_o) e máxima (F_m) quando todos os centros de reação do PS II estão abertos, e permitem o cálculo da fluorescência variável, F_v , ($F_v = F_m - F_o$) (Van Kooten & Snel 1990). A partir dos valores de F_m e F_v tem-se a razão F_v/F_m que atua como um indicativo da eficiência fotoquímica do PS II (Kitagima & Butler apud Königer et al. 1995, Björkman & Demmig 1987).

Análise estatística: a incorporação de matéria seca é analisada através da ANOVA seguida de teste de Tukey (5%). Já, os parâmetros relativos à fotossíntese, ou seja, assimilação de CO_2 , condutância estomática e F_v/F_m são comparados pela média \pm o intervalo de confiança a 95% (Zar 1984).

Resultados:

Crescimento:

O alagamento por 30 dias praticamente não afetou a incorporação de matéria seca nas 5 espécies (Tabela 4.1). Observou-se uma redução na massa seca de raízes de *T. guianensis*, que porém não diferiu das plantas controle. Com este período de alagamento somente *C. estrelensis* mostrou um aumento significativo ($p < 0,05$) em relação a sua massa inicial, tanto nas plantas controle quanto nas alagadas (Tabela 4.1).

Um efeito mais acentuado foi observado ao final de 60 dias de alagamento na massa seca de raízes de *T. guianensis* e *P. heptaphyllum*, que foram significativamente menores que de plantas controle ($p < 0,05$) tanto em decorrência do enegrecimento e morte de todo o sistema radicular, substituídos por raízes adventícias e regenerantes, respectivamente (Capítulo III, Figura 3.2), quanto pelo maior crescimento observado nas plantas controles. Esta redução na massa seca de raízes resultou em uma menor massa seca de plantas alagadas destas duas espécies em relação às controles ($p < 0,05$). Assim, ao final de 60 dias as diferenças foram evidentes principalmente no desenvolvimento do sistema radicular, que foi comprometido em todas as espécies, exceto em *T. ovata* (Tabela 4.1 e Capítulo III, Figura 3.2), e não avaliado em *C. estrelensis*.

A incorporação de matéria seca em caule foi semelhante entre plantas controle e alagadas em todas as espécies, enquanto que em relação às folhas, somente *P. heptaphyllum* apresentou uma menor massa final (Tabela 4.1), devido à abscisão de algumas folhas, que não foi uma resposta frequentemente observada

Tabela 4.1 - Massa de matéria seca de 5 espécies de mata de brejo após 30 e 60 dias de crescimento em condições de capacidade de campo e de alagamento. Os valores representam a média \pm erro padrão (n = 6, n = 4 para *Talauma ovata*).

TRATAMENTO	Massa de Matéria Seca (g)				
	<i>Tapirira guianensis</i>	<i>Protium heptaphyllum</i>	<i>Talauma ovata</i>	<i>Cariniana estrelensis</i>	<i>Pseudobombax grandiflorum</i>
RAIZ					
Início	2,01 \pm 0,25 b	0,96 \pm 0,07 b	0,47 \pm 0,04 b	0,76 \pm 0,32 a	0,27 \pm 0,03 c
30d. controle	2,12 \pm 0,15 b	1,61 \pm 0,14 b	0,57 \pm 0,04 b	1,46 \pm 0,57 a	0,98 \pm 0,01 ab
30d. alagado	1,28 \pm 0,15 b	1,01 \pm 0,11 b	0,47 \pm 0,06 b	1,17 \pm 0,27 a	0,36 \pm 0,05 bc
60d. controle	4,08 \pm 0,37 a	2,34 \pm 0,28 a	0,86 \pm 0,07 a		1,16 \pm 0,29 a
60d. alagado	1,18 \pm 0,15 b	0,98 \pm 0,10 b	0,66 \pm 0,06 ab		0,63 \pm 0,15 abc
CAULE					
Início	0,77 \pm 0,09 c	0,53 \pm 0,07 b	0,22 \pm 0,01 b	0,33 \pm 0,05 c	0,19 \pm 0,02 b
30d. controle	1,29 \pm 0,08 b	0,99 \pm 0,08 a	0,34 \pm 0,02 b	0,53 \pm 0,04 b	0,48 \pm 0,05 a
30d. alagado	1,22 \pm 0,02 bc	0,87 \pm 0,08 ab	0,41 \pm 0,07 ab	0,84 \pm 0,06 a	0,36 \pm 0,04 ab
60d. controle	1,87 \pm 0,19 a	1,18 \pm 0,17 a	0,40 \pm 0,07 ab		0,54 \pm 0,07 a
60d. alagado	1,54 \pm 0,12 ab	0,92 \pm 0,10 ab	0,57 \pm 0,05 a		0,58 \pm 0,08 a
FOLHAS					
Início	2,08 \pm 0,24 a	1,18 \pm 0,07 b	0,44 \pm 0,03 a	0,79 \pm 0,14 b	0,41 \pm 0,03 a
30d. controle	2,28 \pm 0,14 a	1,29 \pm 0,13 ab	0,59 \pm 0,04 a	1,20 \pm 0,08 ab	0,38 \pm 0,09 a
30d. alagado	2,22 \pm 0,12 a	1,10 \pm 0,06 b	0,53 \pm 0,07 a	1,25 \pm 0,10 a	0,43 \pm 0,08 a
60d. controle	3,01 \pm 0,30 a	1,76 \pm 0,21 a	0,68 \pm 0,10 a		0,54 \pm 0,09 a
60d. alagado	2,35 \pm 0,32 a	0,90 \pm 0,08 b	0,62 \pm 0,08 a		0,56 \pm 0,12 a
PLANTA					
Início	4,87 \pm 0,54 b	2,68 \pm 0,16 b	1,13 \pm 0,05 b	1,88 \pm 0,31 b	0,88 \pm 0,05 b
30d. controle	5,69 \pm 0,27 b	3,90 \pm 0,23 b	1,50 \pm 0,04 ab	3,18 \pm 0,35 a	1,84 \pm 0,22 ab
30d. alagado	4,74 \pm 0,26 b	2,98 \pm 0,23 b	1,41 \pm 0,15 ab	3,24 \pm 0,24 a	1,15 \pm 0,13 b
60d. controle	8,99 \pm 0,74 a	5,30 \pm 0,61 a	1,96 \pm 0,22 a		2,25 \pm 0,39 a
60d. alagado	5,06 \pm 0,56 b	2,80 \pm 0,22 b	1,84 \pm 0,15 a		1,77 \pm 0,34 ab

As letras diferentes em cada tratamento, por espécie, representam diferenças significativas pelo Teste de Tukey (anova - 5%).

A iniciação e expansão foliar não foram inibidas pelo alagamento. Assim ao final de 60 dias (30 para *C. estrelensis*) a grande diferença de massa entre plantas controle e alagadas foi principalmente devido ao comprometimento do sistema radicular (Tabela 4.1).

Fotossíntese:

Plantas alagadas apresentaram uma tendência de redução da assimilação de CO₂ em todas as espécies apresentando, em média, 50 a 70% do valor observado nas plantas controles (Figura 4.1).

T. guianensis mostrou uma maior tendência de redução na assimilação de CO₂ até o décimo dia de tratamento (Figura 4.1a). Devido a algum tipo de doença que afetou algumas plantas alagadas assim como outras que não estavam em tratamento, as medidas não foram realizadas sempre na mesma folha. No entanto, mesmo após a queda das folhas houve iniciação foliar tanto nas plantas controle como alagadas. Após o vigésimo terceiro dia observou-se uma tendência de recuperação em algumas plantas observada pelos menores desvios e por uma elevação na média (Figura 4.1a).

P. heptaphyllum, *T. ovata* e *P. grandiflorum* mostraram uma certa capacidade de recuperar o valor da assimilação de CO₂, uma vez que ao final do alagamento o valor médio foi próximo ao de plantas controles. Diferentemente das demais espécies, *C. estrelensis* apresentou uma redução significativa da assimilação de CO₂ a partir do vigésimo terceiro dia, não apresentando capacidade de recuperação até o final do experimento, com as plantas alagadas apresentando uma menor assimilação de CO₂ do que plantas controle (Figura 4.1d).

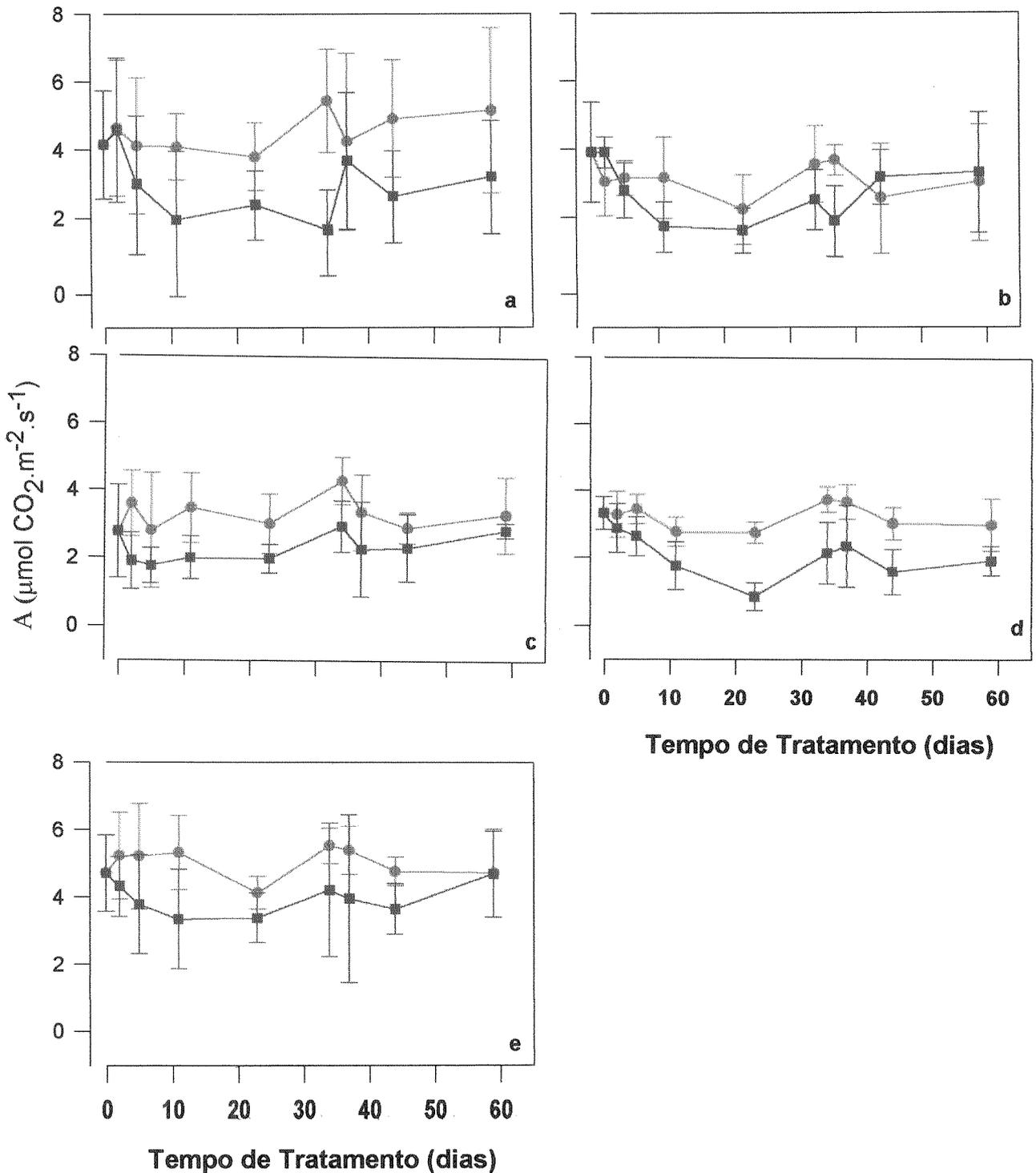


Figura 4.1 – Assimilação de CO₂ em plantas controle e alagadas de 5 espécies arbóreas da mata de brejo da Reserva de Santa Genebra, Campinas, SP. (●): plantas controle, (■): plantas alagadas. Os valores representam a média \pm intervalo de confiança a 95% (n=3 plantas para 37 dias, n=4 para 43 e 60 dias e n=5, para os demais tempos, 1 folha por planta). **a:** *Tapirira guianensis*, **b:** *Protium heptaphyllum*, **c:** *Talauma ovata*, **d:** *Cariniana estrelensis*, **e:** *Pseudobombax grandiflorum*.

A transpiração (os dados não estão sendo apresentados) e a condutância estomática ao vapor d'água (Figura 4.2) sofreram reduções semelhantes à assimilação de CO₂ nas plantas alagadas, embora outros fatores interferiram também na condutância de plantas controle, que se mostrou variável. Valores de umidade relativa do ar variaram entre 35 e 60% ao longo do experimento, sendo, provavelmente uma das razões. Apesar dos grades desvios observados, *P. heptaphyllum*, *T. ovata* e *P. grandiflorum* apresentaram, ao final do experimento, uma condutância estomática média semelhante a das plantas controle, enquanto *T. guianensis* e *C. estrelensis* continuaram a apresentar a tendência de valores abaixo dos observados no início do experimento.

Plantas controle apresentaram valores de Fv/Fm, ao amanhecer, entre 0,77 e 0,82, exceto *C. estrelensis* que chegou a mostrar valores um pouco menores (Figura 4.3). De uma maneira geral o alagamento não reduziu os valores de Fv/Fm em plantas de *T. guianensis*, *P. heptaphyllum* e *C. estrelensis* (Figura 4.3a,b,c,d). Já plantas alagadas de *P. grandiflorum* apresentaram valores de Fv/Fm significativamente menores que o de plantas controles, a partir de 10 dias de tratamento até o final do experimento (Figura 4.3e). Embora esta redução seja significativa em relação às plantas controles, os valores permaneceram ao redor de 0,75, acima da média observada para plantas de *T. guianensis*, *T. ovata* e *C. estrelensis*.

Quando a avaliação dos valores de Fv/Fm foi feita nas folhas iniciadas e expandidas durante o alagamento, observou-se que somente *C. estrelensis* apresentou valores significativamente menores do que o observado em folhas novas de plantas controles (Figura 4.3), enquanto nas demais espécies estes valores foram

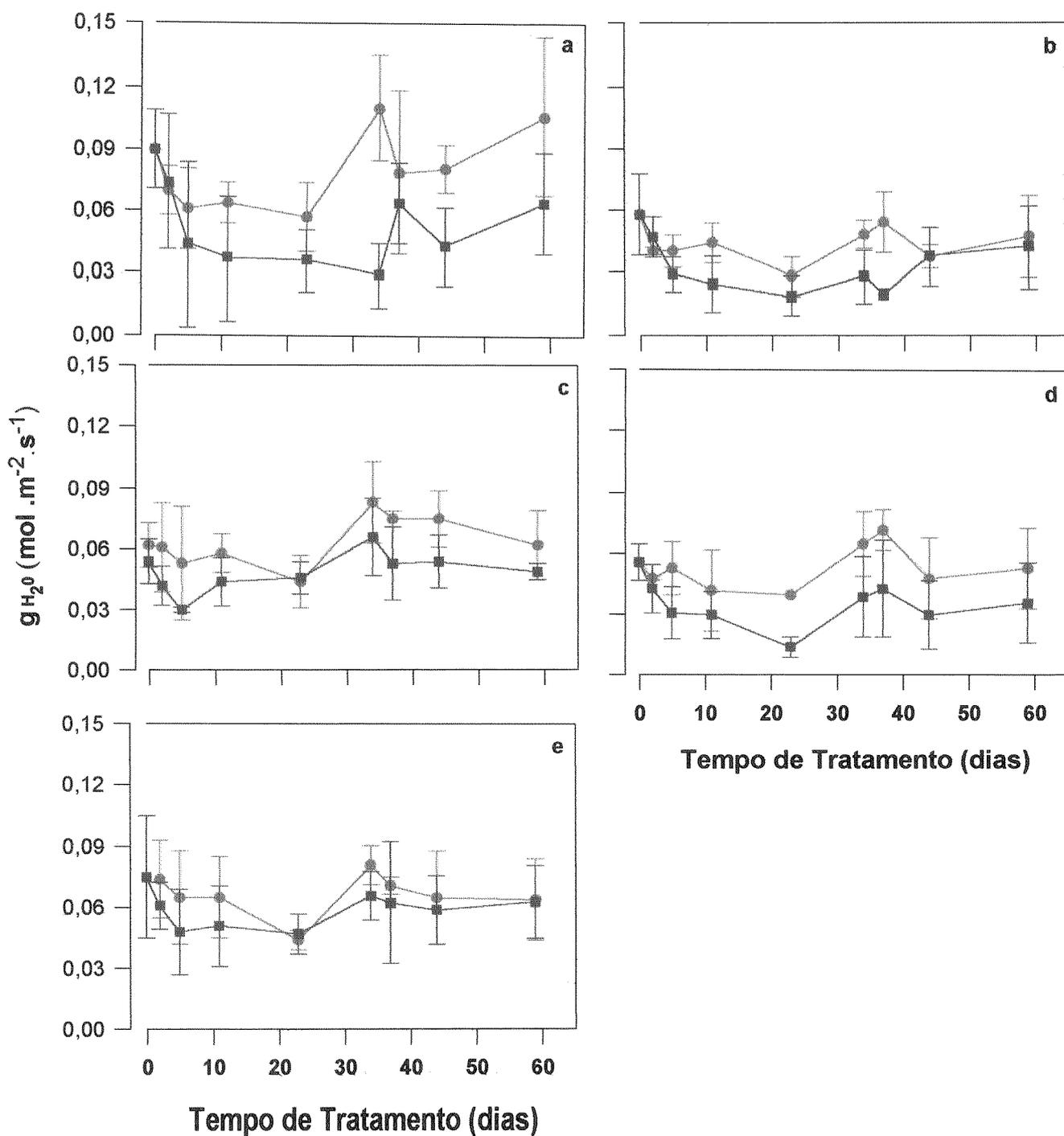


Figura 4.2 – Condutância estomática ao vapor d’água em plantas controle e alagadas de 5 espécies arbóreas da mata de brejo da Reserva de Santa Genebra, Campinas, SP. (●): plantas controle, (■): plantas alagadas. Os valores representam a média \pm intervalo de confiança a 95% ($n=3$ plantas para 37 dias, $n=4$ para 43 e 60 dias e $n=5$ para os demais tempos, 1 folha por planta). **a:** *Tapirira guianensis*, **b:** *Protium heptaphyllum*, **c:** *Talauma ovata*, **d:** *Cariniana estrelensis*, **e:** *Pseudobombax grandiflorum*.

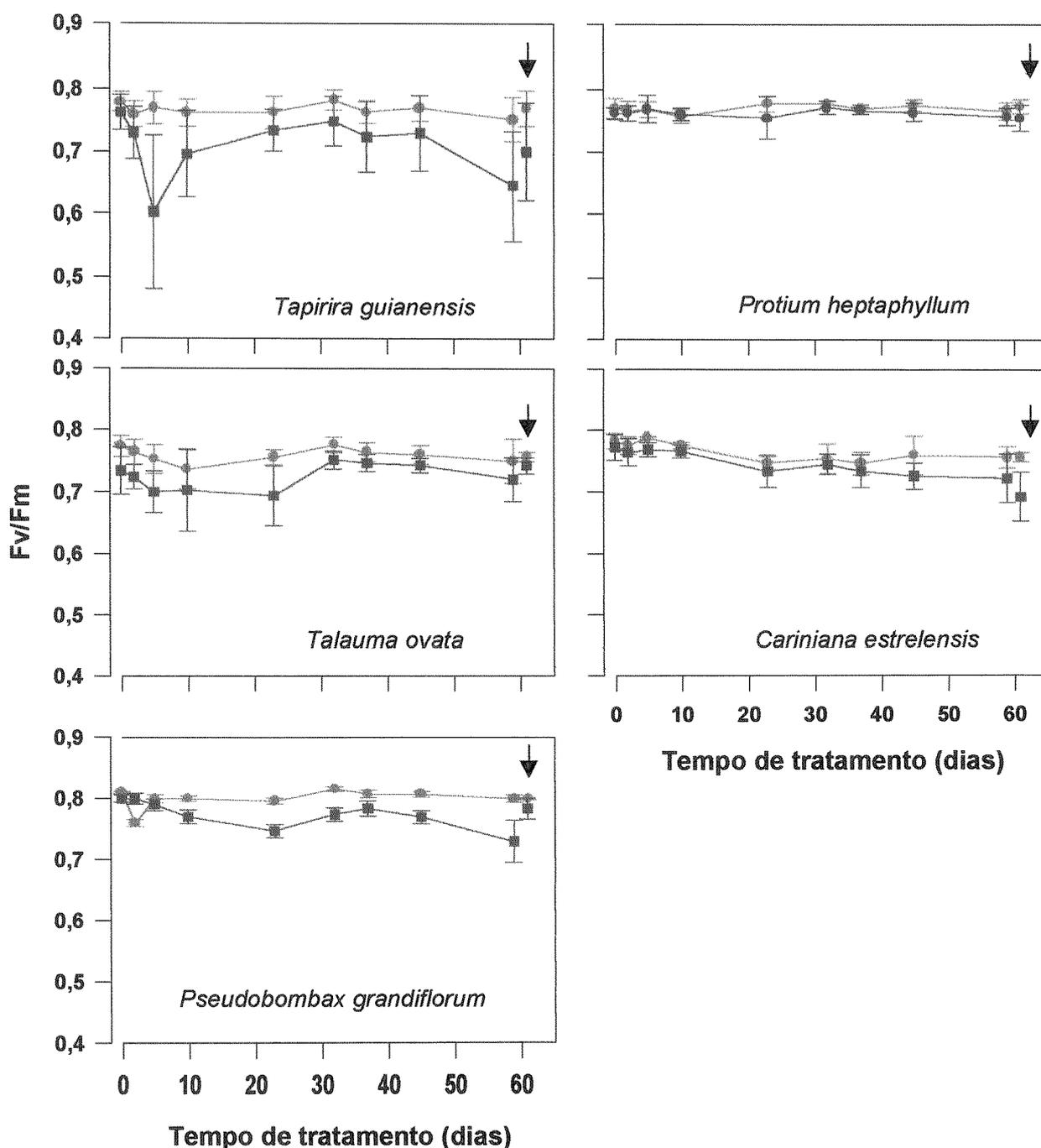


Figura 4.3 – Eficiência fotoquímica do PS II (Fv/Fm) em plantas controle (●) e alagadas (■) de 5 espécies arbóreas da mata de brejo da Reserva de Santa Genebra, Campinas, SP. Os valores representam a média ± intervalo de confiança a 95% (n=5 plantas, uma folha por planta). O último ponto, ao final de 60 dias, representa o valor observado em folhas expandidas durante o experimento (indicado pela seta).

semelhantes aos controles, inclusive em *P. grandiflorum* que mostrou valores reduzidos nas folhas já presentes.

Embora *C. estrelensis* tenha mostrado valores de F_v/F_m semelhantes entre plantas controle e alagadas ao longo do experimento, com uma tendência de redução somente após 45 dias, aparentemente esta foi a espécie mais comprometida pelo alagamento. Isto pode ser observado pela redução dos valores de F_v/F_m em folhas formadas com o alagamento (Figura 4.3d), e que apresentaram um tom de verde mais claro e com o passar do tempo (permanência das plantas alagadas após o encerramento do experimento), assumindo uma cor mais parda.

Plantas controle de *P. grandiflorum* apresentaram os maiores valores de F_v/F_m ao amanhecer, sempre superiores a 0,8. O alagamento reduziu levemente os valores de F_v/F_m , que se mantiveram praticamente acima de 0,75, enquanto folhas formadas com o alagamento foram semelhantes às controle (Figura 4.3e).

Assim, de uma maneira geral, as folhas de *P. heptaphyllum* foram as menos afetadas e as de *C. estrelensis* as mais comprometidas. *T. ovata* e *P. grandiflorum* mostraram uma redução do F_v/F_m seguido de recuperação e uma capacidade de aclimação das folhas expandidas durante o alagamento, com maiores valores de F_v/F_m . Embora a análise de *T. guianensis* possa ter sido um pouco influenciada pelo provável ataque de algum patógeno, foi a espécie que mais produziu folhas novas. Após o encerramento do experimento as plantas de todas as espécies foram mantidas alagadas e assim permaneceram por mais 8 meses sem que ocorresse alguma mortalidade.

Discussão:

O principal efeito do alagamento na incorporação de matéria seca em plantas de *T. guianensis*, *P. heptaphyllum*, *T. ovata*, *C. estrelensis* e *P. grandiflorum* foi uma drástica redução na massa das raízes (exceto em *T. ovata*). Esta redução foi conseqüência da morte das raízes secundárias e até da raiz principal, como no caso de *T. guianensis*. Ao final de 60 dias de alagamento, o enegrecimento das raízes originais foi evidente em todas as espécies, exceto *T. ovata*. No entanto, todas foram capazes de formar novas raízes, principalmente *T. guianensis*, *P. heptaphyllum* e *T. ovata* e/ou manter o crescimento de poucas raízes secundárias originais.

Contudo, a resposta fisiológica mais rapidamente observada nas plantas alagadas foi a diminuição da condutância estomática e da assimilação de CO₂, já após o primeiro dia de alagamento, comumente observada em outras espécies (Pereira & Kozlowski 1977, Kozlowski & Pallardy 1979, Newsome et al. 1982). A alteração na permeabilidade da membrana das raízes é, provavelmente, a causa desta rápida redução da condutância estomática (Harrington 1987).

Murchamento foliar não foi observado em qualquer espécie neste estudo em conseqüência do alagamento. Este fato, aliado à diminuição da transpiração (dados não apresentados) reforçam o ponto de vista de que a diminuição da condutância estomática reduz o risco de desidratação e mantém o turgor foliar (Jackson & Kowaleska 1983, Vartapetian 1997).

As novas raízes formadas com o alagamento são mais porosas do que as originais (Capítulo III, Tabela 3.1), o que possibilita a difusão de O₂ e a oxidação da rizosfera, assim como a manutenção de um metabolismo radicular aeróbico, mesmo que parcial.

O grande desenvolvimento e crescimento das raízes adventícias em *T. guianensis* e *P. heptaphyllum* observadas após 30 e 40 dias coincidem com a tendência de recuperação da condutância estomática observada ao final do experimento. No entanto, outros fatores podem estar envolvidos, uma vez que a condutância de plantas controle também aumentou em *T. guianensis*, mas não em plantas controle de *P. heptaphyllum*. Deste mesmo modo, pode-se sugerir que plantas de *C. estrelensis* mantiveram baixos valores de condutância estomática em função da pequena massa de raízes vivas e, portanto, funcionais quanto à absorção de água, assim uma redução da transpiração diminui o risco de desidratação.

A ausência de uma mortalidade acentuada das raízes de plantas alagadas de *T. ovata* também justifica a manutenção da condutância estomática praticamente constante ao longo do experimento. Juntamente com a sobrevivência das raízes, a hipertrofia de lenticelas já foi pronunciada após 11 dias. Assim, pode-se sugerir que a difusão de O₂ às raízes pode manter um metabolismo aeróbico, parcial e a manutenção da condutância estomática, que foi muito baixa mesmo nas plantas controle.

Como já mencionado no Capítulo III, plantas de *P. grandiflorum* quando alagadas apresentam um enraizamento superficial, formado por raízes induzidas pelo alagamento, brancas, mais espessas e retilíneas, de maneira irregular. No entanto, estas raízes foram mais constantes durante o experimento de fotossíntese, e podem estar correlacionadas com a manutenção dos valores de condutância estomática semelhante ao de plantas controles. Embora não seja possível correlacionar efetivamente o início do crescimento de novas raízes, ou a sua ausência, com a recuperação ou não da abertura estomática, este comportamento já

foi observado para algumas espécies (Sena Gomes & Kozlowski 1980). A importância da presença de O₂ para a abertura estomática também foi verificada por Zaerr (1983) através da atenuação do efeito do alagamento com a aeração da água.

O alagamento reduziu a condutância estomática e a assimilação de CO₂ em todas as espécies porém não a valores inferiores a 50% do observado nas plantas controle. Reduções mais drásticas foram observadas para espécies sensíveis (Pezeshki 1993). Portanto, muitos estudos têm mostrado que a extensão com a qual a atividade estomática e fotossintética respondem ao alagamento é importante em determinar o grau de tolerância da espécie (Regehr et al. 1975, Pereira & Kozlowski 1977, Pezeshki & Chambers 1986, Pezeshki 1993).

A avaliação da eficiência fotoquímica do PS II mostrou que o alagamento afetou muito pouco os valores de Fv/Fm, indicando que com 60 dias de alagamento praticamente não houve danos nos centros de reação. Somente *C. estrelensis* apresentou folhas expandidas durante o alagamento com valores de Fv/Fm significativamente menores do que as plantas controle. Esta redução nos valores de Fv/Fm, indicando danos no centro de reação do PSII, da assimilação de CO₂ e da condutância estomática, assim como a formação de folhas com uma coloração mais parda, parecem indicar uma menor tolerância desta espécie que, no entanto, também resiste a longos períodos de alagamento.

A avaliação da eficiência fotoquímica do PSII não tem sido utilizada em plantas submetidas ao alagamento. A maioria dos estudos com espécies arbóreas tropicais são voltados à fotoinibição em plantas submetidas a grandes intensidades luminosas (Langenheim et al. 1984, Kamaluddin & Grace 1992, Mulkey & Pearcy 1992, Lovelock et al. 1994). Estes estudos têm mostrado que para espécies típicas

de ambiente sombreado quando crescidas em pleno sol, o período entre o fim da tarde e o amanhecer não é suficiente para a recuperação dos danos causados pelo excesso de luz e temperatura durante o dia.

Assim, nas plantas alagadas, caso a diminuição na condutância estomática seja suficiente para limitar a quantidade de CO₂ a ser reduzido, causando danos pelo excesso de absorção de energia, as cinco espécies deste estudo foram capazes de efetuar mecanismos de reparo destes danos, não chegando a apresentar sinais de fotoinibição.

De uma maneira geral o alagamento do sistema radicular influencia o comportamento da parte aérea levando à abscisão de poucas folhas em *P. heptaphyllum* e *P. grandiflorum*, reduzindo a abertura estomática e a assimilação de CO₂ em todas as espécies. No entanto estes efeitos não impediram o crescimento das plantas enquanto alagadas que, exceto pelo comprometimento do sistema radicular de *T. guianensis* e *P. heptaphyllum*, apresentaram um incremento de matéria seca semelhante ao de plantas controle.

Contudo, pode-se sugerir que a tolerância ao alagamento pode ser conferida pela capacidade de crescimento ou sobrevivência durante a hipoxia do sistema radicular. Características que favoreçam a absorção de água assim como a assimilação de CO₂ e a incorporação de matéria seca são essenciais. Vale lembrar que no subosque da mata as condições de luz são limitadas para as plântulas e, desta forma, em condições de crescimento limitadas, dependentes de aberturas ocasionais no dossel, a capacidade de manutenção independente do crescimento é fundamental para a sobrevivência.

Considerações Finais

A saturação hídrica do solo e a conseqüente limitação de oxigênio imposta às sementes e aos órgãos subterrâneos influencia a dinâmica de populações e comunidades em áreas sujeitas ao alagamento (Streng et al. 1989, Jones et al. 1994, Kubitzki & Ziburski 1994, Scarano et al. 1997).

Nas matas de brejo a dispersão das sementes durante a estação chuvosa representa um desafio a ser vencido: ou a espécie deve ser capaz de germinar em condições limitadas de oxigênio ou a germinação fica restrita à disponibilidade de micro-sítios favoráveis, isto é, a porções de solo não alagado. A produção maciça de frutos, como observada para *T. guianensis* e *P. heptaphyllum*, proporcionando o recrutamento de um grande número de plantas aumenta a probabilidade espacial de chegada das sementes nestes locais favoráveis. Já, a frutificação por períodos mais prolongados aumenta a probabilidade temporal de chegada das sementes aos micro-sítios.

A ausência de frutificação de *C. estrelensis* e *P. grandiflorum* durante o período de estudo denota uma irregularidade de investimento na frutificação. Este fato aliado à baixa disponibilidade de plântulas sugere a ausência de frutificação por longos períodos, um baixo recrutamento ou, ainda, recrutamento seguido de alta mortalidade.

Surpreendentemente, apesar da ocorrência das espécies em um ambiente de solo hidricamente saturado durante boa parte do ano, inclusive com a dispersão das sementes no período em que o lençol freático está mais superficial, sob condições experimentais as sementes não germinam quando submersas. O elevado acúmulo de etanol nos períodos iniciais de tempo, somado à quantidade deste encontrada na solução que continha as sementes, assim como o acúmulo de

lactato, evidenciam uma grande atividade de respiração anaeróbica, acompanhada da ausência de germinação. Considerando-se a baixa produção de ATP pela via fermentativa, pode-se sugerir que ocorreu uma exaustão de substrato respiratório, uma vez que a concentração de açúcar solúvel é muito pequena nas 3 espécies avaliadas, gerando energia insuficiente para completar o processo de germinação. Outra possibilidade seria a ausência de germinação em função de algum efeito prejudicial do acúmulo de etanol e ou lactato, ou ainda problemas com a reaeração.

No entanto, em condições naturais a flutuação do lençol freático pode expor as sementes a condições intermitentes de hipoxia, permitindo que o contato com o O₂ seja maior do que sob as condições experimentais, gerando a energia necessária para a protrusão da radícula. Em condições mais extremas de saturação hídrica, seja espacial ou temporalmente, a capacidade de manutenção da viabilidade após embebição em hipoxia e anoxia é de fundamental importância, e crítica para espécies sensíveis.

Assim, a extrema tolerância de algumas espécies como *Inga affinis* (Lieberg & Joly 1993) e *Sesbania virgata* (Okamoto 1995) de germinar e crescer enquanto submersas, a tolerância limitada de algumas espécies e a não tolerância da grande maioria, determinam a composição florística de menor diversidade nas matas higrófilas (Leitão Filho 1982).

Embora as sementes das 5 espécies estudadas não germinem quando submersas, as plântulas, por sua vez, são tolerantes à inundação por períodos prolongados de tempo. De uma certa forma, isto representa um conflito entre semente e plântula (Schupp 1995) uma vez que as condições apropriadas para germinação e estabelecimento são divergentes. No entanto, a capacidade que

algumas espécies apresentam de manter a viabilidade das sementes embebidas em condições de hipoxia possibilita a sua ocorrência nos ambientes propensos à inundação.

Embora haja uma aparente aceitação de uma dicotomia entre respostas anatômicas e metabólicas constituindo diferentes estratégias adaptativas de plantas submetidas ao alagamento (Crawford & Brändle 1996), uma combinação destas é encontrada em espécies arbóreas tropicais (Joly 1991, Lobo & Joly 1995) e foi observada para todas as espécies neste estudo.

T. guianensis, a espécie mais abundante (dentre as cinco) na área de estudo, investe maciça e irregularmente na produção de frutos, que estão maduros e são dispersos no período chuvoso. Embora sob condições laboratoriais as sementes não germinaram sob hipoxia, na mata há o estabelecimento de muitas plântulas. Quando alagadas experimentalmente o sistema radicular é degenerado, provavelmente em função do grande acúmulo de lactato, sendo completamente substituído pela formação e crescimento de raízes adventícias, precedida da hipertrofia de lenticelas. Estas raízes são mais porosas e com o acesso ao O₂ facilitado, uma vez que são mais superficiais, apresentando, então, um controle metabólico diferenciado das raízes originais, com um menor acúmulo de etanol e lactato. O desenvolvimento destas raízes adventícias possibilita a continuidade da absorção de água, assim como de outras funções radiculares, evitando conseqüências como murchamento e senescência foliar. Desta forma a fotossíntese é mantida e a incorporação de matéria seca entre plantas controle é semelhante a das alagadas.

P. heptaphyllum, também dispersa suas sementes durante o período em que o solo está mais alagado, também apresenta o estabelecimento de muitas

plântulas apesar da ausência de germinação sob condições hipóxicas experimentais. Como em *T. guianensis*, a frutificação é irregular com produção maciça de sementes. Quando as plantas são alagadas também ocorre morte do sistema radicular que é substituído por novas raízes, algumas adventícias de menor crescimento e muitas regenerantes, desenvolvidas a partir da raiz principal ou das secundárias, de grande crescimento. Estas novas raízes também são um pouco mais porosas do que as originais, no entanto, o início do seu desenvolvimento é posterior ao observado em *T. guianensis*. De forma semelhante à observada em *T. guianensis* as novas raízes de *P. heptaphyllum* não acumulam lactato embora o acúmulo de etanol permaneça elevado. Uma possível razão seria a sua posição menos superficial, o que não explica, porém, a ausência de acúmulo de lactato, sugerindo, portanto, um controle metabólico diferenciado. Estas diferenças podem estar associadas a diferenças na atividade de isoenzimas (Dolferous et al. 1997) que podem ser induzidas pela hipoxia (ANP – proteínas anaeróbicas). Apesar do comprometimento das raízes originais, restando poucas raízes saudáveis após 30 dias de alagamento, assim como da formação mais tardia das novas raízes (também por volta de 30 dias), a tendência de redução na assimilação de CO₂ foi de 50% em relação ao valor inicial, no entanto mantendo-se semelhante às plantas controle.

T. ovata apresenta respostas completamente diferentes. Embora esta espécie frutifique anualmente, com produção de muitos frutos com muitas sementes por fruto, não se observa a formação de um “tapete” de plântulas como em *T. guianensis* e em *P. heptaphyllum*. A ausência de germinação em hipoxia é superada pela dispersão de suas sementes no período mais seco. Quando as plantas são alagadas também ocorre a hipertrofia de lenticelas e o sistema radicular

não é muito prejudicado, ocorrendo a morte de poucos ápices radiculares, que coincide com um menor nível de acúmulo de etanol, e somente um acúmulo temporário de lactato, contrastando grandemente com *T. guianensis* e *P. heptaphyllum*. A difusão de O₂ da parte aérea ao sistema radicular é possível (Lobo & Joly 1995) e pode colaborar para uma menor produção e acúmulo de etanol. Apesar da manutenção do sistema radicular em boas condições, da formação de novas raízes mais porosas e da difusão de O₂ da parte aérea às raízes, observou-se uma tendência da média de assimilação de CO₂ nas plantas alagadas ser menor do que nas controles.

C. estrelensis e *P. grandiflorum* também apresentaram uma irregularidade na frutificação, com a dispersão de suas sementes ocorrendo no período mais seco. Ambas as espécies apresentaram um acúmulo de lactato nas sementes mantidas em hipoxia e anoxia, característica não observada nas demais espécies. Com o alagamento das plantas ocorre a hipertrofia de lenticelas, a morte do sistema radicular progressiva com o tempo mas com uma formação de novas raízes ocorrendo de maneira irregular entre as plantas. Houve acúmulo de etanol e lactato nas raízes de *C. estrelensis*, também em menores quantidades que em *T. guianensis* e *P. heptaphyllum*, enquanto *P. grandiflorum* mostrou oscilações na quantidade dos metabólitos não observada nas outras espécies. *C. estrelensis* apresentou, ainda, uma redução significativa na assimilação de CO₂ com tendência de recuperação ao final do experimento. Já *P. grandiflorum* foi a espécie capaz de manter a maior taxa de assimilação de CO₂ nas plantas alagadas, sendo estas levemente menores do que as das plantas controle.

Assim, respostas metabólicas e fisiológicas, como produção de etanol e lactato, fechamento estomático, por exemplo, são rapidamente observadas em plantas alagadas, tanto em espécies sensíveis como em tolerantes. Já, as respostas morfo-anatômicas requerem um tempo maior porém, após a sua ocorrência, muitas vezes há uma redução dos efeitos causados pelo estresse e uma conseqüente recuperação no desenvolvimento das plantas, uma vez que estas facilitam o acesso ao O₂ e o metabolismo passa a ser, ao menos parcialmente, aeróbico. Nestas condições o crescimento de plantas tolerantes não é comprometido, enquanto que espécies sensíveis muitas vezes não somente são incapazes de crescer, como sofrem altas taxas de mortalidade quando alagadas.

Nas florestas sujeitas à saturação hídrica do solo há, ainda, muitos outros fatores que podem levar à mortalidade, e muitas vezes a sobrevivência das plântulas no sub-bosque sombreado ocorre em detrimento do seu crescimento. Neste sentido a manutenção do sistema radicular ativo ou a regeneração de novas raízes é de fundamental importância, e neste estudo estas respostas foram observadas nas espécies com maior número de plantas jovens como *T. guianensis*, *P. heptaphyllum* e *T. ovata*.

Apesar das 5 espécies ocorrerem no mesmo ambiente de mata de brejo, e com abundâncias diferentes, não foi possível identificar um padrão de resposta que constituísse em uma estratégia única de tolerância. Talvez estudos mais detalhados e aprofundados mostrem que as soluções necessárias para a sobrevivência e o crescimento sejam poucas mas que, no entanto, podem ser conseqüência de comportamentos metabólicos, fisiológicos e/ou morfo-anatômicos diferentes. Por exemplo, a manutenção de uma carga energética elevada pode ser conseqüência de difusão de O₂ ou da capacidade de manter uma fermentação ativa.

Referências Bibliográficas:

- AL-ANI, A.; BRUZAU, F.; RAYMOND, P.; SAINT-GES, V. LEBLANC, J. M. & PRADET, A. 1985. Germination, respiration, and adenylate energy charge of seeds at various oxygen partial pressures. *Plant Physiology* 79:885-890.
- ALVAREZ-BUYLLA, E. & MARTINEZ-RAMOS, M. 1992. Demography and allometry of *Cecropia obtusifolia*, a neotropical tree - an evaluation of the climax-pioneer paradigm for tropical rain forests. *Journal of Ecology* 80:275-290.
- ARMSTRONG, J. & ARMSTRONG, W. 1988. *Phragmites australis* - a preliminary study of soil-oxidizing sites and internal gas transport pathways. *New Phytologist* 108:373-382.
- ARMSTRONG, W.; JUSTIN, S. H. F. W.; BECKETT, P. M. & LYTHER, S. 1991. Root adaptation to soil waterlogging. *Aquatic Botany* 39:57-73.
- ARMSTRONG, W.; BRÄNDLE, R. & JACKSON, M. B. 1994. Mechanisms of flood tolerance in plants. *Acta Botanica Neerlandica* 43(4):307-358.
- AUGSPURGER, C. K. 1984. Seedling survival of tropical tree species: interactions of dispersal distance, light-gaps and pathogens. *Ecology* 65:1705-1712.
- BARCLAY, A. M. & CRAWFORD, R. M. M. 1982. The effect of anaerobiosis on carbohydrate levels in storage tissues of wetlands plants. *Annals of Botany* 51:255-259.
- BARCLAY, A. M. & CRAWFORD, R. M. M. 1983. Plant growth and survival under strict anaerobiosis. *Journal of Experimental Botany* 33(134):541-549.
- BEWLEY, J. D. & BLACK, M. 1994. *Seeds: physiology of development and germination*. 2^a ed. Plenum Press, New York.
- BJÖRKMAN, O. & POWLES, S. B. 1984. Inhibition of photosynthetic reactions under water stress: interaction with light level. *Planta* 161:490-504.
- 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.
- BLOM, C. W. P. M.; BÖGEMANN, G. M.; LAAN, P.; SMAN, A. J. M. van der; STEEG, H. M. van de & VOESENEK, L. A. C. J. 1990. Adaptations to flooding in plants from river areas. *Aquatic Botany* 38:29-47.
- BLOM, C. W. P. M. & VOESENEK, L. A. C. J. 1996. Flooding: the survival strategies of plants. *Trends in Ecology & Evolution* 11(7):290-295.

- BOLHÀR-NORDENKAMPF, H. R. & ÖQUIST, G. 1993. Chlorophyll fluorescence as a tool in photosynthesis research. In: D. O. Hall, J. M. O. Scurlock, H. R. Bolhàr-Nordenkampf, R. C. Leegood & S. P. Long (eds.). Photosynthesis and production in a changing environment: a field and laboratory manual. Chapman & Hall, London.
- BOTHA, F. C.; POTGIETER, G. P. & BOTHA, A. M. 1992. Respiratory metabolism and gene expression during seed germination. *Plant Growth Regulation* 11:211-224.
- BRADFORD, M. M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.* 72:248-254.
- BRADFORD, K. J. 1983. Involvement of plant growth substances in the alteration of leaf gas exchange of flooded tomato plants. *Plant Physiology* 73:480-483.
- BRADFORD, K. J. & HSIAO, T. C. 1982. Stomatal behaviour and water relations of waterlogged tomato plants. *Plant Physiology* 70:1508-1513.
- BROKAW, N. V. L. 1985. Gap-phase regeneration in a tropical forest. *Ecology* 66(3):682-687.
- BROKAW, N. V. L. 1986. Seed dispersal, gap colonization, and the case of *Cecropia insignis*. In: A. Estrada & T. H. Fleming (eds.). *Frugivores and seed dispersal*. Dr. W. Junk Publishers, Boston. Pp. 323-331.
- BUCKERIDGE, M. S. & DIETRICH, S. M. C. 1996. Mobilisation of the raffinose family oligosaccharides and galactomannan in germinating seeds of *Sesbania marginata* Benth. (Leguminosae-Faboideae). *Plant Science* 117:33-43.
- CAMPBELL, D. G.; STONE, J. L. & ROSAS Jr, A. 1992. A comparison of the phytosociology and dynamics of three floodplain (Várzea) forests of know ages, Rio Juruá, western Brazilian Amazon. *Botanical Journal of the Linnean Society* 108:213-217.
- CHAMBERS, J. C. & MacMAHON, J. A. 1994. A day in the life of a seed: movements and fates of seeds and their implications for natural and managed systems. *Annual Review of Ecology and Systematics* 25:263-292.
- CHANDRASHEKARA, U. M. & RAMAKRISHNAN, P. S. 1993. Germinable soil seed bank dynamics during the gap phase of a humid tropical forest in the Western Ghats of Kerala, India. *Journal of Tropical Ecology* 9:455-467.
- CINTRA, R. & HORNA, V. 1997. Seed and seedling survival of the palm *Astrocaryum murumuru* and the legume tree *Dipteryx micrantha* in gaps in Amazonian forest. *Journal of Tropical Ecology* 13:257-277.

- CLARK, D. B. & CLARK, D. A. 1984. Spacing dynamics of a tropical rain forest tree: evaluation of the Janzen-Connell model. *American Naturalist* 124:769-788.
- CLARK, D. B. & CLARK, D. A. 1985. Seedling dynamics of a tropical tree: impacts of herbivory and meristem damage. *Ecology* 66(6):1884-1892.
- CLARK, D. B. & CLARK, D. A. 1987. Population ecology and microhabitat distribution of *Dipteryx panamensis*, a neotropical rain forest emergent tree. *Biotropica* 19:236-244.
- CONNELL, J. H.; TRACEY, J. G. & WEBB, L. J. 1984. Compensatory recruitment, growth, and mortality as factors maintaining rain forest tree diversity. *Ecological Monographs* 54(2):141-164.
- CRAWFORD, R. M. M. 1978. Metabolic adaptations to anoxia. In *Plant life in anaerobic environments*. (D. D. Hook & R. M. M. Crawford, eds.) Ann Arbor Science Publishers, Ann Arbor. Pp. 119-136.
- CRAWFORD, R. M. M. 1987. *Plant life in aquatic and amphibious habitats*. Blackwell Scientific Publications, Oxford.
- CRAWFORD, R. M. M. 1989. *Studies in plant survival: ecological case histories of plant adaptation to adversity*. Blackwell Scientific Publications, London.
- CRAWFORD, R. M. M. 1992. Oxygen availability as an ecological limit to plant distribution. *Advances in Ecological Research* 23:93-185.
- CRAWFORD, R. M. M.; MONK, L. S. & ZOCHOWSKI, Z. M. 1987. Enhancement of anoxia tolerance by removal of volatile products of anaerobiosis. In: R. M. M. Crawford (ed.). *Plant life in aquatic and amphibious habitats*. Blackwell Scientific Publications, Oxford. Pp. 375-385.
- CRAWFORD, R. M. M. & BRÄNDLE, R. 1996. Oxygen deprivation stress in a changing environment. *Journal of Experimental Botany* 47:145-159.
- CRAWLEY, M. J. 1990. The population dynamics of plants. *Phil. Trans. Royal Society London B.*, 330:125-140.
- CREELMAN, R. A.; GAGE, D. A.; STULTS, J. T. & ZEEVAART, J. A. D. 1987. Abscisic acid biosynthesis in leaves and roots of *Xanthium strumarium*. *Plant Physiology* 85:726-732.
- DAVIES, D. D. 1980. Anaerobic metabolism and the production of organic acids. In: P. K. Stumpf & E. E. Conn (eds.). *The Biochemistry of plants - a comprehensive treatise*. Vol 2: Metabolism and Respiration. Academic Press, New York. Pp 581-611.

- DAVIES, D. D. 1986. The fine control of cytosolic pH. *Physiologia Plantarum* 67:702-706.
- DEY, P. M. & HARBORNE, J. B. 1997. *Plant biochemistry*. Academic Press, London.
- DENSLOW, J. S. 1987. Tropical rainforest gaps and tree species diversity. *Annual Review of Ecology and Systematics* 18:431-451.
- DE STEVEN, D. 1994. Tropical tree seedling dynamics: recruitment patterns and their population consequences for three canopy species in Panama. *Journal of Tropical Ecology* 10:369-383.
- DOLFEROUS, R.; ELLIS, M.; BRUXELLES, G. de; TREVASKIS, B.; HOEREN, F.; DENNIS, E. S. & PEACOCK, W. J. 1997. Strategies of gene action in *Arabidopsis* during hypoxia. *Annals of Botany* 79(Suppl. A):21-31.
- DREW, M. C. 1992. Soil aeration and plant root metabolism. *Soil Science* 154(4):259-268.
- DREW, M. C.; SAGLIO, P. H. & PRADET, A. 1985. Larger adenylate energy charge and ATP/ADP ratios in aerenchymatous roots of *Zea mays* in anaerobic media as a consequence of improved internal oxygen transport. *Planta* 165:51-58.
- DREW, M. C.; COBB, B. G.; JOHNSON, D. A.; MORGAN, P. W.; JORDAN, W. & HE, C. J. 1994. Metabolic acclimation of root tips to oxygen deficiency. *Annals of Botany* 74:281-286.
- EDWARDS, J.; Ap REES, T.; WILSON, P. M. & MORRELL, S. 1984. Measurement of the inorganic pyrophosphate in tissues of *Pisum sativum* L. *Planta* 162:188-191.
- ELSE, M. A.; TIEKSTRA, A. E.; CROKER, S. J.; DAVIES, W. J. & JACKSON, M. B. 1996. Stomatal closure in flooded tomato plants involves abscisic acid and a chemically unidentified anti-transpirant in xylem sap. *Plant Physiology* 112:239-247.
- ERNST, W. H. O. 1990. Ecophysiology of plants in waterlogged and flooded environments. *Aquatic Botany* 38:73-90.
- EVERARD, J. D. & DREW, M. C. 1987. Mechanisms of inhibition of water movement in anaerobically treated roots of *Zea mays* L. *Journal of Experimental Botany* 38(192):1154-1165.
- FAGERSTEDT, K. V. & CRAWFORD, R. M. M. 1987. Is anoxia tolerance related to flooding tolerance? *Functional Ecology* 1:49-55.

- FAN, T. W. M.; LANE, A. N. & HIGASHI, R. M. 1992. Hypoxia does not affect rate of ATP synthesis and energy metabolism in rice shoot tips as measured by ³¹P NMR in vivo. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 294(1):314-318.
- FELFILLI, J. M. 1995. Growth, recruitment and mortality in the Gama gallery forest in central Brazil over a six-year period (1985-1991). *Journal of Tropical Ecology* 11:67-83.
- FELFILLI, J. M. 1997. Diameter and height distributions in a gallery forest tree community and some of its main species in central Brazil over a six-year period (1985-1991). *Revista brasileira de Botânica* 20(2):155-162.
- FORGET, P-M. 1991. Comparative recruitment patterns of two non-pioneer canopy tree species in French Guiana. *Oecologia* 85:434-439.
- FORGET, P-M. 1992. Regeneration ecology of *Eperua grandiflora* (Caesalpinaceae), a large-seeded tree in French Guiana. *Biotropica* 24(2a) 146-156.
- FOX, T. C.; KENNEDY, R. A. & RUMPHO, M. E. 1994. Energetics of plant growth under anoxia: metabolic adaptations of *Oryza sativa* and *Echinochloa phyllopogon*. *Annals of Botany* 74:445-455.
- FOX, G. G.; McCALLAN, N. R. & RATCLIFFE, R. G. 1995. Manipulating cytoplasmic pH under anoxia: a critical test of the role of pH in the switch from aerobic to anaerobic metabolism. *Planta* 195:324-330.
- GANDOLFI, S.; LEITÃO-FILHO, H. de F. & BEZERRA, C. L. F. 1995. Levantamento florístico e caráter sucessional das espécies arbustivo-arbóreas de uma floresta mesófila semidecídua no município de Guarulhos, SP. *Revista Brasileira de Biologia* 55(4):753-767.
- GARWOOD, N. C. 1983. Seed germination in a seasonal tropical forest in Panama: a community study. *Ecological Monographs* 53(2):159-181.
- GARWOOD, N. C. 1986. Constraints on the timing of seed germination in a tropical forest. In: A. Estrada & T. H. Fleming (eds.). *Frugivores and seed dispersal*. Dr. W. Junk Publishers, Boston. Pp. 347-355.
- GARWOOD, N. C. 1996. Functional morphology of tropical tree seedlings. In: M. D. Swaine (ed.). *The ecology of tropical forest tree seedlings*. UNESCO/Parthenon, Paris. Pp. 59-129.
- GOOD, A. G. & CROSBY, W. L. 1989. Anaerobic induction of alanine aminotransferase in barley root tissue. *Plant Physiology* 90:1305-1309.
- GOOD, A. G. & MUENCH, D. G. 1993. Long-term anaerobic metabolism in root tissue. *Plant Physiology* 101:1163-1168.

- GRIME, J. P. 1979. Plant strategies and vegetation process. John Willey & Sons, New York.
- GRUBB, P. J. 1977. The maintenance of species-richness in plant communities: the importance of the regeneration niche. *Biol. Ver.* 52:107-145.
- GUGLIELMINETTI, L.; YAMAGUCHI, J.; PERATA, P. & ALPI, A. 1995a. Amylolytic activities in cereal seeds under aerobic and anaerobic conditions. *Plant Physiology* 109:1069-1076.
- GUGLIELMINETTI, L.; PERATA, P. & ALPI, A. 1995b. Effect of anoxia on carbohydrate metabolism in rice seedlings. *Plant Physiology* 108:735-741.
- HANHIJÄRVI, A. M. & FAGERSTEDT, K. V. 1995. Comparison of carbohydrate utilization and energy charge in the yellow flag iris (*Iris pseudoacorus*) and garden iris (*Iris germanica*) under anoxia. *Physiologia Plantarum* 93:493-497.
- HARPER, J. L.; WILLIAMS, J. T. & SAGAR, G. R. 1964. The behaviour of seeds in soil: I. the heterogeneity of soil surfaces and its role in determining the establishment of plants from seed. *Journal of Ecology* 53:273-286.
- HARRINGTON, C. A. 1987. Responses of red alder and black cottonwood seedlings to flooding. *Physiologia Plantarum* 69:35-48.
- HARTSHORN, G. S. 1978. Tree falls and tropical forest dynamics. In: P. B. Tomlinson & M. H. Zimmerman (eds.). *Tropical trees as living systems* Cambridge University Press, Cambridge. Pp. 613-678.
- HARTSHORN, G. S. 1980. Neotropical forest dynamics. *Biotropica*, 12(Supl.):23-30.
- HOOK, D. D. & CRAWFORD, R. M. M. 1978. *Plant life in anaerobic environments*. Ann Arbor Science Publishers, Ann Arbor.
- HOOK, D. D. & SCHOLTENS, J. R. 1978. Adaptation and flood-tolerance of tree species. In D. D. Hook & R. M. M. Crawford (eds.). *Plant life in anaerobic environments*. Ann Arbor Science Publishers, Ann Arbor. Pp.299-331.
- HOOK, D. D. 1984. Adaptations to flooding with fresh water. In T. T. Kozlowski (ed.). *Flooding and plant growth*. Academic Press, London. Pp.265-294.
- HOWE, H. F.; SCHUPP, E. W. & WESTLEY, L. C. 1985. Early consequences of seed dispersal for a neotropical tree (*Virola surinamensis*). *Ecology* 66(3):781-791.
- HUANG, B. & JOHNSON, J. W. 1995. Root respiration and carbohydrate status of two wheat genotypes in response to hypoxia. *Annals of Botany* 75:427-432.

- HUBBELL, S. P. 1980. Seed predation and the coexistence of tree species in tropical forests. *Oikos* 35:214-229.
- HUBBELL, S. P. & FOSTER, R. B. 1987. La estructura espacial en gran escala de un bosque neotropical. *Revista de Biología Tropical* 35 (Supl.1):7-22.
- HUENNEKE, L. F. & SHARITZ, R. R. 1990. Substrate heterogeneity and regeneration of a swamp tree, *Nyssa aquatica*. *American Journal of Botany* 77(3):413-419.
- JACKSON, M. B. 1985. Ethylene end responses of plants to soil waterlogging and submergence. *Annual Review of Plant Physiology* 36:145-174.
- JACKSON, M. B.; HERMAN, B. & GOODENOUGH, A. 1982. An examination of the importance of ethanol in causing injury to flooded plants. *Plant, Cell and Environment* 5:163-172.
- JACKSON, M. B. & KOWALESKA, A. K. B. 1983. Positive and negative messages from roots induce foliar desiccation and stomatal closure in flooded pea plants. *Journal of Experimental Botany* 34:493-506.
- JACKSON, M. B. & HALL, K. C. 1987. Early stomatal closure in waterlogged pea plants is mediated by abscisic acid in the absence of foliar water deficits. *Plant, Cell and Environment* 10:121-130.
- JACKSON, M. B.; DAVIES, D. D. & LAMBERS, H. 1991. *Plant life under oxygen deprivation: ecology, physiology and biochemistry*. Academic Publishing, The Hague.
- JENSEN, C. R.; LUXMOORE, R. J.; VAN GUNDY, S. D. & STOLZY, L. H. 1969. Root air space measurements by a pycnometer method. *Agronomy Journal* 61:474-475.
- JOLY, C. A. 1986. Heterogeneidade ambiental e diversidade de estratégias adaptativas de espécies arbóreas de mata de galeria. *Anais do X Simpósio da Academia de Ciências de São Paulo. Perspectivas de Ecologia Teórica*. Pp. 19-38.
- JOLY, C. A. 1991. Flooding tolerance in tropical trees. In: M. B. Jackson, D. D. Davies & H. Lambers (eds.). *Plant life under oxygen deprivation: ecology, physiology and biochemistry*. Academic Publishing, The Hague. Pp. 23-34.
- JOLY, C. A. 1994a. Biodiversity of the gallery forest and its role in soil stability in the Jacaré-Pepira water, state of São Paulo, Brazil. In: *Ecotones at the river basin scale-global land/water interactions: Proceedings of Ecotones Regional Workshop*, Barmera, South Australia, A. E. Jensen. Pp. 40-66.

- JOLY, C.A. 1994b. Flooding tolerance: a reinterpretation of Crawford's metabolic theory. *Proceedings of Royal Society of Edinburgh* 102B:343-354.
- JOLY, C. A. 1996. The role of oxygen diffusion to the root system on the flooding tolerance of tropical trees. *Revista Brasileira de Biologia* 56: 375-382.
- JOLY, C. A. & CRAWFORD, R. M. M. 1982. Variation in tolerance and metabolic responses to flooding in some tropical trees. *Journal of Experimental Botany* 33:799-809.
- JOLY, C. A. & CRAWFORD, R. M. M. 1983. Germination and some aspects of the metabolism of *Chorisia speciosa* St. Hil. seeds under anoxia. *Revista Brasileira de Botânica*. 6:85-90.
- JOLY, C. A. & BRÄNDLE, R. 1995. Fermentation and adenylate metabolism of *Hedychium coronarium* J. G. Koenig (Zingiberaceae) and *Acorus calamus* L. (Araceae) under hypoxia and anoxia. *Functional Ecology* 9:505-510.
- JONES, R. H.; SHARITZ, R. R.; DIXON, P. M.; SEGAL, D. S. & SCHNEIDER, R. L. 1994. Woody plant regeneration in four floodplain forests. *Ecological Monographs* 64(3):345-367.
- JORDAN, R. A. & HARTMAN, J. M. 1995. Safe sites and the regeneration of *Clethra alnifolia* L. (Clethraceae) in wetland forests of central New Jersey. *American Midland Naturalist* 133:112-123.
- JUSTIN, S. H. F. W. & ARMSTRONG, W. 1987. The anatomical characteristics of roots and plant response to soil flooding. *New Phytologist* 105:465-495.
- KAMALUDDIN, M. & GRACE, J. 1992. Photoinhibition and light acclimation in seedlings of *Bischofia javanica*, a tropical forest tree from Asia. *Annals of Botany* 69:47-52.
- KEELEY, J. E. 1978. Malic acid accumulation in roots in response to flooding: evidence contrary to its role as an alternative to ethanol. *Journal of Experimental Botany* 29(113):1345-1349.
- KENNEDY, R. A.; BARRETT, S. C. H.; VANDERZEE, D. & RUMPHO, M. E. 1980. Germination and seedling growth under anaerobic conditions in *Echinochloa crus-galli* (barnyard grass). *Plant, Cell and Environment* 3:243-248.
- KENNEDY, R. A.; RUMPHO, M. E. & VANDERZEE, D. 1983. Germination of *Echinochloa crus-galli* (Barnyard Grass) seeds under anaerobic conditions. *Plant Physiology* 72:787-794.

- KENNEDY, R. A.; RUMPHO, M. E. & FOX, T. C. 1987. Germination physiology of rice and rice weeds: metabolic adaptations to anoxia. In: R. M. M. Crawford (ed.). Plant life in aquatic and amphibious habitats. Blackwell Scientific Publications, Oxford. Pp. 193-203.
- KERMODE, A. R. 1995. Regulatory mechanisms in the transition from seed development to germination: interactions between the embryo and the seed environment. In: J. Kigel & B. Galili (eds.). Seed development and germination. Marcel Dekker, Inc., New York. Pp. 273-332.
- KITAGIMA, K. 1994. Relative importance of photosynthetic traits and allocation patterns as correlates of seedling shade tolerance of 13 tropical trees. *Oecologia* 98:419-428.
- KOLB, R. M. 1998. Respostas metabólicas e morfo-anatômicas de sementes e plantas de *Tabebuia cassinoides* (Lam) DC (Bignoniaceae) à hipoxia. Tese de mestrado. Instituto de Biologia, UNICAMP, Campinas, SP.
- KÖNINGER, M.; HARRIS, G. C.; VIRGO, A. & WINTER, K. 1995. Xanthophyll-cycle pigments and photosynthetic capacity in tropical forest species: a comparative field study on canopy, gap and understory plants. *Oecologia* 104:280-290.
- KORNING, J. & BALSLEV, H. 1994. Growth rates and mortality patterns of tropical lowland tree species and the relation to forest structure in Amazonian Ecuador. *Journal of Tropical Ecology* 10:151-166.
- KOZLOWSKI, 1984a. Flooding and plant growth. Academic Press, London.
- KOZLOWSKI, T. T. 1984b. Responses of woody plants to flooding. In: T. T. Kozlowski (ed.). Flooding and plant growth. Academic Press, London. Pp.129-163.
- KOZLOWKI, T. T. & PALLARDY, S. G. 1979. Stomatal response of *Fraxinus pennsylvanica* seedlings during and after flooding. *Physiologia Plantarum* 46:155-158.
- KOZLOWSKI, T. T. & PALLARDY, S. G. 1984. Effect of flooding on water, carbohydrate, and mineral relations. In: T. T. Kozlowski (ed.). Flooding and plant growth. Academic Press, London. Pp.165-194.
- KREBS, C. J. 1985. Ecology: the experimental analysis of distribution and abundance. Harper & Row, New York.
- KUBITZKI, K. & ZIBURSKI, A. 1994. Seed dispersal in flood plain forests of Amazonia. *Biotropica* 26(1):30-43.
- LAAN, P.; BERREVOETS, M. J.; LYTHER, S.; ARMSTRONG, W. & BLOM, C. W. P. M. 1989. Root morphology and aerenchyma formation as indicators of the flood-tolerance of *Rumex* species. *Journal of Ecology* 77:693-703.

- LAMBERS, H. & POORTER, H. 1992. Inherent variation in growth rate between higher plants: a search for physiological causes and ecological consequences. *Advances in Ecological Research* 23:187-261.
- LANGENHEIM, J. H.; OSMOND, C. B.; BROOKS, A. & FERRAR, P. J. 1984. Photosynthetic responses to light in seedlings of selected Amazonian and Australian rainforest tree species. *Oecologia* 63:215-224.
- LEBLOVA, S. 1978. Pyruvate conversions in higher plants during natural anaerobiosis. In: R. M. M. Crawford (ed.). *Plant life in aquatic and amphibious habitats*. Blackwell Scientific Publications, Oxford. Pp. 155-168.
- LEE, D. W. 1987. The spectral distribution of radiation in two neotropical rainforests. *Biotropica* 19(2):161-166.
- LEITÃO FILHO, H. de F. 1982. Aspectos taxonômicos das florestas do Estado de São Paulo. *Silvicultura em São Paulo* 16:197-206.
- LIEBERG, S. A. & JOLY, C. A. 1993. *Inga affinis* DC (Mimosaceae): germinação e tolerância de plântulas à submersão. *Revista Brasileira de Botânica* 16:175-179.
- LIEBERMAN, D. 1996. Demography of tropical tree seedlings: a review. In: M. D. Swaine (ed.). *The ecology of tropical forest tree seedlings*. UNESCO/Parthenon, Paris. Pp. 131-138.
- LOBO, P. C. 1993. Tolerância à inundação de plantas de *Talauma ovata* St Hill. e aspectos do seu comportamento em uma mata ciliar da Bacia do rio Jacaré-Pepira, Brotas, SP. Tese de mestrado, Instituto de Biologia, UNICAMP, Campinas, SP.
- LOBO, P. C. & JOLY, C.A. 1995. Mecanismos de tolerância à inundação de plantas de *Talauma ovata* St. Hil. (Magnoliaceae), uma espécie típica de matas de brejo. *Revista Brasileira de Botânica* 18:177-183.
- LOBO, P. C. & JOLY, C. A. 1996. Ecofisiologia da germinação de sementes de *Talauma ovata* St. Hil. (Magnoliaceae) uma espécie típica de matas de brejo. *Revista Brasileira de Botânica*. 19:35-40.
- LORENZI, H. 1992. *Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil*. Editora Plantarum Ltda, Nova Odessa.
- LOVELOCK, C. E.; JEBB, M. & OSMOND, C. B. 1994. Photoinhibition and recovery in tropical plant species: response to disturbance. *Oecologia* 97:297-307.

- MARQUES, M. C. M.; PIMENTA, J. A. & COLLI, S. 1992. Germinação de *Cedrela fissilis* Vell. e *Parapiptadenia rigida* (Benth) Bren. após pré-tratamento em condições hipóxicas e posterior estocagem a seco. Anais do 2o Congresso Nacional sobre Essências Nativas. Pp. 620-624.
- MARQUES, M. C. M.; PIMENTA, J. A. & COLLI, S. 1996. Aspectos do metabolismo e da morfologia de *Cedrela fissilis* Vell. e *Anadenanthera colubrina* (Vell.) Bren. submetidas a diferentes regimes hídricos. Arq. Biol. Tecnol. 39(2):385-392.
- MAYNE, R. G. & KENDE, H. 1986. Glucose metabolism in anaerobic rice seedlings. Plant Science 45:31-36.
- MENDELSSOHN, I. A. & MCKEE, K. L. 1987. Root metabolic response of *Spartina alterniflora* to hypoxia. In: R. M. M. Crawford (ed.). Plant life in aquatic and amphibious habitats. Blackwell Scientific Publications, Oxford. Pp. 239-253.
- MENEGUS, F.; CATTARUZZA, L.; CHERSI, A. & FRONZA, G. 1989. Differences in the anaerobic lactate-succinate production and in the changes of cell sap pH for plants with high and low resistance to anoxia. Plant Physiology 90:29-32.
- MENEGUS, F.; CATTARUZZA, L.; MATTANA, M.; BEFFAGNA, N. & RAGG, E. 1991. Response to anoxia in rice and wheat seedlings. Plant Physiology 95:760-767.
- MENEGUS, F.; CATTARUZZA, L.; & RAGG, E. 1992. Effects of oxygen level on metabolism and development of seedlings of *Trapa natans* and two ecologically related species. Physiologia Plantarum 86:168-172.
- MERTENS, E.; LARONDELLE, Y. & HERS, H-G. 1990. Induction of pyrophosphate: fructose 6-phosphate 1-phosphotransferase by anoxia in rice seedlings. Plant Physiology 93:584-587.
- MINGGUANG, L.; LIEBERMAN, M. & LIEBERMAN, D. 1996. Seedling demography in undisturbed tropical wet forest in Costa Rica. In: M. D. Swaine (ed.). The ecology of tropical forest tree seedlings. UNESCO/Parthenon, Paris. Pp. 285-314.
- MORELLATO, L. P. & LEITÃO FILHO, H. de F. 1995. Ecologia e preservação de uma floresta tropical urbana: Reserva de Santa Genebra. Editora da UNICAMP, Campinas.
- MORI, S. A. & BECKER, P. 1991. Flooding affects survival of Lecythidaceae in Terra Firme forest near Manaus, Brazil. Biotropica 23(1):87-90.
- MULKEY, S. S. & PEARCY, R. W. 1992. Interactions between acclimation and photoinhibition of photosynthesis of a tropical forest understory herb, *Alocasia macrorrhiza*, during simulated canopy gap formation. Functional Ecology 6:719-729.

- NEUMAN, D.S. & SMIT, B. A. 1991. The influence of leaf water status and ABA on leaf growth and stomata of *Phaseolus* seedlings with hypoxic roots. *Journal of Experimental Botany* 42:1499-1506.
- NEWSOME, R. D.; KOZLOWSKI, T. T. & TANG, Z. C. 1982. Responses of *Ulmus americana* seedlings to flooding of soil. *Canadian Journal of Botany* 60:1688-1695.
- NG, F. S. P. 1978. Strategies of establishment in Malayan forest trees. In: P. B. Tomlinson & M. H. Zimmerman (eds.). *Tropical trees as living systems* Cambridge University Press, Cambridge. Pp. 129-162.
- OKAMOTO, J. M. 1995. Germinação e alguns aspectos do metabolismo de sementes de *Sesbania virgata* (Cav.) Pers. (Fabaceae). Monografia de conclusão de curso, Centro de Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Londrina, Londrina – PR.
- OKAMOTO, J. M. 1998. Ecofisiologia da germinação e do metabolismo respiratório de quatro espécies do gênero *Inga* Mill. (Mimosaceae) submetidas à hipoxia e anoxia. Tese de mestrado, Instituto de Biologia, UNICAMP, Campinas, SP.
- OSUNKJOYA, O. O.; ASH, J. E.; HOPKINS, M. S. & GRAHAM, A. W. 1992. Factors affecting survival of tree seedlings in North Queensland rainforests. *Oecologia* 91:569-578.
- PERATA, P.; ALPI, A. & LoSCHIAVO, F. 1986. Influence of ethanol on plant cells and tissues. *Journal of Plant Physiology* 126:181-188.
- PERATA, P. & ALPI, A. 1991. Ethanol-induced injuries to carrot cells: the role of acetaldehyde. *Plant Physiology* 95:748-752.
- PERATA, P.; POZUETA-ROMERO, J.; AKASAWA, T. & YAMAGUCHI, J. 1992. Effect of anoxia on starch breakdown in rice and wheat seeds. *Planta* 188:611-618.
- PERATA, P.; GUGLIELMINETTI, L. & ALPI, A. 1997. Mobilization of endosperm reserves in cereal seeds under anoxia. *Annals of Botany* 79(Suppl. A):49-56.
- PEREIRA, J. S. & KOZLOWSKI, T. T. 1977. Variations among woody angiosperms in response to flooding. *Physiologia Plantarum* 41:184-192.
- PEZESHKI, S. R. 1993. Differences in patterns of photosynthetic responses to hypoxia in flood-tolerant and flood-sensitive tree species. *Photosynthetica* 28:423-430.
- PEZESHKI, S. R. & CHAMBERS, J. L. 1986. Variation in flood-induced stomatal and photosynthetic responses of three bottomland tree species. *Forest Science* 32:914-923.

- PFISTER-SIEBER, M. & BRÄNDLE, R. 1994. Aspects of plant behaviour under anoxia and post-anoxia. *Proceedings of the Royal Society of Edinburgh* 102B:313-324.
- PIMENTA, J. A.; MEDRI, M. E.; BIANCHINI, E.; MUELLER, C.; OKAMOTO, J. M.; FRANCISCONI, L. M. J. & CORREA, G. 1996. Aspectos da morfoanatomia e fisiologia de *Jacaranda puberula* Cham. (Bignoniaceae) em condições de hipoxia. *Revista Brasileira de Botânica* 19(2):215-220.
- PLAXTON, W. C. 1996. The organization and regulation of plant glycolysis. *Annual Review of Plant Physiology and Molecular Biology* 47:185-214.
- PONNAMPERUMA, F. N. 1984. Effects of flooding on soils. In: T. T. Kozlowski (ed.). *Flooding and plant growth*. Academic Press, London. Pp. 10-46.
- PRADET, A. & BOMSEL, J. L. 1978. Energy metabolism in plants under hypoxia and anoxia. In: D. D. Hook & R. M. M. Crawford (eds.). *Plant life in anaerobic environments*. Ann Arbor Science Publishers, Ann Arbor. Pp. 89-118.
- RAMOS, C. & KAUFMANN, M. R. 1979. Hydraulic resistance of rough lemon roots. *Physiologia Plantarum* 45:311-314.
- RATCLIFFE, R. G. 1995. Metabolic aspects of the anoxic response in plant tissue. In: N. Smirnov (ed.). *Environment and plant metabolism and acclimation*. BIOS Scientific Publishers, Oxford. Pp. 111-127.
- RAYMOND, P. & PRADET, A. 1980. Stabilization of adenine nucleotide ratios at various values by an oxygen limitation of respiration in germinating lettuce (*Lactuca sativa*) seeds. *Biochemistry Journal* 190:39-44.
- RAYMOND, P.; AL-ANI, A. & PRADET, A. 1985. ATP production by respiration and fermentation, and energy charge during aerobiosis and anaerobiosis in twelve fatty and starchy germinating seeds. *Plant Physiology* 79:879-884.
- REGEHR, D. L.; BAZZAZ, F. A. & BOGGESS, W. R. 1975. Photosynthesis, transpiration and leaf conductance of *Populus deltoides* in relation to flooding and drought. *Photosynthetica* 9:52-61.
- REID, D. M. & BRADFORD, K. J. 1984. Effects of flooding, on water, carbohydrate, and mineral relations. In: T. T. Kozlowski (ed.). *Flooding and plant growth*. Academic Press, London. Pp. 195-219.
- RICARD, B.; COUÉE, I.; RAYMOND, P.; SAGLIO, P. H.; SAINT-GES, V. & PRADET, A. 1994. Plant metabolism under hypoxia and anoxia. *Plant Physiology* 32(1):1-10.

- RIVOAL, J. & HANSON, A. D. 1993. Evidence for a large and sustained glycolytic flux to lactate in anoxic roots of some members of the halophytic genus *Limonium*. *Plant Physiology* 101:553-560.
- RIVOAL, J. & HANSON, A. D. 1994. Metabolic control of anaerobic glycolysis. *Plant Physiology* 106:1179-1185.
- ROBERTS, J. K. M.; CHANG, K.; WEBSTER, C.; CALLIS, J. & WALBOT, V. 1984. Dependence of ethanolic fermentation, cytoplasmic pH regulation, and viability on the activity of alcohol dehydrogenase in hypoxic maize tips. *Plant Physiology* 89:1275-1278.
- ROBERTS, J. K. M.; ANDRADE, H. F. & ANDERSON, I. C. 1985. Further evidence that cytoplasmic acidosis is a determinant of flooding intolerance in plants. *Plant Physiology* 77:492-494.
- ROBERTS, J. K. M.; HOOKS, M. A.; MIAULLIS, A. P.; EDWARDS, S. & WEBSTER, C. 1992. Contribution of malate and amino acid metabolism to cytoplasmic pH regulation in hypoxic maize root tips studied using nuclear magnetic resonance spectroscopy. *Plant Physiology* 98:480-487.
- RODRIGUES, R. R. 1989. Análise estrutural das formações florestais ripárias. In *Anais do Simpósio sobre Mata Ciliar*. Fundação Cargil. p. 99-119.
- RUMPHO, M. E. & KENNEDY, R. A. 1981. Anaerobic metabolism in germinating seeds of *Echinochloa crus-galli* (Barnyard grass). *Plant Physiology* 68:165-168.
- RUMPHO, M. E. & KENNEDY, R. A. 1983. Anaerobiosis in *Echinochloa crus-galli* (Barnyard grass) seedlings: intermediary metabolism and ethanol tolerance. *Plant Physiology* 72:44-49.
- RUNKLE, J. R. 1989. Synchrony of regeneration, gaps, and latitudinal differences in tree species diversity. *Ecology* 70(3):546-547.
- SACHS, M. M.; SUBBAIAH, C. C. & SAAB, I. N. 1996. Anaerobic gene expression and flooding tolerance in maize. *Journal of Experimental Botany* 47(294):1-15.
- SAGLIO, P. H.; DREW, M. C. & PRADET, A. 1988. Metabolic acclimation to anoxia induced by low (2-4 KPa) partial pressure oxygen pretreatment (hypoxia) in root tips of *Zea mays*. *Plant Physiology* 86:61-66.
- SALVADOR, J. L. G. 1987. Considerações sobre as matas ciliares e a implantação de reflorestamentos mistos nas margens de rios e reservatórios. CESP, São Paulo, Série de divulgação e informação, 105, 29p.

- SAINT-GES, V.; ROBY, C.; BLIGNY, R.; PRADET, A. & DOUCE, R. 1991. Kinetic studies of the variations of cytoplasmic pH, nucleotide triphosphates (³¹P-NMR) and lactate during normoxic and anoxic transitions in maize root tips. *European Journal of Biochemistry* 200:477-482.
- SCARANO, F. R. & CRAWFORD, R. M. M. 1992. Ontogeny and the concept of anoxia-tolerance: the case of the Amazonian leguminous tree *Parkia pendula*. *Journal of Tropical Ecology* 8:349-352.
- SCARANO, F. R.; RIBEIRO, K. T.; MORAES, L. F. de & LIMA, H. C. 1997. Plant establishment on flooded and unflooded patches of a freshwater swamp forest in southeastern Brazil. *Journal of Tropical Ecology* 14:793-803.
- SCHIAVINI, I. 1992. Estrutura das comunidades arbóreas de mata de galeria da Estação Ecológica do Panga (Uberlândia, MG.). Tese de Doutorado, Instituto de Biologia, UNICAMP, Campinas, São Paulo.
- SCHUPP, E. W. 1988. Seed and early seedling predation in the forest understory and in treefall gaps. *Oikos* 51:71-78.
- SCHUPP, E. W. 1995. Seed-seedling conflicts, habitat choice, and patterns of plant recruitment. *American Journal of Botany* 82:399-409.
- SCHUPP, E. W.; HOWE, H. F.; AUGSPURGER, C. K. & LEVEY, D. J. 1989. Arrival and survival in tropical treefall gaps. *Ecology* 70(3):562-564.
- SENA GOMES, A. R. & KOZLOWSKI, T. T. 1980. Growth response and adaptation of *Fraxinus pennsylvanica* seedlings to flooding. *Plant Physiology* 66:267-271.
- SETTER, T. L.; WATERS, I.; GREENWAY, H.; ATWELL, B. J. & KUPKANCHANAKUL, T. 1987. Carbohydrate status of terrestrial plants during flooding. In: R. M. M. Crawford (ed.). *Plant life in aquatic and amphibious habitats*. Blackwell Scientific Publications, Oxford. Pp. 411-433.
- SILVA, S. M.; MARQUES, M. C. M. & SALINO, A. 1994. Fitossociologia de um trecho de mata ciliar da Bacia do rio Jacaré-Pepira, no município de Brotas, SP. Resumos do XLV Congresso Nacional de Botânica, Universidade do Vale do Rio dos Sinos, São Leopoldo, RS. p. 50.
- SMALL, J. G. C.; POTGIETER, G. P. & BOTHA, F. C. 1989. Anoxic seed germination of *Erythrina caffra*: ethanol fermentation and response to metabolic inhibitors. *Journal of Experimental Botany* 40:375-381.
- SMITH, A. M. & REES, T. 1979. Pathways of carbohydrate fermentation in the roots of marsh plants. *Planta* 146:327-334.

- STEEGE, H. ter ; JETTEN, V. G.; POLAK, A. M. & WERGER, M. J. A. 1993. Tropical rain forest types and soil factors in a watershed area in Guyana. *Journal of Vegetation Science* 4:705-716.
- STEEGE, H. ter. 1994. Flooding and drought tolerance in seeds and seedlings of two *Mora* species segregated along a soil hydrological gradient in the tropical rain forest of Guyana. *Oecologia* 100:356-367.
- STRENG, D. R.; GLITZENSTEIN, J. S. & HARCOTBE, P. A. 1989. Woody seedling dynamics in an east Texas floodplain forest. *Ecological Monographs* 59(2):177-204.
- SUMMERS, J. E. & JACKSON, M. B. 1994. Anaerobic conditions strongly promote extension by stems of overwintering tubers of *Potamogeton pectinatus* L. *Journal of Experimental Botany* 45(278):1309-1318.
- SWAINE, M. D. 1996. The ecology of tropical forest tree seedlings. UNESCO/Parthenon, Paris.
- SWAINE, M. D.; LIEBERMAN, D. & PUTZ, F. E. 1987. The dynamics of tree populations in tropical forest : a review. *Journal of Tropical Ecology* 3:359-366.
- SWAINE, M. D. & LIEBERMAN, D. 1987. Note on the calculation of mortality rates. *Journal of Tropical Ecology* 3:ii-iii.
- TAIZ, L. 1986. Are biosynthetic reactions in plant cells thermodynamically coupled to glycolysis and the tonoplast proton motive force? *Journal of Theoretical Biology* 123:231-238.
- TANG, Z. C. & KOZLOWSKI, T. T. 1982. Some physiological and growth responses of *Betula papyrifera* seedlings to flooding. *Physiologia Plantarum* 55:425-420.
- TURNER, I. M. 1990. Tree seedling growth and survival in a Malaysian rain forest. *Biotropica* 22(2):146-154.
- UHL, C.; CLARK, K.; DEZZEO, N. & MAQUIRINO, P. 1988. Vegetation dynamics in Amazonian treefall gaps. *Ecology* 69(3):751-763.
- Van KOOTEN, O. & SNEL, J. F. H. 1990. The use of fluorescence nomenclature in plant stress physiology. *Photosynthesis Research* 25:147-150.
- VANDERZEE, D. & KENNEDY, R. A. 1981. Germination and seedling growth in *Echinochloa crus-galli* var. *oryzicola* under anoxic conditions: structural aspects. *American Journal of Botany* 68(9):1269-1277.
- VARTAPETIAN, B. B. & JACKSON, M. B. 1997. Plant adaptations to anaerobic stress. *Annals of Botany* 79(Suppl. A):3-20.

- VÁZQUEZ-YANES, C. & OROZCO-SEGOVIA, A. 1984. Ecophysiology of seed germination in the tropical humid forests of the world: a review. In: . In: E. Medina, H. A. Mooney & C. Vázquez-Yanes (eds.). Physiological ecology of plant of the wet tropics Dr. W. Junk Publishers, The Hague. Pp. 37-50.
- VÁZQUEZ-YANES, C. & OROZCO-SEGOVIA, A. 1993. Patterns of seed longevity and germination in the tropical rainforest. *Annual Review of Ecology and Systematics* 24:69-87.
- XIA, J-H. & SAGLIO, P. H. 1992. Lactic acid efflux as a mechanism of hypoxic acclimation of maize root tips to anoxia. *Plant Physiology* 100:40-46.
- XIA, J-H. & ROBERTS, K. M. 1994. Improved cytoplasmic pH regulation, increased lactate efflux, and reduced cytoplasmic lactate levels are biochemical traits expressed in root tips of whole maize seedlings acclimated to a low-oxygen environment. *Plant Physiology* 105:651-657.
- XIA, J-H.; SAGLIO, P. & ROBERTS, K. M. 1995. Nucleotide levels do not critically determine survival of maize root tips acclimated to a low-oxygen environment. *Plant Physiology* 108:589-595.
- WHITTAKER, R. J. & TURNER, B. D. 1994. Dispersal, fruit utilization and seed predation of *Dysoxylum gaudichaudianum* in early successional rainforest, Krakatau, Indonesia. *Journal of Tropical Ecology* 10:167-181.
- ZAERR, J. B. 1983. Short-term flooding and net photosynthesis in seedlings of three conifers. *Forest Science* 29:71-78.
- ZAR, J. H. 1984. Biostatistical analysis. 2^a ed. Prentice Hall, New Jersey.
- ZIEGLER, P. 1995. Carbohydrate degradation during germination. In: J. Kigel & B. Galili (eds.). Seed development and germination. Marcel Dekker, Inc., New York. Pp. 447-474.