

INSTITUTO NACIONAL DE PESQUISAS DA AMAZÔNIA – INPA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DE FLORESTAS TROPICAIS  
CFT

**Assimilação de carbono, eficiência no uso da água, condutâncias estomática e do mesófilo, transporte de elétrons em árvores de dossel de *Dinizia excelsa* Ducke (Fabaceae, Mimosoideae).**

**MARCOS BENTO**

MANAUS, AMAZONAS  
Julho, 2011

**MARCOS BENTO**

**Assimilação de carbono, eficiência no uso da água, condutâncias estomática e do mesófilo, transporte de elétrons em árvores de dossel de *Dinizia excelsa* Ducke (Fabaceae, Mimosoideae).**

**ORIENTADOR: DR. RICARDO ANTONIO MARENCO**

Dissertação apresentada ao Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia – INPA, como parte dos requisitos para obtenção do Título de Mestre em Ciências de Florestais Tropicais.

MANAUS, AMAZONAS  
Julho, 2011

**MARCOS BENTO**

**Assimilação de carbono, eficiência no uso da água, condutâncias estomática e do mesófilo, transporte de elétrons em árvores de dossel de *Dinizia excelsa* Ducke (Fabaceae, Mimosoideae).**

Dissertação apresentada ao Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia – INPA, como parte dos requisitos para obtenção do Título de Mestre em Ciências de Florestais Tropicais.

**Banca Examinadora:**

**Profa. Dra. Maria Teresa Fernandez Piedade**  
**Membro**

**Prof. Dr. Jair Max Fortunato**  
**Membro**

**Prof. Dr. Carlos Eduardo Moura da Silva**  
**Membro**

**Prof. Dr. Ricardo Antonio Marengo Mendoza**  
**Presidente**

MANAUS, AMAZONAS  
Julho, 2011

**Fonte de financiamento:  
FAPEAM PIPT-1746/08,  
MCT/INPA (PRJ 05-127/141)**

B478      Bento, Marcos  
Assimilação de carbono, eficiência no uso da água, condutâncias estomática e do mesófilo, transporte de elétrons em árvores de dossel de *Dinizia excelsa* Ducke (Fabaceae, Mimosoideae) / Marcos Bento.---  
Manaus : [s.n.], 2012.  
xii, 46 f. : il.

Dissertação (mestrado) --- INPA, Manaus, 2012  
Orientador : Ricardo Antonio Marengo  
Área de concentração : Manejo Florestal e Silvicultura

1. Fotossíntese. 2. Angelim. 3. Fragmentos florestais – Amazônia Central. 4. Carboxilação. 5. Fisiologia vegetal. I. Título.

CDD 19. ed. 581.13342

#### Sinopse

Estudaram-se o efeito da luz e do CO<sub>2</sub> na taxa fotossintética, as condutâncias do mesófilo, estomática e eficiência do uso da água de árvores adultas de *Dinizia excelsa* e modos de se corrigir possíveis erros de medição de trocas gasosas por meio de analisador de gases de infravermelho.

Palavras-chave: fotossíntese, taxas de carboxilação, Amazônia Central.

Aos meus pais,  
Helenor Manoel Bento e Neiva Aparecida Bento

## Agradecimentos

A Deus em sua infinita misericórdia.

Aos meus pais, por sua compreensão e confiança. Aos meus irmãos, pelo amor e carinho.

Ao Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia – INPA, e em especial ao CFT, pela oportunidade.

À Coordenadoria de Aperfeiçoamento de Pessoal de Ensino Superior, CAPES, pela bolsa de estudos.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Amazonas, FAPEAM e ao Ministério de Ciência e Tecnologia, pelo financiamento dos equipamentos de campo.

Ao PDBFF e sua equipe, por permitirem que eu coletasse em suas reservas e usufrísse de suas instalações de campo.

Ao meu orientador Dr. Ricardo Marengo, pela confiança, prontidão e sabedoria.

À minha namorada Renata, que até me levou para o hospital, por seu amor.

Aos meus colegas de laboratório, Keila, Helena, Simone, Miguel, Gracilene, Nilvanda e Patrícia, pelo companheirismo e pelas inestimáveis ajudas.

Ao escalador Cunha, cuja celeridade é imprescindível a um trabalho de fisiologia com árvores de dossel.

Ao motorista Haroldo, que nos levava às ZFs e pacientemente me explicava como assar uma costela.

Aos amigos de turma do mestrado pelas conversas e amizade, Flávia, Granadeiro, Gazela, Canela, Robson, Jéssica, Kima, Hudson, Caíque, Dorete, Pedro e Rodrigo.

Aos inumeráveis amigos que fiz aqui em Manaus, Marciel, Cláudia, Mateus, Ingrid, Ademir, Priscila, Diska, Bentivi, Geisi, Larissa, Zeca, Rodrigo Tawada, Hada, Grisa, Pacato, Massoca, D2,

Mi, Dri, Tapioca, Giga, Flavinha, Baiana, Ciça, Aninha, Blind, Ana Eleutério, Carla Bantel entre outros.

Aos colegas de república, antigos e novos, Thaís, Juvenas, Gean, Grisa Mor, Shanninha, Grisa, Peter, Chico Mário, Daniel, Gilson e Reysi.

Aos amigos do INPA/CFT, todos aqueles que fizeram parte da trajetória de anos de mestrado, o meu muito obrigado.

E a todos que não foram citados e de alguma forma contribuíram para minha formação acadêmica.

## SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS .....	iix
RESUMO .....	xi
ABSTRACT .....	xii
1. INTRODUÇÃO .....	1
2. OBJETIVOS .....	5
2.1. Geral.....	5
2.2. Objetivos específicos .....	5
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....	6
3.1. Fotossíntese .....	6
3.2. Condutância estomática .....	6
3.3. Condutância do mesofilo .....	7
3.4. $V_{c-max}$ e $J_{max}$ .....	8
3.5. Vazamento na câmara foliar.....	8
3.6. Irradiância .....	9
3.7. Área foliar específica .....	10
3.8. Eficiência no uso da água.....	10
3.9. Fluorescência da clorofila .....	11
4. MATERIAL E MÉTODOS .....	12
4.1. Área de estudo .....	12
4.2. Espécie estudada.....	13
4.3. Variáveis estudadas .....	13
4.4. Cálculo da área foliar real dentro da câmara foliar .....	14
4.5. Validação do método .....	14
4.6. Condutância estomática, fotossíntese, $V_{c-max}$ e $J_{max}$ .....	16
4.7. Condutância do mesofilo .....	20
4.8. Determinação área foliar específica.....	21
4.9. Determinação dos teores de clorofila e eficiência no uso da água.....	21
4.10. Delineamento experimental e análise estatística .....	21
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	22
5.1. Ambiente físico da área do estudo.....	22
5.2. Ajuste do vazamento na câmara foliar.....	22
5.3. Taxas máxima de carboxilação ( $V_{c-max}$ ) e de regeneração da RuBP ( $J_{max}$ ), assimilação máxima de $CO_2$ sob saturação de luz ( $A_{max}$ ) e de $CO_2$ ( $A_{pot}$ ).....	24
5.4. Eficiência no uso da água.....	27
5.5. Parâmetros da curva de luz e da fluorescência da clorofila <i>a</i> .....	28
5.6. Efeito de $g_s$ e $g_m$ na capacidade fotossintética da planta.....	30
5.7. Características foliares.....	33
5.7.1 Área foliar específica .....	34
6. CONCLUSÃO .....	36
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	38



## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1: PDBFF - Localização das parcelas, o retângulo preto se refere à reserva Colosso..... 12
- Figura 2 – Condutância estomática ( $g_s$ ) de uma mesma planta e duas folhas diferentes em função do tempo (*Coussapoa orthoneura* Standley (Cecropiaceae)). Na folha 1 (círculos fechados (●)) o galho foi mantida intacto na árvore. Na folha 2 (círculo aberto (○)) o galho foi cortado após um período de estabilização de 20 minutos (seta vertical indicando o momento do corte). Pode-se observar que após 40 minutos de o galho ter sido cortado, a condutância dos estômatos continuava com pouca variação. Dados coletados numa torre de observação a 26 m de altura, nas Reserva ZF2 (02°35'21" S, 6006'53 W)..... 15
- Figura 3 Ilustração da taxa de fotossíntese ( $A$ ) em função da concentração de  $CO_2$  intercelular ( $C_i$ ) para *Dinizia excelsa*. A curva tracejada mostra à limitação da fotossíntese imposta pelo transporte de elétrons ( $A_j$ , calculada conforme a Equação 4). A linha continua indica a limitação da fotossíntese imposta pela carboxilação da Rubisco ( $A_c$ , calculada conforme a Equação 3). A seta vertical mostra o ponto em que a fotossíntese passa a ser limitada pelo transporte de elétrons.. ..... 18
- Figura 4 – Fotossíntese ( $A$ ) em função da concentração de  $CO_2$  dentro da câmara do IRGA em uma folha morta. A equação gerada para corrigir os dados de fotossíntese foi  $y = 1,1534 + 0,0022[CO_2]$ ..... 23
- Figura 5 - Taxa máxima de transporte de elétrons ( $J_{max}$ ) em função da velocidade máxima de carboxilação da Rubisco ( $V_{c-max}$ ) na posição superior (círculo aberto, ○) e inferior (círculo fechado, ●). Dados coletados em seis árvores de *Dinizia excelsa* na Amazônia Central \*\*: significativo a 1% de probabilidade. Valores de  $J_{max}$  e  $V_{c-max}$  calculados a 25 °C..... 26
- Figura 6 - Taxa de fotossíntese ( $A_{max}$  e  $A_{pot}$ ) em função da velocidade máxima de carboxilação da Rubisco ( $V_{c-max}$  – A, C) e taxa máxima de transporte de elétrons ( $J_{max}$  – B, D) na posição superior (círculo aberto, ○) e inferior (círculo fechado, ●). Dados coletados em seis árvores de *Dinizia excelsa* na Amazônia Central \*\*: significativo a 1% de probabilidade. Valores de  $J_{max}$  e  $V_{c-max}$  calculados a 25 °C. .... 27

Figura 7 - Relação entre fotossíntese (A) e radiação fotossinteticamente ativa (RFA) em folhas de posição superior (círculo aberto, ○) e inferior (círculo fechado, ●). Dados coletados em seis árvores de <i>Dinizia excelsa</i> na Amazônia Central. ....	29
Figura 8 Fotossíntese saturada por luz ( $A_{max}$ ), velocidade máxima de carboxilação da Rubisco ( $V_{c-max}$ ) e a taxa máxima de transporte de elétrons ( $J_{max}$ ) em função da condutância estomática ( $g_s$ – A,C e E) e condutância do mesofilo ( $g_m$ – B, D e F) em posição superior (círculo aberto, ○) e inferior (círculo fechado, ●). Dados coletados em seis árvores de <i>Dinizia excelsa</i> na Amazônia Central. Condições dentro da câmara foliar: irradiância de $1500 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ e $\text{CO}_2$ $380 \mu\text{mol mol}^{-1}$ , Valores de $J_{max}$ e $V_{c-max}$ calculados a $25 \text{ }^\circ\text{C}$ . **: significativo a 1% de probabilidade. ....	32
Figura 9 Relação entre espessura da folha, clorofila $a+b$ e área foliar específica (AFE) nas folhas de posição superior (círculo aberto, ○) e inferior (círculo fechado, ●). Dados coletados em seis árvores de <i>Dinizia excelsa</i> na Amazônia Central. ....	35
Figura 10 Relação entre espessura da folha e os valores do SPAD em folhas de posição superior (círculo aberto, ○) e inferior (círculo fechado, ●). Dados coletados em seis árvores de <i>Dinizia excelsa</i> na Amazônia Central. ....	36

## RESUMO

O objetivo deste trabalho foi estimar o vazamento da câmara foliar e analisar trocas gasosas foliares em dois pontos da copa (superior e inferior) em seis árvores de Angelim, *Dinizia excelsa*. As coletas foram realizadas no Distrito Agropecuário da Suframa (núcleos ZF-3) no segundo semestre de 2010, em árvores adultas emergentes (DAP > 1m) em fragmentos florestais (ZF-3). Os valores calculados para a taxa de transporte de elétrons e a velocidade carboxilação da Rubisco foram de 81,6 a 107,8  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  e 31,8 a 38,2  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , respectivamente. As duas posições da copa foram semelhantes estatisticamente para estas variáveis, o que sugere que a copa de *Dinizia excelsa* é homogeneamente iluminada. Também para os dois ambientes a principal limitação à fotossíntese foi a velocidade de carboxilação em  $[\text{CO}_2]$  ambiente e o transporte de elétrons em alta  $[\text{CO}_2]$ . Houve estreita relação entre  $A_{\text{max}}$  e  $g_s$  e  $g_m$  o que indica que as resistências dos estômatos e do mesofilo influenciaram a fotossíntese. As características foliares em posição superior e inferior da copa foram semelhantes, diferenciando-se apenas em espessura da folha e teor relativo de clorofila (valores do SPAD medidos em campo). Outros valores, como eficiência quântica máxima fotoquímica ( $F_v/F_m$ ), área foliar específica (AFE) e teores absolutos de clorofila foram estatisticamente iguais. Apesar de o erro devido ao vazamento na câmara foliar ter sido não significativo, sugere-se levar em consideração eventuais vazamentos da câmara foliar quando se determinam as taxas de fotossíntese.

**Palavras-chave:** Amazônia Central, características fotossintéticas, taxas de carboxilação.

## ABSTRACT

### **Carbon assimilation, water use efficiency, stomatal and mesophyll conductance and electron transport rate in canopy trees of *Dinizia excelsa* Ducke (Fabaceae, Mimosoideae).**

This work aimed to evaluate leaf chamber leakage and to determine leaf gas exchange at two positions (upper and lower branches) within the canopy of six angelim trees, *Dinizia excelsa*. Data collection was carried out at Distrito Agropecuário da Suframa (ZF-3) during the second semester of 2010, in adult, emergent trees (diameter at breast height, DAP > 1m). The electron transport rate and carboxylation velocity of Rubisco were 81.6 to 107.8  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  and 31.8 to 38.2  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , respectively. Regarding photosynthetic parameters, leaves in upper and lower branches were statistically similar, what suggests light homogeneity within *Dinizia excelsa*'s canopy. Maximum carboxylation velocity of Rubisco (at ambient  $[\text{CO}_2]$ ) and maximum electron transport rate (at high  $[\text{CO}_2]$ ) were the most important limitations to photosynthesis in both environments. There was a close correlation between  $A_{\text{max}}$  and  $g_s$  and  $g_m$ , what indicates that stomatal and mesophyll resistance influence photosynthesis. Leaf characteristics in upper and lower branches were largely similar, only diverging in leaf thickness and chlorophyll relative value (SPAD values measured in the field). Other leaf traits, like maximum quantum photochemical efficiency ( $F_v/F_m$ ), specific leaf area (SLA) and absolute chlorophyll content were statistically identical. Although leaf chamber leakage was not significant, it should be recommended to take into consideration eventual gas leaking during photosynthetic measurements.

**Keywords:** photosynthetic characteristics, carboxylation rate, Central Amazonia.

## 1. INTRODUÇÃO

A vegetação e o clima coexistem num equilíbrio dinâmico, que pode ser alterado por perturbações diversas como desflorestamento, agricultura, pecuária extensiva, urbanização, emissão de combustíveis fósseis e outras emissões químicas que modificam a atmosfera enriquecendo-a com os gases do efeito estufa (Körner, 2003). Dentre estes gases, a principal mudança ocorre na concentração do CO<sub>2</sub>.

A Amazônia brasileira abriga um terço das florestas tropicais do mundo e desempenha função importante tanto na manutenção dos ciclos hidrológicos (Veríssimo e Amaral, 1996) como no balanço global do carbono (Falkowski *et al.*, 2000). No entanto, não há um consenso sobre o verdadeiro papel das florestas no que se refere ao balanço global da concentração de dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) da atmosfera. Um dos itens deste balanço, a fixação de CO<sub>2</sub> via fotossíntese, do qual a Amazônia é um ator importante, é um processo que atenua o impacto do carbono na atmosfera. A fotossíntese, ao converter o CO<sub>2</sub> da atmosfera em carbono orgânico, liga diretamente a biosfera com a atmosfera, e também liga o funcionamento das plantas (e de sistemas agrícolas ou de ecossistemas) com as mudanças globais. Desta forma, o aumento da concentração de CO<sub>2</sub> pode estimular a taxa de fotossíntese e aumentar a produtividade dos sistemas agrícolas e naturais (Griffin e Seemann, 1996), tornando-os capazes de incorporar mais carbono, ou, ao menos, compensar os efeitos deletérios de temperaturas mais altas e secas mais frequentes e intensas, como o aumento da fotorrespiração (Lloyd e Farquhar, 2008).

Nas últimas décadas o efeito do aumento da concentração de CO<sub>2</sub> na fisiologia das plantas tem sido estudado intensivamente. Sabe-se que a [CO<sub>2</sub>] na atmosfera (em torno de 380 μmol mol<sup>-1</sup>) está bem abaixo da saturação para a maioria das plantas. O aumento na concentração de CO<sub>2</sub>, geralmente, promove maior produtividade biológica, ou seja, aumento na taxa fotossintética das plantas. O aumento na taxa fotossintética está relacionado ao declínio da fotorrespiração que ocorre quando há um aumento na relação CO<sub>2</sub>/O<sub>2</sub> no cloroplasto. Sob baixas concentrações de CO<sub>2</sub> a fotossíntese é limitada pela capacidade de carboxilação da ribulose 1,5-bisfosfato carboxilase-oxigenase (Rubisco), enquanto que em concentrações elevadas, a fotossíntese é limitada pela capacidade do ciclo de Calvin de regenerar a molécula aceptora ribulose 1,5-bisfosfato (RuBP), que depende da taxa de transporte de elétrons. Neste contexto os estômatos

desempenham função significativa, sendo a primeira resistência a ser vencida na folha pela difusão de  $\text{CO}_2$  da atmosfera para os sítios de carboxilação no cloroplasto.

Sob esta óptica, faz-se mister entender os processos responsáveis pela captação do  $\text{CO}_2$  atmosférico e sua fixação como matéria orgânica, bem como os processos responsáveis pelo acúmulo de biomassa nas plantas, um estoque relativamente estável de carbono.

O complexo enzimático da Rubisco, de 16 subunidades, tem como substratos o  $\text{CO}_2$ , que entra pelos estômatos da planta e o açúcar fosforilado RuBP. Incorporando o carbono do  $\text{CO}_2$  e formando ácidos orgânicos de três carbonos, a rota metabólica que se segue formará sacarose, que posteriormente poderá seguir três caminhos principais: 1) participar do processo respiratório, 2) ser armazenada (principalmente como amido) ou 3) formar os tecidos da planta, sendo incorporada principalmente nos polissacarídeos da parede celular.

A Rubisco, primeiro passo na assimilação do gás carbônico pelas plantas, sofre regulação altamente complexa e sofisticada, uma vez que este passo influenciará todo o metabolismo, desenvolvimento e crescimento vegetal (Marenco e Lopes, 2009).

Com base no modelo bioquímico de fotossíntese  $\text{C}_3$  ao nível foliar, a taxa de assimilação pode ser limitada por três fatores: 1) a quantidade e/ou o estado de ativação da Rubisco, 2) a regeneração da Ribulose 1,5-bisfosfato (RuBP, acceptor primário do  $\text{CO}_2$ ) ou 3) a capacidade do cloroplasto em trocar trioses fosfato/ $\text{P}_i$  (fosfato inorgânico) com o citoplasma (Caemmerer, 2000; Farquhar *et al.*, 1980).

Como a enzima Rubisco possui baixa afinidade (alto  $K_m$ ) pelo  $\text{CO}_2$ , as baixas concentrações de  $\text{CO}_2$  atuais tanto limitam sua atividade (Drake *et al.* 1997; Bowes 1991; Stitt 1991; Yeoh *et al.*, 1981) como favorecem sua função oxigenase (Drake *et al.*, 1997; Bowes, 1991; Stitt, 1991), espera-se que, se a fotossíntese estiver limitada pela Rubisco, um aumento da concentração atmosférica de  $\text{CO}_2$  para 700 ppm aumente a taxa de assimilação para em torno de 78% a 25°C (Stitt, 1991). Se a fotossíntese estiver limitada pela regeneração de seu substrato (RuBP) esta deve se beneficiar apenas do deslocamento da reação de oxigenação e, portanto, com o mesmo aumento na concentração atmosférica de  $\text{CO}_2$  deve aumentar apenas em torno de 27% a 25°C (Stitt, 1991). Se a fotossíntese estiver limitada pela troca de trioses fosfato/ $\text{P}_i$  com o citoplasma, esta não deve aumentar com o incremento na concentração de  $\text{CO}_2$  atmosférica (Stitt, 1991).

Dentre os fatores que afetam a fotossíntese, a condutância estomática ( $g_s$ ) está entre os mais estudados (Kumar *et al.*, 1999; Park e Furukawa, 1999). A condutância do mesófilo ( $g_m$ ) também afeta a capacidade fotossintética da folha, porém, tem recebido menos atenção. Estudos recentes relatam a importância do efeito da condutância do mesófilo nas trocas gasosas (Flexas *et al.*, 2007b; Warren, 2008a). Entretanto, há poucos estudos sobre como  $g_m$  varia em espécies tropicais, particularmente da Amazônia. A condutância do mesófilo ( $g_m$ ) pode ser afetada por algumas variáveis ambientais e podem mudar rapidamente, por exemplo, em resposta a temperatura foliar (Bernacchi *et al.*, 2002), estresse hídrico ou salino  $CO_2$  (Flexas *et al.*, 2004). Fatores bioquímicos tais como a atividade da anidrase carbônica ou a condutância das aquaporinas são provavelmente responsáveis por essas mudanças rápidas (Warren, 2008b). Dessa forma  $g_m$  pode limitar de maneira significativa a fotossíntese (Evans *et al.* 1986; Di Marco *et al.*, 1990; Harley *et al.*, 1992). As fortes variações na anatomia foliar (p.ex. espessura foliar), devido a fatores ambientais (irradiância) ou genéticos, estão associadas por um efeito significativo da transferência de  $CO_2$  (condutância do mesófilo), daí a importância deste parâmetro nas trocas gasosas (Hanba *et al.*, 1999).

Praticamente todos os modelos climáticos, mais recentes (SiB2, IbiS, CLM), utilizam dados da velocidade máxima de carboxilação da Rubisco ( $V_{c-max}$ ) e as taxas máximas de transporte de elétrons ( $J_{max}$ ) calculados com base nas equações de Farquhar *et al.* (1980). Entretanto, grande parte dos dados de  $V_{c-max}$  e  $J_{max}$ , são provenientes de estudos realizados a partir das concentrações de  $CO_2$  nos espaços intercelulares ( $C_i$ ). No entanto, estudos recentes indicam que a concentração de  $CO_2$  encontrada dentro do sítio de carboxilação (nos cloroplastos -  $C_c$ ) é menor do que a encontrada nos espaços intercelulares ( $C_i$ ), nas espécies até hoje estudadas (Harley *et al.*, 1992; Lloyd *et al.*, 1992; Warren *et al.*, 2003). Desse modo, os modelos climáticos poderão prognosticar com maior precisão o comportamento fotossintético da Floresta Amazônica quando os dados de  $V_{c-max}$  e  $J_{max}$  forem utilizados com base nas concentrações de  $CO_2$  dentro dos cloroplastos ( $C_c$ ).

Na Amazônia Central pouco se sabe sobre o potencial efeito da alta concentração de  $CO_2$  na assimilação de carbono de espécies de árvores de dossel da floresta e a dinâmica das espécies arbóreas diante de mudanças bruscas no regime de luz durante o seu desenvolvimento. A luz é provavelmente, o fator ambiental mais importante que afeta o estabelecimento, o crescimento e a sobrevivência das plantas (Poorter, 2001). Os vários estratos encontrados nas florestas tropicais,

bem como os distúrbios provocados pela abertura e fechamento de clareiras, ocasionam a formação de vários gradientes de luminosidade, os quais impõem o desenvolvimento de diferentes estratégias para a captação e otimização deste recurso (Corrêa, 2004), como variações na estrutura foliar (Vogelmann *et al.*, 1996; Givnish, 1988), haja vista ser este o órgão da planta aquele que mais responde anatomicamente às variações lumínicas de um determinado habitat (Dickison, 2000).

Dessa forma variações no regime luminoso durante o crescimento normalmente levam a diferenças nas taxas de fotossíntese, em razão das diferenças na velocidade máxima de carboxilação da Rubisco ( $V_{c-max}$ ) e na taxa máxima de regeneração da ribulose bisfosfato, RuBP ( $J_{max}$ ), dependente do transporte de elétrons e nas taxas de difusão de  $CO_2$  para os cloroplastos (Bjorkman, 1981).

A resposta da fotossíntese à irradiância é comumente descrita por uma hipérbole não retangular. Essa equação inclui os parâmetros teta ( $\Theta$ ) e fi ( $\Phi$ ), em que teta ( $\Theta$ ) representa a convexidade da curva e fi ( $\Phi$ ) o rendimento quântico máximo (Ögren, 1993). Em condições naturais, a fotossíntese é geralmente limitada pela luz, por isso  $\Phi$  é um parâmetro importante. Em plantas  $C_3$  em  $[CO_2]$  ambiente,  $\Phi$  é uma função da  $[CO_2]$  nos espaços intercelulares ( $C_i$ ) e pode ser diminuído pela alta irradiância devido à fotoinibição. Em alta irradiância, as folhas absorvem mais energia radiante do que a capacidade de processamento do aparato fotossintético, podendo o excesso de energia radiante levar a fotoinibição da fotossíntese, ou seja, redução nos valores de  $\Phi$  (Choudhury e Behera, 2001; Demmig-Adams e Adams, 2006). Além da irradiância excessiva, estresse hídrico e aumentos na temperatura (aumento na fotorrespiração) podem também levar a decréscimos em  $\Phi$ . No grupo de plantas tolerantes, as estratégias de aclimação à alta irradiância variam entre espécies e até entre ecótipos de uma mesma espécie (Bjorkman, 1981).

Nas últimas décadas muitos estudos foram realizados sobre a condutância estomática ( $g_s$ ) e seus efeitos na fotossíntese, entretanto a estimativa dos erros causados pelo vazamento na câmara foliar tem recebido pouca atenção (Long e Bernacchi, 2003). Neste contexto o estudo da condutância do mesofilo e dos erros nos valores da assimilação de  $CO_2$  em espécies da Amazônia é fundamental para que os valores medidos das taxas fotossintéticas sejam confiáveis, para  $V_{c-max}$  e  $J_{max}$  poderem ser incorporados em estudos de modelagem. Assim sendo, o objetivo deste trabalho foi determinar assimilação de carbono, condutância estomática e do mesofilo, transporte de elétrons e atividade da Rubisco em árvores de dossel de angelim pedra (*Dinizia excelsa*



Ducke) na Amazônia Central, em duas alturas da copa. Examinaram-se também as estimativas dos erros causados pelo vazamento na câmara foliar.

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1. Geral**

Determinar fotossíntese potencial ( $A_{\max}$ ), condutância estomática ( $g_s$ ), condutância do mesofilo ( $g_m$ ), velocidade máxima de carboxilação ( $V_{c-\max}$ ), e eficiência do uso da água em folhas em duas posições (superior e inferior) da copa em árvores de dossel de *Dinizia excelsa* Ducke na Amazônia Central.

### **2.2. Objetivos específicos**

- ✓ Quantificar a fotossíntese em duas posições da copa;
- ✓ Quantificar as condutâncias (estomática e do mesofilo) em duas posições da copa;
- ✓ Quantificar o transporte de elétrons e atividade da Rubisco em duas posições da copa;
- ✓ Quantificar a eficiência do uso da água (A/E) em duas posições da copa;
- ✓ Estimar os erros causados pelo vazamento na câmara foliar

### 3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

#### 3.1. Fotossíntese

A fotossíntese é um dos processos fisiológicos fundamentais nos aspectos referentes ao crescimento da árvore (Dixon *et al.*, 1990), sendo utilizada como ferramenta para indicar condições de estresses causadas pelo ambiente e na seleção de condições de crescimento apropriadas para cada espécie (Pastenes *et al.*, 2003; Lin e Hsu, 2004). Os ganhos de biomassa e portanto o crescimento da planta, estão fortemente relacionado à atividade fotossintética (Kruger e Volin, 2006), embora em vários estudos tenha sido relatada uma baixa correlação entre fotossíntese e os ganhos de biomassa (Gifford e Evans, 1981). Com isso o crescimento de uma planta poderá ser afetado quando a capacidade fotossintética for limitada por fatores ambientais.

Outro processo de importância fisiológica é a transpiração que está intimamente relacionada à fotossíntese, via o funcionamento dos estômatos. Esta relação é possível porque ao mesmo tempo em que os estômatos oferecem resistência à difusão da água da folha para a atmosfera, o fechamento dos estômatos constitui uma barreira para a aquisição de CO<sub>2</sub>. Desse modo, reduções na condutância estomática com o objetivo de diminuir a perda de água também reduzem as taxas fotossintéticas (Percy e Pftisch, 1991) afetando indiretamente os ganhos de biomassa. Outros fatores, internos e externos também influenciam de forma significativa a assimilação de carbono. Como fatores internos destacam-se a idade da folha, a concentração de clorofila, o transporte de fotoassimilados, etc. Como fatores externos podem ser citados a luz, a temperatura, a disponibilidade de água e nutrientes e a concentração de CO<sub>2</sub> (Salisbury e Ross, 1992).

#### 3.2. Condutância estomática

Os estômatos são constituídos por duas células-guarda. Os poros estomáticos são situados entre duas células especializadas, as células-guarda, que controlam a abertura e fechamento dos estômatos. Os estômatos são regulados por estímulos que maximizam a absorção de CO<sub>2</sub> e minimizam as perdas de vapor de água pela transpiração, num processo de interação de diversos fatores endógenos e exógenos. Altas taxas de radiação solar e altas temperaturas podem levar ao fechamento rápido dos estômatos. Baixas concentrações de CO<sub>2</sub> na câmara subestomática da

folha provocam a abertura dos estômatos, o fechamento é estimulado por alta concentração de  $\text{CO}_2$ . Quando o potencial hídrico foliar diminui, os estômatos fecham-se, sendo este efeito preponderante sob os demais fatores do meio, mesmo em condições ótimas de luz, temperatura e  $\text{CO}_2$ . O movimento estomático é baseado na turgescência das células-guarda. Os estômatos permanecem abertos em folhas com baixo nível de estresse hídrico e se fecham com um moderado ou severo déficit de estresse hídrico. Os estômatos poderão abrir-se quando for restituído o fluxo de água da folha e superado o estresse hídrico (Marenco e Lopes, 2009).

### 3.3. Condutância do mesofilo

Um dos fatores que determinam a concentração de  $\text{CO}_2$  nos sítios de carboxilação (cloroplasto) é a condutância do mesofilo ( $g_m$ ). Assim, a fotossíntese pode ser limitada pela concentração de  $\text{CO}_2$ , mesmo quando a concentração de  $\text{CO}_2$  nas cavidades subestomáticas seja a mesma da atmosfera e no geral estima-se que a concentração de  $\text{CO}_2$  nos sítios de carboxilação atinge em média 50% das concentrações atmosféricas (Warren, 2008a). Dessa forma, a fotossíntese das plantas  $\text{C}_3$  é limitada tanto pelas baixas concentrações de  $\text{CO}_2$  na atmosfera como pelas resistências encontradas pelo  $\text{CO}_2$  na rota para os sítios de carboxilação (Warren *et al.*, 2003).

A condutância do mesofilo ( $g_m$ ) envolve o deslocamento do  $\text{CO}_2$  dos espaços intercelulares do mesofilo até atingir uma parede celular. Ao atingir a parede celular o  $\text{CO}_2$  entra na fase líquida difundindo-se em toda a parede celular, plasmalema, citosol e cloroplasto, quando finalmente, chega ao estroma onde é carboxilado pela Rubisco. Existem varias razões pelas quais a difusão interna do  $\text{CO}_2$  é de interesse para a fisiologia vegetal, dentre as quais pode ser citado a baixa afinidade da Rubisco pelo  $\text{CO}_2$  (Evans e von Caemmerer, 1996) que opera apenas uma fração da sua atividade catalítica. Deve-se salientar que a determinação da atividade da Rubisco requer uma estimativa precisa da pressão parcial de  $\text{CO}_2$  no sítio de carboxilação. A condutância do mesofilo ( $g_m$ ) pode limitar a fotossíntese quando o  $\text{CO}_2$  não está em concentração saturante (Bernacchi *et al.*, 2002). Vale ressaltar que  $g_m$  não é apenas uma propriedade constitutiva da anatomia foliar, pois apresenta resposta de curto prazo (minutos) e de longo prazo aclimatação (dias) em função das variáveis ambientais (Warren, 2008a).

Apesar da grande importância da difusão interna do  $\text{CO}_2$ , pouco se sabe sobre os processos que determinam a magnitude de  $g_m$ . As rápidas oscilações em  $g_m$  podem ser induzidas

por condições ambientais (e.g. intensidade luminosa, umidade relativa do ar, salinidade, velocidade do vento e concentração de  $\text{CO}_2$ ) de forma semelhante ao que ocorre com a condutância estomática,  $g_s$  (Flexas *et al.*, 2007b). Tais condições ambientais podem causar oscilações em  $g_s$  ao longo do dia. Nascimento (2009) observou que ao amanhecer a irradiância foi ineficaz em induzir a abertura dos estômatos, mesmo após uma hora de iluminação contínua na câmara foliar. Observou-se ainda que os horários de maior  $g_s$  foi entre 11:00 e 14:00 h e apresentou declínio após as 14:00 h. No entanto, não se sabe ao certo se as variações de  $g_m$  ao longo do dia seguem o mesmo padrão apresentado por  $g_s$ .

### 3.4. $V_{c\text{-max}}$ e $J_{\text{max}}$

A fotossíntese depende, entre outros fatores, da temperatura, concentração de  $\text{CO}_2$  no sítio de carboxilação, da luminosidade e de características bioquímicas da folha (De Pury e Farquhar, 1997). Farquhar *et al.* (1980) estabeleceram um modelo para prognosticar a fotossíntese baseado nas características bioquímicas da folha. Neste modelo de fotossíntese (A), os parâmetros de  $V_{c\text{-max}}$  e  $J_{\text{max}}$  são calculados tendo-se como base as curvas de resposta da taxa de assimilação líquida em função da concentração intercelular de  $\text{CO}_2$  ( $A/C_i$ ).

A energia de ativação da Rubisco é uma variável que depende tanto da eficiência catalítica ( $K_{\text{cat}}$ , que define a quantidade de substrato que cada sítio ativo da enzima converte em produto) como das constantes de Michaelis-Menten ( $K_m$ ). A constante de Michaelis-Menten ( $K_m$ ) é um parâmetro que define a concentração de substrato que produz 50% da velocidade máxima ( $V_{\text{max}}$ ) da enzima. Quanto menor o  $K_m$  maior a afinidade de uma enzima pelo seu substrato. A quantidade mínima de energia para que uma reação química ocorra ( $E_a$ ), para o caso da Rubisco, depende de  $K_c$  ( $K_m$  para dióxido de carbono) e  $K_o$  ( $K_m$  para oxigênio).

### 3.5. Vazamento na câmara foliar

Durante as medições de trocas gasosas estima-se que certa quantidade de  $\text{CO}_2$  pode escapar pelas juntas de espuma da câmara foliar, mas isto pode não ser constante e varia com a folha. Isto é particularmente significativo quando os fluxos são baixos, e erros decorrentes do vazamento têm seu maior efeito em medições de respostas nas curvas  $A/C_i$ , quando a diferença entre a concentração de  $\text{CO}_2$  de fora e dentro da câmara é máxima. Uma solução parcial,

recomendada normalmente pelos fabricantes é a medição de fluxo sem folha na câmara. Neste caso, quando a câmara está fechada, um isolamento perfeito deveria resultar em fluxo zero, independentemente da diferença da  $[CO_2]$  entre o interior e o exterior da câmara. Entretanto, as juntas de espuma permitem alguma permeabilidade e podem emitir ou absorver algum  $CO_2$ . Estes vazamentos podem ser medidos e usados para corrigir fluxos. Entretanto, quando a folha é colocada na câmara, vazamentos adicionais podem ocorrer (sobretudo em folhas pequenas que não cobrem completamente a câmara foliar). Uma solução parcial para minimizar esses erros é usar uma folha morta, obtida ao se aquecer e secar rapidamente uma folha viva estabelecendo a taxa de vazamento para cada  $[CO_2]$  que será usado a corrigir os dados para a construção da curva de resposta ao  $CO_2$  ou curva  $A/C_i$ .

### 3.6. Irradiância

A disponibilidade de luz é um dos fatores ambientais que mais limita o crescimento, a sobrevivência e a reprodução das plantas. No entanto, nem toda a radiação fotossinteticamente ativa (RFA), que compreende comprimento de onda entre 400 a 700 nm, incidente no dossel da floresta é interceptada ou absorvida pelas folhas, pois ao atingir a lâmina foliar uma fração é refletida para a atmosfera e outra é transmitida, dependendo de fatores da planta e do ambiente. A radiação que será absorvida pela planta é determinada pelo índice de área foliar (IAF). O IAF é definido como a área foliar do dossel integrada por unidade de superfície projetada no solo,  $m^2/m^2$  (Watson, 1947) e está relacionado com a interceptação da água no dossel, trocas gasosas e a radiação no sub-bosque da floresta.

Do ponto de vista fotossintético, as respostas da planta a variações na irradiância ocorrem muito rapidamente. A fotossíntese ( $A$ ) aumenta com a irradiância até atingir o ponto de saturação por luz ( $I_s$ ), em que o aumento na luminosidade não causa aumento na taxa de fotossíntese. Entre a irradiância de saturação ( $I_s$ ) e a escuridão, está a irradiância de compensação ( $I_c$ ) fase em que a fotossíntese bruta apenas compensa as perdas de  $CO_2$  por respiração, sendo a fotossíntese líquida igual à zero. A irradiância de compensação varia de acordo com a espécie, com as condições ambientais e com a densidade de fluxo de luz durante o crescimento da planta, concentração de  $CO_2$  e a temperatura (Boardman, 1977).

### 3.7. Área foliar específica

A área foliar específica é importante para avaliação de trocas com a atmosfera. Estudos mostram que geralmente a área foliar específica (AFE) responde de forma variada às condições ambientais. Na maioria dos estudos, a AFE é influenciada principalmente pela disponibilidade de luz no ambiente (Poorter, 1999). Alguns trabalhos têm mostrado que em baixa luminosidade a espessura da folha tende a diminuir enquanto que a área foliar tende a aumentar, como uma estratégia para assegurar de maneira mais eficiente a captura de luz em baixas intensidades luminosas (Dale, 1988; Jones e McLeod, 1990).

### 3.8. Eficiência no uso da água

A eficiência no uso da água (EUA) é a razão entre fotossíntese (A) e transpiração, E (EUA = A/E). O uso eficiente da água pelas plantas é uma função de uma série de fatores incluindo a disponibilidade água no solo, as condições atmosféricas (umidade e temperatura do ar), o estado nutricional das plantas e funcionamento dos estômatos. Finalmente a EUA é influenciada pela natureza genética e estágio de desenvolvimento da planta. Por exemplo, plantas C<sub>3</sub> transpiram entre 450 e 950 g (H<sub>2</sub>O) para acumular um grama de matéria seca. No outro extremo, plantas com metabolismo crassuláceo, para cada grama de biomassa formada perdem apenas de 18 a 125 g(H<sub>2</sub>O) (Marengo e Lopes 2009).

Dessa forma, a EUA é um importante índice, que ajuda a entender o comportamento do estômato. Há uma tendência geral de as plantas maximizarem a taxa de fotossíntese e minimizar a transpiração. A técnica dos isótopos estáveis pode ser utilizada para fazer estimativas da EUA, pelo fato de existir uma relação inversa entre a concentração de <sup>13</sup>C/<sup>12</sup>C [expresso em partes por mil com relação a um padrão, δ<sup>13</sup>C (‰)] e a taxa de transpiração (Ehleringer e Osmond 1998). Ou seja, quando maior (menos negativo) os valores de δ<sup>13</sup>C, maior EUA. Outra forma de se determinar a EUA de uma planta é medindo-se no campo a taxa de fotossíntese e a transpiração da folha, este foi o método utilizado neste estudo.

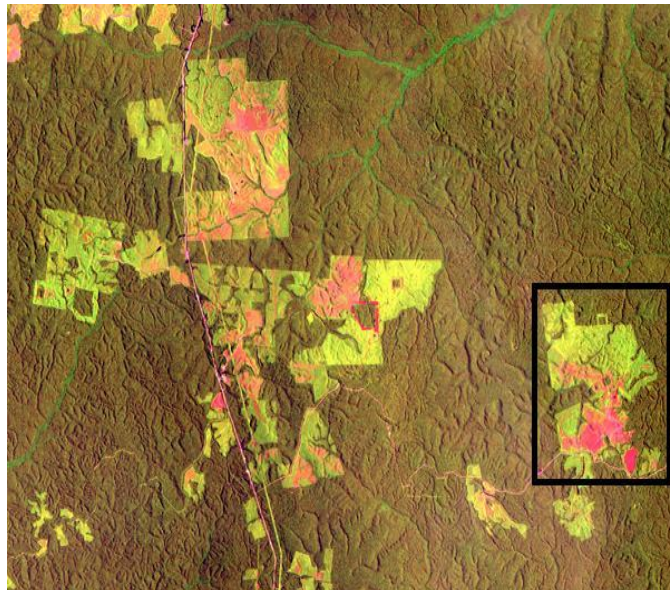
### 3.9. Fluorescência da clorofila

A fluorescência é, no entendimento físico, a re-emissão de fótons em um comprimento de onda maior daquele que incidiu na folha, podendo dissipar entre 1 a 3% da energia recebida pela planta (Müller et al., 2001). Assim, a intensidade da fluorescência pode ser determinada expondo a folha a um determinado comprimento de onda e medindo a quantidade de luz re-emitida num comprimento de onda maior. Parâmetros importantes na caracterização da fluorescência são a fluorescência máxima ( $F_m$ ), a fluorescência mínima ( $F_0$ ) e a relação  $F_v/F_m$ . O rendimento quântico máximo do fotossistema II (PSII) pode ser obtido ao se determinar a razão entre a fluorescência variável e a fluorescência máxima, representada por  $F_v/F_m$ , enquanto que os valores de  $F_0$  parecem ser muito úteis para se inferir sobre a ocorrência de fotoinibição crônica ou dinâmica (Dias e Marengo, 2006). A fotoinibição é um estado de stress fisiológico que ocorre em todos os organismos fotossintetizantes que liberam oxigênio quando expostos à luz. Segundo Long et al. (1994) a fotoinibição é a redução da fotossíntese lentamente reversível que após uma exposição prolongada a luz pode levar a redução da fotossíntese máxima. A fotoinibição pode ser exacerbada via redução da capacidade fotossintética induzida por estresses ambientais, tais como alta temperatura da folha e déficit hídrico, sendo que nos trópicos, a luz do sol pode aumentar a temperatura da folha até valores próximos de 40°C. Adicionalmente, danos causados pela alta temperatura no PSII podem ser inferidos a partir da medição do valor de  $F_0$  (Kitao et al., 2000).

## 4. MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1. Área de estudo

O estudo foi realizado na reserva Colosso, dentro da fazenda Esteio, (fragmento de 10 ha e matas ciliares isolados entre 25 e 30 anos atrás, 2° 24' 13.2" S, 59° 51' 54" W, Figura 1). No estudo foram utilizados um total de seis árvores. Estas árvores estão entre aquelas amostrados por Dick (2001a). As seis árvores estão distribuídas em fragmentos florestais circundados por pastagens degradadas, três no fragmento de 10 ha, e três em mata ciliar.



**Figura 1:** PDBFF - Localização das parcelas, o retângulo preto se refere à reserva Colosso.

O clima da região é equatorial úmido, com duas épocas do ano distintas, uma com precipitação elevada (de outubro a junho) e outra com baixa precipitação (50 a 100 mm de chuva por mês – denominada estação seca) de julho a setembro. A temperatura média anual é de 26,7 °C, apresentando valores médios para as máximas e mínimas de 31,2 °C e 23,5 °C, respectivamente. Na região a precipitação anual é de 2.240 mm (Instituto Nacional de Meteorologia, INMET, média de 1961 a 1990), distribuídos em duas épocas durante o ano, uma



chuvosa que ocorre entre outubro e junho, e a outra entre julho e setembro (em geral com menos de 100 mm mês<sup>-1</sup>). A umidade relativa apresenta uma média anual de 84%, variando de 77% a 88%. A vegetação da região apresenta uma floresta densa de terra firme (Higuchi *et al.*, 1997) e os solos são classificados como latossolos, com baixa fertilidade e alta acidez (Ferraz *et al.*, 1998).

## 4.2. Espécie estudada

### *Dinizia excelsa*

O angelim pedra (*Dinizia excelsa* Ducke) é uma árvore emergente (i.e. com copa que se projeta acima do dossel, não sendo sombreada por suas vizinhas) que mede de 25 à 50 m de altura e até 2 m de diâmetro, é de ampla distribuição na Amazônia brasileira (Hopkins 2004), ocorrendo à razão de um indivíduo a cada 6 ha (Dick 2001b) havendo um único registro fora do Brasil, na Guiana (Mesquita, 2007).

Indivíduos emergentes estão sempre expostos à luz, assim como aqueles que foram deixados em pastagens após o desmatamento, como reserva de madeira ou por sua sombra (Dick, 2001a). Os indivíduos usados neste estudo tinham de 35 a 45 m de altura, seu diâmetro sempre maior que 1m à altura do peito (difícil de medir com precisão devido à presença de raízes tabulares). Todos os galhos (da parte superior e inferior da copa) situavam-se acima do dossel das árvores vizinhas, os galhos de baixo são sombreados apenas pelos galhos mais altos da mesma copa.

## 4.3. Variáveis estudadas

As variáveis estudadas foram: fotossíntese (A), condutância estomática ( $g_s$ ), condutância do mesofilo ( $g_m$ ), eficiência no uso da água (EUA, ou seja A/E), velocidade de carboxilação máxima, ( $V_{c-max}$ ), transporte de elétrons máximo ( $J_{max}$ ), fluorescência inicial ( $F_0$ ), fluorescência máxima ( $F_m$ ), fluorescência variável ( $F_v$ ), a eficiência quântica potencial máxima do fotossistema II ( $F_v/F_m$ ), teores de clorofila a, b (Chl a e Chl b), teor relativo medido por SPAD (adimensional) e espessura da folha fresca (mm).

#### 4.4. Cálculo da área foliar real dentro da câmara foliar

Como as folhas de *D. excelsa* são compostas, é necessário descontar os espaços vazios entre os folíolos dentro da câmara do aparelho de análise de trocas gasosas (IRGA) para posterior cômputo dos parâmetros fisiológicos dependentes de área. Isto foi realizado escaneando-se as folhas usadas nas medições, utilizou-se uma régua milimetrada para servir de escala.

Posteriormente prosseguiu-se com o processamento da imagem através do software CorelDraw X3 2005, para se obter uma seção foliar igual àquela que contida dentro da câmara foliar. Como o software possui ferramentas precisas de medição equivalentes aos valores reais, a régua de escritório foi utilizada apenas como uma comprovação. No passo seguinte obteve-se um negativo da imagem utilizado para quantificar os espaços vazios (não ocupados pela folha na câmara foliar), seguindo a metodologia de Bauermann (2009). Finalmente obteve-se a área real da folha (área total – área dos espaços vazios). A área real da folha foi utilizada para o cálculo da fotossíntese.

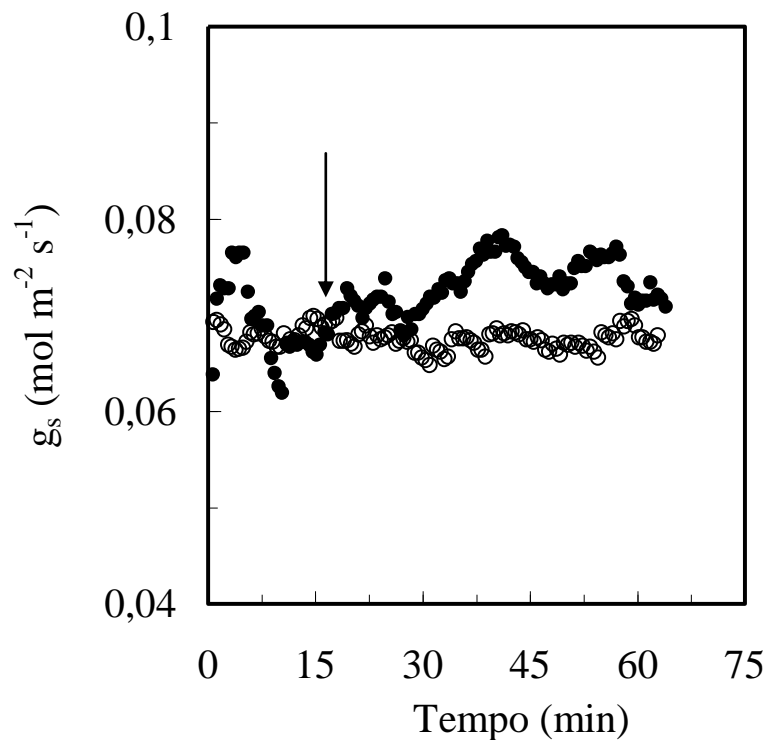
#### 4.5. Validação do método

As trocas gasosas foram mensuradas em dois galhos destacados por árvore, de 7 a 12 cm de diâmetro, e selecionadas folhas fisiologicamente maduras e com bom aspecto fitossanitário, sendo uma folha do ambiente de sombra e uma folha do ambiente de sol. Foi realizado desta forma pela impossibilidade de se acessar a copa da árvore munido do equipamento. Este método, no entanto exige que se conheça o tempo máximo disponível para a medição dos parâmetros das trocas gasosas, antes de os estômatos iniciarem o processo de fechamento, ou seja, é necessário validar o método. As coletas foram efetuadas, em novembro e dezembro de 2010.

Para verificar o efeito da poda do galho na condutância estomática ( $g_s$ ) foi realizado um estudo prévio utilizando-se de dois IRGAs (Li-6400, Li-Cor, EUA) coletando dados simultaneamente em dois galhos (ambos de 2 cm) da mesma árvore de dossel acessível de uma torre de observação de 40m, localizada em uma área próximo ao km 14 da vicinal ZF-2. Após um período de estabilização de 15 minutos selecionou-se ao acaso um dos galhos, que foi mantido intacto enquanto que o outro foi separado da árvore mediante um corte rápido sem interferir no acoplamento da sua respectiva folha na câmara foliar. O processo de medição nas duas folhas

(em galho incólume e em galho destacado) foi continuado até se completar o tempo necessário para se realizar a coleta dos dados (60 minutos).

Na figura 2, observa-se que a condutância estomática ( $g_s$ ) permanece similar tanto no galho mantido intacto na árvore quanto no galho cortado durante todo o período de medição (60 minutos). Isto mostra que a técnica de cortar o galho para realizar as medições é confiável, desde que os dados sejam coletados em no máximo 45 minutos após o corte. Neste estudo os dados foram coletados neste intervalo de tempo, e, por precaução, em galhos de diâmetro maior que 2 cm.



**Figura 2** – Condutância estomática ( $g_s$ ) de uma mesma planta e duas folhas diferentes em função do tempo (*Coussapoa orthoneura* Standley (Cecropiaceae)). Na folha 1 (círculos fechados (●)) o galho foi mantido intacto na árvore. Na folha 2 (círculo aberto (○)) o galho foi cortado após um período de estabilização de 20 minutos (seta vertical indicando o momento do corte). Pode-se observar que após 40 minutos de o galho ter sido cortado, a condutância dos estômatos continuava com pouca variação. Dados coletados numa torre de observação a 26 m de altura, nas Reserva ZF2 (02°35'21" S, 60°06'53 W).

#### 4.6. Condutância estomática, fotossíntese, $V_{c-max}$ e $J_{max}$

As curvas resposta à luz [curva  $A(Q)$ ] foram construídas a uma concentração de  $CO_2$  de  $380 \mu mol mol^{-1}$ . Os valores de fotossíntese foram registrados em valores de fluxo de fótons ( $Q$ ) de 2000, 1500, 1000, 500, 250, 100, 50 e  $0 \mu mol m^{-2}.s^{-1}$ . As curvas resposta ao  $CO_2$  [curva  $A(C_i)$ ] foram geradas conforme descrito por Long e Bernacchi (2003), intensidades de  $CO_2$  de 380, 250, 100, 50, 0, 380, 450, 600, 800, 1000 e  $2000 \mu mol mol^{-1}$ , com fluxo de fóton de  $1500 \mu mol m^{-2}.s^{-1}$  (irradiância de saturação) utilizando um analisador de trocas gasosas (Li-6400, Li-Cor, EUA).

Para calcular os parâmetros obtidos a partir das curvas resposta à luz foi utilizada a equação da hipérbole não retangular (Equação 1).

$$A = \{[(\alpha Q + A_{max} + R_d) - ((\alpha Q + A_{max} + R_d)^2 - 4\alpha Q\Theta(A_{max} + R_d))^{0.5}] / 2\Theta\} - R_d \quad \text{Equação (1)}$$

Essa equação inclui os parâmetros teta ( $\Theta$ ) e fi ( $\Phi$ ), em que teta ( $\Theta$ ) representa a convexidade da curva e fi ( $\Phi$ ) o rendimento quântico aparente (Ögren, 1993). A convexidade ( $\Theta$ ), termo exigido pelo modelo da hipérbole não retangular, foi calculada de acordo com o melhor ajuste aos pontos (0,845). O ponto de compensação à luz ( $I_c$ ) foi calculado dividindo-se a respiração no escuro ( $R_d$ ) pelo rendimento quântico ( $\Phi$ ),  $R_d$  foi determinado com o intercepto (valor de “A” quando “Q” é zero) do segmento linear da curva  $A(Q)$  (Villar *et al.*, 1994).  $\Phi$  foi determinado como a declividade do segmento linear da curva  $A/Q$ ; o segmento linear foi determinado em irradiâncias menores de  $80 \mu mol m^{-2} s^{-1}$ .

Para calcular a taxa de carboxilação máxima da RuBP pela enzima Rubisco ( $V_{c-max}$ ) e a taxa de transporte máximo de elétrons ( $J_{max}$ ) associada à regeneração da RuBP, obtidas a partir das curvas de taxa de assimilação líquida em função da concentração intercelular de  $CO_2$  ( $C_i$ ), foi utilizado o modelo bioquímico de folhas elaborado por Farquhar *et al.* (1980), e modificações posteriores (Caemmerer e Farquhar, 1981; Farquhar e Caemmerer, 1982; e sintetizado em Caemmerer, 2000).

De acordo com Farquhar *et al.* (1980) a taxa de assimilação líquida pode ser expressa pelas equações 2 a 4:

$$A = \min \{A_c, A_j\} - R_d \quad \text{Equação (2)}$$

$$A_c = V_{c\text{-max}} (C_c - \Gamma^*) / (C_c + K_r) \quad \text{Equação (3)}$$

$$A_j = J(C_c - \Gamma^*) / (4C_c + 8\Gamma^*) \quad \text{Equação (4)}$$

Em que:

$R_d$ : representa a respiração da folha na presença de luz;

$J$ : a taxa de transporte de elétrons;

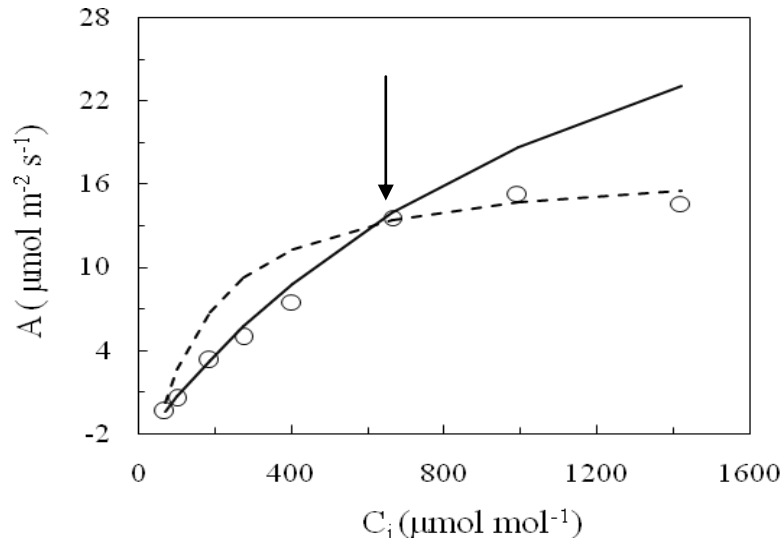
$V_{c\text{-max}}$ : a velocidade máxima de carboxilação da Rubisco;

$C_c$ : a concentração de  $\text{CO}_2$  no cloroplasto;

$\Gamma^*$ : o ponto de compensação de  $\text{CO}_2$  na ausência de respiração e na presença de luz;

$K_r$  representa as constantes de Michaelis-Menten da Rubisco nas reações de carboxilação e oxigenação.

A curva de resposta ao  $\text{CO}_2$  ( $A/C_i$ ) foi realizada utilizando luz uma densidade de fluxo de fótons de  $1500 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  (irradiância de saturação). Os valores de  $V_{c\text{-max}}$  e de  $J_{\text{max}}$  foram calculadas a partir das curvas  $A/C_i$  (Ilustradas na Figura 3).



**Figura 3.** Ilustração da taxa de fotossíntese ( $A$ ) em função da concentração de  $\text{CO}_2$  intercelular ( $C_i$ ) para *Dinizia excelsa*. A curva tracejada mostra a limitação da fotossíntese imposta pelo transporte de elétrons ( $A_j$ , calculada conforme a Equação 4). A linha contínua indica a limitação da fotossíntese imposta pela carboxilação da Rubisco ( $A_c$ , calculada conforme a Equação 3). A seta vertical mostra o ponto em que a fotossíntese passa a ser limitada pelo transporte de elétrons.

A taxa de transporte de elétrons ( $J$ ) é modelada como uma função da radiação fotossinteticamente ativa ( $Q$ ) efetivamente absorvida ( $I_e$ ) dada por:

$$\Theta J^2 - (I_e + J_{\max}) J + I_e J_{\max} \quad \text{Equação (5)}$$

Em que teta ( $\Theta$ ) representa a curvatura da resposta de transporte de elétron à radiação;  $J_{\max}$ , taxa máxima de transporte de elétrons resultante da carboxilação da Rubisco;  $I_e$  é a quantidade de luz (fótons) que foi absorvida pelo fotossistema II (PSII) (Medlyn *et al.*, 1999).

Os valores de  $V_{c-\max}$  e  $R_d$  foram calculados solucionando a Equação (3) apenas na porção linear da resposta da curva  $A/C_c$ , ou seja, em baixas concentrações de  $C_c$  (<300 ppm de  $\text{CO}_2$ ). Os valores de  $J_{\max}$ ,  $V_{c-\max}$  foram normalizados a 25 °C utilizando-se as equações estabelecidas por Medlyn *et al.* (1999).

Os valores de  $I_e$  (luz absorvida pela folha) podem ser determinados pela equação:

$$I_e = [(1 - f)/2]\alpha I_0 \quad \text{Equação (6)}$$

Em que:

$f$  é o fator de correção espectral (0,15);  $\alpha$  é a capacidade de absorção de luz da folha (numa escala de 0 a 1; no geral  $\alpha$  tem valor de cerca de 0,85) e  $I_0$  é a radiação fotossinteticamente ativa incidente (Medlyn *et al.*,1999). Neste trabalho alfa ( $\alpha$ ) foi calculado conforme descrito por Evans e Poorter (2001):

$$\alpha = \chi / (\chi + 76) \quad \text{Equação (7)}$$

Em que:  $\chi$  representa o conteúdo de clorofila por unidade de área ( $\mu\text{mol m}^{-2}$ )

Os valores de  $\Gamma^*$  e  $K_r$  são funções complexas dependentes da temperatura e são descritos nas equações:

$$\Gamma^* = 0,036(T - 25)^2 + 1,88(T - 25) + 36,9 \quad \text{Equação (8)}$$

$$K_r = K_c (1 + O/K_o) \quad \text{Equação (9)}$$

Onde:

$T$  é a temperatura da folha em °C,  $K_c$  é a constante de Michaelis-Menten para a Rubisco na função carboxilase;  $O$  é a pressão parcial intercelular do oxigênio (20% no cloroplasto) e  $K_o$  é a constante de Michaelis-Menten para Rubisco na função oxigenase. Os valores de  $K_c$  e  $K_o$  podem ser normalizados a 25°C pelas equações (Medlyn *et al.* 1999), a partir das equações:

$$K_c = e^{(38,05 - 79,43/RT_K)} \quad \text{Equação (10)}$$

$$K_o = e^{(20,30 - 36,38/RT_K)} \quad \text{Equação (11)}$$

Em que:

$T_K$  é a temperatura da folha em Kelvin;

$e$  é a base dos logaritmos naturais ( $e = 2,71828$ );  $R$ , a constante dos gases ( $8,314 \text{ J mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$ ). A 25 °C  $K_c = 404,9 \mu\text{mol mol}^{-1}$ ,  $K_o = 278,4 \text{ mmol mol}^{-1}$ .

#### 4.7. Condutância do mesofilo

A condutância do mesofilo ( $g_m$ ) foi determinada pelo método de fluorescência da clorofila (F). O método de fluorescência da clorofila utiliza dados da curva de resposta ao  $CO_2$  [curva  $A(C_i)$ ] e de F para a obtenção de  $g_m$ . Os valores da curva  $A(C_i)$  foram obtidos utilizando um analisador de trocas gasosas (Li-6400, Li-Cor, EUA), e os dados de F, utilizando uma câmara integrada de fluorescência (Li-6400-40, Li-Cor, EUA). As curvas  $(A/C_i)$ , foram construídas conforme descrito no item 4.6.

A taxa de transporte de elétrons ( $J_F$ ) foi estimada como produto da eficiência fotoquímica ( $\Phi$ ) do fotossistema II ( $\Phi_{PSII}$ ) e de  $I_e$  (Maxwell e Johnson, 2000):

$$J_F = (I_e \times \Phi_{PSII})/2 \quad \text{Equação (12)}$$

Em que,  $J_F$  é a taxa de transporte de elétrons;  $I_e$ , radiação fotossinteticamente ativa absorvida pela folha;  $\Phi_{PSII}$  a eficiência fotoquímica ( $\Phi$ ) do fotossistema II, o “2” justifica-se pelo fato de dois quanta de luz serem necessários (um em cada fotossistema, I e II) para cada elétrons transportado durante a fotossíntese.

$$\Phi_{PSII} = (F'_m - F')/F'_m \quad \text{Equação (13)}$$

Onde:  $F'$ , indica a fluorescência no estado estável (folha iluminada) e  $F'_m$ , a fluorescência máxima numa folha iluminada com luz actínica.

Neste estudo, a concentração de  $CO_2$  no interior do cloroplasto foi determinada utilizando a equação Farquhar *et al.* (1980) para calcular a taxa de transporte de elétrons. Ou seja:

$$J = (A+R_d)(4C_i+8\Gamma^*) / (C_i - \Gamma^*) \quad \text{Equação (14)}$$

Onde:  $\Gamma^*$  é o ponto de compensação de  $CO_2$  na ausência de respiração e na presença de luz;  $R_d$  a taxa de respiração diurna.  $C_c$  foi determinado re-organizando a equação 14, porém substituindo J por  $J_F$  e  $C_i$  por  $C_c$  conforme proposto por Evans e Caemmerer, (1996). Isto é:

$$C_c = \Gamma^* [J_F + 8(A+R)] / [J_F - 4(A+R)] \quad \text{Equação (15)}$$



$J_F$  foi obtido usando-se o fluorômetro do IRGA aplicando-se um pulso de luz de 6000  $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$  durante um segundo (1s).

Tendo-se o valor de  $C_c$ ,  $g_m$  foi calculado conforme a seguir:

$$g_m = A/(C_i - C_c)$$

#### **4.8. Determinação área foliar específica**

Para determinar a área foliar específica (AFE) foram coletadas amostras de folhas (em torno de 4), dependendo do tamanho da folha. Mediu-se a área da folha com o auxílio de um medidor de área foliar (Li-3000, Li-Cor, EUA) no mesmo dia em que foram coletadas e logo após, colocadas para secar em estufa com circulação de ar ( $72^\circ\text{C}$ ) até atingirem biomassa constante. O valor da área foliar específica foi determinado como a relação entre área/massa da folha.

#### **4.9. Determinação dos teores de clorofila e eficiência no uso da água**

A EUA foi calculada como relação entre a taxa de fotossíntese e a transpiração, ou seja, A/E. Os teores de clorofila foram determinados em folhas similares àquelas utilizada para as medições das trocas gasosas, pela impossibilidade (limitação de tecido foliar) de efetuar estas determinações nas mesmas folhas usadas para medir a fotossíntese. A concentração de clorofila foi determinada pelo método de Arnon (1949). Também determinou-se o teor relativo de clorofila, utilizando um clorofilômetro (SPAD-502). Os valores do SPAD foram utilizados como critério de escolha da folha utilizada para medir trocas gasosas.

#### **4.10. Delineamento experimental e análise estatística**

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, tendo-se como tratamentos as duas posições na copa na copa (superior e inferior) e os ajustes do vazamento da câmara do IRGA (i.e. com correção por vazamento e sem correção). As repetições foram seis árvores e duas folhas por planta. Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as diferenças entre os ambientes analisadas mediante o teste de Tukey ( $P < 0,05$ ). As relações

entre as variáveis quantitativas (p. exe.:  $A_{\max}$ , versus  $V_{c-\max}$ ,  $A_{\text{pot}}$  versus  $J_{\max}$ ) foram analisadas por meio de análises de regressão. Utilizou-se o programa estatístico SAEG 9.0 (UFV).

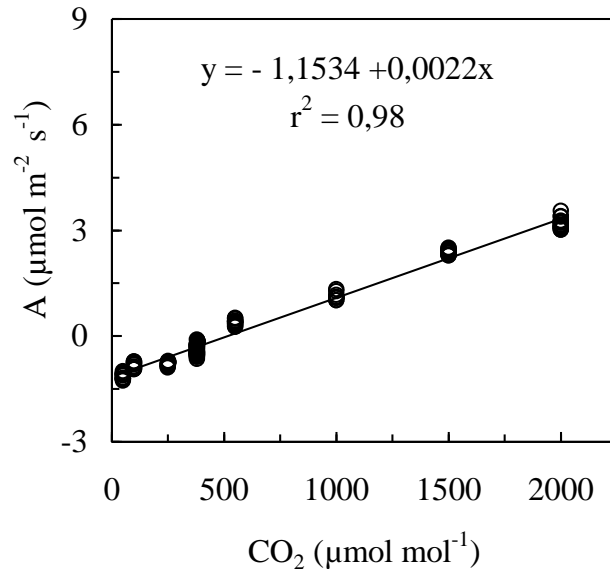
## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1. Ambiente físico da área do estudo

A precipitação média na Amazônia central no ano de 2010 foi de 2772 mm. Esses valores estão dentro das médias históricas (INMET, 1961-1990) registradas na região do estudo. A temperatura média do ar foi de 25,86 °C, com média mínima de 22,9 °C e média máxima de 30,2 °C com pico de até 34 °C ao meio dia. A irradiância acima do dossel variou de 21,9 mol m<sup>-2</sup> dia<sup>-1</sup> na época chuvosa a 23,1 mol m<sup>-2</sup> dia<sup>-1</sup> na época seca. A média da umidade do ar do sub-bosque mostrou pouca variação, os valores encontrados neste estudo são similares aos encontrados por outros autores para a Amazônia (Dias, 2009; Mendes e Marengo, 2010). Estes dados indicam que as condições ambientais durante o ano de estudo variaram dentro das médias históricas e que, portanto, os resultados deste trabalho são representativos.

### 5.2. Ajuste do vazamento na câmara foliar

A taxa de vazamento para cada concentração de CO<sub>2</sub> usadas na construção das curvas resposta ao CO<sub>2</sub> [curva A(C<sub>i</sub>)] foi determinada retirando-se folhas de cada árvore e colocadas num recipiente contendo água quente a 100 °C para acelerar a morte das folhas (de forma que a estrutura foliar permanecesse semelhante àquela de uma folha intacta), conforme proposto por Long e Bernacchi, 2003. A seguir, a curva A(C<sub>i</sub>) foi construída com as mesmas [CO<sub>2</sub>] de uma curva com a folha intacta (Figura 4). Logo após, com os dados da curva A(C<sub>i</sub>) da folha morta foi gerada uma equação, obtida a partir de uma regressão linear. A equação foi utilizada para corrigir os dados de fotossíntese levando-se em conta o vazamento de CO<sub>2</sub>.



**Figura 4** – Fotossíntese (A) em função da concentração de CO<sub>2</sub> dentro da câmara do IRGA em uma folha morta. A equação gerada para corrigir os dados de fotossíntese foi  $y = -1,1534 + 0,0022[\text{CO}_2]$

Os dados de fotossíntese foram corrigidos subtraindo-se os valores observados as perdas de CO<sub>2</sub> detectadas na câmara com a folha morta, ou seja:

$$A_{\text{real}} = A_{\text{obs}} - (-1,1534 + 0,0022[\text{CO}_2]), \text{ em que}$$

$A_{\text{real}}$  = fotossíntese observada na câmara foliar ( $A_{\text{obs}}$ ) menos a perda de CO<sub>2</sub> registrada na leitura da folha morta.

Contrário ao que se esperava, as perdas de CO<sub>2</sub> que ocorreram na câmara foliar não foram significativas, seja em concentração ambiente de CO<sub>2</sub> (valores de  $A_{\text{max}}$ ), seja em alto [CO<sub>2</sub>] (valores de  $A_{\text{pot}}$ ) (Tabela 2). Conforme Flexas (2007a) o vazamento ocorre provavelmente entre as espumas de selamento da câmara foliar e não nas outras conexões que não entram em contato com a folha. Assim, é esperado que o vazamento varie entre espécies ou folhas de diferentes espessuras e texturas. A pequena espessura de *Dinizia excelsa* provavelmente contribuiu para a falta de vazamento na câmara do IRGA.

### 5.3. Taxas máxima de carboxilação ( $V_{c-max}$ ) e de regeneração da RuBP ( $J_{max}$ ), assimilação máxima de $CO_2$ sob saturação de luz ( $A_{max}$ ) e de $CO_2$ ( $A_{pot}$ )

Não houve diferença significativa entre as posições dentro da copa no que tange à velocidade máxima de carboxilação da Rubisco ( $V_{c-max}$ ) calculada a partir da curva A- $C_i$ , nem na taxa máxima de transporte de elétrons ( $J_{max}$ ) ( $p > 0,05$ , Tabela 1). Em média  $V_{c-max}$  foi de 72,15  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  e  $J_{max}$  foi de 103,45  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  (Tabela 1).

Os resultados deste trabalho são comparáveis com os encontrados por Tribuzy (2005) num estudo com espécies de árvores de dossel na Amazônia Central que observaram valores de  $V_{c-max}$  entre 14 e 60  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  e  $J_{max}$  entre 30 e 100  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ . Os valores de  $V_{c-max}$  e  $J_{max}$  relatados neste estudo estão dentro da faixa dos valores relatados por Wullschleger (1993). Este autor observou, num trabalho envolvendo 109 espécies, que os valores de  $V_{c-max}$  oscilaram entre 6 e 194  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  e os de  $J_{max}$  entre 17 e 372  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ .

Conforme o modelo de Farquhar *et al.* (1980) a fotossíntese é limitada principalmente por dois fatores ( $V_{c-max}$  e  $J_{max}$ ). Ambos os parâmetros dependem de  $C_i$ . O valor de  $C_i$  depende da condutância estomática ( $g_s$ ), aumentando  $C_i$  em proporção ao aumento de  $g_s$ .

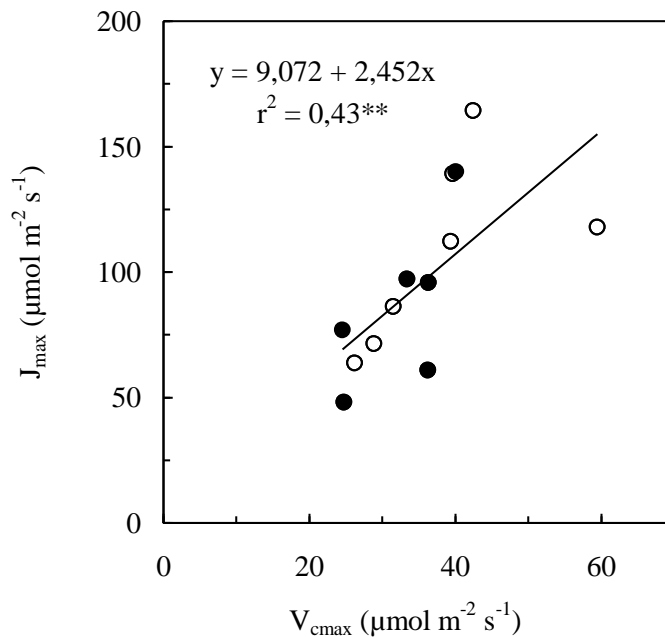
**Tabela 1.** Condutância estomática ( $g_s$ ), condutância do mesofilo ( $g_m$ ), concentração de  $CO_2$  nos espaços intercelulares ( $C_i$ ) e no interior dos cloroplastos ( $C_c$ ), taxa máxima de carboxilação ( $V_{c-max}$ ) e regeneração da RuBP ( $J_{max}$ ), déficit de pressão de vapor (DPV), fotossíntese máxima ( $A_{max}$ ), transpiração (E), rendimento quântico aparente ( $\Phi$ ), curvatura da curva de resposta a luz ( $\Theta$ ) e temperatura foliar em folhas de posição superior e inferior na copa de *Dinizia excelsa*. As variáveis fotossintéticas foram medidas em luz saturante ( $1500 \mu mol m^{-2} s^{-1}$ ),  $CO_2$  ( $380 \mu mol mol^{-1}$ ) e temperatura ambiente. Dados coletados em 2010. Cada valor corresponde a média de seis árvores.

Parâmetro	Posição Superior	Posição Inferior
$g_s$ ( $mol m^{-2} s^{-1}$ )	0,10A	0,07A
$g_m$ ( $mol m^{-2} s^{-1}$ )	0,06A	0,05A
$C_i$ ( $\mu mol mol^{-1}$ )	231,6A	209,1B
$C_c$ ( $\mu mol mol^{-1}$ )	115,2A	104,0B
$V_{c-max}$ ( $\mu mol m^{-2} s^{-1}$ )	79,0A	65,3A
$V_{c-max}$ normalizado a $25^\circ$	38,2A	31,8A
$J_{max}$ ( $\mu mol m^{-2} s^{-1}$ )	117,1A	89,8A
$J_{max}$ normalizado a $25^\circ$	107,8A	81,6A
DPV (kPa)	1,77A	1,84A
$T_{folha}$ ( $^\circ C$ )	33,1A	33,1A
$A_{max}$ ( $\mu mol m^{-2} s^{-1}$ )	6,25A	6,14A
E ( $mmol m^{-2} s^{-1}$ )	1,26A	1,35A
EUA ( $g C kg^{-1} (H_2O)$ )	3,31A	3,03A
Fi ( $\Phi$ )	0,025A	0,025A
Teta ( $\Theta$ )	0,75A	0,75A

Médias nas linhas seguidas pela mesma letra não diferem ao nível 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

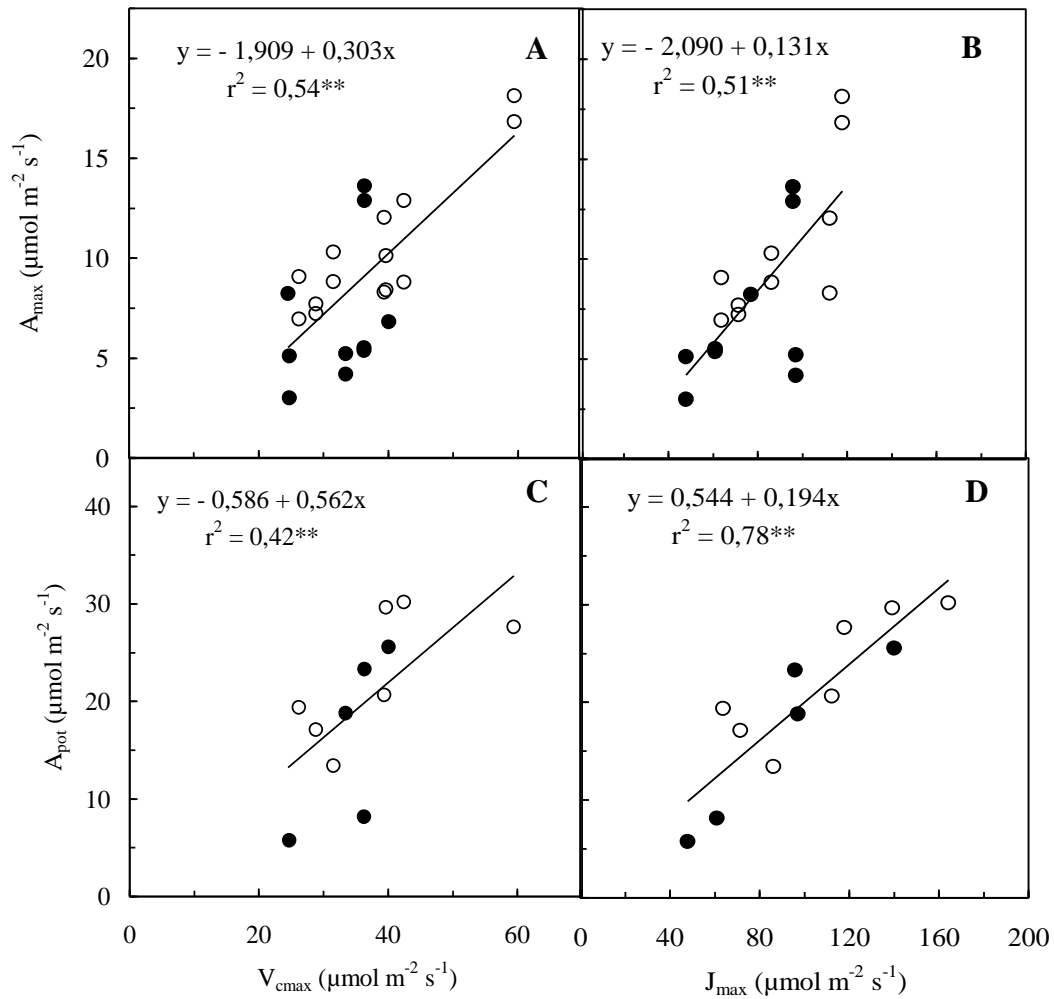
Observou-se uma relação significativa ( $r^2 = 0,43$ ,  $p < 0,01$ ) entre  $V_{c-max}$  e  $J_{max}$  (Figura 5), que está de acordo com os resultados encontrados por outros autores (Wullschleger, 1993; Manter e Kerrigan, 2004; Kattge e Knorr, 2007) que observaram relação positiva entre ambos os parâmetros. A regeneração da RuBP envolve o transporte de elétrons, à síntese de ATP (e

NADPH) e parte das reações do ciclo de Calvin, o que torna evidente a relação positiva entre esses parâmetros.



**Figura 5.** - Taxa máxima de transporte de elétrons ( $J_{max}$ ) em função da velocidade máxima de carboxilação da Rubisco ( $V_{c-max}$ ) na posição superior (círculo aberto, ○) e inferior (círculo fechado, ●). Dados coletados em seis árvores de *Dinizia excelsa* na Amazônia Central \*\*: significativo a 1% de probabilidade. Valores de  $J_{max}$  e  $V_{c-max}$  calculados a 25 °C.

Também houve uma relação significativa entre fotossíntese e as taxa máximas de transporte de elétrons ( $J_{max}$ ) e com a velocidade máxima de carboxilação da Rubisco ( $V_{c-max}$ ) (Figura 6). Muitos estudos têm mostrado relação significativa entre a Rubisco e  $A_{max}$  (Evans, 1982; Evans e Terashima, 1988). A relação entre  $A_{max}$  e  $V_{c-max}$  não foi absolutamente direta (i.e.  $r^2 = 1$ ) o que pode ser devido à variação no estado de ativação da Rubisco (Evans e Terashima 1988; Cheng e Fuchigami 2000). Warren e Adams (2001) também registraram forte relação entre  $A_{max}$  e o conteúdo da Rubisco por unidade de área.



**Figura 6** - Taxa de fotossíntese ( $A_{\max}$  e  $A_{\text{pot}}$ ) em função da velocidade máxima de carboxilação da Rubisco ( $V_{c\text{-max}}$  – A, C) e taxa máxima de transporte de elétrons ( $J_{\max}$  – B, D) na posição superior (círculo aberto,  $\circ$ ) e inferior (círculo fechado,  $\bullet$ ). Dados coletados em seis árvores de *Dinizia excelsa* na Amazônia Central \*\*: significativo a 1% de probabilidade. Valores de  $J_{\max}$  e  $V_{c\text{-max}}$  calculados a 25 °C.

#### 5.4. Eficiência no uso da água

Não houve diferenças significativas na eficiência no uso da água (EUA), sendo a média de  $3,17 \text{ g C kg}^{-1}(\text{H}_2\text{O})$ . Os valores de EUA relatados neste estudo são maiores do aqueles observados por Marengo et al. (2001) em árvores de pequeno porte de *Ochroma pyramidale*. Isto mostra que

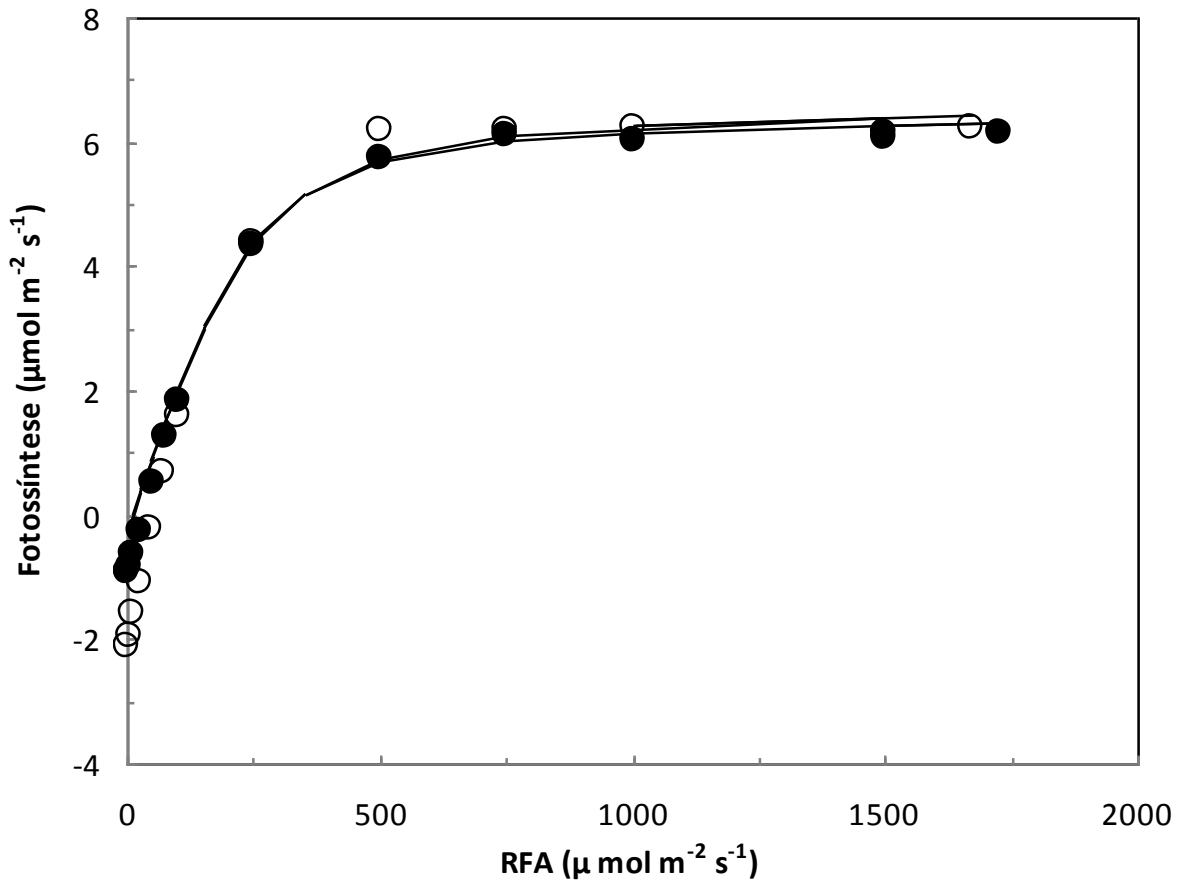
árvores de grande altura tendem a utilizar água de forma mais eficiente, provavelmente pelo fato de existir maior resistência ao fluxo de água desde as raízes até as folhas..

### 5.5. Parâmetros da curva de luz e da fluorescência da clorofila *a*

Os valores de  $A_{\max}$  corrigido variaram de 6,14  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  (posição superior) a 6,17  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  (posição inferior - Tabela 2), o que está de acordo com resultados encontrados em *Dinizia excelsa* num ambiente de clareira no Mato grosso, onde os valores atingiram entre 5,5 e 8,4  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  (Miranda *et al.*, 2005). Para a Amazônia Central, a média de  $A_{\max}$  em espécies florestais de dossel alcançaram 9,4  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , para folhas de sol e 6,8 para folhas de sombra (Tribuzzi, 2005). Neste estudo, porém, não foi observada diferenciação nas taxas de fotossíntese máxima entre ambientes (posição superior e inferior), isso pode ser atribuído à abertura da copa da espécie estudada, ou seja, a copa aberta permite que mesmo as folhas da parte inferior recebam radiação abundante.

Os valores dos parâmetros obtidos da curva A-Q, (Figura 7),  $A_{\max}$ ,  $\Phi$ ,  $R_d$  e  $I_s$  (tabelas 1, 2), não apresentaram diferença significativa ( $p > 0,05$ ) entre as posições na copa. Os valores de  $\Phi$  variaram pouco conforme mostrado (Tabela 1). Marengo *et al.* (2001) observaram valores entre 0,032 e 0,036  $\text{mol (CO}_2\text{) mol}^{-1}$  (fótons) na eficiência quântica aparente *Swietenia macrophylla* e *Dipteryx sp.* Plantas expostas em ambiente de sol e de sombra não apresentaram diferença entre os tratamentos. No entanto esses valores de  $\Phi$  foram bastante semelhantes aos relatados por Dias (2009), que encontrou valores entre 0,03 e 0,09 em árvores de dossel na Amazônia Central. De acordo com Björkman (1981) a curva de resposta à luz é influenciada pelo regime de luz durante o crescimento das plantas. Valores semelhantes de  $\Phi$  aos aqui relatados foram encontrados por Machado *et al.* (2005) em três variedades de citros ('Valência', 'Murcote' e 'Tahiti). Também valores similares de  $\Phi$  aos encontrados neste estudo foram observados em espécies da sucessão tardia (*Hydrophyllum virginianum*, *Quercus rubra* e *Aesculus glabra*) (Bazzaz e Carlson, 1982). Neste trabalho, as folhas da posição inferior apresentaram valores de  $\Phi$  iguais àqueles observados nas folhas de posição superior. Já os valores de  $R_d$  para a posição inferior foram aproximadamente 30% menor do que o valor observado nas folhas de posição superior (Tabela 2).





**Figura 7-** Relação entre fotossíntese (A) e radiação fotossinteticamente ativa (RFA) em folhas de posição superior (círculo aberto, ○) e inferior (círculo fechado, ●). Dados coletados em seis árvores de *Dinizia excelsa* na Amazônia Central.

A eficiência quântica máxima do PS II (relação  $F_v/F_m$ ) não variou entre as posições. As médias de todos os indivíduos foram de 0,77 e 0,75 respectivamente. As médias de  $F_v/F_m$  apresentados neste estudo estão dentro da faixa satisfatória para árvores de dossel. Valores de  $F_v/F_m$  abaixo dos esperados podem indicar a ocorrência de fotoinibição, que é a diminuição da capacidade fotoquímica do PSII. Qualquer fator ambiental ou mesmo endógeno à planta pode reduzir o  $F_v/F_m$  e dessa forma comprometer a assimilação de  $\text{CO}_2$ . O declínio moderado em  $F_v/F_m$  indica que nas árvores estudadas apenas houve fotoinibição dinâmica da fotossíntese (Long *et al.*,

1994). Ou seja, a diminuição dos valores de  $F_v/F_m$  apenas indica que houve fotoproteção do aparato fotossintético. Portanto, pode-se concluir que não houve fotoinibição da fotossíntese em *D. excelsa* durante a coleta dos dados.

Em condições de campo é comum ocorrer fotoinibição dinâmica da fotossíntese, quando a radiação absorvida é maior do que a utilizada nos processos fotoquímicos e geralmente coincide com o período do dia em que as trocas gasosas são menores devido à redução de  $g_s$  em resposta ao aumento do DPV (Critchley, 1998; Ribeiro, 2006). Essa fotoinibição é reversível e não causa danos irreparáveis no PSII. Por outro lado, plantas sob estresse hídrico severo com assimilação de  $CO_2$  nula ou próxima a zero sob radiação elevada podem sofrer fotoinibição crônica, em que a perda prolongada da funcionalidade do PSII, a qual leva vários dias para se recuperar.

Tabela 2. Fotossíntese máxima ( $A_{max}$ ) e potencial ( $A_{pot}$ ), respiração ( $R_d$ ) e irradiância de saturação a luz ( $I_s$ )

Parâmetro	*	Posição Superior	Posição Inferior
$A_{max}$ ( $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ )	Sem	6,25Aa	6,14Aa
	Com	6,14Aa	6,17Aa
$A_{pot}$ ( $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ )	Sem	22,6Aa	18,7Ba
	Com	20,7Aa	16,8Aa
Respiração ( $R_d$ ) ( $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ )	Sem	1,87 Aa	1,35 Aa
	Com	1,85 Aa	1,35 Aa
$I_s$ ( $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ )	Com	1000A	1000A
	Sem	1000A	1000A

\* Sem correção (S) e Com correção (C).

Médias seguidas pela mesma letra (colunas para ambiente e linhas para correção da fotossíntese) não diferem ao nível 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

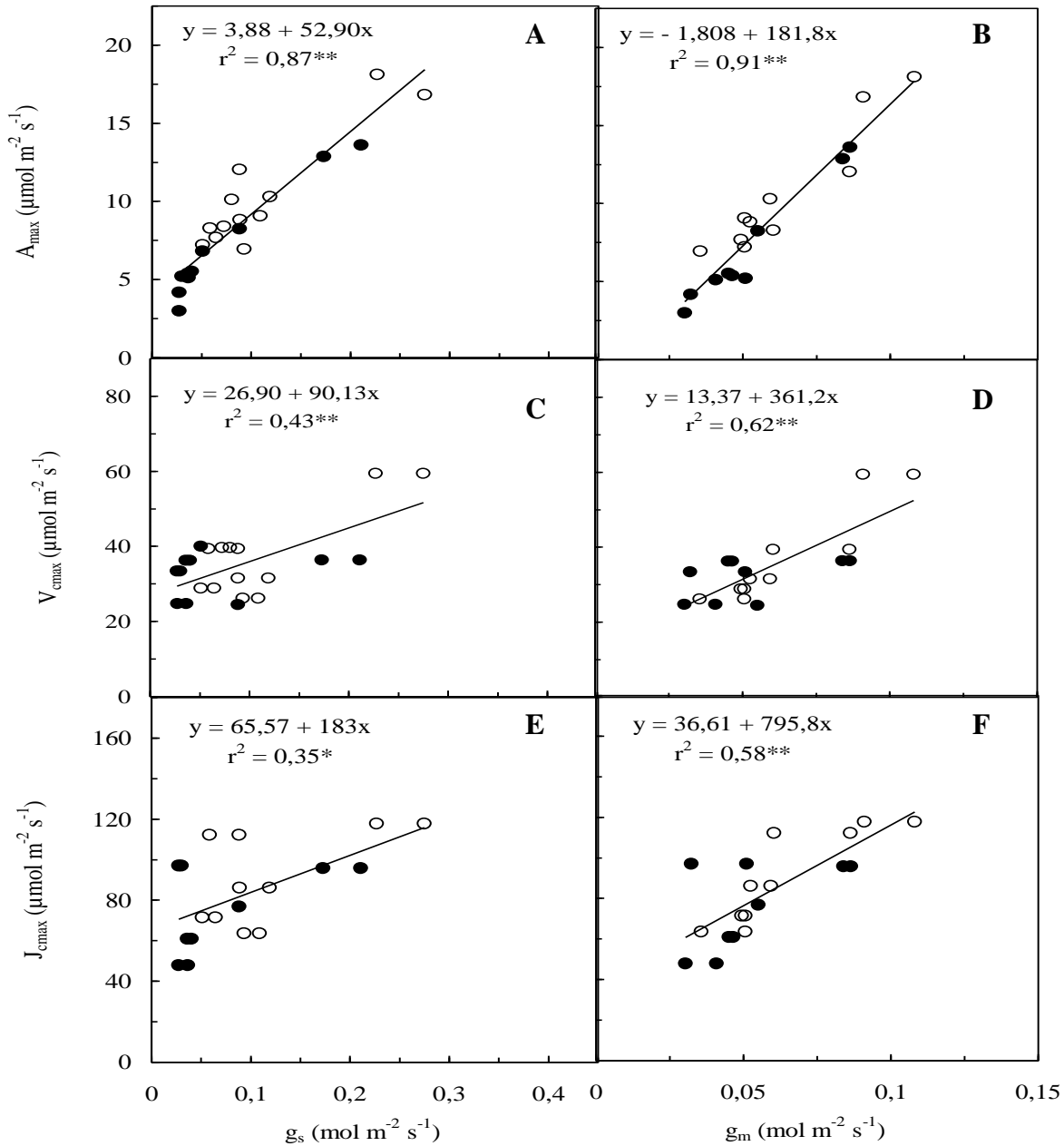
### 5.6. Efeito de $g_s$ e $g_m$ na capacidade fotossintética da planta

Em concentração ambiente de  $CO_2$  ( $380 \mu\text{mol mol}^{-1}$ ) houve uma estreita relação entre  $A_{max}$  e  $g_s$  ( $y = 3,52 + 46,959x$ ,  $r^2 = 0,76^{**}$ ) e  $g_m$  ( $y = -1,570 + 157,39x$ ,  $r^2 = 0,80^{**}$ ) (Figura 8A-B). As correlações positivas entre  $A$ - $g_s$  e  $A$ - $g_m$  indicam que a difusão do  $CO_2$  do ar externo até o sítio de carboxilação, no estroma, através dos estômatos e do mesofilo, afetou a fotossíntese.

Esse movimento pode ser descrito pela primeira lei de Fick, como:  $A = g_s(C_a - C_i) = g_m(C_i - C_c)$ , onde  $C_a$ ,  $C_i$  e  $C_c$  indicam a concentração de  $\text{CO}_2$ , respectivamente no ar, na cavidade subestomática e no estroma do cloroplasto (Long e Bernacchi, 2003). Sabe-se que as resistências estomáticas e mesofílicas ao fluxo de  $\text{CO}_2$  são responsáveis por aproximadamente 40% da limitação da fotossíntese em plantas bem hidratadas (Epron *et al.*, 1995; Warren *et al.*, 2003; Yamori *et al.*, 2006).

Diversos estudos têm mostrado que há uma estreita relação entre as taxas fotossintéticas medidas em  $[\text{CO}_2]$  ambiente e  $g_s$  (Kumar *et al.*, 1999; Park e Furukawa, 1999; Carswell *et al.*, 2000; Marengo *et al.*, 2006). Assim como  $g_s$ , a condutância do mesofilo ( $g_m$ ) também afeta de maneira significativa a capacidade fotossintética da folha. Também observou-se uma estreita relação entre a velocidade máxima de carboxilação da Rubisco ( $V_{c\text{-max}}$ ) e a taxa máxima de transporte de elétrons ( $J_{\text{max}}$ ) e as condutâncias estomática ( $g_s$ ) e mesofílica (Figura 8C, D, E e F). Nos últimos anos o efeito de  $g_m$  na capacidade fotossintética das plantas tem recebido mais atenção. Park e Furukawa (1999) mostraram que a fotossíntese e a condutância estomática medidas em árvores tropicais diminuíram devido ao aumento do déficit de pressão de vapor (DPV). A redução na condutância estomática em condições de alto DPV sugere que a redução de  $g_s$  é o fator preponderante para a redução da fotossíntese. Com a redução da umidade do ar, os estômatos se fecham para evitar excesso de transpiração (Lange *et al.*, 1971).

A concentração de  $\text{CO}_2$  no cloroplasto ( $C_c$ ) obteve um percentual em torno 50% inferior a concentração observada nos espaços intercelulares (Tabela 1). Esse declínio nos em  $C_c$  é decorrente da condutância mesofílica ( $g_m$ ), que é responsável pelas barreiras interna que dificultam a passagem do  $\text{CO}_2$  ao sítio de carboxilação no cloroplasto (Warren, 2008a). A maior resistência à difusão interna do  $\text{CO}_2$  parece estar relacionada às membranas plasmáticas e às do cloroplasto (Warren, 2008b). De acordo com Bernacchi *et al.* (2002), fatores enzimáticos ou proteínas ligadas ao transporte de  $\text{CO}_2$  presentes nas membranas das células e do cloroplasto estariam relacionados à  $g_m$ . Possivelmente a difusão do  $\text{CO}_2$  através dessas membranas esteja relacionada às aquaporinas e anidrase carbônica (Bernacchi *et al.*, 2002; Flexas *et al.*, 2008; Warren, 2008b). Entretanto, algumas espécies parecem não mostrar relação direta entre  $g_m$  e a anidrase carbônica, apresentando um comportamento dependente da espécie (Flexas *et al.*, 2008). Gillon e Yakir (2000) sugeriram que a importância da anidrase carbônica na difusão de  $\text{CO}_2$  é maior em espécies lenhosas, em que  $g_m$  é baixo devido às propriedades estruturais das folhas.



**Figura 8.** Fotossíntese saturada por luz ( $A_{\max}$ ), velocidade máxima de carboxilação da Rubisco ( $V_{c\max}$ ) e a taxa máxima de transporte de elétrons ( $J_{\max}$ ) em função da condutância estomática ( $g_s$  – A, C e E) e condutância do mesofilo ( $g_m$  – B, D e F) em posição superior (círculo aberto,  $\circ$ ) e inferior (círculo fechado,  $\bullet$ ). Dados coletados em seis árvores de *Dinizia excelsa* na Amazônia Central. Condições dentro da câmara foliar: irradiância de  $1500 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  e  $\text{CO}_2$   $380 \mu\text{mol mol}^{-1}$ , Valores de  $J_{\max}$  e  $V_{c\max}$  calculados a  $25^\circ\text{C}$ . \*\*: significativo a 1% de probabilidade.

### 5.7. Características foliares

Para espessura da folha e teor relativo de clorofila (valores do SPAD) houve efeito significativo ( $p < 0,05$ ) da posição (inferior e superior). Não houve diferença significativa ( $p > 0,05$ ) para a eficiência quântica máxima fotoquímica ( $F_v/F_m$ ), área foliar específica (AFE) e teores absolutos de clorofila ( $a$ ,  $b$  e  $a+b$ ) (Tabela 3). A estrutura física da árvore mostra uma copa relativamente aberta, onde os estratos mais inferiores recebem luminosidade tanto quanto no estrato superior (com luz solar plena) o que explicaria a falta de efeito significativo em  $F_v/F_m$ , AFE e teor de clorofila.

O conteúdo de clorofila total oscilou entre 372 e 2,08 mg m<sup>-2</sup> (MF) (posição superior) e 314 e 2,18 mg g<sup>-1</sup> (MF) (posição inferior) para os conteúdos por área (mg m<sup>-2</sup>) e matéria fresca (MF), respectivamente (Tabela 3). Em geral, plantas que crescem sob baixa luminosidade possuem maior AFE em relação a plantas expostas a altos níveis de luminosidade. Isso ocorre porque a folha tende a expandir sua área para otimizar a absorção de luz, tornando-se menos espessa (Boardmann 1977; Oguchi *et al.*, 2005). A média dos valores de clorofila total foi de 440,9 mg m<sup>-2</sup> e 2,13 mg g<sup>-1</sup>, a AFE de 7,78 m<sup>2</sup> kg<sup>-1</sup> e a  $F_v/F_m$  de 0,76, confirmando que a copa é bem iluminada, que de modo geral a folha da posição superior tem as mesmas características da folha de posição inferior.

**Tabela 3.** Variação interespecífica nos valores de área foliar específica (AFE), relação Fv/Fm, espessura da folha, valores do SPAD, e teores absolutos de clorofilas (a, b e a+b) em folhas de posição superior e inferior de *Dinizia excelsa*. Dados coletados em 2010. Cada valor corresponde a média de seis árvores.

Parâmetro	Superior	Inferior
AFE (m <sup>2</sup> kg <sup>-1</sup> )	7,99A	7,58A
F <sub>v</sub> /F <sub>m</sub>	0,75A	0,77A
Espessura da folha (mm)	0,19A	0,16B
SPAD (sem unidades)	69,5A	57,0B
Clolofila <i>a</i> (mg m <sup>-2</sup> )	372,9A	314,3A
Clolofila <i>a</i> (mg g <sup>-1</sup> MF)	1,68A	1,64A
Clolofila <i>b</i> (mg m <sup>-2</sup> )	104,2A	106,1A
Clolofila <i>b</i> (mg g <sup>-1</sup> MF)	0,47A	0,54A
Clolofila <i>a+b</i> (mg m <sup>-2</sup> )	461,5A	420,3A
Clolofila <i>a+b</i> (mg g <sup>-1</sup> MF)	2,08A	2,18A

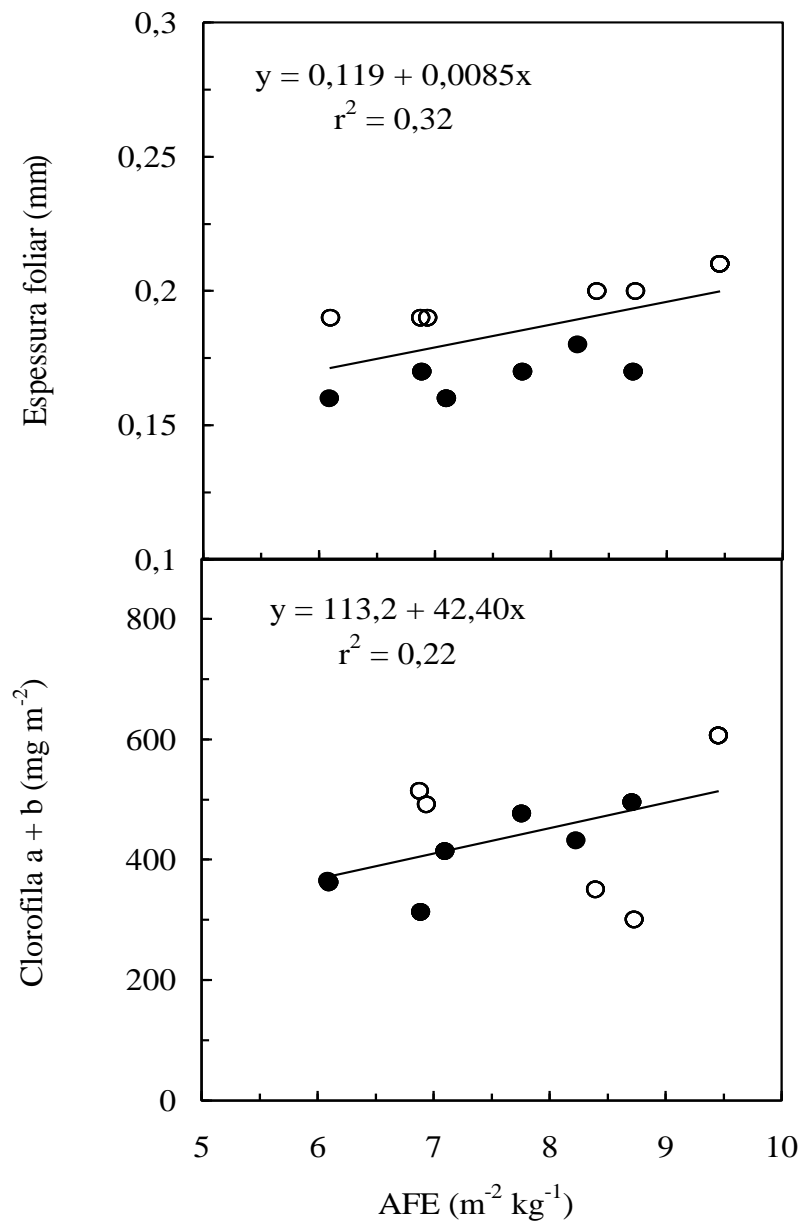
Médias nas linhas seguidos pela mesma letra não diferem ao nível 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

### 5.7.1. Área foliar específica

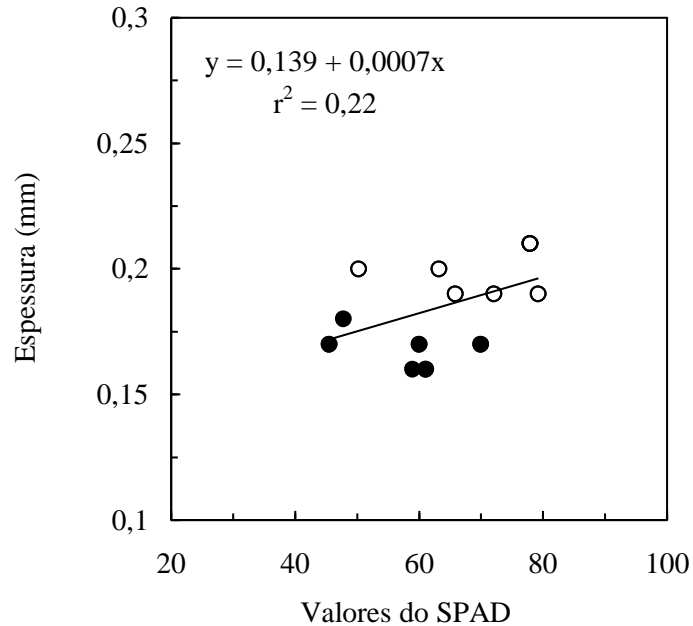
A área foliar específica (AFE) foi positivamente correlacionada ( $p \leq 0,05$ ) com a espessura da folha e com o teor absoluto de clorofila *a+b* por área (Figura 9). O aumento da AFE normalmente está relacionado com a diminuição da espessura da folha e os conteúdos de clorofila e nitrogênio. Assim, os resultados apresentados neste estudo divergem do padrão encontrado por outros estudos, onde existe uma relação negativa entre a área foliar específica (AFE) e espessura foliar (Evans, 1983; Reich *et al.*, 1992, 1999; Poorter e Evans, 1998).

Mendes e Marengo (2010) avaliando a relação entre fotossíntese (por unidade de massa) e AFE em espécies florestais da Amazônia Central, encontraram uma relação positiva. AFE normalmente declinam com a longevidade da folha, ou seja, folhas de vida mais curta tem no geral folhas mais finas (Wright *et al.* 2004).

Folhas mais finas possuem menor teor de clorofila por unidade de área, e conseqüentemente menor valores SPAD (Marenco *et al.*, 2009). Neste estudo, a relação significativa entre espessura da folha e os valores do SPAD (Figura 10) corroboram a relação observada por outros autores em espécies florestais (Marenco *et al.*, 2009) e para *Citrus* (Jifon *et al.*, 2005).



**Figura 9** - Relação entre espessura da folha, clorofila  $a+b$  e área foliar específica (AFE) nas folhas de posição superior (círculo aberto, ○) e inferior (círculo fechado, ●). Dados coletados em seis árvores de *Dinizia excelsa* na Amazônia Central.



**Figura 10** - Relação entre espessura da folha e os valores do SPAD em folhas de posição superior (círculo aberto, ○) e inferior (círculo fechado, ●). Dados coletados em seis árvores de *Dinizia excelsa* na Amazônia Central.

## 6. CONCLUSÃO

- Em árvores de dossel de *Dinizia excelsa* as folhas de posição inferior tem características similares às folhas da parte superior da copa, indicando que pelo menos nas árvores estudadas, a copa tem abertura suficiente para permitir boa iluminação na parte interior.
- Embora a diferença entre os parâmetros corrigidos e não corrigidos quanto ao vazamento não tenha apresentado diferença estatística, sugere-se confirmar sempre que as características da folha (espessura das nervuras) não causem perdas significativas de CO<sub>2</sub> da câmara foliar.
- O fator limitante da fotossíntese em níveis CO<sub>2</sub> do ambiente (CO<sub>2</sub> no ar de 380 μmol mol<sup>-1</sup>), independente da posição (superior ou inferior), foi a velocidade de carboxilação da



Rubisco e em alta  $[\text{CO}_2]$  o fator limitante da fotossíntese foi o transporte de elétrons, que mostram que, a fotossíntese é mais comumente limitada pela atividade da Rubisco.

- $g_m$  apresentou-se tão importante quanto  $g_s$ , sendo uma limitação importante aos parâmetros ligados à fotossíntese.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Arnon, D.I. 1949. Copper enzymes in isolated chloroplasts: Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. *Plant Physiology*, 24: 1-15.
- Bauermann, G. 2009. Medição de área foliar, *Image Survey – Processamento de Imagens na Prática*. acessado em abril de 2011. <http://www.imagesurvey.com.br/2009/02/tutorial-imagej-medicao-de-area-foliar/>
- Bazzaz, F.A.; Carlson, R.W. 1982. Photosynthetic acclimation to variability in the light environment of early and late successional plants. *Oecologia*, 54: 313-316.
- Bernacchi, C.J.; Portis, A.R.; Nakano, H.; von Caemmerer, S.; Long, S.P. 2002. Temperature response of mesophyll conductance. Implications for the determination of Rubisco enzyme kinetics and for limitations to photosynthesis in vivo. *Plant Physiology*, 130: 1992-1998.
- Björkman, O. 1981. Responses to different quantum flux densities. *in*: Large, O. L., Nobel, P. S.; Osmond, C.B.; Ziegler, H. *Physiological Plant Ecology*. Springer-Verlag, New York, p.559.
- Boardman, N.K. 1977. Comparative photosynthesis of sun and shade plants. *Annual Review of Plant Physiology*, 28: 355-377.
- Bowes, G. 1991. Growth at elevated CO<sub>2</sub>: photosynthetic responses mediated through Rubisco. *Plant Cell and Environment*, 14 : 795- 806.
- Caemmerer, S. von; Farquhar, G. D. 1981. Some relationships between the biochemistry of photosynthesis and the gas exchange of leaves. *Planta*, 153: 376-387.
- Caemmerer, S. von. 2000. *Biochemical models of leaf photosynthesis*. CSIRO Publishing, Camberra, 165 p.
- Carswell, F.E.; Meir, P.; Wandelli, E.V.; Bonates, L.C.M.; Kruijt, B.; Barbosa, E.M.; Nobre, A. D.; Grace J.; Jarvis, P.G. 2000. Photosynthetic capacity in a central Amazonian rain forest. *Tree Physiology*. 20:179–186.
- Chazdon, R.L.; Fetcher, N. 1984. Photosynthetic light environment in a lowland tropical rain forest in Costa Rica. *Journal of Ecology*, 72 : 553-564.
- Cheng L.; Fuchigami L.H. 2000. Rubisco activation state decreases with increasing nitrogen content in apple leaves. *Journal of Experimental Botany*, 51: 1687-1694.

- Choudhry, N.K.; Behera, R.K. 2001. Photoinhibition of photosynthesis: role of carotenoids in photoprotection of chloroplast constituents. *Photosynthetica*, 39: 481- 488.
- Corrêa, I.J. 2004. *Plasticidade fenotípica em indivíduos jovens de Aloysia virgata (Ruiz et Pav.) A. L. Juss – Verbenaceae*. Dissertação de Mestrado, UFSCAR, São Carlos, São Paulo, 58p.
- Nascimento, H.C. 2009. Influência da luminosidade do sub-bosque no crescimento e características foliares de espécies arbóreas da Amazônia na fase juvenil. Dissertação de Mestrado. INPA, Manaus 71p.
- Critchley, C. 1998. Photoinhibition. *in*: Raguavendra, A.S. (Ed.). *Photosynthesis: a comprehensive treatise*. Cambridge, England: Cambridge University Press, 264-272.
- Dale, J.E. 1988. Control of leaf expansion. *Annual Review of Plant Physiology*, 39: 267–295.
- De Pury, D.G.G.; Farquhar, G.D. 1997. Simple scaling of photosynthesis from leaves to canopies without the errors of big-leaf models models. *Plant Cell and Environment*, 20:537-557.
- Demmig-Adams, B., Adams, W.W.III. 1992. The xanthophyll cycle. *in*: *Carotenoids in Photosynthesis*, ed. A. Young, G. Britton. Berlin/Heidelberg: Springer.
- Di Marco, G.; Manes, F.; Tricoli, D.; Vitale, E. 1990. Fluorescence parameters measured concurrently with net photosynthesis to investigate chloroplastic CO<sub>2</sub> concentration in leaves of *Quercus ilex* L. *Journal of Plant Physiology*, 136: 358–543.
- Dias, D.P.; Marengo, R.A. 2006. Photoinhibition of photosynthesis in *Mimosa guianensis* and *Swietenia macrophylla* inferred by monitoring the initial fluorescence. *Photosynthetica*, 44 : 235-240.
- Dias, D. P., 2009. *Fotossíntese e crescimento em diâmetro de árvores em função da precipitação e da temperatura numa floresta primária da Amazônia Central*. Tese de doutorado, Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Manaus, 123p.
- Dick C.W. 2001a. Genetic rescue of remnant tropical trees by an alien pollinator. *Proceedings of the Royal Society of London B* 268: 2391–2396.
- Dick, C.W. 2001b. Habitat change, African honeybees and fecundity in the Amazonian tree *Dinizia excelsa* (Fabaceae). *in*: *Lessons from Amazonia: the ecology and conservation of a fragmented tropical forest* (ed. R. O. Bierregaard, C. Gascon, T. E. Lovejoy; R. Mesquita), New Haven, CT: Yale University Press, 146-157.
- Dickison, W.C. 2000. Integrative plant anatomy. Academic Press, San Diego. 533p.

- Dixon, R.K.; Meldahl, R.K.; Ruark, G.A.; Warren, W.G. 1990. *Process modeling of forest growth responses to environmental stress*. Portland: Timber Press. 441p.
- Drake, B.G.; González-Meler, M.A.; Long, S.P. 1997. More efficient plants: a consequence of rising atmospheric CO<sub>2</sub>? *Annual Review of Plant Physiology and Molecular Biology* 48: 609-639.
- Ehleringer, J.R.; Osmond, C.B., Stable isotopes. *in*: Pearcy, R.W.; Ehleringer, J.R.; Mooney, H.A.; Rundel, P.W. *Plant Physiological Ecology: Field Methods and Instrumentation*. Chapman e Hall, London. pp. 281-300. In 1989; p 457p.
- Epron, D., Godard, D., Cornic, G.; Genty, B. 1995. Limitation of net CO<sub>2</sub> assimilation rate by internal resistance to CO<sub>2</sub> transfer in the leaves of two tree species (*Fagus sylvatica L.*; *Castanea sativa Mill.*). *Plant, Cell and Environment*, 18: 43–51.
- Evans, L.T. 1982. Photosynthetic activity and partitioning, p.324-356. *in* Shemilt, L.W. (ed). *Chemistry and world food supplies: The New Frontiers-Pergamon*, New York.
- Evans J.R., Poorter H. 2001. Photosynthetic acclimation of plants to growth irradiance: the relative importance of specific leaf area and nitrogen partitioning in maximizing carbon gain. *Plant Cell and Environment* 24:755–767.
- Evans J.R.; Sharkey T.D.; Berry J.A.; Farquhar G.D. 1986. Carbon isotope discrimination measured concurrently with gas exchange to investigate CO<sub>2</sub> diffusion in leaves of higher plants. *Australian Journal of Plant Physiology* 13, 281–292.
- Evans J.R.; Terashima I. 1988. Photosynthetic characteristics of spinach leaves grown with different nitrogen treatment. *Plant Cell Physiology*, 29:157-165.
- Evans, J.R.; von Caemmerer, S. 1996. Carbon dioxide diffusion inside leaves. *Plant Physiology*, 110: 339–346.
- Falkowski, P.; Scholes, R.J.; Boyle, E.; Canadell, J.; Canfield, D.; Elser, J.; Gruber, N.; Hibbard, K.; Hogberg, P.; Linder, S.; Mackenzie, F.T.; Moore III, B.; Pedersen, T.; Rosental, Y.; Seitzinger, S.; Smetacek, V.; Steffen, W. 2000. The global carbon cycle: A test of our knowledge of earth as a system. *Science* 290: 291-296
- Farquhar G.D.; von Caemmerer, S.; Berry, J.A. 1980. A biochemical model of photosynthetic CO<sub>2</sub> assimilation in leaves of C<sub>3</sub> species. *Planta*, 149: 78–90 .
- Ferraz, J.; Ohta, Salles, P.C. 1998. Distribuição dos solos ao longo de dois transectos em floresta primária ao norte de INPA, Manaus, AM. *in*: Higuchi, N., Campos, M.A.A., Sampaio, P.T.B.,

dos Santos, J. (Eds), *Pesquisas Florestais para conservação da floresta e reabilitação de áreas degradadas da Amazônia*, 111-143.

Flexas J., Bota J., Loreto F., Cornic G.; Sharkey T.D. 2004. Diffusive and metabolic limitations to photosynthesis under drought and salinity in C<sub>3</sub> plants. *Plant Biology* 6, 269–279.

Flexas, J.; Díaz-Espejo, A.; Berry, J. A.; Cifre, J.; Galmés, J.; Kaldenhoff, R.; Medrano, H.; e Ribas-Carbó, M. 2007a. Analysis of leakage in IRGA's leaf chambers of open gas exchange systems: quantification and its effects in photosynthesis parameterization. *Journal of Experimental Botany*. 58(6): 1533-1543

Flexas, J.; Ribas-Carbo, M.; Diaz-Espejo, A., Galmés, J.; Medrano, H. 2007b. Rapid variations of mesophyll conductance in response to changes in CO<sub>2</sub> concentration around leaves. *Plant, Cell and Environment*, 30: 1284–1298.

Flexas J, Ribas-Carbo M, Diaz-Espejo A, Galmés J, Medrano H. 2008. Mesophyll conductance to CO<sub>2</sub>: current knowledge and future prospects. *Plant, Cell and Environment* 3: 602–612.

Gillon, J.S.; Yakir, D. 2000. Naturally low carbonic anhydrase activity in C<sub>4</sub> and C<sub>3</sub> plants limits discrimination against C<sup>18</sup>OO during photosynthesis. *Plant Cell and Environment* 23: 903-915.

Gifford R.M.; Evans L.T. 1981. Photosynthesis, carbon partitioning, and yield. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 32, 485–509.

Givnish, T.J. 1988. Adaptation to sun and shade: a whole-plant perspective. *Australian Journal of Plant Physiology*. 15: 63-92.

Griffin, K.L. e Seemann, J. 1996. Plants, CO<sub>2</sub> and photosynthesis in the 21<sup>st</sup> century. *Chemistry and Biology* 3: 245-254.

Hanba Y.T.; Miyazawa S.I.; Terashima I. 1999. The influence of leaf thickness on the CO<sub>2</sub> transfer conductance and leaf stable carbon isotope ratio for some evergreen tree species in Japanese warm temperate forests. *Functional Ecology* 13, 632–639.

Harley, P.C.; Loreto, F.; Di Marco, G.; Sharkey, T.D. 1992. Theoretical considerations when estimating the mesophyll conductance to CO<sub>2</sub> flux by analysis of the response of photosynthesis to CO<sub>2</sub>. *Plant Physiology*, 98:1429–1436.

Higuchi, N; Santos, J.; Ribeiro, R.J.; Freitas, J.V.; Vieira, G.; Coic, A.; Minette, L.J. 1997. Crescimento e incremento de uma floresta amazônica de terra-firme manejada experimentalmente. in: *Biomassa de nutrientes florestais*. INPA/DFID, 89-132.

- Hopkins, M.J.G., Ferreira, G.C., Secco, R.S. 2004. Contribuição ao conhecimento morfológico das espécies de Leguminosae comercializadas no estado do Pará, como angelim. *Acta Amazonica*, Manaus, 34: 219-232.
- Jifon, J.L.; Syvertsen, J.P.; Whaley, E. 2005. Growth environment and leaf anatomy affect nondestructive estimates of chlorophyll and nitrogen in Citrus sp. leaves. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 130:152–158.
- Jones, R.H.; McLeod, K.W. 1990. Growth and photosynthetic responses to a range of light environments in Chinese tallowtree and Carolina ash seedlings. *Forest Science*, 36, 851–862.
- Kattge J.; Knorr W. 2007. The temperature dependence of photosynthetic capacity in a photosynthesis model acclimates to plant growth temperature: a re-analysis of data from 36 species. *Plant Cell and Environment*, 30:1176-1190.
- Kitao, M.; Lei, T.T.; Koike, T.; Tobita, H.; Maruyama, Y. 2000. Susceptibility to photoinhibition of three deciduous broadleaf tree species with different successional traits raised under various light regimes. *Plant Cell and Environment*, 23:81-89.
- Körner, C. 2003. Ecological impacts of atmospheric CO<sub>2</sub> enrichment on terrestrial ecosystems. *Philosophical Transactions of the Royal Society Series A*. 361: 2023-2041.
- Krause, G.H.; Weis, E. 1991. Chlorophyll fluorescence and photosynthesis: the basics. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 42:313-349.
- Kruger, E.L.; Volin, J.C. 2006. In Reexamining the empirical relation between plant growth and leaf photosynthesis, *Csiro Publishing*: 421-429.
- Kumar, A.; Turner, N.C.; Singh, D.P.; Singh, P.; Barr, M. 1999. Diurnal and seasonal patterns of water potential, photosynthesis, evapotranspiration and water use efficiency of clusterbean. *Photosynthetica*, 37:601-607.
- Lange, O.L.; Losch, R.; Schulze, E.D.; Kappen, L. 1971. Responses of stomata to changes in humidity. *Planta* 100, 76–86.
- Lin, M.J.; Hsu, B.D. 2004. Photosynthetic plasticity of *Phalaenopsis* in response to different light environments. *Journal of Plant Physiology*. 161: 1259-68.
- Lloyd, J. e Farquhar, G.D. 2008. Effects of rising temperatures and [CO<sub>2</sub>] on the physiology of tropical forest trees. *Philosophical Transactions of the Royal Society Series B*, 363:1811-1817.

- Lloyd, J.; Syvertsen, J.P.; Kriedemann, P.E.; Farquhar, G.D. 1992. Low conductance for CO<sub>2</sub> diffusion from stomata to the sites of carboxylation in leaves of woody species. *Plant, Cell and Environment*, 15: 873-899.
- Long, S.P.; Bernacchi, C. J. 2003. Gas exchange measurements, what can they tell us about the underlying limitations to photosynthesis? Procedures and sources of error. *Journal of Experimental Botany*, 54:2393-2401.
- Long, S.; Hunphries, S.; Falkowski, P. 1994. Photoinhibition of photosynthesis in nature. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 45:633-662.
- Machado, E.C.; Schmidt, P.T.; Medina, C.L.; Ribeiro, R.V. 2005. Respostas da fotossíntese de três espécies de citros a fatores ambientais. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, 40: 161-1170.
- Manter, D.K.; Kerrigan, J. 2004. A/C<sub>i</sub> curve analysis across a range of woody plant species: influence of regression analysis parameters. *Journal of Experimental Botany*, 55: 2581-2588.
- Marenco, R.A.; Lopes, N.F. 2009. *Fisiologia vegetal. Fotossíntese, respiração, relações hídricas e nutrição mineral*. 3ª ed, Viçosa: UFV, 486p.
- Marenco, R.A.; Goncalves, J.F.C.; Vieira, G. 2001. Leaf gas exchange and carbohydrates in tropical trees differing in successional status in two light environments in central Amazonia. *Tree Physiology*, 21:1311-1318.
- Marenco, R.A.; Goncalves, J.F.C.; Vieira, G. 2001. Photosynthesis and leaf nutrient contents in *Ochroma pyramidale* (Bombacaceae). *Photosynthetica*, 39: 539-543.
- Marenco, R.A.; Siebke, K.; Farquhar, G. D.; Ball, M. C. 2006. Hydraulically based stomatal oscillations and stomatal patchiness in *Gossypium hirsutum*. *Functional Plant Biology*, 33:1103-1113.
- Marenco, R.A. ; Vieira, G. 2005. Specific leaf area and photosynthetic parameters of tree species in the forest understorey as a function of the microsite light environment in Central Amazonia. *Journal of Tropical Forest Science*, 17: 265-278.
- Maxwell, K.; Johnson, G.N. 2000. Chlorophyll fluorescence – a practical guide. *Journal of Experimental Botany*, 51:659-668.
- Medlyn, B.E.; Badeck, F.W.; de Pury, D.G.G.; Barton, C.V.M.; Broadmeadow, M.; Ceulemans, R.; de Angelis, P.; Forstreuter, M.; Jach, M.E.; Kellomaki, S.; Laitat, E.; Marek, M.; Philippot, S.; Rey, A.; Strassemeier, J.; Laitinen, K.; Liozon, R.; Portier, B.; Roberntz, P.; Wang, K.; Jarvis,

- P.G. 1999. Effects of elevated [CO<sub>2</sub>] on photosynthesis in European forest species: a meta-analysis of model parameters. *Plant Cell and Environment*, 22:1475-1495.
- Mendes, K.R.; Marengo, R. A. 2010. Leaf traits and gas exchange in saplings of native tree species in the Central Amazon. *Scientia Agricola*, 67:624-632.
- Mesquita, M.R.; Ferraz, I.D.K. ; Camargo, J. L. C. 2007. *Dinizia excelsa* Ducke: Morfologia externa de frutos e sementes e mudança foliar da plântula à árvore. *Revista Brasileira de Biociências*, 5: 483-485.
- Miranda, E.J.; Vourlitis, G.L.; Priante Filho, N; Priante, P.C; Campelo Jr, J.H; Suli, G.S.; Fritzen, C.L.; Lobo, F.A.; Shiraiwa, S. 2005. Seasonal variation in the leaf gas exchange of tropical forest trees in the rain forest–savanna transition of the southern Amazon Basin. *Journal of Tropical Ecology*, 21:451–460.
- Müller, P.; Li, X.P.; Niyogi, K.K. 2001. Non-photochemical quenching. A response to excess light energy. *Plant Physiology*, 125:1558-1566.
- Ögren, E. 1993. Convexity of the photosynthetic light-response curve in relation to intensity and direction of light during growth. *Plant Physiology*, 101: 1013–1019.
- Oguchi, R.; Hikosaka, K.; Hirose, T. 2005. Leaf anatomy as a constraint for photosynthetic acclimation: differential responses in leaf anatomy to increasing growth irradiance among three deciduous trees. *Plant, Cell and Environment*.28: 916-927.
- Park, S.Y.; Furukawa, A., 1999. Photosynthetic and stomatal responses of two tropical and two temperate trees to atmospheric humidity. *Photosynthetica*, 36:181-186.
- Pastenes, C.; Santa-Maria, E.; Infante, R.; Franck, N. 2003. Domestication of the Chilean guava (*Ugni molinae* Turcz.), a forest understorey shrub, must consider light intensity. *Scientia Horticulturae*, 98: 71-84.
- Pearcy, R.W.; Pfitsch, W.A. 1991. Influence of sunflecks on the d<sup>13</sup>C of *Adenocaulon bicolor* plants occurring in contrasting forest understory microsites. *Oecologia*, 86: 457-462.
- Poorter, L. 1999. Growth responses of 15 rain-forest tree species to a light gradient: the relative importance of morphological and physiological traits. *Functional Ecology*, 13:396-410.
- Poorter, L. 2001 Light-dependent changes in biomass allocation and their importance for growth of rain forest tree species. *Functional Ecology*, Londres, 15: 113-123.
- Poorter, H.; Evans, J.R. 1998. Photosynthetic nitrogen-use efficiency of species that differ inherently in specific leaf area. *Oecologia*, 116: 26-37.



- Reich, P.B.; Ellsworth, D. S.; Walters, M. B.; Vose, J. M.; Gresham, C.; Volin, J. C.; Bowman, W. 1999. Generality of leaf trait relationships: A test across six biomes. *Ecology*, 80: 1955-1969.
- Reich, P. B.; Walters, M. B.; Ellsworth, D.S. 1992. Leaf lifespan in relation to leaf, plant and stand characteristics among diverse ecosystems. *Ecological Monographs*, 62:365-392.
- Ribeiro, R.V.; Lyra, G.B.; Santiago, A.V.; Pereira, A.R.; Machado, E.C.; Oliveira, R.F. 2006. Diurnal and seasonal patterns of leaf gas exchange in bahiagrass (*Paspalum notatum* Flüge) growing in a subtropical climate. *Grass and Forage Science*, 61, (3): 293-303.
- Salisbury, F.B.; Ross, C.W. 1992. *Plant Physiology*, 4ª ed. Wadsworth Publishing, Belmont, CA , 682pp.
- Sellers P.J.; Dickinson R.E.; Randall D.A. 1997. Modeling the exchanges of energy, water, and carbon between continents and the atmosphere. *Science*, 275: 502–509.
- Stitt, M. 1991. Rising CO<sub>2</sub> levels and their potential significance for carbon flow in photosynthetic cells. *Plant, Cell and Environment*, 14: 741-762.
- Tribuzy, E. S. 2005. *Variações da temperatura foliar do dossel e o seu efeito na taxa Assimilatória de CO<sub>2</sub> na Amazônia Central*. Tese de Doutorado, Universidade de São Paulo, São Paulo.
- Veríssimo, A.; Amaral, P. 1996. A exploração madeireira na Amazônia: situação atual e perspectivas. *Cadernos de propostas*, 3: 9-16.
- Villar R. ; Hield, A. A.; Merino, J. 1994. Comparison of methods to estimate dark respiration in the light in leaves of two woody species. *Plant physiology*, 105: 167-172.
- Vogelmann, T. C.; Nishio, J. N.; Smith, W. K. 1996. Leaves and light capture: light propagation and gradients of carbon fixation within leaves. *Trends in Plant Science*, 2: 65-70.
- Warren, C. R.; Adams, M. A. 2001. Distribution of N, Rubisco and photosynthesis in *Pinus pinaster* and acclimation to light. *Plant, Cell and Environment*, 24: 597-609.
- Warren, C.R.; Ethier, G.J.; Livingstone, N.J.; Grant, N.J; Turpin, D.H.; Harrison, D.L.; Black, T.A. 2003. Transfer conductance in second growth Douglas-fir (*Pseudotsuga menziesii* (Mirb.) Franco) canopies. *Plant, Cell and Environment*, 26: 1215–1227.
- Warren, C.R. 2008a. Stand aside stomata, another actor deserves centre stage: the forgotten role of the internal conductance to CO<sub>2</sub> transfer. *Journal of Experimental Botany*, 59: 1475-1487.
- Warren C.R. 2008b. Does growth temperature affect the temperature response of photosynthesis and internal conductance to CO<sub>2</sub>? A test with *Eucalyptus regnans*. *Tree Physiology* 28, 11–19.

- Watson, D.J. 1947. Comparative physiological studies on growth of field crops: I. Variation in net assimilation rate and leaf area between species and varieties, and within and between years. *Annals of Botany*, 11: 41-76.
- Wright, I.J.;Reich, P.B.;Westoby, M.;Ackerly, D.D.;Baruch, Z.;Bongers, F.;Cavender-Bares, J.;Chapin, T.;Cornelissen, J. H. C.;Diemer, M.;Flexas, J.;Garnier, E.;Groom, P. K.;Gulias, J.;Hikosaka, K.;Lamont, B. B.;Lee, T.;Lee, W.;Lusk, C.;Midgley, J. J.;Navas, M. L.;Niinemets, U.;Oleksyn, J.;Osada, N.;Poorter, H.;Poot, P.;Prior, L.;Pyankov, V. I.;Roumet, C.;Thomas, S. C.;Tjoelker, M. G.;Veneklaas, E. J.;Villar, R. 2004. The worldwide leaf economics spectrum. *Nature*, 428:821-827.
- Wullschlegel, S.D. 1993. Biochemical limitations to carbon assimilation in C<sub>3</sub> plants - a retrospective analysis of the A/C<sub>i</sub> curves from 109 species. *Journal of Experimental Botany*, 44:907-920.
- Yamori, W.; Noguchi, K.; Hanba, Y. T.; Terashima, I. 2006. Effects of internal conductance on the temperature dependence of the photosynthetic rate in spinach leaves from contrasting growth temperatures. *Plant and Cell Physiology* 47, 1069–1080.
- Yeoh, H.H.; Badger, M.R.; Watson, L. 1981. Variations in kinetic properties of ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase among plants. *Plant Physiology*. 67:1151- 1155.