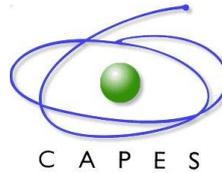




UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE LONDRINA



m e s t r a d o
ciências biológicas
zoologia e botânica

VITÓRIA FERREIRA JAHN

Aspectos ecofisiológicos de *Trichilia elegans* A.Juss. e *Trichilia pallida* Sw. no subosque de uma Floresta Estacional Semidecidual do Sul do Brasil

Londrina – PR
2016

VITÓRIA FERREIRA JAHN

Aspectos ecofisiológicos de *Trichilia elegans* A.Juss. e *Trichilia pallida* Sw. no subosque de uma Floresta Estacional semidecidual do Sul do Brasil

Projeto de pesquisa apresentado ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas, área de concentração em Biodiversidade e Conservação de Habitats Fragmentados, da Universidade Estadual de Londrina (UEL) para obtenção do título de Mestre.

Orientador: Prof. Dr. José Antônio Pimenta

Londrina

2016

Sumário

RESUMO

1	INTRODUÇÃO	1
2	HIPÓTESE	7
3	MATERIAL E MÉTODOS	7
3.1	Área de estudo	7
3.2	Caracterização das espécies	9
3.3	Parâmetros ecofisiológicos analisados	10
3.4	Análises estatísticas	13
4	RESULTADOS ESPERADOS	13
5	CRONOGRAMA	14
6	ORÇAMENTO.....	15
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	15

RESUMO

A compreensão da dinâmica de florestas fragmentadas por intermédio de estudos ecológicos e ecofisiológicos das espécies de plantas arbóreas tem se mostrado importante para dimensionar estratégias de restauração e manejo. Estudos sobre aspectos ecofisiológicos de espécies filogeneticamente próximas podem contribuir na compreensão de fatores que levem a coexistência das plantas, excluindo possíveis interferências genéticas. O metabolismo do nitrogênio e a fotossíntese são dois mecanismos essenciais às plantas que podem competir pelos mesmos recursos energéticos. Um dos fatores que influencia no funcionamento destes mecanismos é a disponibilidade luminosa que varia ao longo do gradiente vertical e horizontal do subosque, influenciando o estabelecimento das diferentes espécies. Considerando que um estudo de arquitetura com as espécies *Trichilia pallida* e *Trichilia elegans* ocorrido no Parque Estadual Mata dos Godoy (PEMG), Paraná, Brasil, ao longo do gradiente vertical e horizontal de luminosidade do subosque da Floresta Estacional Semidecidual (FES) do PEMG, possibilitou inferir que elas ocupam diferentes nichos ecológicos, é possível sugerir que estas também se utilizam de estratégias ecofisiológicas distintas a fim de diminuir a possibilidade de competição. Levantou-se a hipótese de que *Trichilia elegans* e *Trichilia pallida*, (Meliaceae) apresentam mecanismos ecofisiológicos distintos relacionados ao metabolismo do nitrogênio e à fotossíntese, que podem contribuir para o entendimento da coexistência destas espécies no subosque da FES do PEMG. Para isso, nove indivíduos adultos de *T. elegans* e nove indivíduos adultos de *T. pallida* selecionados, serão submetidos a análises *in situ* no subosque da FES do PEMG, e coletadas amostras para testes em laboratório. Todas as avaliações no campo e coleta de material ocorrerão no período matutino, utilizando-se folhas mais jovens completamente expandidas, que não estejam sofrendo sombreamento de uma folha adjacente. Serão analisados os aspectos ecofisiológicos das plantas por meio da determinação da atividade da enzima nitrato redutase, da análise da seiva do xilema, de análises de trocas gasosas e curva de luz, de dosagem de clorofilas e fluorescência da clorofila *a*. Os resultados obtidos podem contribuir para a compreensão dos fatores que levam à coexistência de plantas filogeneticamente próximas e no planejamento de novas ações de manejo e restauração de fragmentos florestais.

Palavras-chave: Meliaceae, *Trichilia*, Metabolismo do Nitrogênio. Fotossíntese.

1 INTRODUÇÃO

A Mata Atlântica é a segunda maior floresta pluvial tropical do continente americano, que originalmente abrangia cerca de 17 estados brasileiros, em especial ao longo da costa, e penetrando até o leste do Paraguai e nordeste da Argentina. A mata cerca de 1,5 milhões de km², destes 92% em área brasileira (Fundação SOS Mata Atlântica & INPE, 2011). Este bioma é composto por um conjunto de formações florestais (Florestas: Ombrófila Densa, Ombrófila Mista, Estacional Semidecidual, Estacional Decidual e Ombrófila Aberta) e ecossistemas associados (Tabarelli *et al.* 2005). Por sua grande riqueza natural e uma elevada biodiversidade, mas que, no entanto, encontram-se ameaçada de extinção, a Mata Atlântica é considerada como um dos 34 hotspots mundiais de biodiversidade (GalindoLeal & Câmara, 2003; Tabarelli *et al.* 2005).

No Estado do Paraná, a Mata Atlântica originalmente abarcava 98% da vegetação (PROBIO 2007), e estima-se que restam cerca de 2% do total de florestas que havia no Norte do Estado (Soares & Medri 2002). A Floresta Estacional Semidecidual é caracterizada pela sazonalidade úmido-seca com estação seca ocorrendo geralmente entre abril e setembro, incluindo o inverno, período em que cerca de até 50% das árvores perdem suas folhas (Velloso *et al.* 1991). A estação úmida ocorre geralmente entre outubro e março, incluindo o verão, que é marcado por precipitação intensa e árvores repletas de folhas (Hernandes *et al.* 2004).

A drástica redução de coberturas vegetais e isolamento destes, com a concomitante substituição por outros tipos vegetais é chamada de fragmentação de habitat (Metzger 2009). Essa fragmentação resulta em grandes alterações na dinâmica dos ecossistemas, com consequente perda de nichos ecológicos, a aceleração na perda da biodiversidade (Metzger 2009), introdução de novos fatores bióticos (Viana, 1998) e abióticos (do Nascimento 2007).

Junto com essas mudanças ambientais, a fragmentação do habitat implica em redução da abundância local de espécies, e um aumento do isolamento entre populações, afetando deste modo, muitos processos ecológicos das populações e comunidades (Rathcke & Jules 1993), assim como fatores genéticos nas plantas (Aizer & Feinsinger 1994).

Estudos em ecofisiologia vegetal vêm mostrando grandes avanços para a base de entendimento sobre a dinâmica de manutenção e recuperação de florestas fragmentadas sobre diferentes abordagens, como o uso de mudas (Cunha *et al.* 2005), ou o estudo em fragmentos com diferentes grupos funcionais (Turnbull 1991; Ribeiro *et al.* 2005).

Ao focar no estudo ecofisiológico de espécies filogeneticamente próximas, nos permite uma maior compreensão das possíveis adaptações que resultaram na coexistência destas espécies, pois partindo de uma mesma ancestralidade, muitas das características ecofisiológicas podem ter advindo de um mesmo fator genético (Rogstad 1989). Estas características podem ajudar na compreensão da coexistência entre estas espécies, porém também podem aumentar a competição pela ocupação de um mesmo nicho dentro do ambiente (Cavender-Bares *et al.* 2004; Cianciaruso, 2009). Sendo assim é possível inferir que a coexistência de espécies filogeneticamente próximas pode ser promovida pela ocupação de nichos diferentes (Cavender-Bares *et al.* 2004).

Fatores filogenéticos podem interferir nos resultados obtidos em estudos fisiológicos, tendo em vista que genes com mesma função podem ter se originado de diferentes mudanças evolutivas em diferentes grupos taxonômicos, sendo assim, a fim de se excluir possíveis interferências resultantes de mudanças ao longo da evolução, um estudo que envolva um mesmo grupo taxonômico possivelmente excluía tais interferências (Yamada *et al.* 2000). Desta forma, é possível de que, as comparações estejam livres de limitações filogenéticas, considerando que se já compartilham de características comuns, por serem filogeneticamente

próximas, o que se mostrar diferente entre elas terá maiores chances de serem de outros fatores que não os genéticos ou advindos de sua ancestralidade (Yamada *et al.* 2000).

Hertel (2014) registrou seis espécies de subosque da família Meliaceae (sendo cinco do gênero *Trichilia*) coabitando a Floresta Estacional Semidecidual (FES) do Parque Estadual Mata dos Godoy (PEMG), e observou que estas espécies apresentaram diferenças na ocupação ao longo do gradiente luminoso tanto vertical quanto horizontal do sub-bosque. Diferenças estas que foram evidenciadas através de estudo acerca da ecologia destas espécies no que diz respeito à arquitetura da copa das árvores em relação à interceptação luminosa ao longo do subosque (Hertel, 2014).

A arquitetura das plantas pode ser interpretada pelas relações quantitativas entre as variáveis de tamanho (Kohyama & Hotta 1990), assim, podemos considerar alometria como a relação entre o tamanho e forma das plantas (Niklas 1994). A alometria pode ser influenciada pelo microambiente e pelo grau de restrição ecológica, além do histórico do crescimento da planta (King 1996, Nishimura & Suzuki 2001), e sua base filogenética (Begon *et al.* 1996), dessa maneira, os indivíduos de plantas variam em sua alometria ao longo de seu desenvolvimento (Niklas 1994).

Em espécies de subosque, a interceptação luminosa é de extrema importância, pois a luz afeta no estabelecimento, desenvolvimento e sobrevivência das plantas (Poorter 2001; Poorter *et al.* 2003), assim estas espécies procuram investir em área de copa, a fim de aumentar a interceptação luminosa (Aiba & Nakashizuka 2009), e considerando a base filogenética para a determinação alométrica, diferentes espécies apresentarão diferentes arquiteturas (Begon *et al.* 1996).

As espécies de subosque da família Meliaceae do gênero *Trichilia* apresentaram diferenças nas arquiteturas de dossel e por consequência, na interceptação e estratégias de captação da luz e assim, em suas respectivas localizações ao longo do gradiente do subosque florestal, de acordo com as condições de luminosidade (Hertel 2014). Sendo que dentre as espécies estudadas por Hertel (2014), foram encontradas diferenças mais significativas entre espécies *Trichilia. elegans* A.Juss (com indivíduos instalados em locais menos iluminados) e *Trichilia pallida* Sw. (com indivíduos instalados em locais mais iluminados).

Estas diferenças na arquitetura e no aproveitamento da luminosidade no interior da floresta podem estar relacionadas com diferentes estratégias ecofisiológicas. Além das estratégias de interceptação de luz (de Moura Zanine & Santos, 2004), o nitrogênio do solo tem sido reconhecido como um importante fator ecológico determinante no desempenho e distribuição de espécies vegetais em ecossistemas naturais (Aidar et al., 2003; Siddique et al., 2010; Wang e Macko, 2011). Isto porque o nitrogênio participa da composição de várias biomoléculas, além de ser o nutriente necessário em maiores quantidades nos tecidos vegetais, é o mais limitante na produtividade de vários ecossistemas (Kraiser et al., 2011; Kusano et al., 2011). Assim, o status de nitrogênio de uma planta exerce grande influência sobre uma série de processos, como a fotossíntese, o crescimento e o desenvolvimento vegetal (Foyer et al., 2001; Guo et al., 2007).

Além de ocuparem diferentes nichos dentro do subosque, diferentes espécies vegetais podem apresentar preferência por uma determinada fonte inorgânica de N, dependendo das condições de fertilidade do solo e do ambiente onde estas espécies evoluíram (Aidar *et al.*, 2003). A preferência de assimilação de nitrato (NO_3^-) como fonte de N pode decrescer a partir de espécies pioneiras até as espécies das fases mais avançadas da sucessão ecológica

(Aidar *et al.*, 2003). De acordo com esse modelo, alta atividade da enzima nitrato Redutase ou Redutase do Nitrato (RN) e elevada quantidade de NO_3^- na seiva do xilema são características apresentadas por espécies pioneiras, enquanto que em espécies secundárias tardias esses níveis de atividade da RN e a preferência por esse íon são menores (Aidar *et al.*, 2003). A alta disponibilidade de luz, é vantajosa para assimilação do NO_3^- nas folhas, pois a energia para assimilação provém, principalmente, da cadeia de transporte de elétrons da fotossíntese (Smirnoff e Steward, 1985). Diferentemente, a assimilação foliar de NO_3^- é desfavorecida em ambientes com menor possibilidade de interceptação luminosa, favorecendo então a assimilação de amônio (NH_4^+) pelas raízes, para a qual se dispense um menor gasto energético (Aidar *et al.*, 2003).

A célula vegetal dispense de alta quantidade de energia para absorver e assimilar o N inorgânico, sendo assim, quando a assimilação ocorre nas folhas, as plantas estão sujeitas à competição pelos mesmos recursos energéticos utilizados também na fase bioquímica da fotossíntese (Bloom, 1997). A quantidade de energia necessária é mais elevada quando o NO_3^- é utilizado em comparação à utilização direta de NH_4^+ (Bloom, 1997). Apesar da alta quantidade de energia gasta para absorver e assimilar o NO_3^- , esta fonte é mais favorável, pois pode ser estocada e transportada em altas concentrações nas plantas (Dechorgnat *et al.*, 2011). As espécies arbóreas utilizam diferentes estratégias para adquirir e transportar o N disponível no ambiente (Schmidt & Stewart, 1998).

Geralmente, plantas submetidas a maior disponibilidade de luz têm maior capacidade fotossintética em comparação com plantas que estão em ambientes mais sombreados (Reich *et al.*, 1995). Assim indivíduos estabelecidos em clareiras são, supostamente, importantes assimiladores de NO_3^- , sendo que a sua assimilação na parte aérea não provocará prejuízo para as plantas, que com maior luminosidade terá energia suficiente tanto para suprir a fotossíntese quanto para a assimilação do nitrogênio (Chazdon *et al.*, 1996) enquanto que

espécies mais sombreadas parecem ser assimiladoras de N na raiz com uma preferência geral para a NH_4^+ (Stewart, 1991).

As variações na intensidade luminosa podem induzir também alterações em processos fotobiológicos vegetais resultando em restrições estomáticas que dificultam a aquisição de dióxido de carbono e perda de vapor de água, bem como limitações sobre componentes não-estomáticos, com danos para os centros de reações dos fotossistemas I e II (PSI e PSII), devido à alta luminosidade, comprometendo assim a eficiência da fotossíntese (Schreiber & Bilger, 2013). O fotossistema II (PSII) é o componente mais sensível do aparelho fotossintético que pode ser temporariamente afetado pelo estresse ambiental provocado pela alta luminosidade, antes do aparecimento de qualquer dano estrutural irreversível aparente (Force *et al* 2003; Panda *et al.*, 2008).

A análise da fluorescência da *clorofila a* é considerado como sendo um método eficiente, sensível, não invasivo e rápido para detectar e quantificar as alterações induzidas no aparelho fotossintético, especialmente no FSII (Mehta 2010; Papageorgiou & Govindjee 2011; Stirbet & Govindjee 2011), em razão dos danos provocado pela alta luminosidade (fotoinibição). A técnica tem sido amplamente utilizada para avaliar os efeitos ambientais sobre o metabolismo fotossintético (Force *et al.*, 2003).

Acerca dos estudos de Hertel (2014), foram encontradas diferenças significativas entre duas espécies do gênero *Trichilia* em relação a ocupação do mosaico de iluminação da floresta: *Trichilia. elegans* A.Juss e *Trichilia pallida* Sw. Comparando as espécies abrangidas pelos estudos de Hertel (2014), os indivíduos de *Trichilia pallida* apresentaram a maior iluminação de copa tanto na estação úmida, quanto anual, enquanto que para *Trichilia elegans* foram registradas as menores iluminações de copa. Estes resultados possibilitam supor que, *T. pallida* se estabelece preferencialmente em microambientes mais iluminados e que *T. elegans* explora ambientes mais característicos de subosque, o que sugere uma diferença na ocupação

de nicho. Estas diferentes estratégias ecológicas aumentam a capacidade de permanência e a sobrevivência no subosque tanto em relação à captação de luz, quanto à resistência de danos que podem ocorrer devido à queda de ramos e árvores neste estrato (Aiba & Nakashizuka 2009, Osunkoya *et al.* 2007).

Considerando que o estudo de arquitetura com as espécies *Trichilia pallida* e *Trichilia elegans*, ao longo do gradiente vertical e horizontal de luminosidade do subosque da FES do PEMG, possibilitou inferir que elas ocupam diferentes nichos ecológicos (Hertel, 2014), é plausível sugerir que estas também se utilizam de estratégias ecofisiológicas diferentes a fim de diminuir a possibilidade de competição entre elas.

2 HIPÓTESE

Visto que as espécies *Trichilia elegans* e *Trichilia pallida* (Meliaceae) apresentam diferenças na ocupação do subosque da FES do PEMG dentro do gradiente horizontal e vertical de luminosidade, levantamos a hipótese que estas espécies apresentam mecanismos ecofisiológicos relacionados ao metabolismo do nitrogênio e à fotossíntese, que contribuem para a coexistência.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Área de estudo

O Parque Estadual Mata dos Godoy (PEMG) (figura 1), criado pelo Decreto Estadual nº 5150 de 05 de junho de 1989, localiza-se no norte do Paraná, sob o Trópico de Capricórnio no município de Londrina. O centro de visitantes está sob as coordenadas 23° 27' S e 51° 15'

W. O PEMG possui uma área de 680 hectares, dos quais cerca de 500 ha são de floresta madura, e sua vegetação é classificada como Floresta Estacional Semidecidual (FES) Submontana (Silveira 2006). Atualmente o parque está conectado a outros fragmentos, perfazendo cerca de 2800 ha (Vicente 2006). Não há histórico de exploração e este está cercado por pastagens e culturas anuais, áreas florestadas e reflorestadas (Bianchini *et al.* 2003, Silveira 2006, Vicente 2006).

A Floresta Estacional Semidecidual (FES) é caracterizada pela composição de 20 a 50% de árvores caducifólias no conjunto florestal (Velo *et al.* 1991). A FES Submontana ocorre entre 100 e 750 m de altitude, nas regiões Sul e Sudeste do Brasil, e também em solos de fertilidade intermediária no Brasil Central (Silveira 2006).

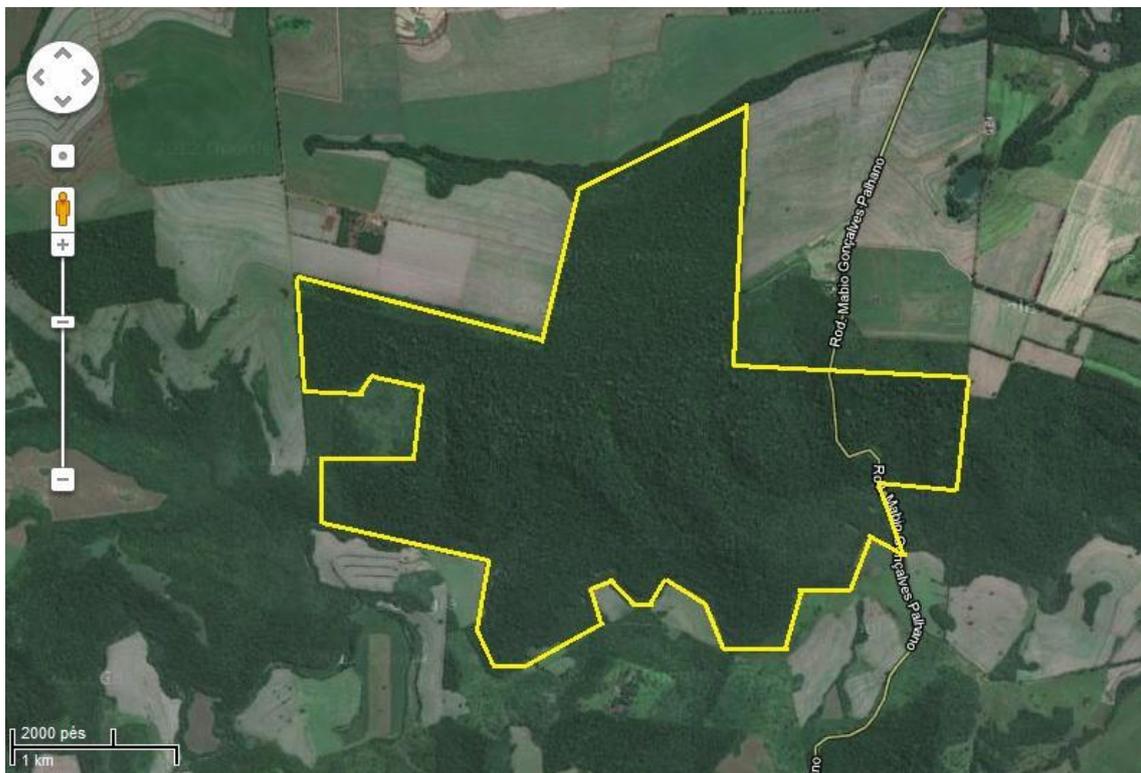


Figura 1. Parque Estadual Mata dos Godoy, Londrina, Paraná, Brasil (Área coberta por floresta madura destacada em amarelo). Fonte: Google Maps, 2012.

Na região de Londrina, o clima é sazonal com uma estação úmida e quente entre outubro a março e uma estação seca e fria entre abril a setembro, com precipitação média anual de 1588 mm. Segundo dados obtidos da Estação Meteorológica do Instituto Agrônomo do Paraná – IAPAR (23°22' S e 51°10' W), dezembro, janeiro e fevereiro são os meses com maior precipitação, com médias mensais em torno de 200 mm. julho e agosto são os meses mais secos, com total abaixo de 70 mm em média (Perina 2011). O mês mais quente é janeiro, com temperatura média de 23,9°C e junho, o mês mais frio, com temperatura média de 16,9°C (Perina 2011). A Estação Meteorológica do IAPAR está situada a cerca de 15 km da área de estudo. Segundo a classificação de Köppen o clima da região caracteriza-se como Cfa, clima subtropical úmido.

3.2 Caracterização das espécies

Neste estudo serão estudadas duas espécies do gênero *Trichilia*: *Trichilia. elegans* A.Juss e *Trichilia pallida* Sw.

T. elegans: Nomes vulgares: Pau-de-ervilha (SC, RS), Catiguá (PR, SC, RS), Erva-de-cutia (SC) (Klein 1984). Arvoretas 2-4(-7) m. Esciófita e seletiva higrófito; ocorre no interior de florestas aluviais e início de encostas ou outros locais de solos úmidos (Klein 1984). Espécie perene (Perina 2011). Floresce entre agosto e novembro, botões florais são encontrados de agosto a outubro, e a antese ocorre de outubro a novembro no PEMG (Perina 2011). A frutificação ocorre de novembro a agosto, com frutos imaturos de novembro a abril e em fase de dispersão de abril a agosto (Perina 2011). No Brasil ocorre no Distrito Federal, Goiás, Minas Gerais, Rio de Janeiro, São Paulo, Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul. No Paraná, ocorre em Floresta Ombrófila Densa, Floresta Ombrófila Mista, Floresta Estacional Semidecidual, Estepe Gramíneo-Lenhosa e Savana Arborizada (Patrício & Cervi 2005).

Trichilia pallida: Nomes vulgares: Catiguá (SC/PR/ SP) (Klein 1984), Catiguá-graudo (PR), Tauvá (PR). Árvores ou arvoretas de 3-8 m. Espécie esciófita (Chagas *et al.* 2004) e seletiva higrófila, tendo sido uma das espécies com maior índice de valor de importância em estudo fitossociológico de remanescente de floresta higrófila. Espécie semidecídua (Perina 2011). No PEMG a floração ocorre de janeiro a maio, com botões florais de janeiro a abril e em antese de fevereiro a maio; frutos imaturos são observados de fevereiro a outubro e em fase de dispersão de julho a fevereiro (Perina 2011). No Brasil é amplamente distribuída, desde a Amazônia até ao Estado de Santa Catarina, não ocorrendo no nordeste brasileiro e no Rio Grande do Sul. No Paraná, ocorre em FES (Patrício & Cervi 2005).

3.3 Parâmetros ecofisiológicos analisados

Para todos os parâmetros descritos a seguir, as análises ou a coleta de material (dependendo do parâmetro a ser analisado) serão feitas *in situ* no subosque da FES do PEMG, em nove indivíduos adultos de *T. elegans* e nove indivíduos de *T. pallida*. Todas as avaliações no campo e coleta de material para envio para o laboratório ocorrerão no período matutino, utilizando-se folhas mais jovens completamente expandidas, que não esteja sofrendo autossombreamento.

Determinação da atividade da Nitrato Redutase: A atividade da enzima nitrato redutase (NR) será determinada *in vivo* baseando-se no método proposto por Stewart et al. (1986). O tecido utilizado será extraído das folhas e mantido no gelo até a análise, dentro de 6 h de amostragem. Amostras de folhas serão cortadas em segmentos e transferidas para tubos de ensaio contendo o meio de reação (K_2HPO_4 0,05 M pH 7,5; propanol 1%; KNO_3 0,05 M). Os tubos serão mantidos a 28°C sob vácuo (para a infiltração do meio de reação nos tecidos) e no escuro e, após 1 hora, uma alíquota do meio será coletada para a dosagem do NO_2^- formado utilizando-se o reagente de Griess (Hageman e Reed, 1980).

Coleta e análise da seiva do xilema: A Seiva do xilema será extraída usando uma bomba de vácuo de mão (Pate et al., 1994). A seiva coletada será congelada até ser utilizada para as análises de aminoácidos livres totais, NO_3^- e NH_4^+ . A quantidade de NO_3^- será determinado através do ensaio a partir da redução do nitrato pelo Vanádio (III) em combinação com a detecção por meio da reação de Griess ácida, enquanto que NH_4^+ será quantificado pela leitura da absorbância a 625 nm após a reação de Berthelot (McCullough, 1967). O conteúdo de proteínas e aminoácidos livres totais será determinado espectrofotometricamente com o reagente Coomassie Blue (Bradford, 1976) e pela reação com ninhidrina (Yemm e Cocking, 1955), respectivamente. A composição e a concentração individual dos aminoácidos livres presentes na seiva do xilema serão analisadas após derivatização com o kit AcqtagTM, em um sistema de UPLC Acquity equipado com uma coluna BEC C₁₈ e um detector de tunelamento UV a 254 nm, utilizando as condições descritas pelo fabricante (Waters Corporation).

Análise das trocas gasosas e curva de luz: Serão determinadas as taxas de fotossíntese líquida (A), condutância estomática (g_s) e transpiração (E), além da concentração intercelular de CO_2 (C_i) e da temperatura foliar (T). A eficiência do uso da água (EUA) será calculada através da razão A/E . Nas curvas de resposta à luz, a taxa de assimilação (A) é medida em função da fotossintética e da densidade de fluxo de fótons (DFFFA) em temperatura controlada (cerca de 27°C) e concentração de CO_2 ($400 \pm 1,2 \mu\text{mol.mol}^{-1}$). As curvas de resposta à luz serão realizadas a partir da mais alta ($2.000 \text{ umoles de fótons m}^{-2}\text{s}^{-1}$) para o menor DFFFA (0), e os dados registrados após a obtenção da taxa de assimilação máxima atingida, curva de luz analisada segundo Portes *et al.* 2010.

As análises de trocas gasosas e curva de luz serão realizadas entre 8 e 10 h, utilizando-se um analisador portátil de gás infravermelho (Irga) modelo LICOR 6400 XL conectado a

uma câmara 6 cm², ajustada para concentração de CO₂ de 380±5 µmol mol⁻¹, temperatura de 31±1°C e vapor de H₂O de 21±1 mmol mol⁻¹. Testes iniciais serão realizados com cada espécie para se obter a curva da taxa de fotossíntese líquida em resposta à densidade de fluxo de fótons (PPFD), determinando-se a PPFD ideal para as análises subsequentes.

Dosagem de clorofila: Os teores de clorofilas *a* e *b* serão determinados através da análise das absorvâncias em 470, 646 e 663 nm e as concentrações dos pigmentos calculadas por meio das equações propostas por Lichtenthaler e Wellburn (1983). Em todas as análises espectrofotométricas acima citadas, a leitura das absorvâncias será realizada utilizando-se um espectrofotômetro Shimadzu UV-1203.

Fluorescência de clorofila: A fluorescência da clorofila *a* será determinada em folhas intactas através de um fluorômetro OS1p (Opti Sciences), permitindo verificar a eficiência máxima do fotossistema II (razão F_v/F_m) e a existência de fotoinibição, conforme descrito por Shimizu *et al.* (2006). As folhas serão adaptadas ao escuro por 15 minutos com cliques específicos e a fluorescência basal (F_0) será medida na face adaxial da folha. Em seguida, a fluorescência máxima (F_m) será analisada após pulso de irradiância saturante e a fluorescência variável (F_v) será calculada como $F_v = F_m - F_0$. As avaliações ocorreram logo no início da manhã e ao meio dia, para possibilitar a observação mais evidente de possíveis mecanismos de fotoproteção apresentados pelas espécies estudadas.

Com as respectivas réplicas para cada dia, conforme explicitado anteriormente, as avaliações de todos os parâmetros ecofisiológicos serão realizadas em três dias de Campo. Entre os meses de outubro e novembro serão escolhidos dias semelhantes, no que diz respeito às condições meteorológicas. Para análises, descrições e discussão dos resultados serão escolhidos os resultados de um dos dias avaliados, considerando que, com os cuidados tomados, ocorrerá uma homogeneidade nos dados dos três dias analisados.

3.4 Análises estatísticas

Os dados serão submetidos à análise de variância (ANOVA) e, quando significativa, as médias serão comparadas pelo teste de Tukey, ao nível de significância de 5%.

4 RESULTADOS ESPERADOS

É esperado que haja uma maior atividade da Nitrato Redutase (NR) nas folhas dos indivíduos da espécie mais iluminada (*Trichilia pallida*), pois havendo uma maior disponibilidade luminosa não haverá competição de recursos entre o metabolismo de nitrogênio e a fotossíntese, favorecendo a ocorrência da assimilação de nitrato na folha. Da mesma maneira, esperamos que as análises de metabólitos primários da seiva do xilema, apresentem maior concentração de aminoácidos na seiva dos indivíduos da espécie menos iluminada (*Trichilia elegans*) que possivelmente assimilará o nitrogênio, preferencialmente, nas raízes.

Em relação às trocas gasosas e dosagem de clorofila, possivelmente, não serão observadas, entre as espécies estudadas, diferenças entre a taxa fotossintética e condutância estomática. No entanto, espera-se encontrar menores teores de clorofilas nos indivíduos de *Trichilia pallida*. Ou seja, é esperado não ser observado diferenças significativas na taxa fotossintética, visto que a espécie instalada em local mais iluminado apresentará menores teores de clorofila.

Com as análises de fluorescência de clorofila, não esperamos encontrar indícios de fotoinibição do fotossistema II nas duas espécies, embora haja maior probabilidade desta ocorrência em *Trichilia pallida*, espécie sob maior iluminação. Caso estes resultados não sejam observados, sugere-se que a espécie possua estratégias de fotoproteção.

6 ORÇAMENTO

Tabela 3. Orçamento dos itens necessários para a realização do estudo.

Material	Valor (R\$)
Reagentes	4225,00
Itens de laboratório	1376,00
Itens de campo	268,00
Valor total	5869,00

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AIBA, M. & NAKASHIZUKA, T. (2009). Architectural differences associated with adult stature and wood density in 30 temperate tree species. *Functional Ecology* 23: 265-273.

AIDAR, M. P. M.; SCHMIDT, S.; MOSS, G.; STEWART, G. R.; JOLY, C. A. (2003). Nitrogen use strategies of Neotropical rainforest trees in threatened Atlantic Forest. *Plant Cell and Environment*, v. 26, p. 389-399.

AIZER, M.A.; FEISINGER, P. (1994). Forest fragmentation, pollination and plant reproduction in a Chaco dry forest, Argentina. *Ecology*, Ithaca, v. 75, p. 300-351.

BEGON, M., HARPER, J. L. & TOWNSEND, C. R. (1996). *Ecology – individuals, populations and communities*. Blackwell Scientific Publications, Oxford. 1068 pp.

BIANCHINI, E., POPOLO, R. S., DIAS, M. C. & PIMENTA, J. A. (2003). Diversidade e estrutura de espécies arbóreas em área alagável do município de Londrina, sul do Brasil. *Acta Botanica Brasilica* 17: 405-419.

BLOOM, A. J (1997). Nitrogen as a limiting factor: Crop acquisition of ammonium and nitrate. In: JACKSON, L.E. (ed). *Ecology in Agriculture*. San Diego, Academic Press, p. 145-172.

BRADFORD M.M. (1976): A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. – *Anal. Biochem.* 72: 248-254.

CAVENDER-BARES, J., ACKERLY, D. D., BAUM, D. A. & BAZZAZ, F. A. (2004). Phylogenetic overdispersion in floridian oak communities. *The American Naturalist* 163: 823-843.

CHAGAS, R. K., DURIGAN, G., CONTIERI, W. A. & SAITO, M. (2004). Crescimento diametral de espécies arbóreas em Floresta Estacional Semidecidual ao longo de seis anos. Pp. 265-289 in Boas, O. V. & Durigan, G. (eds.) *Pesquisas em Conservação e Recuperação Ambiental no Oeste Paulista (resultado da Cooperação Brasil/Japão)*. 1. ed. Páginas e Letras, São Paulo.

CHAZDON R.L., PEARCY R.W., LEE D.W. & FETCHER N. (EDS) (1996) *Photosynthetic Responses of Tropical Forest Plants of Contrasting Light Environments*, pp. 5–55. Chapman and Hall, New York, USA.

CIANCIARUSO, M. V., SILVA, I. A., & BATALHA, M. A. (2009). Diversidades filogenética e funcional: novas abordagens para a Ecologia de comunidades. *Biota Neotropica*, 9(3), 93-103.

CUNHA AO, ANDRADE LA, BRUNO RLA, SILVA JAL, SOUZA VC (2005). Efeitos de substratos e das dimensões dos recipientes na qualidade das mudas de *Tabebuia impetiginosa* (Mart. Ex D.C.) Standl. *Rev. Árvore* 29: 507-516.

de MOURA ZANINE, A., & SANTOS, E. M. (2004). Competição entre espécies de plantas – uma revisão. *Revista da FZVA*, 11(1).

DECHORGNAT, J.; NGUYEN, C. T.; ARMENGAUD, P.; JOSSIER, M.; DIATLOFF, E.; FILLEUR, S.; DANIEL-VEDELE, F. (2011). From the soil to the seeds: the long journey of nitrate in plants. *J. Exp. Bot.*, v. 62, p. 1349-1359.

do NASCIMENTO, S. M. (2007). Efeitos da fragmentação de habitats em populações vegetais.

FORCE L., CRITCHLEY C. & VAN RENSEN J.J.S. (2003) New fluorescence parameters for monitoring photosynthesis in plants. *Photosynth. Res.* 78: 17–33.

FOYER C, FERRARIO-MERY S, NOCTOR G (2001) Interactions between carbon and nitrogen metabolism. In: Lea PJ, Morot-Gaudry J-F (eds) *Plant Nitrogen*. Springer, Berlin, pp. 237-254.

FUNDAÇÃO SOS MATA ATLÂNTICA & INPE. (2011). Atlas dos remanescentes florestais da Mata Atlântica: Período 2008-2010. Fundação SOS Mata Atlântica/ Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais, São Paulo.

GALINDO-LEAL, C. & I.G. CÂMARA. (2003). Atlantic forest hotspots status: an overview. in C. Galindo-Leal & I.G. Câmara (eds.). *The Atlantic Forest of South America: biodiversity status, threats, and outlook*. pp. 3-11. Center for Applied Biodiversity Science e Island Press, Washington, D.C.

GUO S, ZHOU Y, SHEN Q, ZHANG F (2007) Effect of ammonium and nitrate nutrition on some physiological processes in higher plants - growth, photosynthesis, photorespiration, and water relations. *Plant Biol.* 9: 21-29.

HAGEMAN R.H., REED A.J. (1980) Nitrate reductase from higher plants. – *Methods Enzymol.* 69: 270-280.

HERNANDES, J. L., PEDRO JÚNIOR, M. J. & BARDIN, L. (2004). Variação estacional na radiação solar em ambiente externo e no interior de floresta semidecídua. *Revista Árvore* 22: 167-172.

HERTEL, M. F. (2014). Arquitetura de espécies de subosque de Meliaceae em Floresta Estacional Semidecidual Submontana do Sul do Brasil. 60 páginas. Dissertação – Universidade Estadual de Londrina em 24/07/2014. <http://www.bibliotecadigital.uel.br/document/?code=vtls000193878>

IBGE, INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. (1992). *Manual técnico da vegetação Brasileira*. IBGE, Rio de Janeiro.

KING, D. A. (1996). Allometry and life history of tropical trees. *Journal of Tropical Ecology* 12: 25-44.

KLEIN, R. M. (1984). *Flora Ilustrada Catarinense, I Parte, Fascículo, As Plantas Meli, Meliáceas*. Instituto Brasileiro de Desenvolvimento Florestal, Itajaí. 140 pp.

KOHYAMA, T. & HOTTA, M. (1990). Significance of allometry in tropical saplings. *Functional Ecology* 4: 515- 521.

KRAISER T, GRAS DE, GUTIÉRREZ AG, GONZÁLEZ B, GUTIÉRREZ RA (2011) A holistic view of nitrogen acquisition in plants. *J. Exp. Bot.* 62: 1455-1466.

KUSANO M, FUKUSHIMA A, REDESTIG H, SAITO K (2011) Metabolomic approaches toward understanding nitrogen metabolism in plants. *J. Exp. Bot.* 62: 1439-1453.

LICHTENTHALER H.K., WELLBURN A.R. (1983) Determinations of total carotenoids and chlorophylls a and b of leaf extracts in different solvents. – *Biochem. Soc. Trans.* 11: 591-592,

MCCULLOUGH, H. (1967). The determination of ammonia in whole blood by a direct colorimetric method. – *Clin. Chim. Acta* 17: 297-304.

- METZGER, J.P. (2009). Conservation issues in the Brazilian Atlantic forest. *Biological Conservation* 142: 1138-1140.
- MEHTA P., JAJOO A., MATHUR S. & BHARTI, S. (2010) Chlorophyll a fluorescence study revealing effects of high salt stress on photosystem II in wheat leaves. *Plant Physiol. Biochem.* 48: 16–20.
- NIKLAS, K. J. (1994). *Plant allometry: the scaling of form and process*. The University of Chicago Press, Chicago. 412 pp.
- NISHIMURA, T. B. & SUZUKI, E. (2001). Allometric differentiation among tropical tree seedlings in heath and peat-swamp forests. *Journal of Tropical Ecology* 17: 667-681.
- OSUNKOYA, O. O., OMAR-ALI, K., AMIT, N., DAYAN, J., DAUD, D. S. & SHENG, T. K. 2007. Comparative height-crown allometry and mechanical design in 22 tree species of Kuala Belalong Rainforest, Brunei, Borneo. *American Journal of Botany* 94: 1951-1962.
- PANDA D., SHARMA S.G. & SARKAR R.K. (2008) Chlorophyll fluorescence parameters, CO₂ photosynthetic rate and regeneration capacity as a result of complete submergence and subsequent re-emergence in rice (*Oryza sativa* L.). *Aquat. Bot.* 88: 127– 133.
- PAPAGEORGIOU G.G. & GOVINDJEE (2011) Photosystem II fluorescence: Slow changes – Scaling from the past, *J. Photochem. Photobiol. B: Biol.* doi: 10.1016/j.jphotobiol.2011.03.008.
- PATE J.S., WOODALL G., JESCHKE W.D. & STEWART G.R. (1994) Root xylem transport of amino acids in the roots of hemiparasitic shrub *Oxalis phyllanthi* (Labill) R.Br. (*Oxalaceae*) and its multiple hosts. *Plant, Cell and Environment* 17, 1263–1273.
- PATRÍCIO, P. C. & CERVI, A. C. (2005). O gênero *Trichilia* P. Browne (Meliaceae) no Estado do Paraná, Brasil. *Acta Biológica Paranaense* 34: 27-71.
- PERINA, B. B. (2011). Fenologia de espécies arbóreas de uma floresta estacional semidecidual do sul do Brasil. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina. 63 pp.
- POORTER, L. (2001). Light-dependent changes in biomass allocation and their importance for growth of rain forest tree species. *Functional Ecology* 15: 113-123.
- POORTER, L., BONGERS, F., STERCK, F. J. & WÖLL, H. (2003). Architecture of 53 rainforest tree species differing in adult stature and shade tolerance. *Ecology* 84: 602– 608.
- PORTES, M. T., DAMINELI, D. S. C., RIBEIRO, R. V., MONTEIRO, J. A. F., & SOUZA, G. M. (2010). Evidence of higher photosynthetic plasticity in the early successional *Guazuma ulmifolia* Lam. compared to the late successional *Hymenaea courbaril* L. grown in contrasting light environments. *Brazilian Journal of Biology*, 70(1), 75-83.

PROBIO, Projeto de Conservação e Utilização Sustentável Da Diversidade Biológica Brasileira. (2007). Levantamento da cobertura vegetal nativa do Bioma Mata Atlântica. Rio de Janeiro. Disponível em: http://mapas.mma.gov.br/geodados/brasil/vegetacao/vegetacao2002/mata_atlantica/documentos/relatorio_final.pdf em 05/05/2016

RATHCKE. B. J., & E. S. JULES. (1993). Habitat fragmentation and plant-pollinator interactions. *Current Science* 65:273-277.

REICH P.B., ELLSWORTH D.S. & UHL C. (1995) Leaf carbon und nutrient assimilation and conservation in species of differing successional status in an oligotrophic Amazonian forest. *Functional Ecology* 9, 65–76.

RIBEIRO, R.V., SOUZA, G.M., OLIVEIRA, R.F. & MACHADO, E.C. (2005). Photosynthetic responses of tropical tree species from different successional groups under contrasting irradiance conditions. *Revista Brasileira de Botânica*: 28(1): 149-161

ROGSTAD, S. H. (1989). The biosystematics and evolution of the *Polyalthia hypoleuca* species complex (Annonaceae) of Maleisia. I. Systematic treatment. *Journal of the Arnold Arboretum* 70: 153–246.

SCHMIDT, S.; STEWART, G. R. (1998). Transport, storage and mobilization of nitrogen by trees and shrubs in the wet/dry tropics of northern Australia. *Tree Physiol.*, v.18, p. 403-410.

SCHREIBER, U., & BILGER, W. (2013). Botanisches Institut der Universität Würzburg, Mittlerer Dallenbergweg 64, D-87 Würzburg, Federal Republic of Germany. *Plant Response to Stress: Functional Analysis in Mediterranean Ecosystems*, 15, 27.

SIDDIQUE I, VIEIRA IC, SCHMIDT S, LAMB D, CARVALHO CJ, FIGUEIREDO RDE O, BLOMBERG S, DAVIDSON EA (2010). Nitrogen and phosphorus additions negatively affect tree species diversity in tropical forest regrowth trajectories. *Ecology* 91: 2121-2131.

SILVEIRA, M. (2006). A vegetação do Parque Estadual Mata dos Godoy. Pp. 19 - 27 in Torezan, J. M. D. (org.) *Ecologia do Parque Estadual Mata dos Godoy*. ITEDES, Londrina.

SMIRNOFF, N.; STEWART, G. R. (1985). Nitrate assimilation and translocation by higher plants: Comparative physiology and ecological consequences. *Physiol. Plant*, v. 64, p. 133-140.

SOARES, F. S. & MEDRI, M. (2002). Alguns aspectos da colonização da bacia do rio Tibagi. Pp 69-79 in Medri, M., Bianchini, E., Shibata, O. & Pimenta, J. A. (Ed.). *A Bacia do Rio Tibagi*. UEL, Londrina.

STEWART GR, POPP M, HOLZAPFEL I, STEWART JJ, DICKIE-ESKEW A (1986). Localization of nitrate reduction in ferns and its relationship to environment and physiological characteristics. *New Phytol.* 104: 373-384.

STEWART G.R. (1991) The comparative ecology of plant nitrogen metabolism. In *Plant Growth Interactions with Nutrition and Environment* (eds J.R. Porter & D.W. Lawlor), pp. 91–97. Cambridge University Press, Cambridge, UK.

STIRBET A. & GOVINDJEE (2011) On the relation between the Kautsky effects (chlorophyll a fluorescence induction) and photosystem II: Basics and application of the OJIP fluorescence transient. *J. Photochem. Photobiol. B: Biol.* doi:10.1016/j.jphotobiol.2010.12.010

SHIMIZU M., ISHIDA A., TANGE T. ET AL.(2006) Leaf turnover and growth responses of shade-grown saplings of four Shorea rain forest species to a sudden increase in light. – *Tree Physiol.* 26: 449-457,.

TABARELLI, M. A. R. C. E. L. O., PINTO, L. P., SILVA, J. M. C., HIROTA, M. M., & BEDÊ, L. C. (2005). Desafios e oportunidades para a conservação da biodiversidade na Mata Atlântica brasileira. *Megadiversidade*, 1(1), 132-138.

TURNBULL, M.H. (1991). The effect of light quantity and quality during development on the photosynthetic characteristics of six Australian rain forest species. *Oecologia* 87: 110-117

VELOSO, H. P., RANGEL FILHO, A. L. R. & LIMA, J. C. A. (1991). Classificação da vegetação brasileira, adaptada a um sistema universal. IBGE, Rio de Janeiro.

VIANA, V. M., & PINHEIRO, L. A. F. V. (1998). Conservação da biodiversidade em fragmentos florestais. *Série técnica IPEF*, 12(32), 25-42.

VICENTE, R. F. (2006). O Parque Estadual Mata dos Godoy. Pp. 13-18 in Torezan, J. M. D. (ed.), *Ecologia do Parque Estadual Mata dos Godoy*. ITEDES, Londrina.

WANG L, MACKO SA (2011) Constrained preferences in nitrogen uptake across plant species and environments. *Plant Cell Environ.* 34: 525-534.

YAMADA, T., YAMAKURA, T. & LEE, H. S. 2000. Architectural and allometric differences among *Scaphium* species are related to microhabitat preference. *Functional Ecology* 14: 731-737.

YEMM E.W., COCKING E.C.(1955). The determination of amino acid with ninhydrin. – *Analyst* 80: 209-213.