

Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Instituto de Biociências

Programa de Pós-Graduação em Botânica

Tese de Doutorado

Ecofisiologia da absorção de água por folhas do Pinheiro Brasileiro

(*Araucaria angustifolia*)

Francine Ferreira Cassana

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Lúcia Rebello Dillenburg

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Botânica da Universidade do Rio Grande do Sul, como um dos requisitos para a obtenção do título de Doutora em Botânica.

Porto Alegre, fevereiro de 2012

AGRADECIMENTOS

À Prof^a. Dr^a. Lúcia R. Dillenburg: Uma vez te disse que quatro anos era muito tempo para fazer o doutorado. Hoje, vejo que tola fui. Obrigada, desde pelo fato de ter aceitado me orientar, pela paciência que teve comigo ao longo desse tempo que passou muito rápido, e principalmente, pelo empenho e dedicação a mim e a este projeto.

Ao Prof. Dr. Rafael Silva Oliveira, que embora não tenha sido oficialmente, foi, certamente, co-orientador desta tese. Obrigada por ter compartilhado seus conhecimentos, além do tempo despendido para ensiná-los, seja com e-mails, telefone ou pessoalmente, e principalmente por seu entusiasmo com a pesquisa.

Ao Prof. Dr. Arthur Germano Fett Neto, que pela sua exímia competência possibilitou, mesmo que indiretamente, a obtenção da bolsa CAPES. Ainda, ao Laboratório de Fisiologia Vegetal, em especial, à Kelly Cristine da Silva Rodrigues, pelos empréstimos das balanças e demais equipamentos.

Ao Prof. Dr. João Ito Bergonci, que conhece este trabalho desde a ideia inicial, participando ativamente de todas as etapas do desenvolvimento deste projeto.

Ao Prof. Dr. José Antônio Peters, meu mestre e amigo, que sempre esteve presente no decorrer destes anos.

Aos professores: Carlos Frederico Widholzer, Geraldo Luiz Gonçalves Soares, Janette Palma Fett, Rinaldo Pires dos Santos e Tatiana Teixeira de Souza Chies, por sempre serem atenciosos e dispostos a me ajudar. Obrigada pelas conversas, sugestões, dúvidas sanadas e empréstimos de equipamentos.

Ao Prof. Dr. Leandro Astarita, por aceitar ser membro da minha qualificação e defesa e por sua inesgotável paciência para marcamos as datas.

Aos bons e velhos amigos e às novas amizades: Carolina Casco Duarte Schindwein, Letícia Corrêa, Francine Vicentini Viana, Fernanda Neves, Cristiano Machado, Martta Santos, Rodrigo Moraes, Fernanda Alabarce, Márcia Vicentini, Carla L. Körndorfer e Paula Fagundes. Em especial, às minhas amigas Tatiana Raquel Löwe e Míriam Valli Buttow, pelos já mais de dez anos de companheirismo nesta caminhada.

À Rosa Maria e Ramão Dias, pelo carinho.

À minha família: Osmar, Antônia, Mônica e Ramon. Minhas maiores razões.

SUMÁRIO

RELAÇÃO DE TABELAS	vii
RELAÇÃO DE FIGURAS	viii
RESUMO	1
Introdução Geral	2
Referências Bibliográficas	4
Capítulo 1	
O ambiente natural do pinheiro brasileiro e os caminhos da absorção foliar	6
A Floresta com Araucária	6
Requisitos ambientais para o estabelecimento e crescimento do pinheiro brasileiro	8
A atmosfera como fonte de água e nutrientes às plantas	9
Os caminhos da absorção foliar	11
Referências Bibliográficas	15
Capítulo 2	
The periodic wetting of leaves enhances the water relations and growth of the long-lived conifer species <i>Araucaria angustifolia</i> ¹	22
ABSTRACT	23
INTRODUCTION	24
MATERIALS AND METHODS	27
Plant material and growth conditions	27
Experimental design	28
Growth measurements	29
Plant water relations	30
Plant nutrient concentrations	31
Statistical analysis	31
RESULTS	31
Soil and plant water relations	31
Plant growth	32
Shoot and root nutrient concentrations	33
DISCUSSION	33
Leaf spraying and the water relations of <i>A. angustifolia</i>	33
Leaf spraying and the growth and nutritional status of <i>A. angustifolia</i>	35
Are leaves of <i>A. angustifolia</i> actually absorbing water and solutes deposited on their leaves? ..	37

The ecophysiological significance of water absorption by leaves of <i>A. angustifolia</i>	38
ACKNOWLEDGMENTS	39
REFERENCES	48
 Capítulo 3	
Tolerância à desidratação de plantas jovens de <i>Araucaria angustifolia</i> e a contribuição da água atmosférica para a sobrevivência da espécie à seca do solo	52
ABSTRACT	53
INTRODUÇÃO	54
MATERIAL E MÉTODOS	58
Coleta e preparo das sementes, plantio e condições de cultivo.....	58
Delineamento experimental.....	60
Imposição das condições experimentais.....	60
Avaliações de sobrevivência e relações hídricas das plantas.....	61
Monitoramento da capacidade de vaso.....	63
Avaliações de crescimento	63
Análise estatística.....	64
RESULTADOS	65
Sobrevivência	65
Relações hídricas	65
Crescimento.....	66
DISCUSSÃO	66
Efeito da neblina na sobrevivência e crescimento de plantas exposta à seca do solo	66
A resistência à seca de <i>A. angustifolia</i>	70
Implicações ecológicas	76
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	87
 Capítulo 4	
Absorção foliar de água em plantas de <i>Araucaria angustifolia</i>	93
ABSTRACT	94
INTRODUÇÃO	95
MATERIAL E MÉTODOS	98
Coleta, preparo das sementes, plantio e condições de cultivo.....	98
Experimento 1: Taxa de absorção de água pelas folhas do pinheiro brasileiro	99
Delineamento experimental.....	99
Imposição das condições experimentais e avaliações	99

Análise estatística.....	100
Experimento 2: Relações hídricas e marcação por água deuterada	100
Delineamento experimental.....	100
Imposição das condições experimentais.....	101
Avaliações de relações hídricas das plantas.....	102
Análise da composição isotópica ($\delta^2\text{H}$) das partes aéreas das plantas e do solo	102
Análise estatística.....	103
RESULTADOS	104
Taxa de absorção foliar de água.....	104
Relações hídricas e marcação por água deuterada.....	104
DISCUSSÃO	105
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	114
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	118
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	121

RELAÇÃO DE TABELAS

Capítulo 2:

Table 1. ANOVA and ANCOVA <i>P</i> values for the effects of soil water and leaf spraying on the water relations and growth parameters of <i>Araucaria angustifolia</i> seedlings.....	43
Table 2. Additional growth parameters measured in well-watered (W) and water-stressed (S) <i>Araucaria angustifolia</i> plants in response to leaf spraying treatments (s, no spray; w, water spray; n, nutrient solution spray).....	44
Table 3. ANOVA results (<i>P</i> values) for the effects of soil water and leaf spraying on the nutrient concentration of shoots and roots of <i>Araucaria angustifolia</i> plants.....	45
Table 4. Nutrient concentration (% or mg kg ⁻¹) in the shoot of well-watered (W) and water-stressed (S) <i>Araucaria angustifolia</i> plants in response to leaf spraying treatments (s, no spray; w, water spray; n, nutrient solution spray)	46
Table 5. Nutrient concentration (% or mg kg ⁻¹) in the root of well-watered (W) and water-stressed (S) <i>Araucaria angustifolia</i> plants in response to leaf spraying treatments (s, no spray; w, water spray; n, nutrient solution spray).....	47

Capítulo 3:

Tabela 1 Síntese das análises de correlação das variáveis letais de relações hídricas de plantas jovens de <i>Araucaria angustifolia</i> induzidas à seca (plantas 'S').....	82
Tabela 2 Síntese da ANOVA das variáveis de relações hídricas e de crescimento de plantas jovens de <i>Araucaria angustifolia</i> hidratadas (plantas 'H') ou induzidas à seca sob neblina (plantas 'M').....	83
Tabela 3 Medidas de crescimento de plantas jovens de <i>Araucaria angustifolia</i> hidratadas (plantas 'H'), induzidas à seca (plantas 'S') ou induzidas à seca sob neblina (plantas 'M'). Os valores apresentados são médias ± erro padrão.....	85

RELAÇÃO DE FIGURAS

Capítulo 2:

Fig. 1. Temporal variations in soil gravimetric water content in well-watered (W) and water-stressed (S) *Araucaria angustifolia* plants in response to leaf spraying treatments (s, no spray; w, water spray; n, nutrient solution spray). Values were calculated before the biweekly replacement of water in the W plants. Vertical bars are the standard errors of the means. Arrow indicates significant differences ($P < 0.05$) between Ss and Sw or Sn plants. Asterisk indicates significant differences ($P < 0.05$) between W and S plants, which persisted until the end of the experiment.....40

Fig. 2. (A) Leaf relative water content, and (B) shoot water potential of well-watered (W) and water-stressed (S) *Araucaria angustifolia* plants in response to leaf spraying treatments (s, no spray; w, water spray; n, nutrient solution spray). Vertical bars are the standard errors of the means. Different small and capital letters indicate significant differences ($P < 0.05$) between spray treatments within each soil water condition, and between soil water conditions within each spraying treatment, respectively.....41

Fig. 3. (A) Shoot height, (B) relative growth rate of shoot height (RGRh), (C) total shoot length, and (D) relative growth rate of total shoot length (RGRsl), of well-watered (W) and water-stressed (S) *Araucaria angustifolia* plants in response to leaf spraying treatments (s, no spray; w, water spray; n, nutrient solution spray). Vertical bars are the standard errors of the means. Different small and capital letters indicate significant differences ($P < 0.05$) between spray treatments within each soil water condition, and between soil water conditions within each spraying treatment, respectively.....42

Capítulo 3:

Fig. 1 Variações mensais no déficit de pressão de vapor (DPV) nas câmaras seca (plantas 'S' e 'H') e úmida (plantas 'M'). Valores são médias mensais para os seguintes horários: 0 h, 6 h, 12 h, 18 h. As linhas verticais indicam o erro padrão das médias. A) De agosto 2010 a outubro 2010, os valores de DPV referem-se ao período inicial de 80 dias após a germinação, antes da imposição dos tratamentos

(instalação das câmaras seca e úmida). B-C-D) De novembro 2010 a julho 2011, os valores de DPV foram medidos no interior das câmaras seca e úmida.....78

Fig. 2 Aspecto geral das plantas mortas (plantas 'S') antes das medidas dos parâmetros letais de relações hídricas. As partes aéreas das plantas tinham entre 25 e 32 cm de altura.....79

Fig. 3 Curvas de sobrevivência de Kaplan-Meier (A) e variações temporais no conteúdo gravimétrico de água no solo (B) de plantas jovens de *Araucaria angustifolia* hidratadas ('H'), induzidas à seca ('S') ou induzidas à seca com presença de neblina ('M'). Em (B) os valores apresentados são médias \pm erro padrão e foram obtidos após a pesagem dos recipientes de cultivo e antes da reposição de água no solo (plantas 'H'), para quantificar as quedas no θ_m nos intervalos entre as reposições. Seta indica o momento de suspensão da irrigação do solo das plantas 'M' e 'S'.....80

Fig. 4 Valores letais (obtidos de plantas 'S') de potencial hídrico caulinar (Ψ_{wL} , A), conteúdo relativo de água foliar (CRA_L , B), capacidade de vaso (CV_L , C) e conteúdo gravimétrico de água do solo (θ_{mL} , C) de plantas jovens de *Araucaria angustifolia*. Os valores apresentados em A, B e C são médias \pm erro padrão, obtidas a partir de plantas mortas 140 (n=7), 155 (n=5) e 177 (n=3) dias após a semeadura, que correspondem a 60, 75 e 97 dias de suspensão da rega, respectivamente. Os gráficos D, E e F ilustram, respectivamente, as correlações entre Ψ_{wL} e CRA_L (D), CRA_L e θ_{mL} (E), Ψ_{wL} e θ_{mL} (F).....81

Fig. 5 Relações hídricas das plantas e do solo e massa de raízes laterais de plantas jovens de *Araucaria angustifolia* hidratadas ('H') ou submetidas à seca sob neblina ('M'). Medidas de conteúdo relativo de água foliar (CRA , A) e de potencial hídrico (Ψ_w , B) foram realizadas nos horários de menor (8 h) e maior (16 h) DPV. Medidas de condutância estomática (g_s , C) e taxa de transpiração (T, D) foram realizadas entre 9 e 11h da manhã. As medidas de capacidade de vaso e de conteúdo gravimétrico de água no solo (CV e θ_m , E) e as de massa seca de raízes laterais (MSRL, F) são apresentadas para os três níveis de solo (A = 0-10 cm; B = 10-30 cm, C=30-40 cm). Os valores apresentados são médias \pm erro padrão. * indica diferença significativa ($P \leq 0,05$).84

Fig. 6 Aspecto geral das partes aéreas e das raízes de plantas jovens de *Araucaria angustifolia* submetidas à seca sob neblina (A-H) e hidratadas (I-P). Barras (A-D; I-L) indicam 10 cm.....86

Capítulo 4:

- Fig. 1.** Variações no déficit de pressão de vapor (DPV) no interior das câmaras seca e úmida durante o a execução do experimento de relações hídricas e marcação por água deuterada.....110
- Fig. 2.** Taxa de absorção de água ($\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) pelas folhas de plantas jovens do pinheiro brasileiro cultivadas em solo hidratado ou sob estresse hídrico.....110
- Fig. 3.** Potencial hídrico (A), conteúdo de água no solo (B) e potencial hídrico como função do conteúdo de água do solo (C) de plantas de *Araucaria angustifolia* cultivadas com baixo (S) ou alto (H) conteúdo de água no solo em resposta aos tratamentos de aspersão da parte aérea (m: aspersão com água deuterada; s: sem aspersão). Nas Figs. 3A e 3B os valores apresentados são médias \pm erro padrão e diferentes letras minúsculas e maiúsculas indicam diferenças significativas ($P < 0.05$) entre os tratamentos com aspersão da parte aérea em cada condição de água no solo, e entre as condições de água no solo em cada tratamento com aspersão da parte aérea, respectivamente.....111
- Fig. 4.** Proporção relativa de água deuterada, de acordo com o modelo de Phillips & Gregg (2001), na parte aérea e no solo de plantas de *Araucaria angustifolia* cultivadas com baixo (S) ou alto (H) conteúdo de água no solo em resposta aos tratamentos de aspersão da parte aérea (m: aspersão com água deuterada; s: sem aspersão).....112
- Fig. 5.** Composição isotópica do hidrogênio ($\delta^2\text{H}$) na parte aérea (A) e no solo (B) de plantas de *Araucaria angustifolia* cultivadas com baixo (S) ou alto (H) conteúdo de água no solo em resposta aos tratamentos de aspersão da parte aérea (m: aspersão com água deuterada; s: sem aspersão).....113

Ecofisiologia da absorção de água por folhas do Pinheiro Brasileiro

(*Araucaria angustifolia*)

RESUMO

Araucaria angustifolia (Bertol) Ktze., o pinheiro brasileiro, é uma espécie exclusivamente sul-americana, nativa de florestas de altitude no sul do Brasil. Além do característico formato de candelabro das copas destas árvores e o padrão de disposição de forma imbricada das folhas nos ramos, as folhas do pinheiro brasileiro exibem características morfológicas e anatômicas que parecem favorecer a interceptação, penetração e estocagem de água em suas folhas. Considerando os ambientes altos e úmidos que a espécie tipicamente ocupa, o objetivo geral deste trabalho foi investigar existência e relevância do processo de absorção de água por folhas da espécie. Este estudo contemplou experimentos de longo prazo que visaram avaliar a importância da deposição de água sobre as folhas para a ecofisiologia da espécie, através da comparação do crescimento, relações hídricas, estado nutricional e sobrevivência de plantas envasadas submetidas à aspersão periódica de água sobre as folhas e à condições contrastantes de disponibilidade de água no solo. Nossos resultados fornecem fortes indicações de que água e nutrientes são absorvidos pelas folhas de *A. angustifolia*, e que este processo pode ser tão importante quanto a absorção de água por suas raízes, conferindo uma estratégia ecologicamente relevante para permitir a sua sobrevivência em seu habitat natural, particularmente em situações de baixa disponibilidade de água no solo. Finalmente, experimentos de curto prazo, com aspersão de água marcada com isótopo pesado de hidrogênio (deutério) comprovaram a existência do processo de absorção foliar e, ainda, indicam fortes implicações deste processo nas relações hídricas das plantas.

Introdução Geral

A absorção foliar de água e solutos atmosféricos é um fato demonstrado desde a introdução dos radioisótopos na experimentação, na década de 1950 (Tukey *et al.*, 1956). Inicialmente, apresentou-se como um assunto bastante controverso, dadas as principais funções da epiderme e da cutícula foliar: proteção mecânica, suporte hidráulico e minimização das perdas hídricas para a atmosfera (Romberger *et al.*, 1993). Um interesse contínuo em processos que regulam a absorção foliar foi motivado principalmente por questões voltadas à agricultura (absorção de pesticidas e herbicidas, fertilização foliar) ou à poluição ambiental (associado ao declínio de florestas no hemisfério Norte) (Eichert & Burkhardt, 2001).

As folhas de coníferas são geralmente reconhecidas pelo seu caráter esclerófilo, com cutículas espessas, baixas vascularização e condutância estomática (Brodrigg & Feild, 2000; Brodrigg *et al.*, 2005) e limitações quanto às possibilidades de mudar de forma e tamanho frente às variações ambientais, o que poderia estar relacionado à menor eficiência fisiológica (menor tolerância a locais sombreados e ao déficit hídrico), segundo Golfari (1963) e Dutra & Stranz (2003). No entanto, vários estudos vêm demonstrando a absorção de água e solutos atmosféricos por folhas de coníferas (e.g. Stone *et al.*, 1950, 1955, 1956; Stone, 1957; Burgess & Dawson, 2004; Breshears *et al.*, 2008; Limm *et al.* 2009; Simonin *et al.* 2009) permanecendo divergências sobre o significado ecológico e fisiológico desta absorção.

Araucaria angustifolia (Bertol) Ktze., o pinheiro brasileiro, é uma espécie exclusivamente sul-americana, nativa de florestas de altitude no sul do Brasil. Além do característico formato de candelabro das copas destas árvores e o padrão de disposição de forma imbricada das folhas nos ramos, as folhas do pinheiro brasileiro exibem características morfológicas e anatômicas (Mastroberti & Mariath, 2003; Widholzer *et al.*, 2004;

Mastroberti & Mariath, 2008) que parecem favorecer a interceptação, penetração e estocagem de água em suas folhas. Considerando os ambientes altos e úmidos que a espécie tipicamente ocupa, investigamos, neste trabalho, sua capacidade de aproveitamento da água atmosférica. O objetivo geral deste trabalho é caracterizar a existência e relevância do processo de absorção de água por folhas desta espécie.

No primeiro capítulo deste estudo, apresentamos uma breve revisão bibliográfica sobre a ecologia da espécie, importância da água atmosférica para as plantas e possíveis rotas de absorção de água pelas folhas.

No segundo capítulo avaliamos a importância da deposição de água sobre as folhas para as relações hídricas e crescimento da espécie sob situações contrastantes de disponibilidade de água no solo. Neste experimento, nos preocupamos em separar os efeitos diretos dos indiretos da presença de água ao redor e sobre as superfícies das plantas. Entende-se como efeito indireto a melhoria no status hídrico das plantas por diminuição do déficit de pressão de vapor entre as folhas e a atmosfera ($DPV_{\text{folha-ar}}$) e, conseqüentemente, da transpiração (Rundel, 1982; Burgess & Dawson, 2004).

No capítulo 3, investigamos, ao longo de um ano, os efeitos da neblina (aspersão noturna e periódica de água sobre as folhas) no crescimento e sobrevivência de plântulas do pinheiro brasileiro submetidas a uma baixa disponibilidade de água no solo e determinamos os valores letais de parâmetros das relações hídricas para plantas que plantas que mantiveram suas folhas secas ao longo de todo o período.

Finalmente, no capítulo 4, realizamos estudos com aspersão de água marcada com isótopo pesado de hidrogênio (deutério) para comprovarmos o influxo da água depositada sobre as folhas para o interior do corpo das plantas.

Referências Bibliográficas

- Brodribb TJ, Feild TS (2000) Stem hydraulic supply is linked to leaf photosynthetic capacity: evidence from New Caledonian and Tasmanian rainforests. *Plant, Cell & Environment*, 23: 1381–1388.
- Brodribb TJ, Holbrook NM, Zwieniecki MA, Palma B (2005) Leaf hydraulic capacity in ferns, conifers and angiosperms: impacts on photosynthetic maxima. *New Phytologist*, 165: 839-846.
- Breshears DD, Mcdowell NG, Goddard KL, Dayem KE, Martens SN, Meyer CW, Brown KM (2008) Foliar absorption of intercepted rainfall improves woody plant water status most during drought. *Ecology*, 89: 41-47.
- Burgess SSO & Dawson TE (2004) The contribution of fog to the water relations of *Sequoia sempervirens* (D. Don): foliar uptake and prevention of dehydration. *Plant, Cell and Environment*, 27:1023–1034.
- Dutra TL & Stranz A (2003) História das Araucariaceae: a contribuição dos fósseis para o entendimento das adaptações modernas da família no Hemisfério Sul, com vistas a seu manejo e conservação. In: Ronchi LH & Coelho OGW (orgs.) *Tecnologia, diagnóstico e planejamento ambiental*. Ed. UNISINOS, São Leopoldo. pp. 293-351
- Eichert T & Burkhardt J (2001) Quantification of stomatal uptake of ionic solutes using a new model system. *Journal of Experimental Botany*, 52: 771-781
- Golfari L (1963) Exigencias climáticas de las coníferas tropicales y subtropicales. *Unasyuva*, 17(1): 33-42.
- Limm EB, Simonin KA, Bothman AG, Dawson TE (2009) Foliar water uptake: a common water acquisition strategy for plants of the redwood forest. *Oecologia*, 161: 449–459.
- Romberger JA, Hejnowicz Z, Hill JF (1993) *Plant structure: function and development*. Berlin: Springer-Verlag, 524 p.
- Rundel PW (1982) Water uptake by organs other than roots. In *Physiological Plant Ecology*. Vol. II. Water Relations and Carbon Assimilation. (eds. Lange O.L., Nobel P.S., Osmond C.B. & Ziegler H.) pp. 111–134. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York – USA.
- Simonin KA, Santiago LS, Dawson TE (2009) Fog interception by *Sequoia sempervirens* (D. Don) crowns decouples physiology from soil water deficit. *Plant, Cell and Environment*, 32: 882–892.

- Stone EC, Went FW, Young CL (1950) Water absorption from the atmosphere by plants growing in dry soil. *Science*: 111, 546-548.
- Stone EC, Fowells HA (1955) Survival value of dew under laboratory condition with *Pinus ponderosa*. *Forest Science*, 1: 183-188.
- Stone EC, Shachori AY, Stanley RG (1956) Water absorption by needles of Ponderosa pine seedlings and its internal redistribution. *Plant Physiology*, 31(2): 120-125.
- Stone EC (1957) Dew as an ecological factor. II. The effect of artificial dew on the survival of *Pinus ponderosa* and associated species. *Ecology*, 48: 414-422.
- Tukey HB, Wittwer SH, Teubner FG, Long WG (1956) Utilization of radioactive isotopes in resolving the effectiveness of foliar absorption of plant nutrients. *International Conference on the Peaceful Uses of Atomic Energy*. New York: United Nations, 12: 138-148.
- Mastroberti AA & Mariath JEA (2003) Compartmented cells in the mesophyll of *Araucaria angustifolia* (Araucariaceae). *Australian Journal of Botany*, 51: 267-274.
- Mastroberti AA & Mariath JEA (2008) Development of mucilage cells of *Araucaria angustifolia* (Araucariaceae). *Protoplasma*, 232: 233-245.
- Widholzer CFN, Mastroberti AA, Mariath JEA (2004) *Pontoações na superfície foliar de Araucaria angustifolia (Bertolini) O. Kuntze (Araucariaceae – Gymnosperme)* In: 55º Congresso Nacional de *Botânica*, Viçosa, MG, Sociedade Botânica do Brasil (resumo).

Capítulo 1

O ambiente natural do pinheiro brasileiro e os caminhos da absorção foliar

A Floresta com Araucária

A Floresta Ombrófila Mista, também conhecida como Floresta com Araucária, integrante do Bioma Mata Atlântica (Decreto-lei 750/1993), tem como seu representante característico o pinheiro brasileiro. Sua área de ocorrência situa-se abaixo do Trópico de Capricórnio, limitada entre as latitudes de 19° 15'S (Minas Gerais) e 31° 30'S (Rio Grande do Sul) e entre as longitudes 41° 30'W e 54° 30'W, em altitudes que variam entre 500 e 1200 m (Guerra *et al.*, 2002). Entretanto, o intenso processo de exploração predatória destas florestas fez com que as reservas naturais do pinheiro brasileiro estejam limitadas a valores entre 2 e 5% dos 20 milhões de hectares originais da Floresta com Araucária (Guerra *et al.*, 2002; Medeiros *et al.*, 2005). Desta forma, atualmente, o pinheiro brasileiro é considerado uma espécie criticamente ameaçada de extinção (IUCN, 2011) embora, nas Listas da Flora Ameaçada do Brasil e do RS, esteja presente na categoria de ameaça vulnerável (Portaria IBAMA n° 37-N, 1992; Decreto RS 42099/2002). Particularmente no Rio Grande do Sul existem, atualmente, treze Unidades de Conservação – UC, que, somadas, “protegem” cerca de 51.554 ha, com alguns remanescentes de Floresta com Araucária (Indrusiak & Monteiro, 2009).

O padrão atual de distribuição do pinheiro brasileiro reflete uma relação inversa entre os gradientes de latitude e altitude (Backes, 1988), o que equivale a maiores altitudes de ocorrência à medida que as latitudes diminuem. No Rio Grande do Sul, a espécie ocorre

tipicamente a partir de altitudes superiores a 200 m (Backes, 1988). Os solos nesta região são do tipo Cambissolo Húmico Alumínico típico (Streck *et al.*, 2008), sendo pouco espessos e ácidos, com horizontes húmicos delgados, argilosos, ricos em alumínio trocável e com índices de pH entre 4,2 e 5,5 (Hueck, 1972; Backes, 1983; Dutra & Stranz, 2003). O clima mesotérmico e superúmido, ocupado pelas florestas com araucária no Rio Grande do Sul, apresenta índices pluviométricos elevados, variáveis entre 1000 e 2200 mm de média anual (Hueck, 1972; Rizzini, 1997), com temperaturas amenas, de média anual entre 10 e 15 °C (Backes, 1988), e sujeito a eventos de geada (Machado, 1950; Moreno, 1961).

Em suas áreas de ocorrência no Rio Grande do Sul, a Floresta com Araucária está inserida num mosaico vegetacional, no qual predominam extensas áreas de campos (Rambo, 1956), muitas hoje ocupadas por plantações de *Pinus sp.*, descaracterizando, em grande parte, a configuração original dos sistemas de vegetação em todo o Planalto das Araucárias (Backes, 2009). Evidências indicam que o fogo e a introdução do gado limitaram a expansão florestal e, conseqüentemente, promoveram a manutenção deste mosaico (Pillar, 2003; 2009).

No entanto, em locais onde estes distúrbios (práticas de fogo e pastoreio) não ocorrem, a floresta está naturalmente expandindo sobre o campo, e, conseqüentemente, alterando a biodiversidade deste bioma (Oliveira & Pillar 2004; Overbeck *et al.* 2007). Os campos nesta região são relictos de um clima mais seco e frio (Behling *et al.*, 2004) e, com o clima mais úmido atual, a floresta estaria avançando sobre o campo (Oliveira & Pillar, 2004). Pillar (2003) e Pillar *et al.* (2009) relatam que a expansão da Floresta sobre os campos parece ter ocorrido mais em encostas sul do que norte, dado à maior radiação solar em encostas norte, que seria o principal fator na flamabilidade do campo. Conforme os autores, a vegetação em encostas sul tenderia a reter mais umidade do orvalho durante o dia e,

portanto, seria menos inflamável, o que aumentaria a chance de indivíduos arbóreos jovens sobreviverem após uma queimada da matriz graminácea. Ainda, recentes trabalhos vêm demonstrando a importância da araucária como espécie nucleadora, tanto pelo seu efeito poleiro, quanto pelo seu potencial como planta-berçário no estabelecimento de espécies da floresta na matriz campestre (Duarte *et al.* 2006; Duarte *et al.* 2007; Duarte *et al.* 2010).

Requisitos ambientais para o estabelecimento e crescimento do pinheiro brasileiro

Backes (1988), após analisar inúmeros dados climáticos, concluiu que *A. angustifolia* está confinada a locais onde o clima é desfavorável às espécies tropicais, pois sua capacidade competitiva é considerada menor do que a das espécies latifoliadas. Assim, a distribuição atual do pinheiro brasileiro não estaria determinada em função dos condicionamentos ambientais, mas talvez determinada pelos sistemas de latifoliadas com as quais compete.

No Rio Grande do Sul, o estabelecimento de novos indivíduos de *A. angustifolia* é observado tanto na matriz campestre adjacente às florestas com araucária, quanto no interior das próprias florestas e em plantações de *Pinus*, indicando plasticidade de indivíduos jovens da espécie frente a diferentes fatores ambientais (Duarte *et al.*, 2002). Diversos estudos de natureza ecofisiológica foram e vêm sendo realizados no intuito de estabelecer os fatores determinantes do meio para a regeneração da espécie no ambiente florestal e na colonização de novos ambientes. Os resultados até hoje obtidos mostram uma plasticidade morfológica e fisiológica de plântulas frente a variações no regime luminoso (Inoue *et al.*, 1978; Franco & Dillenburg, 2007; Duarte & Dillenburg, 2000; Duarte *et al.*, 2002), uma plasticidade radicular frente a variações na profundidade e densidade do solo (Mósen & Dillenburg, 2004, Korndörfer & Dillenburg, 2008), uma forte dependência micorrízica (Zandavalli & Dillenburg, 2004) e uma preferência por amônio como fonte de N inorgânico

(Garbin & Dillenburg, 2006). No entanto, apesar da reconhecida e indiscutível importância da disponibilidade de água como fator limitante à sobrevivência e crescimento das plantas (e.g. McDowell *et al.*, 2008), pouco se sabe e nada foi publicado sobre o comportamento da *A. angustifolia* frente a variações na disponibilidade de água no ambiente edáfico e atmosférico.

Embora a região fitogeográfica do pinheiro brasileiro seja caracterizada por um clima superúmido, a competição radicular nas fases iniciais do desenvolvimento das plantas arbóreas com as gramíneas (Espigares *et al.*, 2004) pode restringir a disponibilidade de água e nutrientes no solo. Momentos de baixa precipitação pluviométrica e mudanças no clima global podem ocasionar secas esporádicas ou sazonais, influenciando a fisiologia, crescimento e sobrevivência das plantas (e.g. McDowell *et al.*, 2008; Breshears *et al.*, 2009). No estágio adulto, a grande altura atingida pela espécie em questão (até 50 m; Reitz *et al.* 1988) pode gerar limitações ao fornecimento de água oriunda do solo aos seus ramos, que tipicamente ocupam uma posição apical na árvore. Desta forma, tanto a disponibilidade de água no solo quanto na atmosfera podem desempenhar papel fundamental para o estabelecimento e crescimento da espécie.

A atmosfera como fonte de água e nutrientes às plantas

A água atmosférica constitui um importante reservatório de nutrientes minerais, partículas de cinza, de poeira, de aerossóis, entre outros, permanecem em suspensão no ar, ou são depositados sobre as partes aéreas das plantas (Burkhardt, 2010). Os nutrientes minerais contidos na água da chuva e da neblina constituem importante fonte nos processos de ciclagem nos ecossistemas: além de carrear elementos diretamente da atmosfera, atua também como principal agente de lixiviação dos nutrientes acumulados sobre as superfícies

expostas das plantas, principalmente sobre as folhas (Burkhardt, 2010; Backes, 2009). Além disso, é pelas superfícies foliares que muitas plantas podem adquirir nutrientes dissolvidos (Marschner, 1995), podendo ser útil no alívio da competição radicular entre as plantas (Sparks, 2009).

A composição da água da chuva e da neblina varia muito de uma região para outra e está relacionada com os locais de origem das massas de ar e com a gênese destes eventos (Eaton *et al.* 1973). A interceptação destas fontes de água pelo dossel varia com a intensidade dos eventos de neblina e chuva, a heterogeneidade da estrutura florestal, a diversidade das espécies arbóreas (altura e arquitetura do dossel) (Kimmins, 1987; Hutley *et al.*, 1997), o tamanho, forma e orientação dos ramos e folhagens (Cavalier & Goldztein, 1989), a velocidade e frequência dos ventos (Lovett *et al.*, 1982) e com a declividade dos terrenos (Zadroga, 1981).

Weathers (1999) relatou a importância das nuvens e da neblina para a manutenção dos ecossistemas de regiões montanhosas, relacionando-as com a dinâmica hidrológica, de nutrientes e de poluentes. A região fitogeográfica do pinheiro brasileiro apresenta potencial para formação de neblina, em função do relevo e da maritimidade (Projeto RADAMBRASIL, 1986). No ambiente em que a espécie caracteristicamente ocupa é comum a presença de neblina durante todo o ano (Mota, 1951), ocorrendo entre 92 e 120 dias ao longo deste e sendo intensificados principalmente nos meses de abril a agosto (Machado, 1950; Moreno, 1961).

A precipitação pluviométrica e a concentração de nutrientes minerais na água de chuva total e na água de gotejamento foram avaliados por um período de dois anos em uma floresta com araucária na Floresta Nacional de São Francisco de Paula, RS (Backes, 2009). A floresta estudada interceptou 12% da chuva total e, portanto, 88% da chuva incidente

atingiu o solo. Na chuva incidente, a concentração de macro e micronutrientes foi em média de 5,99 e 1,02 mg L⁻¹, respectivamente. Os nutrientes presentes, em ordem decrescente de concentração, foram K, Ca, S, N, Mg e P (macronutrientes) e Zn, Na, Cu, Fe, B, e Mn (micronutrientes). A precipitação interna teve um enriquecimento de elementos inorgânicos, resultado de exsudados das plantas e da lixiviação de aerossóis depositados sobre as copas que formam os estratos arbustivos e arbóreos (Backes, 2009).

Apesar do amplo reconhecimento da água atmosférica como uma fonte adicional de nutrientes às plantas, evidências experimentais da importância da água atmosférica em si para as relações hídricas das plantas e, conseqüentemente, para a hidrologia de ecossistemas terrestres são ainda incipientes. Particular progresso, no entanto, tem sido feito com espécies arbóreas de gimnospermas, principalmente na ecofisiologia de plantas de *Sequoia sempervirens* (e.g. Burgess & Dawson, 2004; Limm *et al.*, 2009; Simonin *et al.*, 2009). Porém, outros trabalhos também evidenciaram os benefícios da absorção foliar para as relações hídricas de *Picea abies* e *Juniperus monosperma* (e.g. Katz *et al.*, 1989; Breshears *et al.*, 2008) e para o crescimento e sobrevivência de algumas espécies de *Pinus spp* (Stone *et al.*, 1950, 1955, 1956).

Os caminhos da absorção foliar

A água depositada na superfície foliar pode ser difundida para as folhas através da cutícula (Slatyer, 1960; Vaadia & Waisel, 1963; Yates & Hutley, 1995, Limm *et al.*, 2009). Van Hove & Adema (1996) compararam a estrutura da cutícula a uma esponja, formada pela matriz de cutina, capaz de movimentos de expansão e retração, em condições úmidas e secas, respectivamente. As cavidades dessa esponja estariam preenchidas com ceras hidrofóbicas, incapazes de hidratação e, portanto, de expansão. A adsorção de água pela matriz de cutina

e, conseqüentemente, sua distensão, originariam cavidades junto às ceras, formando um contínuo aquoso através do qual a difusão de água e solutos para o interior das folhas seria possível.

Outros mecanismos também estariam envolvidos no processo de facilitação da absorção foliar de água e solutos, incluindo a penetração de hifas fúngicas nos poros estomáticos (Burgess & Dawson, 2004) e a colonização bacteriana, que poderiam estar envolvidos na umectação da superfície foliar, seja nos poros estomáticos (Eichert *et al.*, 2008) ou em depressões da membrana cuticular e junções da parede celular de células epidérmicas, especialmente em sulcos próximos ao sistema vascular (Beattie & Lindow, 1999). Recentemente, Burkhardt e colaboradores (Eichert & Burkhardt, 2001; Burkhardt *et al.*, 2009; Burkhardt, 2010) sugeriram que a presença de sais aspergidos em cutículas hidrofóbicas por repetidos ciclos de secagem/molhabilidade (como depósitos de partículas interceptadas e acumuladas com ciclos de nevoeiros e chuva) atuariam no estabelecimento de “pontes” entre paredes celulares de células guardas, num mecanismo de ativação hidráulica dos estômatos.

Sabe-se que em folhas maduras de *A. angustifolia* os poros estomáticos são totalmente obliterados por substâncias alveolares (Stokey & Ko, 1986), constituindo os chamados plugues estomáticos. As substâncias que constituem os plugues estomáticos em *A. angustifolia* foram identificadas como parcialmente compostas por pectinas altamente hidrofílicas e por complexos arabinogalactano-protéicos (Widholzer *et al.*, 2004), o que aumentaria a umectação da superfície foliar e permeabilidade cuticular, aumentando as chances de absorção de água e solutos atmosféricos.

Embora comuns em coníferas, estudos que elucidem a funcionalidade dos plugues estomáticos ainda são necessários. Efeitos anti-transpirantes foram sugeridos por Jeffrey *et*

al. (1971), ao observar que a presença de ceras obstruindo os poros estomáticos reduz em dois terços a taxa de transpiração e em cerca de três vezes a taxa fotossintética. Assim, os plugues estomáticos podem ser considerados como uma característica xeromórfica. O crescimento de plantas de *Tetraclinis articulata*, uma conífera que ocorre sazonalmente em áreas áridas do norte da África e sul da Europa, caracterizadas por altas temperaturas e baixa precipitação (menor que 1000 mm p.a.), estaria relacionada à presença de plugues estomáticos que aumentariam a resistência da camada limítrofe, diminuindo a perda de água em ambientes onde a fotossíntese é limitada pela baixa disponibilidade de água no solo (Haworth & McElain, 2008).

No entanto, os plugues estomáticos não são restritos às plantas que crescem em ambientes com restrição de água no solo, sendo comumente observados em plantas com crescimento em ambientes de alta precipitação, umidade relativa da atmosfera e disponibilidade de água no solo (e.g. Brodribb & Hill, 1997; Field *et al.*, 1998; Burgess & Dawson, 2004; Haworth & McElain, 2008).

De acordo com Brodribb & Hill (1997), duas linhas de evidência sugerem que os plugues estomáticos não sejam uma adaptação primária à restrição da perda de água: Primeiro, espécies de coníferas que crescem em alguns dos ambientes mais secos na Austrália (*Callitris* sp.) e que, conseqüentemente, teriam maior necessidade em reduzir as perdas de água, não apresentam a obstrução dos poros estomáticos. Segundo, entre espécies com antecâmaras estomáticas preenchidas por cera, a frequência, o tamanho e a natureza dos plugues não aparentam ter conexão à magnitude da máxima condutância foliar, ou seja, poder-se-ia esperar que espécies com alta condutância estomática e taxa fotossintética produzissem ceras em menor quantidade do que espécies com baixa

capacidade fotossintética e condutância foliar; entretanto, tais diferenças ainda não são claramente evidentes (Brodrribb & Hill,1997).

Assim, parece provável que os plugues estomáticos tenham evoluído como uma adaptação a condições úmidas. A oclusão dos poros estomáticos por substâncias hidrofóbicas em espécies que vivem em ambientes com intensa presença de neblina e chuva, como coníferas da Tasmânia (*Athrotaxis* sp.) e *Drimys winteri* (Winteraceae), possibilitaria a permanência do poro estomático livre de água, permitindo a maximização das trocas gasosas (transpiração e absorção de CO₂) nesses ambientes (Brodrribb & Hill, 1997; 1998; Field *et al.*, 1998).

Entretanto, outros autores sugerem que os plugues estomáticos não atuariam como “repelentes” de água. Para Zimmermann *et al.* (2007), a captação da umidade atmosférica através da mucilagem presente nos plugues é um eficiente mecanismo para o suprimento de água para ramos mais apicais em árvores de grande altura e, pelo menos para algumas espécies (*Populus nigra* e *Eucalyptus pilularis*), a formação dos plugues é dependente da limitação do suprimento de água para as raízes. Recentemente, Westhoff *et al.* (2009) demonstraram a presença de mucilagens hidrofílicas (ácidos mucopolissacarídeos) nas superfícies foliares, nas câmaras subestomáticas e em vasos xilemáticos de uma grande diversidade de angiospermas de grande porte, mas também em algumas gimnospermas, incluindo três espécies de *Araucaria* (*A. bidwillii*, *A. robusta* e *A. cunninghamii*).

Em nosso estudo, realizamos alguns experimentos de caráter anatômico (dados não mostrados) e verificamos que as superfícies foliares e os poros estomáticos exibem tanto substâncias hidrofílicas (pectinas e complexos arabinogalactano-protéicos; Widholzer *et al.*, 2004) quanto hidrofóbicas (principalmente ceras epicuticulares). A obliteração dos estômatos por substâncias hidrofílicas poderia reduzir as taxas de incorporação de carbono

e, conseqüentemente, poderia ser em parte responsável pelas baixas taxas de crescimento da espécie. Também, os complexos arabinogalactano-protéicos, além de hidrofílicos, seriam responsáveis por importantes processos de reconhecimento celular, que poderiam induzir uma densa microbiota em nível do filoplano. Essa microbiota, verificada por Widholzer (informação pessoal) em *A. angustifolia* e constituída principalmente de hifas fúngicas (provavelmente oomicetes), não somente ampliaria o ângulo de contato de gotículas depositadas na superfície, mas também aumentaria a área de contato com a água e solutos, aumentando a possibilidade de absorção de água atmosférica.

Estes fatos somados apontam para conseqüências contrastantes de modificações morfo-anatômicas que facilitam a absorção foliar de água: aquelas características que aumentam a aderência da água às folhas, aumentando as chances de absorção, também limitam as trocas gasosas. Como estas limitações são de particular relevância durante o período diurno (quando há energia luminosa para a realização da fotossíntese), é possível que as respostas apresentadas por diferentes espécies e estágios foliares estejam na dependência da frequência e intensidade de neblinas neste período de maior atividade fotossintética.

Referências Bibliográficas

- Backes A (1983) Dinâmica do Pinheiro Brasileiro. *Iheringia* (Ser. Bot.), 30: 49-84.
- Backes A (1988) Condicionamento climático e distribuição geográfica de *Araucaria angustifolia* (Bert.) O. Ktze. no Brasil - II. *Pesquisas Botânica*, 49: 5-40.
- Backes A (2009) Produtividade Primária e fluxo de nutrientes na Floresta com Araucária. In: Fonseca CR, Souza AF, Leal-Zanchet AM, Dutra TL, Backes A, Ganade G (eds.) *Floresta com Araucária: Ecologia, Conservação e Desenvolvimento Sustentável*. Holos Editora, Ribeirão Preto. p. 97-110.

- Beattie GA & Lindow SE (1995) The secret life of foliar bacterial pathogens on leaves. *Annual Review of Phytopathology*, 33: 145-172.
- Brodribb TJ & Hill RS (1997) Imbricacy and Stomatal Wax Plugs Reduce Maximum Leaf Conductance in Southern Hemisphere Conifers. *Australian Journal of Botany*, 45(4): 657 – 668.
- Brodribb T & Hill RS (1998) The photosynthetic drought physiology of a diverse group of southern hemisphere conifer species is correlated with minimum seasonal rainfall. *Functional Ecology*, 12 (3): 465–471.
- Burgess SSO & Dawson TE (2004) The contribution of fog to the water relations of *Sequoia sempervirens* (D. Don): foliar uptake and prevention of dehydration. *Plant, Cell and Environment*, 27: 1023–1034.
- Burkhardt J, Hunsche M, Pariyar S (2009) *Progressive wetting of initially hydrophobic plant surfaces by salts – a prerequisite for hydraulic activation of stomata?* UC Davis: The Proceedings of the International Plant Nutrition Colloquium XVI.
- Burkhardt J (2010) Hygroscopic particles on leaves: nutrients or desiccants? *Ecological Monographs* 80 (3): 369-399.
- Behling H, Pillar VD, Orlóci L, Bauermann SG (2004) Late Quarternary Araucaria forest, grassland (campos), fire and climate dynamics, studied by high-resolution pollen, charcoal and multivariate analysis of the Cambara do Sul core in southern Brazil. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeocology* 203: 277-297.
- Brasil (1992) Ministério do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis. Lista da flora ameaçada de extinção. Portaria IBAMA nº 37-N, 03 de abril de 1992.
- Brasil (1993) Ministério do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis. Corte, exploração e supressão de vegetação primária nos estágios avançado e médio de regeneração da Mata Atlântica. Decreto Federal nº 750, de 10 de fevereiro de 1993.
- Brasil (2002) Ministério do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis. Lista das espécies da flora ameaçadas de extinção no Rio Grande do Sul. Decreto Estadual nº42.099, de 31 de dezembro de 2002.
- Breshears DD, Myers OB, Meyer CW, Barnes FJ, Zou CB, Allen CD, McDowell NG, Pockman, WT (2009) Tree die-off in response to global-change type drought: Mortality insights from a decade of plant water-potential measurements. *Frontiers in Ecology and the Environment*, 7: 185–189.

- Cavalier J & Goldstein G (1989) Mist and fog interception in elfin cloud forest in Colombia and Venezuela. *Journal of Tropical Ecology*, 5: 309-322.
- Duarte LS & Dillenburg LR (2000) Ecophysiological responses of *Araucaria angustifolia* (Araucariaceae) seedlings to different irradiance levels. *Australian Journal of Botany*, 48: 531-537.
- Duarte LS, Dillenburg LR, Rosa LMG (2002) Assessing the role of light in the regeneration of *Araucaria angustifolia* (Araucariaceae). *Australian Journal of Botany*, 50: 741-751.
- Duarte LS, Dos Santos MMG, Hartz SM, Pillar VD (2006) Role of nurse plants on Araucaria Forest Expansion over grassland in south Brazil. *Austral Ecology*, 31: 520-528.
- Duarte LS, Carlucci MB, Hartz SM, Pillar VD (2007) Plant dispersal strategies and the colonization of Araucaria forest patches in a grassland-forest mosaic. *Journal of Vegetation Science*, 18: 847-858.
- Duarte LS, Hofmann GS, Dos Santos MMG, Hartz SM, Pillar VD (2010) Testing for the influence of niche and neutral factors on sapling community assembly beneath isolated woody plants in grasslands. *Journal of Vegetation Science*, 21: 462-271.
- Dutra TL & Stranz A (2003) História das Araucariaceae: a contribuição dos fósseis para o entendimento das adaptações modernas da família no Hemisfério Sul, com vistas a seu manejo e conservação. In: Ronchi LH & Coelho OGW (orgs.) *Tecnologia, diagnóstico e planejamento ambiental*. Ed. UNISINOS, São Leopoldo. pp. 293-351.
- Eaton JS, Likens GE, Burmann H (1973) Troughfall and Stemflow Chemistry in a Northern Hardwood Forest. *The journal of Ecology* 6: 65-77.
- Eichert T & Burkhardt J (2001) Quantification of stomatal uptake of ionic solutes using a new model system. *Journal of Experimental Botany*, 52: 771-781.
- Eichert T, Kurtz A, Steiner U, Goldbach HE (2008) Size exclusion limits and lateral heterogeneity of the stomatal foliar uptake pathway for aqueous solutes and watersuspended nanoparticles. *Physiologia Plantarum*, 134: 151-160.
- Espigares T, López-Pintor A, Benayas JMR (2004) Is the interaction between *Retama sphaerocarpa* and its understory herbaceous vegetation always reciprocally positive? Competition-facilitation shift during *Retama* establishment. *Acta Oecologia*, 26: 121-128.

- Field TS, Zwieniecki MA, Donoghue MJ, Holbrook NM (1998) Stomatal plugs of *Drimys winteri* (Winteraceae) protect leaves from mist but not drought. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 95: 14256-14259.
- Franco AM & Dillenburg LR (2007) Ajustes morfológicos e fisiológicos em plantas jovens de *Araucaria angustifolia* (Bertol.) Kuntze em resposta ao sombreamento. *Hoehnea*, 34(2): 135-144.
- Garbin ML, Zandavalli RB, Dillenburg LR (2006) Soil patches of inorganic nitrogen subtropical Brazilian plant communities with *Araucaria angustifolia*. *Plant and Soil*, 286: 323-337.
- Guerra MP, Silveira V, Reis MS, Schneider L (2002). Exploração, manejo e conservação da araucária (*Araucaria angustifolia*). In: Simões LL & Lino CF (orgs.). *Sustentável Mata Atlântica: a exploração de seus recursos florestais*. Editora Senac, São Paulo, p. 85-102.
- Haworth M & McElain J (2008) Hot, dry, wet, cold or toxic? Revisiting the ecological significance of leaf and cuticular micromorphology. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*, 262: 79-90.
- Hueck K (1972) *As florestas da América do Sul*. Ed. Polígono, São Paulo. 466 p.
- Hutley LB, Doley D, Yates DJ, Boonsaner A (1997) Water Balance of an Australian Subtropical Rainforest at Altitude: the Ecological and Physiological Significance of Intercepted Cloud and Fog. *Australian Journal of Botany*, 45: 311–329.
- Indrusiak C & Monteiro SA (2009) Unidades de Conservação na área de distribuição da Araucária. In: Fonseca CR, Souza AF, Leal-Zanchet AM, Dutra TL, Backes A, Ganade G (eds.) *Floresta com Araucária: Ecologia, Conservação e Desenvolvimento Sustentável*. Holos Editora, Ribeirão Preto. p. 253-265.
- Inoue MT, Galvão F, Torres DV (1978) A produção primária de *Araucaria angustifolia* (Bert.) O. Ktze. no estágio de muda em dependência da intensidade luminosa. *Silvicultura*, 4: 54-56.
- IUCN (2011) IUCN Red List of Threatened Species. Version 2011.1. <<http://www.iucnredlist.org>>. Downloaded on 16 June 2011.
- Jeffree CE, Johnson RPC, Jarvis PG (1971) Epicuticular wax in the stomatal antechamber and its effects on the diffusion of water vapour and carbon dioxide. *Planta*, 98: 1–10.
- Katz C, Oren R, Schulze E-D, Milburn JA (1989) Uptake of water and solutes through twigs of *Picea abies* (L.) Karst. *Trees*, 3: 33-37.

- Korndörfer CL & Dillenburg LR (2008) Initial growth of Brazilian pine (*Araucaria angustifolia*) under equal soils volumes but contrasting rooting depths. *Trees, structure and function*, 22: 835-841.
- Kimmins JP (1987) *Forest Ecology*. Macmillan, New York – USA.
- Limm EB, Simonin KA, Bothman AG, Dawson TE (2009) Foliar water uptake: a common water acquisition strategy for plants of the redwood forest. *Oecologia*, 161: 449–459.
- Lovett GM, Reiners WA, Olson RK (1982) Cloud droplet deposition in subalpine balsam fir forests: hydrological and chemical inputs. *Science*, 218: 1302–1303.
- Löwe TR & Dillenburg LR (2011) Changes in light and nutrient availabilities do not alter the duration of use of seed reserves in *Araucaria angustifolia* seedlings. *Australian Journal of Botany*, 59: 32-37.
- Machado FP (1950) *Contribuição ao estudo do Rio Grande do Sul*. Rio de Janeiro: IBGE, 91p.
- Marschner H (1995) *The mineral nutrition of higher plants*. 2 ed., Elsevier, 889p.
- McDowell N, Pockman WT, Allen CD, Breshears DD, Cobb N, Kolb T, Plaut J, Sperry J, West A, Williams DG, Yezzer EA (2008) Mechanisms of plant survival and mortality during drought: Why do some plants survive while others succumb to drought? *New Phytologist*, 178: 719– 739.
- Medeiros JD, Savi M, Brito BFA (2005) Seleção de áreas para criação de Unidades de Conservação na Floresta Ombrófila Mista. *Biotemas*, 18 (2): 33-50.
- Mósen M & Dillenburg LR (2004) Early growth of Brazilian pine (*Araucaria angustifolia* [Bertol.] Kuntze) in response to soil compaction and drought. *Plant and Soil*, 258: 293-306.
- Moreno JA (1961) *Clima do Rio Grande do Sul*. Porto Alegre, RS: Secretaria de Agricultura, 38p.
- Mota FS (1951) Estudos do clima o estado do Rio Grande do Sul segundo o sistema de w. Köppen. *Revista Brasileira de Geografia*, abr-jun, 107-116.
- Oliveira JM & Pillar VD (2004) Vegetation dynamics on mosaics of Campos and Araucaria Forest between 1974 and 1999 in Southern Brazil. *Community Ecology*, 5 (2): 197-202.
- Overbeck GE, Müller SC, Fidelis A, Pfadenhauer J, Pillar VD, Blanco CC, Boldrini II, Both R, Forneck ED (2007) Brazil's neglected biome: the South Brazilian Campos. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics* 9, 101-116.

- Pillar VD (2003) Dinâmica da expansão florestal em mosaicos de floresta e campos no sul do Brasil. In: Cabido M (Ed.) *Ecosistemas Brasileiros: manejo e conservação*. Expressão, Fortaleza, p. 209-216
- Pillar VD, Müller SC, Oliveira JM, Machado RE (2009) Mosaicos de Campos e Floresta com Araucária: dilemas para a conservação. In: Fonseca CR, Souza AF, Leal-Zanchet AM, Dutra TL, Backes A, Ganade G (eds.) *Floresta com Araucária: Ecologia, Conservação e Desenvolvimento Sustentável*. Holos Editora, Ribeirão Preto. p. 253-265.
- Projeto RADAMBRASIL (1986) *Levantamento dos recursos Naturais*. Folhas SH. 22 Porto Alegre e parte das Folhas SH.21 Uruguiana e SI. 22 Lagoa Mirim: geologia, geomorfologia, pedologia, vegetação, uso potencial da terra. Fundação Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, IBGE, Rio de Janeiro, v. 33, 796 p.
- Rambo B (1956) *A fisionomia do Rio Grande do Sul*. Selbach, Porto Alegre.
- Reitz R, Klein RM, Reis A (1988) *Projeto Madeira do Rio Grande do Sul*. SUDESUL/Herbário Barbosa Rodrigues, Porto Alegre.
- Rizzini CT (1997) *Tratado de fitogeografia do Brasil: aspectos ecológicos, sociológicos e florísticos*. Âmbito Cultural Edições Ltda. 2a ed. 747 p.
- Simonin KA, Santiago LS, Dawson TE (2009) Fog interception by *Sequoia sempervirens* (D. Don) crowns decouples physiology from soil water deficit. *Plant, Cell and Environment*, 32: 882–892.
- Slatyer RO (1960) Absorption of water by plants. *Botanical Review*, 26: 331–392.
- Sparks JP (2009) Ecological ramifications of the direct foliar uptake of nitrogen. *Oecologia*, 159:1–13.
- Stone EC, Went FW, Young CL (1950) Water absorption from the atmosphere by plants growing in dry soil. *Science*: 111, 546-548.
- Stone EC, Fowells HA (1955) Survival value of dew under laboratory condition with *Pinus ponderosa*. *Forest Science*, 1: 183-188.
- Stone EC, Shachori AY, Stanley RG (1956) Water absorption by needles of *Ponderosa* pine seedlings and its internal redistribution. *Plant Physiology*, 31(2): 120-125.
- Stokey RA & Ko H (1986) Cuticle micromorphology of *Araucaria de Jussieu*. *Botanical Gazette*, 147 (4): 508-548.
- Streck EV, Kampf N, Dalmolin RSD, Klamt E, do Nascimento PC, Schneider P (2008) Solos do Rio Grande do Sul. EMATER/RS, Porto Alegre.

- Vaadia Y, Waisel Y (1963) Water absorption by aerial organs of plants. *Physiologia Plantarum* 16:44–51.
- Van Hove LWA & Adema EH (1996) The effective thickness of water films on leaves. *Atmospheric Environment*, 30: 2933–2936.
- Widholzer CFN, Mastroberti AA, Mariath JEA (2004) Pontoaões na superfície foliar de *Araucaria angustifolia* (Bertolini) O. Kuntze (Araucariaceae – Gymnosperme) In: 55º Congresso Nacional de *Botânica*, Viçosa, MG, Sociedade Botânica do Brasil (resumo).
- Weathers KC (1999) The importance of cloud and fog in the maintenance of ecosystems. *Tree*, 14: 214-215.
- Westhoff M, Zimmermann D, Zimmermann G, Gessner P, Wegner LH, Bentrup F-W, Zimmermann U (2009) Distribution and function of epistomatal mucilage plugs. *Protoplasma*, 235: 101-105.
- Yates DJ, Hutley L B (1995) Foliar uptake of water by wet leaves of *Sloanea woollsii*, an Australian subtropical rain forest tree. *Australian Journal of Botany*, 43:157–167.
- Zadroga F (1981) The hydrological importance of a montane cloud forest area of Costa Rica. In *Tropical Agricultural Hydrology* (eds. Lal R., Russell E.W.). Wiley, New York– USA. p. 59–73.
- Zandavalli RB, Dillenburg LR, Souza PV (2004) Growth responses of *Araucaria angustifolia* (Araucariaceae) to inoculation with the mycorrhizal fungus *Glomus clarum*. *Applied Soil Ecology*, 25: 245-255.
- Zimmermann D, Westhoff M, Zimmermann G, Geßner P, Gessner A, Wegner LH, Rokitta M, Ache P, Schneider H, Vásquez JA, Kruck W, Shirley S, Jakob P, Hedrich R, Bentrup F-W, Bamberg E, Zimmermann U (2007) Foliar water supply of tall trees: evidence for mucilage-facilitated moisture uptake from the atmosphere and the impact on pressure bomb measurements. *Protoplasma*, 22: 11-34.

Capítulo 2

The periodic wetting of leaves enhances the water relations and growth of the long-lived conifer species *Araucaria angustifolia*¹

Francine Ferreira Cassana & Lúcia Rebello Dillenburg*

Laboratório de Ecofisiologia Vegetal, Departamento de Botânica, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 91501-970-Porto Alegre, Brazil

***Correspondence**

L. R. Dillenburg, Departamento de Botânica, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Av. Bento Gonçalves 9500, 91501-970-Porto Alegre, Brazil

E-mail lucia.dillenburg@ufrgs.br

Short running title: Leaf wetting and water relations of *Araucaria angustifolia* seedlings

¹ Manuscript submitted (Plant Biology)

ABSTRACT

The importance of foliar absorption of water and atmospheric solutes in conifers was recognized in the 1970s, and the importance of fog as a water source in forest environments has been recently demonstrated. *Araucaria angustifolia* (Araucariaceae) is an emergent tree species that grows in montane forests of southern Brazil, where rainfall and fog are frequent events, leading to the frequent wetting of the leaves. Despite anatomical evidence in favour of leaf water absorption, there is no information on the existence and physiological significance of such process. In this study, we test the hypothesis that the use of atmospheric water by leaves takes place and is physiologically relevant for the species, by comparing growth, water relations and nutritional status between plants which were grown under two conditions of soil water (well-watered and water-stressed plants) and three types of leaf spraying (none, water, and nutrient solution spray). Leaf spraying had a greater effect in improving plant water relations when plants were under water stress. Plant growth was more responsive to the water available to the leaves than to the roots, and was equally increased by both types of leaf spraying, with no interaction with soil water status. Spraying leaves with nutrient solution increased shoot ramification and raised the concentrations of N, P, K, Zn, Cu and Fe in the roots. Our results provide strong indications that water and nutrients are indeed absorbed by leaves of *A. angustifolia*, and that this process might be as important as water uptake by its roots.

Key-words

Brazilian pine; leaf absorption; leaf spraying; nutrients; water potential

Abbreviations

LMA, leaf mass per area; LRM, lateral root mass; LRMR, lateral root mass ratio; MLLR, mean lateral root length; NLR, number of lateral roots; PM, total plant mass; RGRh, relative growth rate in shoot height; RGRsl, relative growth rate in total shoot length; RM, total root mass; RMR, root mass ratio; RWC, relative water content; SH, shoot height; SM, shoot mass; SMR, shoot mass ratio; SR, shoot ramification; TLLR/TRL₂₅, ratio between total length of lateral roots and 25-cm-length of tap root; TRL, tap root length; TRM, tap root mass; TRMR, tap root mass ratio; TSL, total shoot length; VPD, vapor pressure deficit; Ψ_w , water potential.

INTRODUCTION

Leaf water absorption by conifers was the focus of several studies in the 1950's, and those conducted by Stone and co-workers searched for the ecological and physiological significance of water absorption by intact leaves of this group (Stone *et al.* 1950; Stone & Fowells 1955; Stone *et al.* 1956; Stone 1957a; Stone 1957b). In the following decades, many authors (e.g. Schreiber & Schonherr 1992; Romberger *et al.* 1993) related the high susceptibility of some conifer species to air pollutants to the absorption of water and solutes by their leaves. Leyton & Juniper (1963) demonstrated the permeability of the basal portion of the leaf fascicles of different species of *Pinus* to water and solutes, a characteristic that, according to Romberger *et al.* (1993), would allow plants growing in relatively dry soils to use fog as a water source. More recent studies have demonstrated important ecophysiological consequences of such leaf absorption in different species of redwood forests (e.g. Dawson 1998; Burgess & Dawson 2004; Limm *et al.* 2009; Simonin *et al.* 2009).

Araucaria angustifolia (Bertol) Ktze., Brazilian pine, is a South American, critically endangered (IUCN 2011), conifer species of the Araucariaceae family which inhabits the montane forests of southern Brazil (Hueck 1972). In the southernmost state of Brazil, Rio Grande do Sul, it is the dominant tree species in these forests, which are currently expanding over the adjacent grasslands (Duarte *et al.* 2006). The climate in the region is characterized by high levels of precipitation (2,469 mm year⁻¹) and mean annual temperature of 14.5 °C (Backes 1988). Fog events are very common in the region, adding an extra source of water to the ecosystem. According to Machado (1950) and Moreno (1961), these events take place 92 to 120 days during the year, being particularly intense from April to May.

The interception of atmospheric water from clouds and fog by tree crowns might be of particular importance in montane ecosystems (Weathers 1999). This interception may not only contribute to the water relations of the trees themselves but may also increase the availability of water to the understory vegetation (Dawson 1998; Weathers 1999; Weathers *et al.* 2000; Burgess & Dawson 2004; Limm *et al.* 2009). In New Caledonia, isolated trees of *Araucaria laubenfelsii* (Corbass.) were shown to intercept great amounts of water from low clouds, which resulted in the deposition of water on the ground below their crowns (Rigg *et al.* 2002). According to these authors, this increase in soil humidity and the shading provided by the trees favour the establishment of tree and shrub species under their crowns. Duarte *et al.* (2006) attested the importance of isolated trees of *A. angustifolia* as nurse plants in the process of forest encroachment into the adjacent grasslands. The authors suggested that the characteristic candelabrum crown shape of the species and the leaf arrangement along its branches might constitute an efficient system for intercepting and storing atmospheric water and/or channelling this water to the ground surface, thus improving the soil water availability for seedling establishment.

The studies by Rigg *et al.* (2002) and Duarte *et al.* (2006) have both suggested that the two related *Araucaria* species might be important interceptors of atmospheric water but they have not approached the capacity of their leaves to absorb and use this intercepted water. However, some leaf characteristics of the species might favour the absorption and storage of atmospheric water. Alveolar substances obliterating the stomatal pores in mature leaves of *A. angustifolia* (Stokey & Ko 1986) were shown to be composed of highly hydrophilic pectins as well as of arabinogalactan-protein complexes (C. F. Widholzer, personal communication). The importance of hydrophilic mucilages on leaf surfaces and/or in epistomatal plugs for the absorption of atmospheric water by apical leaves was reported by Zimmermann *et al.* (2007) for several tall tree species. A related study, including gymnosperms, revealed that three species of *Araucaria* (*A. bidwillii*, *A. robusta* e *A. cunninghamii*) have numerous epistomatal mucilage plugs (Westhoff *et al.* 2009). Finally, mucilage cells in the leaf mesophyll of *A. angustifolia* were suggested to play an important role in regulating leaf water relations, by acting as water-storage cells (Mastroberti & Mariath 2003; Mastroberti & Mariath 2008).

Considering the abundance of atmospheric water in the natural environment of the *Araucaria angustifolia*, the architecture of its crown and the reported anatomical characteristics of its leaves, we suggest that this extra source might contribute to the water relations of the species by interception, absorption and storage of atmospheric water by its leaves, especially under circumstances of low soil water availability. In this study, we conducted an experiment with young potted plants of *A. angustifolia* in order to determine if the periodic presence of water on leaves of *A. angustifolia* do favour the water relations and growth of this species, to separate the direct effects of water absorption on plant water relations and growth from vapour pressure deficit (VPD)-mediated effects, and to verify

whether the physiological responses to leaf water deposition depend on the availability of water in the soil. We tested the following hypotheses: (a) the deposition of water on leaves improves the leaf hydration of young plants of *A. angustifolia*, particularly when these are under limited availability of soil water; (b) the deposition of water on leaves increases growth of these same plants, particularly when they are under limited availability of soil water; (c) the deposition of nutrient solution on leaves results in greater plant growth than the sole deposition of water. Deposition of water on the leaves was accomplished by spraying water or nutrient solution on the shoots. The use of nutrient solution was based on the assumption that if nutrients (in water solution) deposited on leaves resulted in improved plant growth and nutrient status compared to plants which were only sprayed with water, this would indicate that the solution was indeed absorbed by the leaves and that any observed effects of water spraying was due at least in part to water absorption and not to possible reductions in leaf-to-air VPD and leaf transpiration.

MATERIALS AND METHODS

Plant material and growth conditions

We purchased the pine seeds from local gatherers in the city of São Francisco de Paula, Rio Grande do Sul, Brazil (29°24'S and 50°22'W; 912 m a.s.l.). Seeds were immersed in water, and the ones that floated were discarded. They were then soaked in a sodium hypochlorite 1% solution for 20 min for disinfestation, rinsed with distilled water, and then scarified by removing the external coverings from around the radicle-protruding region, in order to ensure a fast and uniform germination (Ferreira & Handro 1979). The scarified seeds were placed in trays with moist vermiculite for germination (23-Set-2008). Pre-germinated

seedlings were transplanted to PVC tubes (10 cm of internal diameter and 40 cm height), containing ~3.5 L of a mixture (2:1; v:v) of washed medium sand and commercial organic substrate (Plantmax, Eucatex). Plants were grown on laboratory benches placed by a glass window and were maintained well-watered during the first six months after the sowing. This period ensured the complete exhaustion of the seed reserves (Dillenburg *et al.* 2010). During most of the daylight hours (~8 hours), plants were under low PFDs (6-30 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, measured with a LI-190S-1 light sensor, Li-Cor Inc., Lincoln, NE, USA), supplied by fluorescent lamps of the lab and by the diffuse solar radiation coming from the window. However, for a period of ~4 hours in the afternoon, plants received direct solar radiation (500 to 850 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$). To reduce variations in light conditions among plants, these were submitted to a weekly rotation in their position. Temperature and relative humidity conditions over the benches were recorded every two hours using temperature and humidity data-loggers (Logbox RHT, Novus, Rio Grande do Sul, Brazil). The monthly averages of temperature and relative humidity varied between 19 and 23 °C and 68 and 72%, respectively.

Experimental design

The experiment was conducted following a completely randomized design and a 2 x 3 factorial treatment design. Factors included two soil water conditions (well-watered and water-stressed) and three types of shoot spraying (none, water spraying and nutrient solution spraying). Ten experimental units (plants) were allocated to each of the 6 treatment combinations.

Treatments were imposed on 26-Mar-2009, six months after seed germination. On this day (day 0), the gravimetric water content of the soil was set to 100% of 'field capacity', by fully watering the soil and letting it drain freely for 24 hours. This content was 0.22 g g^{-1} .

From this day one, water was withheld from the water-stressed ('S') plants for the duration of the experiment. For the well-watered ('W') plants, water was withheld until soil water reached 70% of 'field capacity' (67 days after beginning of the experiment) and then maintained with this availability of soil water until the end of the experiment by providing the water lost through evapotranspiration on a bi-weekly basis.

Treatments of shoot spraying were also imposed on day 0. Ten plants from each soil water condition were submitted to one of the three spraying treatments: no spraying ('s' plants), water spraying ('w' plants) and spraying with nutrient solution ('n' plants). The shoots of the 's' plants remained dry throughout the experiment. The 'w' plants were treated with distilled water, and the 'n' plants with a modified 10% Hoagland solution (Taiz & Zeiger 2009). Each group of 20 plants was sprayed with ~250 mL of either water or nutrient solution, which provided full saturation of the shoot surfaces, as in Boucher *et al.* (1995). A manual sprayer was used, and spraying took place three times a week, during the early morning hours. All plants had their pots covered with plastic lids to prevent water or nutrient solution from reaching the soil. The contact region between the main stem and the lid was sealed with modeling clay. The experiment lasted 259 days, ending on 10-Dec-2009.

Growth measurements

Shoot height (SH) and total shoot length (TSL, sum of all shoot axes) were measured at the beginning and end of the experiment, and these growth measurements were used to calculate the relative height (RGRh) or shoot (RGRsl) growth rate of the plants, as follows: $RGRh \text{ or } RGRsl = (\text{final height or total shoot length} - \text{initial height or total shoot length}) / (\text{initial height or total shoot length} * 259 \text{ days})$. The degree of ramification of the plant shoots (SR) was evaluated by the ratio between the sum of lengths of all lateral shoots and

the total shoot length.

The length of the main tap root (TRL), and the number (NLR) total length (TLLR), and mean length (MLLR) of all first-order lateral roots were recorded at the end of the experiment. Only the lateral roots emerging from the upper 25 cm of tap root (measured from the hypocotyl base) were computed for these measurements. The ratio between the total length of lateral roots and the 25-cm-length of main tap root (TLLR/TRL₂₅) was also calculated. Masses of shoot (SM), tap root (TRM), and lateral roots from all orders (LRM) were obtained after oven-drying (60 °C) these plant parts. Total plant (PM) and total root (RM) masses were then calculated. The shoot (SMR), root (RMR), tap root (TRMR) and lateral root (LRMR) mass ratios were calculated as the ratio between the mass of the respective plant parts and the total plant mass.

The measurements of leaf mass per area (LMA) were based on a sample of ten leaves from the mid-height region of five plants from each treatment. The leaf area of each sample was measured with a leaf area meter (LI-3100, Licor Inc., USA). Leaves were then oven-dried (60 °C) and weighed.

Plant water relations

The relative water content (RWC) of the leaves was estimated from a sample of ten leaves from the mid-height region of five plants from each treatment. In order to obtain the turgid mass of the leaves, they were immersed in water during 24 hours, in the darkness, at 4 °C (Yamasaki & Dillenburg 1999). Shoot water potential (Ψ_w) was measured between 800 and 1100 h with a Scholander-type pressure chamber (PMS Scientific Instruments, USA; Scholander *et al.* 1965) in all ten plants from each treatment. These water relation measurements were taken at the end of the experiment.

Plant nutrient concentrations

The shoots and roots of three plants made up one of a total of three shoot and root samples which were submitted to nutrient analysis. Prior to grinding and analysis, all shoots were surface-washed to remove any nutrient salt deposited on their leaves as a result of spraying. Samples were analyzed in the Analysis Lab of the Federal University of Rio Grande do Sul. N, P, K, Ca and Mg were extracted with H₂O₂ and H₂SO₄, and S underwent digestion with HNO₃-HClO₄; N was determined by semi-micro-Kjeldahl analysis; P, Ca, and Mg were determined spectrophotometrically, and K and S by flame photometry; Zn, Cu, Mn, Fe and S were extracted with HNO₃-HClO₄ and their concentrations determined by absorption or emission photometry.

Statistical analysis

Data were submitted to a 2 x 3 factorial ANOVA, followed by the LSD mean separation test ($P < 0.05$). For measurements of shoot length (total shoot length, degree of ramification and shoot height), a covariate (initial values for those parameters) was introduced in the analysis. The statistical program Statistix 8.0 (Analytical Software, Tallahassee, FL, USA) was used in all analyses.

RESULTS

Soil and plant water relations

The gravimetric water content of the soil in the well-watered (W) plants never fell below 63% of 'field capacity' in between the biweekly water recharges. While the soil in the 'Ss' plants reached 50% of 'field capacity' about 110 days after the beginning of the experiment

(water suspension) and a minimum of 26% at the end of the experiment, the soil in the 'Sw' and 'Sn' plants reached 50% 31 days later (141 days after beginning the experiment), and ~32% at the end of the experimental period (Fig. 1).

Reduction in soil water availability resulted in lower leaf RWC, particularly in plants which were not periodically wetted. Spraying the shoots with either water or nutrient solution increased the leaf RWC, regardless of the soil water availability (Fig. 2A; Table 1). Similar results were obtained for shoot Ψ_w , except that leaf spraying only resulted in increased Ψ_w in water-stressed plants (Fig. 2B; Table 1).

Plant growth

Leaf spraying resulted in increased mass accumulation of all plant parts but the lateral roots, and occurred both in well-watered and in water-stressed plants. An increased availability of soil water had a positive effect on the mass of the tap root (which resulted in greater total root mass) of the non-sprayed plants and on the shoot mass of plants which were sprayed with nutrient solution. As a consequence of the shoot mass effects, both leaf spraying treatments resulted in increased total plant mass. The different mass ratios and LMA were not affected by any of the imposed treatments (Tables 1 and 2).

Parameters of root length and number were not affected by shoot spraying, but an increased availability of soil water resulted in a longer tap root and in shorter lateral roots, particularly in plants which were not sprayed (Tables 1 and 2). On the other hand, shoot length parameters were only affected by shoot spraying (Table 1). The periodic wetting of the leaves resulted in taller plants under both conditions of soil water availability, and in greater RGRh in the water-stressed plants (Figs. 3A and 3B). The degree of ramification of the shoot (Table 2), as well as the total shoot length and the RGRsl were also increased by

spraying the shoots, but only when nutrient solution was used (Figs. 3C and 3D).

Shoot and root nutrient concentrations

Spraying with nutrient solution increased the shoot concentration of Fe in both well-watered and water-stressed plants, but increased K and Mn concentrations only when soil water availability was high. As for the roots, this spraying treatment increased the concentrations of N, P, K, Zn, Cu and Fe in the root tissues only when soil water availability was high, with the exception of N, whose root concentration increased only under limited soil water conditions (Tables 3, 4, and 5).

DISCUSSION

*Leaf spraying and the water relations of *A. angustifolia**

The hypothesis that the deposition of water on the leaves would allow a greater hydration and water potential of the plant tissues and that these effects would be greater under conditions of water restriction in the soil was confirmed under our experimental conditions. The periodic application of water or nutrient solution on the plant shoots improved the water relations of the plants, particularly when they were growing under limited soil water conditions (Figs. 2A and 2B). Similar results have been obtained for other conifer species. In *Juniperus monosperma*, shoot Ψ_w of trees growing in dry soils increased after a precipitation event, despite the exclusion of water infiltration into the soil, indicating the importance of leaf water absorption to the water relations of the species during periods of drought (Breshears *et al.* 2008). Boucher *et al.* (1995) reported a 28% increase in shoot water potential of water-stressed plants due to frequent dew application, and the water potential

of twigs of *Picea abies* rose from -1.0 to -0.15 MPa a few hours after they were sprayed with water (Katz *et al.* 1989). Field and greenhouse data revealed that fog interception can even decouple leaf-level water relations from soil water availability in *Sequoia sempervirens* (Simonin *et al.* 2009).

It is not surprising that water entering through leaves has a greater impact on the water relations of water-stressed plants, especially if the degree of tissue hydration of well-watered plants is high. Of special relevance in these results is the fact that water deposition on leaves did significantly affect the plant water status, giving us a strong indication that leaf water absorption is a relevant process in the studied species. It should be noted that, despite the green and relatively tender nature of the young plants stems, we expect that the much greater leaf area surface would make these plant organs particularly important in the process of water interception and absorption.

We cannot exclude the possibility that these water relation effects were, at least in part, the result of a decreased leaf-to-air VPD, during those periods when leaf surfaces remained wet. According to Burgess & Dawson (2004), night-time fogs during dry summers would act on preventing desiccation in *Sequoia sempervirens*, because not only would the species benefit from the absorption of the water drops falling on its leaves and soil, but also from the suppression of transpiration during these periods. In this study, the fact that the soil water content of the water-stressed plants remained higher when plant shoots were periodically wet than when they remained dry could be an indication of less transpiration by those plants (Fig. 1). On the other hand, we cannot exclude the possibility of a reverse xylem flow of the leaf-absorbed water to the soil in these same plants, as suggested by Burgess & Dawson (2004) and Simonin *et al.* (2009). However, under this scenario, plant rehydration of the sprayed, water-stressed plants would not have been as effective as our results indicate,

thus suggesting the existence of some hydraulic isolation between plant and soil, allowing the water-stressed plants to significantly rehydrate their tissues by using the leaf-absorbed water, while limiting the escape of this extra water source to the dry soil around their roots. Evidence favouring the idea that leaf water absorption did contribute to the improved water relations of plants will be later presented in the discussion.

Leaf spraying and the growth and nutritional status of A. angustifolia

There were positive effects of leaf spraying on plant growth, but these were equally expressed in both well-watered and water-stressed plants, leading us to partially reject the second hypothesis of this study. Although the presence of nutrient solution on leaves led to a greater shoot length and ramification, mass accumulation did not differ from those which had only water deposited on their leaves. We then reject the third hypothesis.

Despite the strong reduction in the soil water content in the water-stressed plants (Fig. 1), total plant mass was significantly reduced by soil drought only when leaves were periodically wetted, either with water or nutrient solution (Table 2). These reductions were of ~15%. When leaves remained dry, soil drought did reduce the mass of the tap root in ~29%, but did not have a significant effect on total plant mass. On the other hand, the spraying of plant leaves consistently affected shoot, root and total plant mass, regardless of their soil water availability: when leaves were not sprayed, plant mass was reduced in ~22%. These results indicate that, under our experimental conditions, plant growth was more responsive to the water available to the leaves than to the roots. Additionally, they indicate that, while soil water availability is more likely to affect plant growth when leaves also contribute to water absorption, the effects of leaf wetting on growth are not affected by soil water availability. Very few studies have looked at the impact of atmospheric water

interception and absorption on plant growth. However, in contrast with our results, Boucher *et al.* (1995) have noticed that an increased frequency in the application of artificial fog on shoots of *Pinus strobus* resulted in increased root but not shoot mass, and that this growth response was greater when water in the soil was less available.

An interesting result regarding soil drought effects on plant growth was the fact that, while it caused an overall and proportional reduction on plant growth when leaves were periodically sprayed, it solely and severely affected the length and mass of the tap root when leaves were not sprayed. Additionally, the average length of lateral roots was increased in response to soil drought under the same conditions. Considering that an increased investment on the expansion of lateral roots as opposed to the main tap root will tend to increase the absorption area of the root system (Boot 1989), this response to soil drought can be simply interpreted as a compensatory response to increase the absorbing area of the root system. Of particular significance is the fact that this response was not expressed when leaves were acting as putative water-absorbing organs, suggesting that leaves are indeed important areas of leaf water absorption. As for the aerial parts, although both types of leaf spraying have equally and positively affected shoot mass, spraying with nutrient solution did make a difference in terms of shoot length. It promoted the elongation of lateral shoots, increasing shoot ramification (Table 2; Fig. 3). It is possible that a saturation of nutrients to the shoot apical meristem reduces its apical dominance (Lortie & Aarssen 1997), thus allowing a greater lateral extension of the shoot.

Even though this study was not designed to evaluate the role of nutrient leaf absorption on the nutrition of young plants of *A. angustifolia*, plant nutrient analyses not only revealed that nutrients applied on the leaves did get into the plant body, but also that the accumulation in the plant varied with plant organ and nutrient identity, and depended

on soil water availability. These results provide additional evidence that leaves can act as absorbing organs. Surprisingly, the application of nutrient solution on the plant shoots had a greater effect on root than on shoot nutrient concentrations, and, with the exception of N, these effects were only observed when soil water availability was high (Tables 4 and 5). These increased root concentration of six out of the eleven elements analyzed in this study most likely represents root storage of nutrients whose amounts exceed the growth demand of the plants. Taken into consideration that aerosols have always been part of the atmosphere, and plant surfaces are a major aerosol sink (Burkhardt 2010), the ecophysiological significance of nutrient deposition on the leaves of *A. angustifolia* should be further investigated.

Are leaves of A. angustifolia actually absorbing water and solutes deposited on their leaves?

The effects of leaf water deposition on overall mass accumulation were quite similar for both kinds of leaf spraying. However, considering the significant amount of root nutrient storage resulting from the deposition of nutrient solution on the leaves of *A. angustifolia*, we conclude not only that nutrients were indeed absorbed by leaves but also that they exceeded the demand imposed by plant growth.

Although some of the growth and water relations effects we reported here could be attributed to reductions in leaf-to-air VPD during periods of leaf wetting, the simple fact that nutrients did find their way into the plant body gives us strong indication that water is also being absorbed. According to Limm *et al.* (2009), frequent events of leaf wetting can promote the hydration of the leaf epidermis and cuticle, increasing the leaf to water contact surface and thus allowing for water absorption. After shoot spraying, leaves of *A. angustifolia* remained wet during 4-8 hours (personal observation), which is probably long

enough to favour the absorption of this water by the leaves.

We previously reported in this paper the anatomical features of leaves of *A. angustifolia* that may favour water absorption, namely the stomatal plugs and the mucilage cells. Recently, it was suggested that the presence of salts on hydrophobic cuticles, resulting from repeated cycles of drying and wetting, could act as bridges between the guard cell walls, acting in the bidirectional transport of water and solutes between leaf surfaces and the mesophyll, through a mechanism called hydraulic activation of stomata (Burkhardt 2010). Despite the compelling evidence favouring water absorption by leaves of *A. angustifolia*, future studies should provide more accurate evidence of such process by adding different approaches, like the use of labelled water and isotopic water analysis.

The ecophysiological significance of water absorption by leaves of A. angustifolia

In a recent study on the importance of mucilage in facilitating water absorption by leaves of several tall, tree species, Zimmermann *et al.* (2007) concluded that moisture uptake by apical leaves from the atmosphere may be as important as (or more important than) water uptake by the roots. In the present study, there was no investigation of the mechanisms by which water deposited on leaves is being used by young plants of *A. angustifolia*, but the results lead us to suggest not only that there is water absorption but also that it might be an important source of water, at least for young individuals of the species, whose growth was more responsive to the water available to the leaves than to the roots. In this study we demonstrated that both water relations and growth are favoured by leaf water absorption. The relevance of such water absorbing route to plant survival under conditions of extreme soil drought deserves future investigations.

Young plants, grown under low irradiances were used in this study. In order to more

fully describe the relevance of leaf water absorption to the physiology and ecology of the species, sun plants and mature individuals should also be investigated. Taking into account the evidence already presented, and the fact that *A. angustifolia* is a tall species (~35 m), emerging from the forest canopy, and growing in very wet and frequently foggy environments, we expect this faster route for leaf hydration to be used by the species in its natural environment. However, this aspect of the species' behaviour is yet to be investigated.

ACKNOWLEDGMENTS

We thank the Coordination for Improvement of Higher Education Personnel (CAPES/Brazil) and The National Council for Scientific and Technological Development (CNP/Brazil) for fellowships awarded to the first and second author, respectively. We also thank Carlos Frederico Widholzer for suggestions to the experimental procedures. This article is part of the PhD thesis of the first author, conducted in the Graduate Program in Botany, Federal University of Rio Grande do Sul (UFRGS), Brazil.

FIGURES AND TABLES

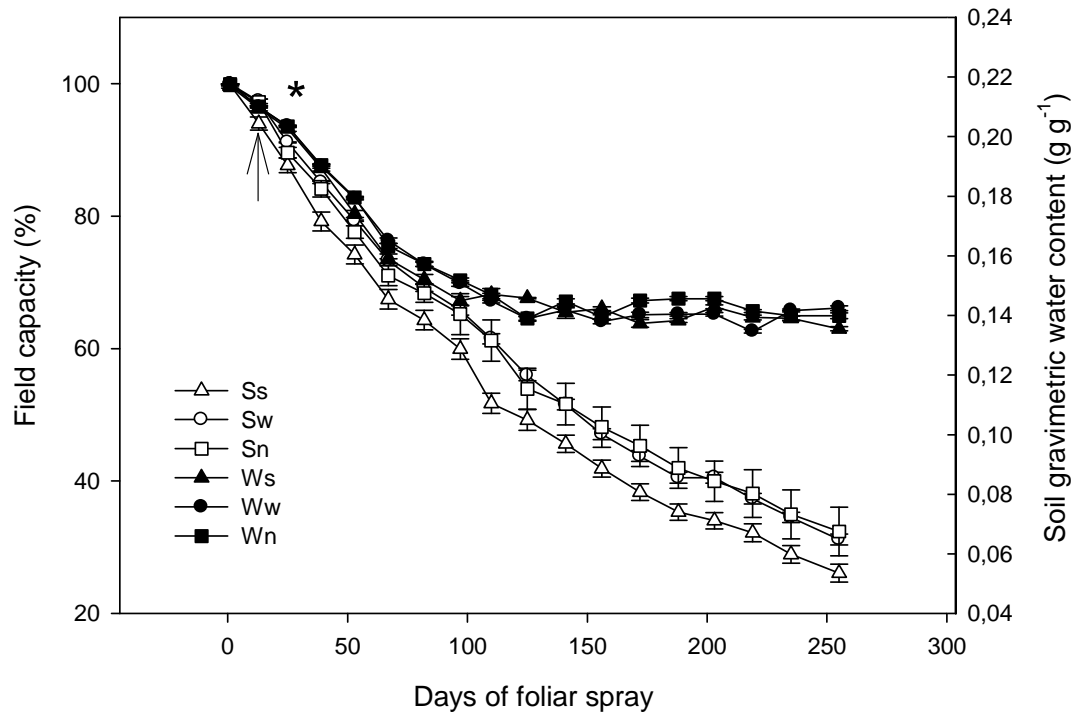


Fig. 1. Temporal variations in soil gravimetric water content in well-watered (W) and water-stressed (S) *Araucaria angustifolia* plants in response to leaf spraying treatments (s, no spray; w, water spray; n, nutrient solution spray). Values were calculated before the biweekly replacement of water in the W plants. Vertical bars are the standard errors of the means. Arrow indicates significant differences ($P < 0.05$) between Ss and both Sw and Sn plants, which persisted throughout the experiment. Asterisk indicates significant differences ($P < 0.05$) between W and S plants (for both sprayed and non-sprayed ones), which also persisted until the end of the experiment.

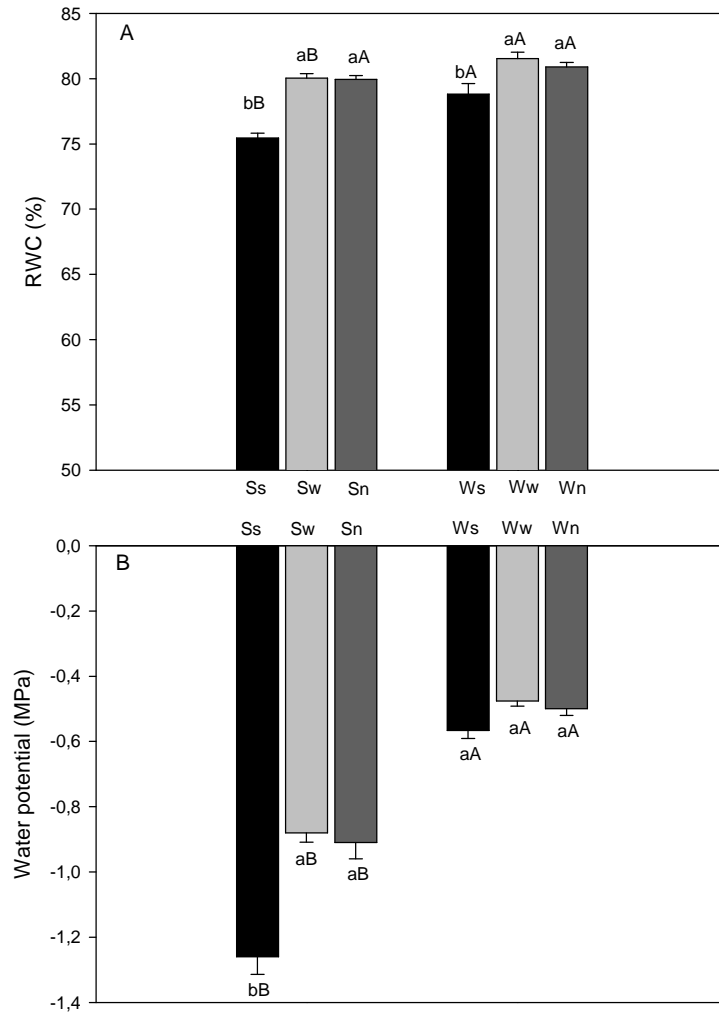


Fig. 2. (A) Leaf relative water content, and (B) shoot water potential of well-watered (W) and water-stressed (S) *Araucaria angustifolia* plants in response to leaf spraying treatments (s, no spray; w, water spray; n, nutrient solution spray). Vertical bars are the standard errors of the means. Different small and capital letters indicate significant differences ($P < 0.05$) between spray treatments within each soil water condition, and between soil water conditions within each spraying treatment, respectively.

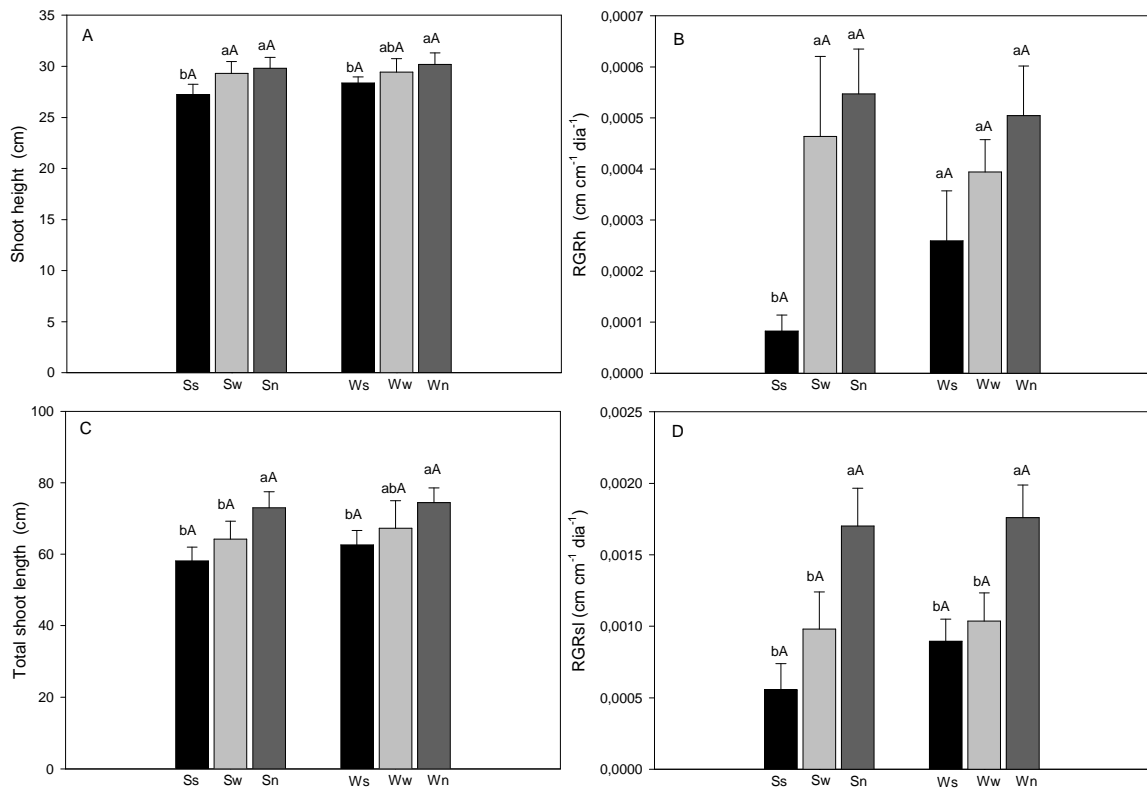


Fig. 3. (A) Shoot height, (B) relative growth rate of shoot height (RGRh), (C) total shoot length, and (D) relative growth rate of total shoot length (RGRsl), of well-watered (W) and water-stressed (S) *Araucaria angustifolia* plants in response to leaf spraying treatments (s, no spray; w, water spray; n, nutrient solution spray). Vertical bars are the standard errors of the means. Different small and capital letters indicate significant differences ($P < 0.05$) between spray treatments within each soil water condition, and between soil water conditions within each spraying treatment, respectively.

Table 1. ANOVA and ANCOVA *P* values for the effects of soil water and leaf spraying on the water relations and growth parameters of *Araucaria angustifolia* seedlings¹.

Parameter	Effect	<i>P</i>	Parameter	Effect	<i>P</i>
RWC	soil water	0.0000	SMR	soil water	0.8795
	leaf spray	0.0000		leaf spray	0.5262
	soil * spray	0.0370		soil * spray	0.0628
Ψ_w	soil water	0.0000	TRL	soil water	0.0319
	leaf spray	0.0000		leaf spray	0.1540
	soil * spray	0.0001		soil * spray	0.1625
LRM	soil water	0.4761	MLLR	soil water	0.0084
	leaf spray	0.3537		leaf spray	0.0916
	soil * spray	0.8455		soil * spray	0.2733
TRM	soil water	0.0046	TLLR/TRL ₂₅	soil water	0.7345
	leaf spray	0.0028		leaf spray	0.3809
	soil * spray	0.3770		soil * spray	0.1776
RM	soil water	0.0209	NRL	soil water	0.1092
	leaf spray	0.0152		leaf spray	0.3566
	soil * spray	0.7492		soil * spray	0.1724
SM	soil water	0.0235	SR	soil water	0.6869
	leaf spray	0.0026		leaf spray	0.0028
	soil * spray	0.6573		soil * spray	0.9591
PM	soil water	0.0063	SH	Initial SR	0.0000
	leaf spray	0.0020		soil water	0.2105
	soil * spray	0.8383		leaf spray	0.0028
LMA	soil water	0.6302	TSL	soil * spray	0.7927
	leaf spray	0.5906		initial height	0.0000
	soil * spray	0.9238		soil water	0.2346
LRMR	soil water	0.4003	RGRh	leaf spray	0.0002
	leaf spray	0.5329		soil * spray	0.8561
	soil * spray	0.8549		initial TSL	0.0000
TRMR	soil water	0.5273	RGRsl	soil water	0.7874
	leaf spray	0.2822		leaf spray	0.0017
	soil * spray	0.0137		soil * spray	0.3821
RMR	soil water	0.8795	RGRsl	soil water	0.3992
	leaf spray	0.5262		leaf spray	0.0001
	soil * spray	0.0628		soil * spray	0.7583

RWC, relative water content; Ψ_w , water potential; LRM, lateral root mass; TRM, tap root mass; RM, total root mass; SM, shoot mass; PM, total plant mass; LMA, leaf mass per area; LRMR, lateral root mass ratio; TRMR, tap root mass ratio; RMR, root mass ratio; SMR, shoot mass ratio; TRL, tap root length; MLLR, mean lateral root length; NLR, number of lateral roots; TLLR/TRL₂₅, ratio between total length of lateral roots and 25-cm-length of tap root; SR, shoot ramification; SH, shoot height; TSL, total shoot length; RGRh, relative growth rate in shoot height; RGRsl, relative growth rate in total shoot length.¹ ANCOVA ($n=10$, $df_{error}= 53$), for SH, SR and TSL. ANOVA ($n=10$, $df_{error}= 54$, except for RWC and LMA $n=5$ e $df_{error}= 24$) for all other parameters

Table 2. Additional growth parameters measured in well-watered (W) and water-stressed (S) *Araucaria angustifolia* plants in response to leaf spraying treatments (s, no spray; w, water spray; n, nutrient solution spray).

Parameter	Ss	Sw	Sn	Ws	Ww	Wn
LRM (g)	0.18 (0.02) aA	0.19 (0.02) aA	0.21 (0.03) aA	0.18 (0.02) aA	0.22 (0.03) aA	0.25 (0.06) aA
TRM (g)	0.55 (0.02) bB	0.82 (0.03) aA	0.78 (0.05) aA	0.78 (0.05) bA	0.91 (0.06) aA	0.88 (0.09) abA
RM (g)	0.73 (0.03) bB	1.00 (0.04) aA	1.00 (0.07) aA	0.96 (0.06) bA	1.12 (0.08) aA	1.13 (0.14) aA
SM (g)	1.81 (0.08) bA	2.18 (0.20) abA	2.25 (0.16) aB	1.96 (0.17) bA	2.57 (0.22) aA	2.68 (0.11) aA
PM (g)	2.54 (0.11) bA	3.18 (0.19) aB	3.25 (0.21) aB	2.92 (0.22) bA	3.69 (0.30) aA	3.81 (0.23) aA
LMA(g m ⁻²)	77.42 (1.3) aA	78.50 (0.6) aA	80.43 (2.1) aA	76.89 (1.5) aA	78.26 (2.3) aA	78.52 (3.9) aA
LRMR	0.07 (0.01) aA	0.06 (0.01) aA	0.06 (0.01) aA	0.06 (0.01) aA	0.06 (0.01) aA	0.06 (0.01) aA
TRMR	0.22 (0.01) aA	0.27 (0.02) aA	0.25 (0.01) abA	0.27 (0.01) aA	0.25 (0.01) aA	0.23 (0.01) aA
RMR	0.29 (0.01) aA	0.33 (0.02) aA	0.31 (0.02) aA	0.33 (0.01) aA	0.31 (0.01) aA	0.29 (0.01) aA
SMR	0.71 (0.01) aA	0.67 (0.02) aA	0.69 (0.02) aA	0.67 (0.01) aA	0.69 (0.01) aA	0.71 (0.01) aA
TRL (cm)	57.4 (3.5) aB	74.24 (6.3) aA	73.78 (7.0) aA	77.84 (10.9) aA	74.73 (8.1) aA	81.51 (8.4) aA
MLLR (cm)	5.58 (0.2) aA	4.90 (0.8) aA	6.48 (1.2) aA	3.84 (0.4) aB	4.71 (0.5) aA	5.00 (0.7) aB
NRL	19.3 (1.7) aA	25.1 (5.0) aA	17.5 (3.8) aA	23.5 (3.4) aA	23.3 (2.2) aA	24.6 (3.1) aA
TLLR/TRL ₂₅ (cm cm ⁻¹)	4.27 (0.3) aA	4.35 (0.6) aA	3.97 (0.6) aA	3.48 (0.4) aA	4.51 (0.8) aA	4.99 (0.9) aA
SR (%)	51.26 (2.7) bA	53.22 (2.5) bA	58.78 (2.1) aA	51.64 (3.0) bA	54.17 (3.0) abA	57.84 (2.0) aA

LRM, lateral root mass; TRM, tap root mass; RM, total root mass; SM, shoot mass; PM, total plant mass; LMA, leaf mass per area; LRMR, lateral root mass ratio; TRMR, tap root mass ratio; RMR, root mass ratio; SMR, shoot mass ratio; TRL, tap root length; MLLR, mean lateral root length; NRL, number of lateral roots; TLLR/TRL₂₅, ratio between total length of lateral roots and 25-cm-length of tap root; SR, shoot ramification. Values inside parentheses are standard errors of the means. Different small and capital letters indicate significant differences ($P < 0.05$) between spray treatments within each soil water condition, and between soil water conditions within each spraying treatment, respectively.

Table 3. ANOVA results (*P* values) for the effects of soil water and leaf spraying on the nutrient concentration of shoots and roots of *Araucaria angustifolia* plants.

Nutrient	Effect	<i>P</i> value	
		shoot	Root
N	soil water	0.6180	0.0317
	leaf spray	0.9818	0.0620
	soil * spray	0.3906	0.6927
P	soil water	0.3774	0.6727
	leaf spray	0.4023	0.0165
	soil * spray	0.4869	0.0273
K	soil water	0.0320	0.0077
	leaf spray	0.1433	0.0423
	soil * spray	0.1212	0.0772
Ca	soil water	0.3679	0.9593
	leaf spray	0.0637	0.3165
	soil * spray	0.3227	0.4012
Mg	soil water	1.0000	0.4014
	leaf spray	0.6186	0.6377
	soil * spray	0.3366	0.4565
S	soil water	0.5744	0.6186
	leaf spray	0.6457	0.1094
	soil * spray	0.4933	0.2507
Cu	soil water	0.5744	0.4415
	leaf spray	1.0000	0.0567
	soil * spray	0.3000	0.5175
Zn	soil water	0.6174	0.0052
	leaf spray	0.0000	0.0755
	soil * spray	0.0602	0.2405
Fe	soil water	0.6401	0.7667
	leaf spray	0.0001	0.0558
	soil * spray	0.4761	0.5277
Mn	soil water	0.0227	0.3989
	leaf spray	0.0817	0.5013
	soil * spray	0.4679	0.0505
B	soil water	1.0000	0.6244
	leaf spray	0.8484	0.6259
	soil * spray	0.5430	0.1924

(*n*=3, *df*_{error}= 12)

Table 4. Nutrient concentration (% or mg kg⁻¹) in the shoot of well-watered (W) and water-stressed (S) *Araucaria angustifolia* plants in response to leaf spraying treatments (s, no spray; w, water spray; n, nutrient solution spray).

Nutrient	Concentration (% or mg Kg ⁻¹)					
	Ss	Sw	Sn	Ws	Ww	Wn
N	0.90 (0.02) aA	0.84 (0.04) aA	0.83 (0.08) aA	0.79 (0.04) aA	0.84 (0.08) aA	0.87 (0.06) aA
P	0.17 (0.02) aA	0.17 (0.01) aA	0.17 (0) aA	0.19 (0) aA	0.16 (0.01) aA	0.19 (0.02) aA
K	1.70 (0.06) aA	1.77 (0.03) aA	1.57 (0.07) aB	1.87 (0.03) aA	1.73 (0.03) aA	1.77 (0.09) aA
Ca	0.67 (0.01) aA	0.68 (0.00) aA	0.56 (0.05) aA	0.64 (0.04) aA	0.71 (0.05) aA	0.64 (0.04) aA
Mg	0.28 (0) aA	0.30 (0) aA	0.26 (0.01) aA	0.28 (0.03) aA	0.27 (0.01) aA	0.28 (0.01) aA
S	0.20 (0.01) aA	0.21 (0.01) aA	0.19 (0.02) aA	0.20 (0.01) aA	0.18 (0.01) aA	0.19 (0.02) aA
Cu	3.00 (0) aA	3.00 (0) aA	2.67 (0.33) aA	2.67 (0.33) aA	2.67 (0.33) aA	3.00 (0) aA
Zn	30.33 (1.20) cA	95.67 (4.84) aA	54.33 (3.18) bA	40.33 (8.11) bA	79.00 (6.66) aB	54.67 (2.73) bA
Fe	57.67 (2.67) bA	48.67 (1.76) bA	75.33 (6.01) aA	53.67 (2.91) bA	54.33 (5.61) bA	78.33 (2.91) aA
Mn	147.67 (6.36) aA	151.33 (8.95) aA	120.00 (11.79) aB	155.67 (5.17) aA	177.67 (12.60) aA	155.00 (16.09) aA
B	30.67 (0.88) aA	31.33 (0.88) aA	31.33 (1.20) aA	31.67 (0.88) aA	31.33 (0.33) aA	30.33 (0.88) aA

Values inside parentheses are standard errors of the means. Different small and capital letters indicate significant differences ($P < 0.05$) between spray treatments within each soil water condition, and between soil water conditions within each spraying treatment, respectively. Values are expressed in % (N, P, K, Ca, Mg and S) or mg kg⁻¹ (Cu, Zn, Fe, Mn and B).

Table 5. Nutrient concentration (% or mg kg⁻¹) in the root of well-watered (W) and water-stressed (S) *Araucaria angustifolia* plants in response to leaf spraying treatments (s, no spray; w, water spray; n, nutrient solution spray).

Nutrient	Concentration (% or mg Kg ⁻¹)					
	Ss	Sw	Sn	Ws	Ww	Wn
N	0.45 (0.05) abA	0.42 (0.02) bA	0.53 (0.03) aA	0.39 (0.02) aA	0.38 (0.03) aA	0.44 (0.03) aA
P	0.17 (0.01) aA	0.16 (0) aA	0.17 (0.01) aA	0.15 (0.01) bA	0.14 (0.01) bA	0.20 (0.01) aA
K	1.13 (0.09) aA	1.02 (0.04) aA	1.07 (0.07) aA	0.87 (0.07) bB	0.76 (0.03) bB	1.09 (0.07) aA
Ca	0.36 (0.06) aA	0.38 (0.04) aA	0.38 (0.04) aA	0.36 (0.08) aA	0.30 (0.02) aA	0.46 (0.05) aA
Mg	0.24 (0.02) aA	0.25 (0.03) aA	0.24 (0.01) aA	0.22 (0.03) aA	0.21 (0.02) aA	0.26 (0.02) aA
S	0.31 (0.05) aA	0.30 (0.04) aA	0.33 (0.02) aA	0.29 (0.07) aA	0.21 (0.02) aA	0.39 (0.04) aA
Cu	8.00 (1.0) aA	7.67 (0.67) aA	10.33 (4.37) aA	5.33 (0.67) bA	5.33 (0.33) bA	11.67 (0.33) aA
Zn	38.33 (3.18) aA	53.33 (2.91) aA	40.33 (8.88) aB	49.33 (4.18) bA	62.33 (4.98) abA	68.00 (7.51) aA
Fe	893 (123) aA	1150 (113) aA	1067 (83) aA	798 (156) bA	1037 (96) abA	1191 (93) aA
Mn	87.00 (4.04) aA	61.00 (4.16) aA	60.00 (5.00) aA	66.67 (15.32) aA	72.00 (9.64) aA	88.33 (9.24) aA
B	24.00 (3.46) aA	20.00 (1.15) aA	25.00 (1.53) aA	18.33 (1.45) aA	24.67 (4.37) aA	22.67 (2.67) aA

Values inside parentheses are standard errors of the means. Different small and capital letters indicate significant differences ($P < 0.05$) between spray treatments within each soil water condition, and between soil water conditions within each spraying treatment, respectively. Values are expressed in % (N, P, K, Ca, Mg and S) or mg kg⁻¹ (Cu, Zn, Fe, Mn and B).

REFERENCES

- Backes A. (1988) Condicionamento climático e distribuição geográfica de *Araucaria angustifolia* (Bert.) O. Ktze. no Brasil - II. *Pesquisas Botânicas*, **49**, 5-40.
- Boot R.G.A. (1989) The significance of size and morphology of root systems for nutrient acquisition and competition. In: H. Lambers, M.L. Cambridge, H. Konings, T.L. Pons (Eds). *Causes and consequences of variation in growth rate and productivity of higher plants*. SPB, The Hague: 299–311.
- Boucher J.-F., Munson A.D., Bernier P.Y. (1995) Foliar absorption of dew influences shoot water potential and root growth in *Pinus strobus* seedlings. *Tree Physiology*, **15**, 819-823.
- Breshears D.D., Mcdowell N.G., Goddard K.L., Dayem K.E., Martens S.N., Meyer C.W., Brown K.M. (2008) Foliar absorption of intercepted rainfall improves woody plant water status most during drought. *Ecology*, **89**, 41-47.
- Burgess S.S.O., Dawson T.E. (2004) The contribution of fog to the water relations of *Sequoia sempervirens* (D. Don): foliar uptake and prevention of dehydration. *Plant, Cell and Environment*, **27**, 1023–1034.
- Burkhardt J. (2010) Hygroscopic particles on leaves: nutrients or desiccants? *Ecological Monographs*, **80(3)**, 369-399.
- Dawson T.E. (1998) Fog in the California redwood forest: ecosystem inputs and use by plants. *Oecologia*, **117**, 476-485.
- Dillenburg L.R., Rosa L.M.G., Mósena M. (2010) Hypocotyl of seedlings of the large-seeded species *Araucaria angustifolia*: an important underground sink of the seed reserves. *Trees*, **24**, 705–711.
- Duarte L.S., dos Santos M.M.G., Hartz S.M., Pillar V.D. (2006) Role of nurse plants on Araucaria Forest Expansion over grassland in south Brazil. *Austral Ecology*, **31**, 520-528.
- Ferreira A.G., Handro W. (1979) Aspects of seed germination in *Araucaria angustifolia* (Bert.) O. Ktze. *Revista Brasileira de Botânica*, **2**, 7-13.
- Hueck K. (1972) *As Florestas da América do Sul*. UNB- Polígono, São Paulo.
- IUCN (2011) IUCN Red List of Threatened Species. Version 2011.1. <<http://www.iucnredlist.org>>. Downloaded on 16 June 2011

- Katz C., Oren R., Schulze E.-D., Milburn J.A. (1989) Uptake of water and solutes through twigs of *Picea abies* (L.) Karst. *Trees*, **3**, 33-37.
- Leyton L., Juniper B.E. (1963) Cuticle structure and water relations of pine needles. *Nature*, **198**, 770-771.
- Limm E.B., Simonin K.A., Bothman A.G., Dawson T.E. (2009) Foliar water uptake: a common water acquisition strategy for plants of the redwood forest. *Oecologia*, **161**, 449–459.
- Lortie C.J., Aarssen L.W. (1997) Apical dominance as an adaptation in *Verbascum thapsus*: Effects of water and nutrients on branching. *International Journal of Plant Sciences*, **158(4)**, 461-464.
- Machado F.P. (1950). Contribuição ao estudo do Rio Grande do Sul. Rio de Janeiro: IBGE, 91p.
- Mastroberti A.A., Mariath J.E.A. (2003) Compartmented cells in the mesophyll of *Araucaria angustifolia* (Araucariaceae). *Australian Journal of Botany*, **51**, 267-274.
- Mastroberti A.A., Mariath J.E.A. (2008) Development of mucilage cells of *Araucaria angustifolia* (Araucariaceae). *Protoplasma*, **232**, 233-245.
- Moreno JA (1961). Clima do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, RS: Secretaria de Agricultura, 38p.
- Rigg L.S., Enright N.J., Perry G.L.W., Miller B.P. (2002) The role of cloud combing and shading by isolated trees in the succession from maquis to rain forest in New Caledonia. *Biotropica*, **34**, 199–210.
- Romberger J.A., Hejnowicz Z., Hill J.F. (1993) *Plant structure: function and development*. Springer-Verlag, Berlin.
- Scholander P.F., Hammel H.T., Hemingsen E.A., Bradstreet E.D. (1965) Hydrostatic pressure and osmotic potentials in leaves of mangroves and some other plants. *Proceedings of the National Academy Science*, **51**, 119- 125.
- Schreiber L., Schonherr J. (1992) Uptake of Organic Chemicals in Conifer Needles: Surface Adsorption and Permeability of Cuticles. *Environmental Science and Technology*, **26**, 153-159.

- Simonin K.A., Santiago L.S., Dawson T.E. (2009) Fog interception by *Sequoia sempervirens* (D. Don) crowns decouples physiology from soil water deficit. *Plant, Cell and Environment*, **32**, 882–892.
- Stokey R.A., Ko H. (1986) Cuticle micromorphology of *Araucaria de Jussieu*. *Botanical Gazette*, **147(4)**, 508-548.
- Stone E.C., Went F.W., Young C.L. (1950) Water absorption from the atmosphere by plants growing in dry soil. *Science*, **111**, 546-548.
- Stone E.C., Fowells H.A. (1955) Survival value of dew under laboratory condition with *Pinus ponderosa*. *Forest Science*, **1**, 183-188.
- Stone E.C., Shachori A.Y., Stanley R.G. (1956) Water absorption by needles of Ponderosa pine seedlings and its internal redistribution. *Plant Physiology*, **31(2)**, 120-125.
- Stone E.C. (1957a) Dew as an ecological factor. I. A review of the literature. *Ecology*, **38**, 407–413.
- Stone E.C. (1957b) Dew as an ecological factor. II. The effect of artificial dew on the survival of *Pinus ponderosa* and associated species. *Ecology*, **48**, 414-422.
- Taiz L., Zeiger E. (2009) *Fisiologia Vegetal*. 4ª ed. Artmed Editora S.A., Porto Alegre-RS, Brasil.
- Weathers K.C. (1999) The importance of cloud and fog in the maintenance of ecosystems. *Trends in Ecology & Evolution*, **14(6)**, 214-215.
- Weathers K.C., Lovett G.M., Likens G.E., Caraco N.F.M. (2000) Cloudwater Inputs of Nitrogen to Forest Ecosystems in Southern Chile: Forms, Fluxes, and Sources. *Ecosystems*, **3**, 590–595.
- Westhoff M., Zimmermann D., Zimmermann G., Gessner P., Wegner L.H., Bentrup F.-W., Zimmermann U. (2009) Distribution and function of epistomatal mucilage plugs. *Protoplasma*, **235**, 101-105.
- Yamasaki S., Dillenburg L.R. (1999) Measurements of leaf relative water content in *Araucaria angustifolia*. *Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal*, **11(2)**, 69-75.
- Zimmermann D., Westhoff M., Zimmermann G., Geßner P., Gessner A., Wegner L.H., Rokitta M., Ache P., Schneider H., Vásquez J.A., Kruck W., Shirley S., Jakob P., Hedrich R., Bentrup F.-W., Bamberg E., Zimmermann U. (2007) Foliar water supply of tall trees: evidence for mucilage-facilitated moisture uptake from the

atmosphere and the impact on pressure bomb measurements. *Protoplasma*, **22**, 11-34.

Capítulo 3

Tolerância à desidratação de plantas jovens de *Araucaria angustifolia* e a contribuição da água atmosférica para a sobrevivência da espécie à seca do solo

Francine Ferreira Cassana & Lúcia Rebello Dillenburg

Laboratório de Ecofisiologia Vegetal, Departamento de Botânica, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 91501-970-Porto Alegre, Brasil

ABSTRACT

In this study, we evaluated the importance of the presence of water around and on the leaves of *Araucaria angustifolia* for the survival and growth of the species under conditions of soil drought and estimated the lethal values of water relation parameters under these drought conditions. Our approach was to compare survival, growth and water relations between plants which were grown under the following conditions: a) well-watered plants (plants 'H'); b) water-stressed plants (plants 'S') and; c) water-stressed plants submitted to night-time mist (plants 'M'). After suspension of soil irrigation, the 'S' plants survived for 97 days, and the lethal values for water potential and relative water content were -2,8 MPa and 36%, respectively. Mist had a greater effect in improving plant water relations and growth than soil water, and survival of the 'M' plants was as high as that of 'H' plants. Plant growth was found to be very responsive to the water available to the leaves when the availability of soil water is low. The species was characterized as a drought-avoider due to traits that increase access to water and reduce water loss. Our results provide strong indications that water is absorbed by leaves of *A. angustifolia*, which confers an ecologically relevant strategy to enable its survival in its native habitat, particularly under situations of low soil water availability.

Key-words: Brazilian pine, drought, mist, survival, seedling mortality, water relations.

INTRODUÇÃO

A Floresta Ombrófila Mista é um tipo florestal de grande importância ecológico-econômica que abriga a conífera mais expressiva da vegetação brasileira – *Araucaria angustifolia* (Bertol.) Kuntze, que, por sua abundância, porte e copas corimbiformes, imprime o aspecto fitofisionômico próprio desta formação (Narvaes *et al.*, 2005). Embora sendo uma espécie chave para este ecossistema, *A. angustifolia* faz parte da lista de espécies criticamente ameaçadas de extinção (IUCN, 2011), e várias outras espécies, tanto vegetais quanto animais, estão a ela associadas. Além de fonte importantíssima de alimento para a fauna, por produzir enorme quantidade de sementes (pinhões), sob a cobertura das suas copas, encontram-se outras espécies de árvores, arbustos, epífitos e lianas, que variam em abundância e porte dependendo do local e do estágio de desenvolvimento da comunidade em questão (Lindmann 1906; Klein 1960). A espécie tanto se regenera na floresta quanto promove a expansão destas sobre os campos adjacentes, atuando como espécie nucleadora (Duarte *et al.*, 2006).

Além da relação inversa entre os gradientes de latitude e altitude, a distribuição do pinheiro brasileiro está relacionada a um clima mesotérmico, superúmido, com índices pluviométricos elevados, nunca inferiores a 1000 mm de média anual e temperaturas amenas (médias anuais entre 10 e 15°C) (Hueck, 1972; Rizzini 1997), caracterizado como do tipo Cfa (e Cfb, em áreas elevadas) no sistema de Köppen.

No entanto, nem todos os eventos de precipitação aumentam significativamente o conteúdo de água no solo, e a heterogeneidade no regime de chuvas, a competição radicular nas fases iniciais do desenvolvimento das plantas

arbóreas com as gramíneas (Espigares *et al.*, 2004) e mudanças no clima global (e.g. McDowell *et al.*, 2008; Baltzer *et al.*, 2008; Breshears *et al.*, 2009) podem ocasionar secas esporádicas ou sazonais, influenciando a fisiologia, crescimento e sobrevivência das plantas. Ainda, ambientes montanhosos apresentam altas taxas de radiação e grandes amplitudes térmicas diárias que podem intensificar o déficit hídrico, e a susceptibilidade do seu ambiente natural às geadas pode agravar o déficit hídrico por congelamento (Hacke & Sperry, 2001).

O estresse hídrico é um dos principais estresses ambientais que afetam o crescimento e a sobrevivência das plantas (Baoli *et al.*, 2005) e poucas informações estão disponíveis para explicar o desempenho das coníferas durante e depois de eventos de seca, e como estes episódios têm impacto na sobrevivência e distribuição das plantas (Brodribb & Cochard, 2009). Mesmo em ambientes úmidos, a distribuição das espécies está fortemente correlacionada com a precipitação anual, e a disponibilidade de água no solo pode ser um dos principais fatores que determinam os limites da distribuição das plantas (Brodribb & Hill, 1999; Engelbrecht e Kursar, 2003; Engelbrecht *et al.*, 2007; Baltzer *et al.*, 2008; Kursar *et al.*, 2009). Neste contexto, adaptações morfológicas e fisiológicas das coníferas ao estresse hídrico podem ser importantes para compreensão das respostas das florestas de coníferas às mudanças globais no clima e também para a seleção de espécies que possam vir a ser introduzidas em ambientes mais secos (Atzmon *et al.*, 2004; Baoli *et al.*, 2005).

A tolerância à desidratação tem sido definida pelo potencial hídrico (Ψ_w) ou conteúdo relativo de água (CRA) das últimas folhas sobreviventes (valor letal) ou pelo menor potencial hídrico (Ψ_w) atingido por plantas submetidas a episódios lentos e contínuos de secagem do solo (Ludlow, 1989; Baltzer *et al.*, 2008). Embora muitos

estudos tenham determinado o grau de tolerância de espécies de coníferas ao estresse hídrico (e.g. Pharis, 1966; Brodribb & Hill, 1999; Cochard *et al.*, 2004; Lee *et al.*, 2004; McDowell *et al.*, 2008; Breshears *et al.*, 2009), pouco se sabe e nada foi publicado sobre a tolerância do pinheiro brasileiro à baixa disponibilidade hídrica.

É nesse contexto que a interceptação da água atmosférica pelas folhas das plântulas e árvores do pinheiro brasileiro pode ser uma importante fonte de umidade no ecossistema em que esta espécie habita. Os constantes eventos de neblina que tipicamente ocorrem na região do Planalto das Araucárias permitem o coalescimento de minúsculas gotículas de água nas superfícies foliares e caules das plantas, formando gotas maiores que precipitam ao solo da floresta (Kerfoot, 1968; Ingraham & Matthews, 1995; Dawson, 1988; Burguess e Dawson, 2004; Limm *et al.*, 2009). A quantidade de água atmosférica interceptada pelas partes aéreas das plantas é muito variável e depende da heterogeneidade da estrutura florestal e da diversidade das espécies arbóreas (altura e arquitetura do dossel) (Kimmins, 1987; Hutley *et al.*, 1997), do tamanho, forma e orientação dos ramos e folhagens (Cavelier & Goldztein, 1989), velocidade e frequência dos ventos (Lovett *et al.*, 1982) e declividade dos terrenos (Zadroga, 1981).

Stone e colaboradores (Stone *et al.*, 1950; Stone & Fowells 1955, Stone *et al.* 1956, Stone 1957a; Stone 1957b) já haviam observado, em experimentos controlados, a importância da presença de neblina na sobrevivência de plantas de algumas espécies de coníferas, como *Abies concolor*, *Pinus ponderosa* e *Calocedrus decurrens*. Os eventos de neblina podem favorecer a maior sobrevivência das plantas pela supressão da transpiração, através da atenuação do déficit de pressão de vapor de água entre as folhas e a atmosfera ($DPV_{\text{folha-ar}}$), enquanto que a molhabilidade foliar pode reidratar

os tecidos aéreos através da direta absorção foliar de água, mesmo sendo baixas as quantidades de água absorvida pelas folhas (Dawson, 1998; Burgess & Dawson, 2004; Limm *et al.*, 2009). Além disso, a interceptação dos eventos de neblina pelas folhas e ramos das plantas arbóreas pode constituir não somente uma fonte de água, mas também uma fonte de nutrientes para as plantas do sub-bosque, através da lixiviação de aerossóis depositados sobre as copas que formam os estratos arbustivos e arbóreos (Dawson, 1998; Weathers, 1999; Weathers *et al.*, 2000; Limm *et al.*, 2009; Backes, 2009; Sparks, 2009; Burkhardt, 2010).

No experimento realizado no capítulo 2, verificamos que, partindo de uma capacidade de vaso de 100%, as plantas do pinheiro brasileiro foram capazes de sobreviver sem nenhuma reposição de água no solo por cerca de nove meses, quando encerramos aquele experimento. Este fato gerou curiosidade a respeito da tolerância à seca exibida por estas plantas. Então, realizamos um experimento prévio (dados não mostrados) utilizando 25 plantas jovens envasadas induzidas à seca, que nos permitiu estabelecer alguns critérios e indicativos visuais para considerar um indivíduo como morto devido à seca (incapaz de recuperar-se mesmo após a reposição de água no solo). Em outro experimento, verificamos que plântulas ainda com o vínculo do pinhão sobreviviam por mais de um mês em solo seco, apenas com aspersão de água sobre as partes aéreas (dados não mostrados).

Estes fatos somados nos levaram a conduzir um experimento de análise da sobrevivência e crescimento de plantas envasadas do pinheiro brasileiro em função da disponibilidade de água no solo e da presença ou ausência de uma atmosfera úmida durante o período noturno, com o objetivo de (a) determinar a importância da presença de neblina para a sobrevivência de plântulas de *A. angustifolia* submetidas a

uma baixa disponibilidade de água no solo; (b) verificar e comparar o crescimento entre plântulas de *A. angustifolia* cuja fonte mais disponível de água é o solo com o de plântulas cuja maior disponibilidade de água é a atmosfera ao redor de suas folhas; e (c) determinar os valores letais de parâmetros de relações hídricas para as plantas do pinheiro brasileiro.

Com base no exposto, formulamos as seguintes hipóteses: (a) os efeitos diretos e/ou indiretos da presença periódica de neblina sobre e ao redor das partes aéreas permitem maior sobrevivência de plantas de *A. angustifolia*, quando estas são submetidas a uma baixa disponibilidade de água no solo; (b) considerando as significativas repostas de crescimento à aspersão de água sobre as folhas relatadas no capítulo anterior, espera-se que o crescimento de plantas submetidas à seca do solo, mas com disponibilidade periódica de água sobre suas folhas se equipare com o crescimento de plantas com boa disponibilidade hídrica do solo, mas sem disponibilidade de água sobre suas folhas e (c) considerando o comportamento aparentemente conservador da espécie com relação ao uso da água no solo (Capítulo 2), sua tolerância à desidratação não deve ser muito alta, resultando em valores letais não muito baixos de potencial hídrico e conteúdo relativo de água em suas folhas.

MATERIAL E MÉTODOS

Coleta e preparo das sementes, plantio e condições de cultivo

Pinhões adquiridos na Floresta Nacional de Araucária (FLONA) de São Francisco de Paula foram submetidos ao teste de imersão em água para a retirada dos pinhões

potencialmente inviáveis (sobrenadantes). Os pinhões foram desinfestados com hipoclorito de sódio a 2% por 20 minutos. As sementes foram escarificadas, removendo-se parcialmente os integumentos (Ferreira & Handro, 1979), a fim de acelerar e aumentar a sincronia na germinação. A fim de minimizar possíveis perdas de unidades amostrais, os pinhões foram pré-germinados em bandejas com vermiculita (02 de agosto de 2010) e, posteriormente, plantados nos recipientes de cultivo (canos de PVC: diâmetro= 10cm, altura= 40 cm), contendo cerca de 3,5 litros de uma mistura (2:1; v:v) de areia média lavada e solo orgânico (Plantmax®, Eucatex), previamente seca em estufa a 60 °C para ajuste da capacidade de vaso a 60% (conteúdo gravimétrico de água do solo = 0,119 g água g⁻¹ solo seco), ou seja, todos os pinhões pré-germinados foram plantados em solo com 60% da capacidade de vaso.

As plantas foram cultivadas em bancadas do Laboratório de Ecofisiologia Vegetal do Departamento de Botânica da UFRGS, com reposição quinzenal de água no solo para manutenção da capacidade de vaso (CV) a 60%, durante os primeiros 80 dias (após a semeadura) do desenvolvimento inicial, período este que resulta no esgotamento da maior parte das reservas do pinhão (Dillenburg *et al.*, 2010).

As plantas foram submetidas, na maior parte do tempo (~8 horas), a baixas densidades de fluxo de fótons (6-30 $\mu\text{mol m}^2 \text{s}^{-1}$), fornecidas por iluminação artificial do laboratório (lâmpadas fluorescentes) e por radiação solar difusa e direta, vinda da janela junto à bancada e medidas com um sensor de luz (LI-190S-1, LI-COR Inc., EUA) acoplado a um porômetro de estado estacionário (LI-1600, LI-COR Inc., EUA). No entanto, as plantas interceptaram, no período da tarde, cerca de 4 horas de iluminação solar direta (500 a 850 $\mu\text{mol m}^2 \text{s}^{-1}$). Para uniformizar as condições de irradiância, todas as plantas foram submetidas a uma rotatividade semanal. A umidade

e a temperatura do laboratório foram monitoradas a cada duas horas por meio de coletores de temperatura e umidade relativa da atmosfera (Logbox RHT, Novus, Rio Grande do Sul, Brasil).

Delineamento experimental

Após os 80 dias iniciais de desenvolvimento das plantas, delimitamos três grupos: a) plantas hidratadas, com manutenção da água no solo a 60% da CV (Plantas 'H'); b) plantas induzidas à seca, por suspensão do fornecimento de água ao solo (Plantas 'S') e; c) plantas igualmente induzidas à seca, mas apenas com a parte aérea exposta à neblina artificial (câmara úmida; Plantas 'M'). O experimento foi conduzido em delineamento experimental inteiramente casualizado e, para cada tratamento, utilizamos 15 unidades experimentais (plantas). O experimento encerrou em 17 de agosto de 2011, 380 dias após a semeadura (300 dias de imposição dos tratamentos).

Imposição das condições experimentais

Independentemente dos tratamentos, todas as plantas tiveram as partes superiores dos recipientes cobertas por tampas plásticas, selando-se com massa de modelar e parafilme a região de interface caule-tampa plástica, de modo que não houvesse infiltração de água no solo, quando da aplicação da neblina artificial. Todas as perfurações na lateral da base dos recipientes foram seladas com cola quente, para evitar a drenagem de água no solo e permitir um melhor controle do seu conteúdo gravimétrico.

Após os 80 dias da semeadura, as plantas 'H' e 'S' foram submetidas a uma câmara seca, enquanto que as plantas 'M' foram submetidas a uma câmara úmida. As

câmaras foram construídas nas bancadas do laboratório e mediam 1,15 x 1,15 x 0,70 m (LxAxP), usando canos de PVC e plástico transparente. A câmara úmida continha um vaporizador que funcionava cinco vezes por semana (segunda a sexta) durante a madrugada (meia noite às seis horas da manhã), controlado por um timer digital (FDD-60/SB2, Smart). A temperatura (T, em °C) e a umidade relativa (UR, em %) nas câmaras foram monitorados em intervalos de duas horas por meio de registrador eletrônico de dados (LOGBOX-RHT, Novus Produtos Eletrônicos Ltda, Brasil). Estes valores foram utilizados para o cálculo do déficit de pressão de vapor entre as folhas e a atmosfera (DPV), de acordo com Jones (1992). A Fig. 1 ilustra as médias mensais de DPV em diferentes horários ao longo do dia.

Avaliações de sobrevivência e relações hídricas das plantas

Como relatado anteriormente, um estudo prévio com 25 plantas induzidas à seca do solo, nos permitiu estabelecer alguns critérios para considerar um indivíduo não capaz de sobreviver mesmo com a reposição de água no solo (planta considerada morta). Além da dessecação das folhas e do caule e a perda de clorofila, o principal critério utilizado para considerar uma planta morta foi o ápice caulinar pendente (Fig. 2). Valores letais de potencial hídrico das plantas (Ψ_{wL}), conteúdo relativo de água das folhas (CRA_L) e capacidade de vaso e conteúdo gravimétrico de água no solo (CV_L e θ_{mL} , respectivamente) foram imediatamente medidos quando se observou a morte de uma planta.

A determinação do conteúdo relativo de água (CRA) nas folhas foi realizada de acordo com o protocolo estabelecido por Yamasaki & Dillenburg (1999). Para obtenção da massa fresca (MF), 10 acículas foram removidas da região mediana de cinco plantas

por tratamento com auxílio de uma tesoura e imediatamente pesadas em uma balança analítica. As mesmas acículas foram utilizadas para a determinação da massa túrgida (MT), após embebição em placas de petri por aproximadamente 24 horas, no escuro, a 4 °C. Após, as acículas foram secas em estufa pré-aquecida em temperatura média de 60 °C para a determinação da massa seca (MS). O CRA foi calculado segundo a seguinte equação: $CRA (\%) = (MF-MS / MT- MS) \times 100$.

O potencial hídrico (Ψ_w) foi determinado imediatamente após a avaliação da MF do CRA e realizado através do corte transversal do caule, com medição da pressão do xilema com uso de uma câmara de pressão do tipo Scholander (PMS Scientific Instruments, USA; Scholander *et al.*, 1965). Essas medidas foram realizadas entre 8 e 11h da manhã.

Os parâmetros de relações hídricas também foram avaliados nas plantas que sobreviveram ao final do experimento (380 dias após a semeadura, 300 dias de imposição dos tratamentos). Isto ocorreu particularmente com as plantas 'H' e 'M'. Neste caso, tais parâmetros foram medidos em dois momentos: ao amanhecer (Ψ_{w8} e CRA_8) e à tardinha (Ψ_{w16} e CRA_{16}), devido aos menores e maiores valores de DPV observados nestes períodos, respectivamente, no mês do desmonte. Nestas plantas também medimos os valores de condutância estomática (gs) e transpiração foliar (T) entre as 9 e 11 horas da manhã, através do uso de um porômetro de estado estacionário (LI-1600, LI-COR Inc., EUA). A medição destes parâmetros (gs e T) foi realizada em quatro folhas de cada planta (2 folhas medidas na face abaxial e 2 na face adaxial). Os valores para cada planta consistem na soma das médias de gs e T para cada uma das faces foliares.

Monitoramento da capacidade de vaso

Ao longo do período experimental e em todos os tratamentos, o monitoramento da capacidade de vaso (CV) e do conteúdo gravimétrico de água no solo (θ_m) foi realizado quinzenalmente, durante os cinco primeiros meses de desenvolvimento inicial, e após, semanalmente. Os valores de θ_m apresentados foram obtidos após a pesagem dos recipientes de cultivo e antes da reposição de água no solo (plantas 'H'), justamente para quantificar as esperadas quedas no θ_m entre os períodos de reposição. No momento da morte das plantas (particularmente as plantas 'S'), os valores de θ_m e CV foram também registrados.

Nas plantas que sobreviveram (plantas 'H' e 'M'), além das avaliações periódicas de θ_m e CV, determinamos o conteúdo de água no solo (CAS) no momento do desmonte (380 dias após a semeadura) através da homogeneização, em uma bandeja, de amostras de solo (~150 g) de três níveis do solo (nível A = 10 cm a partir do topo do vaso em direção à sua base; nível B = entre 10-30 cm e; nível C= entre 30-40 cm). Tais amostras foram utilizadas para determinação da massa úmida (MU) e foram levadas em placas de petri para a estufa a 60°C até peso constante, quando verificamos a massa seca das amostras (MS). Calculamos o conteúdo de água no solo através do uso da seguinte equação: $CAS = (MU-MS)/MS$. Por meio desta equação, calculamos o θ_m e CV nos três níveis do solo indicados acima.

Avaliações de crescimento

Ao final do experimento para as plantas que sobreviveram e no momento da morte das plantas submetidas à seca, foram determinados a altura, o comprimento total

(altura + comprimento de todos os ramos laterais) e o grau de ramificação (GR) da parte aérea. O GR foi calculado pela razão entre o somatório dos comprimentos dos ramos laterais e o comprimento total da parte aérea das plantas. O comprimento da raiz principal (CRP) também foi medido.

A parte aérea, a raiz principal e as raízes laterais (de todas as ordens) de cada planta foram acondicionadas separadamente em envelopes de papel, secas em estufa (60 °C) e pesadas para determinação do acúmulo de massa seca das diferentes partes das plantas: massa seca da raiz principal (MSRP), das raízes laterais (MSRL), do total de raízes (MSRT) e da parte aérea (MSPA). No caso das plantas que sobreviveram até o final do experimento (plantas 'H' e 'M'), também obtivemos a massa seca das raízes laterais correspondentes aos três níveis do solo (MSRL_A, MSRL_B e MSRL_C) no recipiente de cultivo.

Análise estatística

As análises estatísticas foram realizadas por meio de análise de variância unifatorial (ANOVA), em esquema experimental inteiramente casualizado. Posteriormente, foi feita a comparação de médias por teste de separação das médias DMS ($P \leq 0,05$). As análises estatísticas foram realizadas por meio do programa Statistix 8.0 (Analytical Software, Tallahassee, FL, USA).

Foi utilizado o método de Kaplan-Meier para curvas de sobrevivência após 380 dias da semeadura das plantas, através do uso do Sigma Plot 11.0 (Systat Software, Inc.).

RESULTADOS

Sobrevivência

Ao longo de todo o experimento, apenas uma planta 'M' e uma planta 'H' morreram, enquanto que as plantas 'S' sobreviveram por, no máximo, 97 dias após a suspensão da rega, tendo a mortalidade das plantas iniciado 60 após esta suspensão (Fig. 3A).

Relações hídricas

Após o período de desenvolvimento inicial (~80 dias), em que a capacidade de vaso foi mantida a 60%, o conteúdo gravimétrico de água no solo das plantas 'M' permaneceu superior ao das plantas 'H' ao longo de todo o experimento, sendo ambos superiores ao das plantas 'S' (Fig. 3B). Nestas plantas, os valores de CV_L no momento da morte variaram entre 29 e 17% (Fig. 4C). Nestas mesmas plantas, os valores letais de Ψ_{wL} variaram entre -2,5 e -2,8 MPa (Fig. 4A), enquanto que os de CRA_L variaram entre 36 e 21% (Fig. 4B), sendo que estas variáveis foram positivamente correlacionadas entre si (Tabela 1; Fig. 4D), mas não apresentaram correlação com o θ_{mL} (Tabela 1; Figs. 4E e 4F).

As medidas de relações hídricas feitas ao final do experimento para as plantas que sobreviveram ('H' e 'M') revelaram que o CRA das folhas foi maior nas plantas 'M' do que nas plantas 'H', nos dois horários avaliados e que, embora o Ψ_{w8} não tenha diferido significativamente entre estes dois grupos, o Ψ_{w16} das plantas 'M' foi cerca de 13% maior que o das plantas 'H' (Figs. 5A e 5B, Tabela 2). Ambos os grupos de plantas apresentaram valores similares de g_s e taxa de transpiração (Figs. 5C e 5D, Tabela 2). Em relação à água no solo, os valores de θ_m nos níveis superiores (A e B) foram

significativamente menores nas plantas 'M' do que nas plantas 'H'. No entanto, nos 10 cm próximos à base do vaso (nível C), estes valores se equipararam entre estes dois grupos de plantas (Fig. 5E, Tabela 2).

Crescimento

As plantas 'M' apresentaram maior altura e grau de ramificação da parte aérea, e acumularam mais massa, tanto na parte aérea quanto nas raízes, em relação às plantas 'H'. As plantas 'M' alcançaram uma massa total 1,7 vezes maior do que as plantas 'H'. O CRP não diferiu entre estes dois grupos (Tabelas 2 e 3), mas a massa seca das raízes laterais nos níveis do solo A e C nas plantas 'M' foram 1,8 e 7,6 vezes maiores do que nas plantas 'H', respectivamente (Fig. 5F). As diferenças no crescimento das raízes e da parte aérea de plantas 'M' e 'H' podem ser visualizadas na Fig. 6. Como a massa das plantas 'S' foi avaliada à medida que as plantas morriam, estando estas avaliações distantes em pelo menos 203 dias das avaliações realizadas nas plantas 'H' e 'M', não faz sentido comparar a massa daquelas plantas com estas. Assim os valores de massa das plantas 'S' são apresentados na Tabela 3 apenas para fins ilustrativos.

DISCUSSÃO

Efeito da neblina na sobrevivência e crescimento de plantas exposta à seca do solo

Após o período inicial do desenvolvimento das plantas (~80 dias após a semeadura), cessamos a reposição de água no solo das plantas 'S' e 'M'. A partir deste momento, plantas 'S' sobreviveram por, no máximo, mais 97 dias. Já as plantas 'M' continuaram crescendo e sobreviveram mesmo após um ano da semeadura, quando finalizamos o

experimento (Fig. 3A). Assim, a hipótese de que os efeitos diretos e/ou indiretos da presença periódica de neblina sobre e ao redor das partes aéreas de plantas do pinheiro brasileiro permitem maior sobrevivência de plantas de *A. angustifolia* submetidas a uma baixa disponibilidade de água no solo é aceita.

A presença de uma atmosfera úmida permitiu a manutenção de um alto θ_m pelas plantas 'M'. Estes valores, obtidos ao longo do período experimental por meio das pesagens periódicas dos recipientes de cultivo, se mantiveram próximos a 55% da CV e acima do obtido pelas plantas 'H' (Fig. 3B). No desmonte final, entretanto, quando θ_m foi avaliado de forma direta, este foi menor nas plantas 'M' do que nas plantas 'H' nos níveis superior e mediano do recipiente de cultivo (Fig. 5E). Esta avaliação final reflete melhor a situação hídrica do solo, pois não é afetada pelos erros decorrentes da não contabilização do crescimento das plantas no método que se vale da pesagem dos recipientes. Entretanto, é inquestionável que a presença de neblina ao redor das plantas 'M' permitiu a manutenção de um solo mais úmido apesar da suspensão da rega, se considerarmos que, mesmo nos primeiros 10 cm do solo, o θ_m nas plantas 'M' após 300 dias sem receber água no solo ($\theta_m = 0,0878 \text{ g água g}^{-1} \text{ solo seco}$; $\sim 44\%$ CV; Fig. 5E) foi maior do que o θ_m das plantas 'S' após 60 dias de suspensão da irrigação ($\theta_m = 0,0648 \text{ g água g}^{-1} \text{ solo seco}$; $\sim 29\%$ CV; Fig. 3B).

O cenário acima exposto sugere duas possibilidades, não mutuamente exclusivas: a primeira, de que a maior manutenção de água no solo estaria relacionada à menor absorção de água pelas raízes, devido a uma menor demanda gerada pela transpiração. Isto é facilmente entendido quando observamos os menores valores de DPV a que as plantas 'M' foram submetidas, quando comparadas aos outros dois grupos (Fig. 1). O segundo cenário possível seria o de absorção de água pelas folhas e

transferência de parte desta água absorvida para o solo, via raízes. Isto pressupõe o fluxo reverso de água no xilema e um limitado grau de isolamento hidráulico solo-planta. Cabe ressaltar que a manutenção de um θ_m maior em plantas aspergidas periodicamente com água do que em plantas não aspergidas já havia sido relatada no capítulo 2. Naquele estudo, as plantas não estavam contidas em uma câmara fechada, de forma que as reduções no DPV devem ter sido menos significativas. Assim, parece provável que as folhas do pinheiro brasileiro estejam aptas à absorção de água. É provável que a manutenção de um alto θ_m pelas plantas 'M' esteja relacionada ao somatório dos eventos de redução no DPV (supressão da transpiração) e da absorção foliar de água e posterior escape de parte desta água para o solo. Embora estes eventos sejam de difícil separação, e muitos estudos falharam em separar os efeitos diretos e indiretos da presença de neblina ao redor e sobre as partes aéreas de inúmeras espécies (Rundel, 1982), eles devem ser mutuamente considerados quando avaliamos seus efeitos no desempenho ecofisiológico, crescimento e sobrevivência das plantas.

Ao mesmo tempo em que os níveis de água no solo mantiveram-se bem mais elevados do que o das plantas 'S', mesmo com um período de suspensão da rega bem maior, a taxa transpiratória, a condutância estomática e o potencial hídrico em plantas 'M' não diferiram dos das plantas 'H'. Por outro lado, o CRA nas folhas foi maior nas plantas 'M' (Figs. 5A a 5D). Fica então evidente que o fornecimento de água via atmosfera garantiu níveis de hidratação de folhas e ramos similares aos das plantas cuja única fonte de água era o solo. Embora não possamos afirmar que estas respostas são resultantes da absorção de água pelas folhas, os resultados obtidos no

experimento relatado no capítulo anterior nos levam a sugerir a relevância deste processo para estas respostas aqui observadas.

Stone (1956; 1957) observou que a presença de neblina prolongou, no máximo 72 dias, a sobrevivência de plantas de algumas espécies de coníferas crescidas com baixo conteúdo de água no solo, como *Abies concolor*, *Pinus ponderosa* e *Calocedrus decurrens*. De acordo com o autor, a maior sobrevivência das plantas ocorreu devido à hidratação dos tecidos foliares e redução na quantidade de água removida do solo pelas raízes.

Os efeitos promotores da presença de uma atmosfera úmida se manifestaram também no crescimento e acúmulo de massa das plantas (Tabela 3). A frequente disponibilidade de água para as folhas do pinheiro brasileiro favoreceu a maior altura e comprimento total da parte aérea, e teve efeito notório no grau de ramificação dessas plantas, quando comparadas às plantas cuja única disponibilidade de água era o solo. Conseqüentemente, a MSPA de plantas 'M' foi 1,6 vezes maior do que plantas 'H', e, fortalecendo os resultados obtidos no capítulo 2, a constante presença de água sobre as partes aéreas do pinheiro brasileiro teve efeito no crescimento das raízes. Embora o CRP em ambos os tratamentos (plantas 'H' e plantas 'M') não tenha diferido, o acúmulo de MSRP aumentou na mesma proporção que o acúmulo de MSPA das plantas 'M', indicando o maior investimento em calibre da raiz principal, já que o comprimento do recipiente de cultivo limitava seu crescimento em profundidade. O maior acúmulo de massa de raízes laterais na menor e maior profundidade do solo (níveis A e C) também foi observado em plantas 'M' que, obviamente, contribuíram para maior MSRT destas plantas. Estas diferenças somadas fizeram com que a massa seca total das plantas que só receberam água nas partes aéreas fosse quase o dobro

da massa das plantas que receberam água através do solo. Assim, nossa segunda hipótese, de que o crescimento de plantas submetidas à seca do solo, mas com disponibilidade periódica de água sobre suas folhas se equipara com o crescimento de plantas com boa disponibilidade hídrica do solo, mas sem disponibilidade de água sobre suas folhas, é rejeitada, uma vez que as plantas 'M' cresceram mais do que as plantas 'H'.

O turgor celular é o principal fator que controla a expansão de células vegetais (Cosgrove, 2005). Um maior turgor celular pode resultar tanto de um maior ganho de água quanto de uma menor perda desta. Assim, o maior crescimento observado nas plantas 'M' pode ter sido intermediado por uma menor perda de água por transpiração e/ou pela absorção foliar de água. Embora a abordagem experimental utilizada não nos permita separar estes dois efeitos, nossos resultados nos levam a sugerir que a absorção da água depositada sobre as folhas no período noturno tenha sido, pelo menos em parte, responsável por este maior crescimento. Esta fonte adicional de água também minimizaria a demanda de água do solo, a qual estaria mais disponível ao crescimento das raízes. Estas, ainda, poderiam ser beneficiadas por um possível fluxo reverso de água no xilema das folhas para o caule e raízes.

A resistência à seca de A. angustifolia

As plantas 'S' foram capazes de sobreviver sem nenhuma reposição de água por, no máximo, 97 dias. No momento da morte, a CV_L para plantas do pinheiro brasileiro variou entre 29 e 17% (θ_{mL} entre 0,0648 e 0,0393 g água g⁻¹ solo seco, respectivamente), mas é possível que as plantas do pinheiro brasileiro sejam capazes de sobreviver a valores ainda menores de θ_m , pois observamos que as últimas plantas

a morrerem foram as que melhor desenvolveram o sistema radicular, com maior capacidade de alongamento da raiz principal e desenvolvimento de raízes laterais em zonas mais profundas, permitindo a exploração das zonas do solo que ainda permaneciam úmidas.

Os valores letais dos parâmetros de relações hídricas das plantas (CRA_L e Ψ_{w_L}) não apresentaram correlação com o conteúdo de água no solo (Tabela 1, Fig. 4E e 4F). No caso do Ψ_{w_L} , variaram dentro de uma pequena escala (entre -2,5 e -2,8 MPa) e, no CRA_L , variaram em escala maior (entre 36 e 21%) (Figs. 4A, 4B e 4C). Lee *et al.* (2004) registraram a morte de plantas jovens de *Pinus densiflora* após 45 dias de suspensão da irrigação do solo, e o valor letal de potencial hídrico foi bem mais negativo (-5,1 MPa) do que o observado no presente estudo. Estes mesmos autores relataram os valores letais de Ψ_w registrados para outras espécies de *Pinus* (entre -1,0 a -1,9 MPa), para espécies de *Picea* (-1,8 a -2,2 MPa) e para *Juniperus monosperma* (-5,9 MPa) (Richter, 1976 apud Lee *et al.*, 2004). Breshears *et al.* (2009) monitoraram por uma década os valores de potencial hídrico ao amanhecer ($\Psi_{w_{PD}}$) de árvores de *Pinus edulis*. Em período de seca extrema, esses valores caíram para -2,35 MPa, levando à mortalidade dessas plantas. Em contraste, as plantas de *Juniperus monosperma* sobreviveram mesmo atingindo valores de $\Psi_{w_{PD}} \sim -4,5$ MPa. Cochard (1992) estimou os valores mínimos de potencial hídrico, abaixo dos quais ocorria embolia, em sete espécies de coníferas: este variaram entre -2,5 MPa (*Pinus sylvestris*) e -4 MPa (*Cedrus atlantica*). Baltzer *et al.* (2008), analisando a tolerância à dessecação de plântulas de 24 espécies arbóreas distribuídas em 9 famílias de angiospermas, verificou que os valores letais de potencial hídrico variaram, nas espécies estudadas, entre ~ -4 e -9 MPa. Em estudo realizado com 12 espécies de angiospermas arbóreas decíduas, Augé

et al. (1998) classificaram duas espécies, com valores letais de Ψ_w de -2,04 e -2,38 MPa, como as mais sensíveis à desidratação e quatro das espécies, com valores letais de Ψ_w entre -5,63 e -6,14 MPa, como as mais resistentes. Considerando todos estes valores, constata-se que os valores letais para plantas jovens de *A. angustifolia* situam-se dentro de uma faixa intermediária, considerando-se as gimnospermas, e as posicionam como espécie sensível, quando comparada às angiospermas.

Os valores letais de potencial hídrico estão tipicamente associados à suscetibilidade das plantas aos fenômenos de cavitação e embolia no xilema. Com o aumento da seca no solo, maiores são as tensões hidráulicas no xilema, aumentando o risco de disfunção do xilema por cavitação ou colapso dos condutos (Tyree & Sperry, 1989; Cochard, 1992; Brodribb & Hill, 1999; Brodribb *et al.*, 2003; Brodribb & Holbrook, 2004; Cochard *et al.*, 2004; Baoli *et al.*, 2005; Brodribb & Cochard, 2009). Cochard (1992) concluiu que a vulnerabilidade à embolia das espécies de coníferas estudadas era consistente com o comportamento ecofisiológico de cada espécie em condições de estresse hídrico, em que plantas tolerantes são menos vulneráveis do que plantas que evitam à seca.

Quanto ao CRA_L , os valores aqui obtidos foram, além de variáveis, bastante baixos. Em espécies de angiospermas, plantas ornamentais apresentaram valores letais de CRA em torno de 50% (Chapman e Augé, 1994). No mesmo estudo realizado por Augé *et al.* (1998), os valores letais deste parâmetro variaram, entre as espécies, de 84,7% a 48%. No estudo de Baltzer *et al.* (2008), o CRA_L variou entre ~ 20% a 60% e foi mais baixo em espécies amplamente distribuídas do que nas espécies da floresta situada ao sul da Península (sem estação de seca). Guarnaschelli *et al.* (2006) observaram valores de CRA de ~42% em *Eucalyptus globulus*, após 36 dias sem

irrigação. No estudo de Chapman e Augé (1994), plantas de *Helianthus angustifolius* apresentaram altos valores foliares de Ψ_{wL} (-1,47 MPa), mas o CRA_L foi relativamente baixo (~45%), levando os autores a sugerir que o CRA é a mais precisa medida de tolerância à dessecação.

Comparado com os valores letais de potencial hídrico, poucos são os valores de CRA registrados para gimnospermas disponíveis na literatura. Por exemplo, para *Pinus densiflora*, espécie tolerante à dessecação, os valores letais de CRA foram de 54% (Lee *et al.*, 2004). Pharis (1966) registrou valores letais de conteúdo de água na folha (em % do peso seco) para cinco espécies de coníferas, e esses valores variaram conforme a espécie e diretamente com a idade das folhas, mas, na maioria das espécies, os valores letais do conteúdo de água na folha foram próximos a 60%, quando determinados em folhas com 6 e 13 meses de idade, a exceção de *Abies sp.*, uma espécie que apresentou valores de conteúdo de água nas folhas próximos a 20%. Utilizando a medida do conteúdo de água em relação ao peso seco (MF-MS/MS), os valores de CRA_L para *A. angustifolia* variaram entre 46 e 25%.

As reduções no CRA devido ao estresse hídrico estão associadas à diminuição da elasticidade da parede celular, da estabilidade das membranas e da integridade celular, e conseqüentemente, à saída de íons e aminoácidos das células, podendo resultar na morte dos tecidos (Baoli *et al.*, 2005). Geralmente, valores de CRA entre 60% e 80% já indicam a perda da integridade celular (Kyriakopoulos and Richter 1981). Os baixos valores de CRA_L observados para *A. angustifolia* podem ser resultado da avaliação de folhas que estavam excessivamente desseçadas. Quando considerávamos uma planta como morta, na maioria das vezes, ainda era possível realizar medidas de potencial hídrico nos ramos. Em alguns casos, estas medidas eram inviáveis,

provavelmente por haver embolia no xilema caulinar. Em todos os casos, o aspecto das folhas era de maior dessecação do que dos caules. Em coníferas, a maior vulnerabilidade do xilema foliar do que do xilema caulinar à cavitação e embolia em situações de estresse hídrico já foi constatada em alguns estudos (e.g. Brodribb & Hill, 1999; Cochard, 1992; Cochard *et al.*, 2004; Brodribb & Cochard, 2009). É possível que na *A. angustifolia* tal fenômeno também ocorra, justificando inclusive a relevância da presença de uma atmosfera úmida ao redor das folhas e fazendo com que a perda da funcionalidade das células foliares ('morte') ocorra antes do que a dos caules onde estão inseridas e fazendo com que as estimativas de CRA_L , medida nas folhas, seja bem menor do que o esperado a partir das estimativas de Ψ_{wL} que fizemos nos ramos.

Tomando como base os valores letais de potencial hídrico, aceita-se a terceira e última hipótese levantada neste estudo, de que os valores letais para a *A. angustifolia* não são muito baixos (no caso, não são muito negativos). Embora os valores letais de CRA sugiram o contrário, é provável que os mesmos não tenham sido adequadamente avaliados neste estudo.

De acordo com Tyree *et al.* (2002), a resistência à seca pode ser dividida em duas classes: evitamento e tolerância à seca. O fato das plantas jovens de *A. angustifolia* terem sobrevivido por quase 100 dias sem reposição de água em um solo que tinha inicialmente 60% da capacidade de vaso, poderia indicar, em um primeiro momento, uma grande tolerância à seca por parte da espécie. No entanto, o que se verifica é um lento processo de secagem do solo, causado por um comportamento conservador da espécie com relação ao uso da água. Embora não tenhamos avaliado as taxas de transpiração das plantas que tiveram a rega suspensa e que não receberam tratamento de neblina artificial, o tempo transcorrido para levar o solo de 60 à ~20%

da capacidade de vaso é bastante longo. Este comportamento conservador já havia sido relatado anteriormente para a espécie: cultivando plantas jovens em vasos com 1,3 kg de substrato e restringindo-se a evaporação pelo uso de uma camada de bolas de isopor na superfície dos vasos, o substrato ainda retinha mais de 60% do conteúdo inicial de água após 40 dias de suspensão da irrigação (Yamasaki, 2000, Dillenburg *et al.*, 2009). Este baixo consumo esteve associado a baixos valores de condutância estomática ($\sim 120 \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) mesmo nas plantas hidratadas, valores estes muito semelhantes aos medidos neste estudo, e às baixas taxas de transpiração, características tipicamente associadas às coníferas (Pallardy *et al.*, 1995). Além disto, a espécie demonstrou elevada sensibilidade estomática a reduções da água no solo, o que resultou em redução ainda maior do consumo à medida que as reservas de água no solo foram esgotadas (Yamasaki, 2000, Dillenburg *et al.*, 2009).

Somam-se a este comportamento conservador outras características morfoanatômicas da espécie que também resultam em economia de água. A baixa área foliar, a ocorrência de estômatos em cavidades (Stockey & Ko, 1986), a pronunciada lignificação das paredes de células guarda e a presença de hipoderme uni ou bi-estratificada (Mastroberti & Mariath, 2003) somam-se às baixas condutâncias estomáticas para reduzir o esgotamento da água na planta e no solo. Por outro lado, a espécie apresenta características que aumentam as chances de aquisição e estocagem de água em um solo com baixa disponibilidade deste recurso, como a provável capacidade de aproveitamento da água presente em suas folhas, possivelmente, estocada em suas folhas, por meio das células mucilaginosas (Mastroberti & Mariath, 2003; 2008), e o desenvolvimento de raízes profundas (Yamasaki, 2000, Dillenburg *et al.*, 2009; Dillenburg *et al.*, 2010).

Estas características estão tipicamente associadas a uma estratégia de evitamento da seca (Chapman e Augé, 1994; Augé *et al.*, 1998; Tyree *et al.*, 2002; Baltzer *et al.*, 2008). Espécies que expressam fortemente características de evitamento, apresentam baixa tolerância à dessecação de seus tecidos (Augé *et al.*, 1998; Tyree *et al.*, 2002). Como o valor letal de potencial hídrico aqui relatado foi bem menos negativo do que os de outras espécies arbóreas, o pinheiro brasileiro parece se enquadrar melhor dentro da categoria de plantas que evitam do que de plantas que toleram desidratação de seus tecidos.

Implicações ecológicas

As características de resistência à seca exibida por plantas jovens do pinheiro brasileiro são de grande relevância na compreensão de seus padrões de distribuição natural. Ainda que naturalmente ocupe ecossistemas úmidos, com grandes volumes de precipitação ao longo do ano, as plantas jovens que colonizam os campos enfrentam a competição radicular com gramíneas (Zandavalli, 1996), em um ambiente com irradiância e DPV maiores do que os encontrados no interior das florestas. Esta competição pode levar a uma significativa redução na disponibilidade de água no solo, particularmente nas camadas mais superficiais e em períodos ocasionais de menor precipitação. O sucesso da espécie em se estabelecer nestes ambientes vai, então, depender da sua capacidade de aquisição de água através do aprofundamento do sistema radicular, da exploração de sítios mais favoráveis em termos de disponibilidade de água e do aproveitamento da água depositada em suas folhas durante eventos de precipitação, neblina e condensação de água sobre suas folhas (orvalho). Paralelamente a estes recursos, em situações e momentos onde a exposição

à seca do solo e da atmosfera for inevitável, a sobrevivência das plantas dependerá da economia da água adquirida e estocada em seus tecidos, através da limitação na abertura de seus estômatos.

Os resultados deste estudo indicam que fontes alternativas de água podem desempenhar um papel ecológico relevante, mesmo em ambientes onde a água pode estar presente, mas nem sempre se encontra prontamente disponível às raízes (Oliveira *et al.*, 2005). Neste contexto, os constantes eventos de neblina que tipicamente ocorrem no ambiente natural do pinheiro brasileiro vêm a somar para o sucesso no seu estabelecimento. Os resultados até agora obtidos apontam para a necessidade não apenas de manter uma boa disponibilidade de água no solo e o acesso das raízes à água disponível, mas também da existência de uma atmosfera úmida ao redor das plantas.

Embora nosso estudo tenha sido conduzido com plantas jovens, considerando o grande porte e arquitetura peculiar de indivíduos adultos da espécie, podemos sugerir que o padrão de distribuição dos ramos e o posicionamento apical e comumente emergente dos mesmos favorecem a interceptação de eventos de neblina e precipitação. De especial importância para a compreensão do uso da água por indivíduos adultos será a descrição de sua arquitetura e condutividade hidráulica e a suscetibilidade de seus diferentes segmentos (caulinares e foliares) ao fenômeno da cavitação. Nesse sentido, esperamos que a absorção direta de água pelas folhas supra imediatamente os tecidos aéreos, já que o transporte de água das raízes para o dossel pode levar até mais que um mês em espécies de grande porte (Woodward 2004; Zimmermann *et al.* 2007).

Tabelas e Figuras

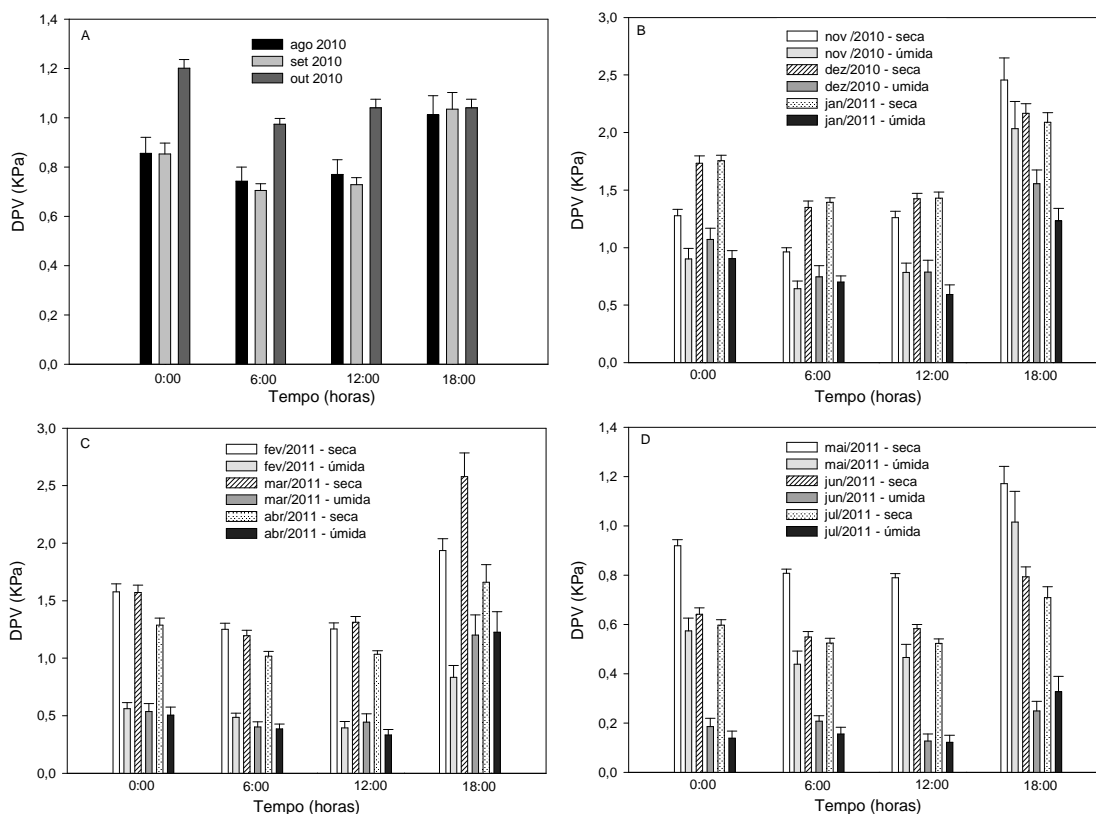


Fig. 1 Variações mensais no déficit de pressão de vapor (DPV) nas câmaras seca (plantas 'S' e 'H') e úmida (plantas 'M'). Valores são médias mensais para os seguintes horários: 0 h, 6 h, 12 h, 18 h. As linhas verticais indicam o erro padrão das médias. A) De agosto 2010 a outubro 2010, os valores de DPV referem-se ao período inicial de 80 dias após a germinação, antes da imposição dos tratamentos (instalação das câmaras seca e úmida). B-C-D) De novembro 2010 a julho 2011, os valores de DPV foram medidos no interior das câmaras seca e úmida.



Fig. 2 Aspecto geral das plantas mortas (plantas 'S') antes das medidas dos parâmetros letais de relações hídricas. As partes aéreas das plantas tinham entre 25 e 32 cm de altura.

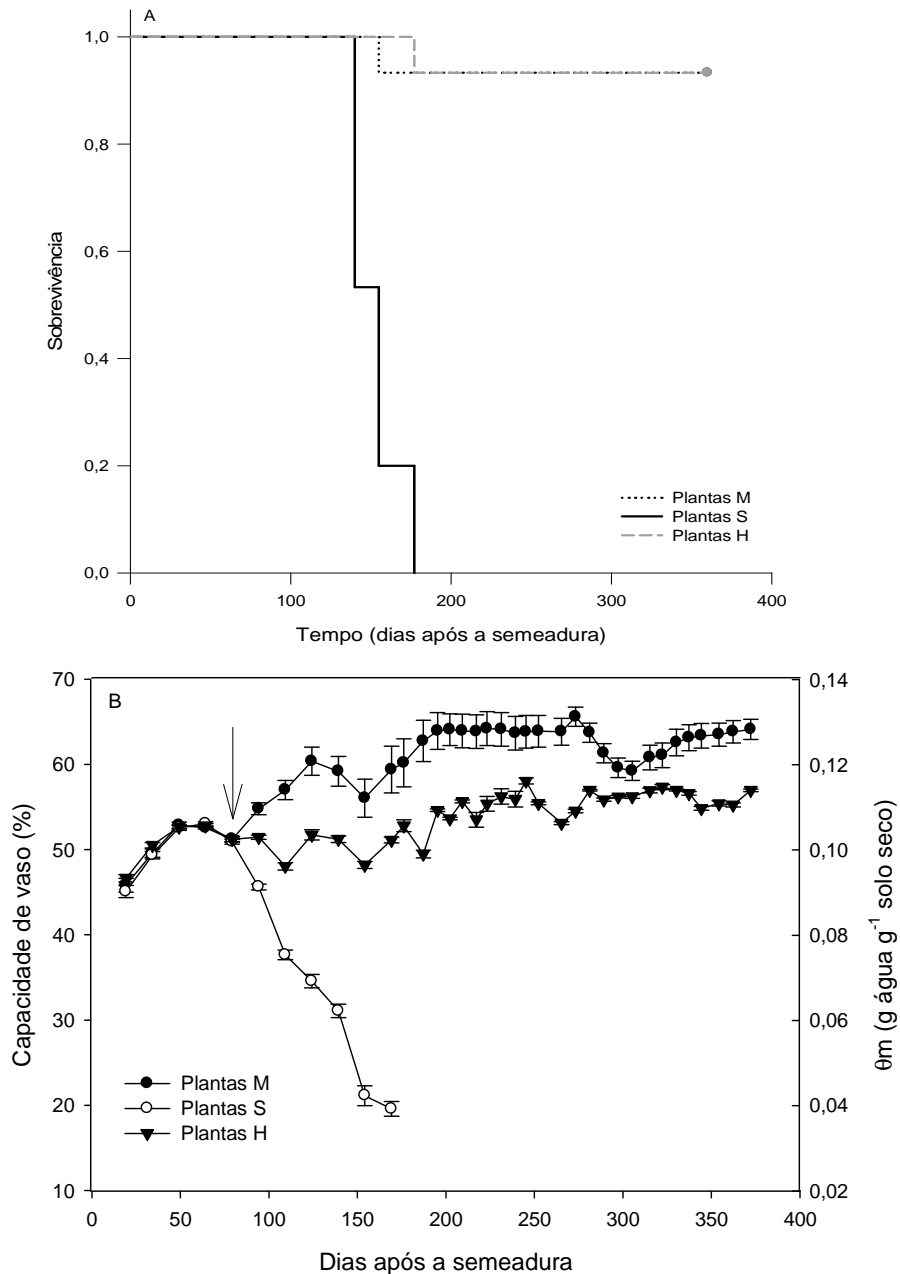


Fig. 3 Curvas de sobrevivência de Kaplan-Meier (A) e variações temporais no conteúdo gravimétrico de água no solo (B) de plantas jovens de *Araucaria angustifolia* hidratadas ('H'), induzidas à seca ('S') ou induzidas à seca com presença de neblina ('M'). Em (B) os valores apresentados são médias \pm erro padrão e foram obtidos após a pesagem dos recipientes de cultivo e antes da reposição de água no solo (plantas 'H'), para quantificar as quedas no θ_m nos intervalos entre as reposições. Seta indica o momento de suspensão da irrigação do solo das plantas 'M' e 'S'.

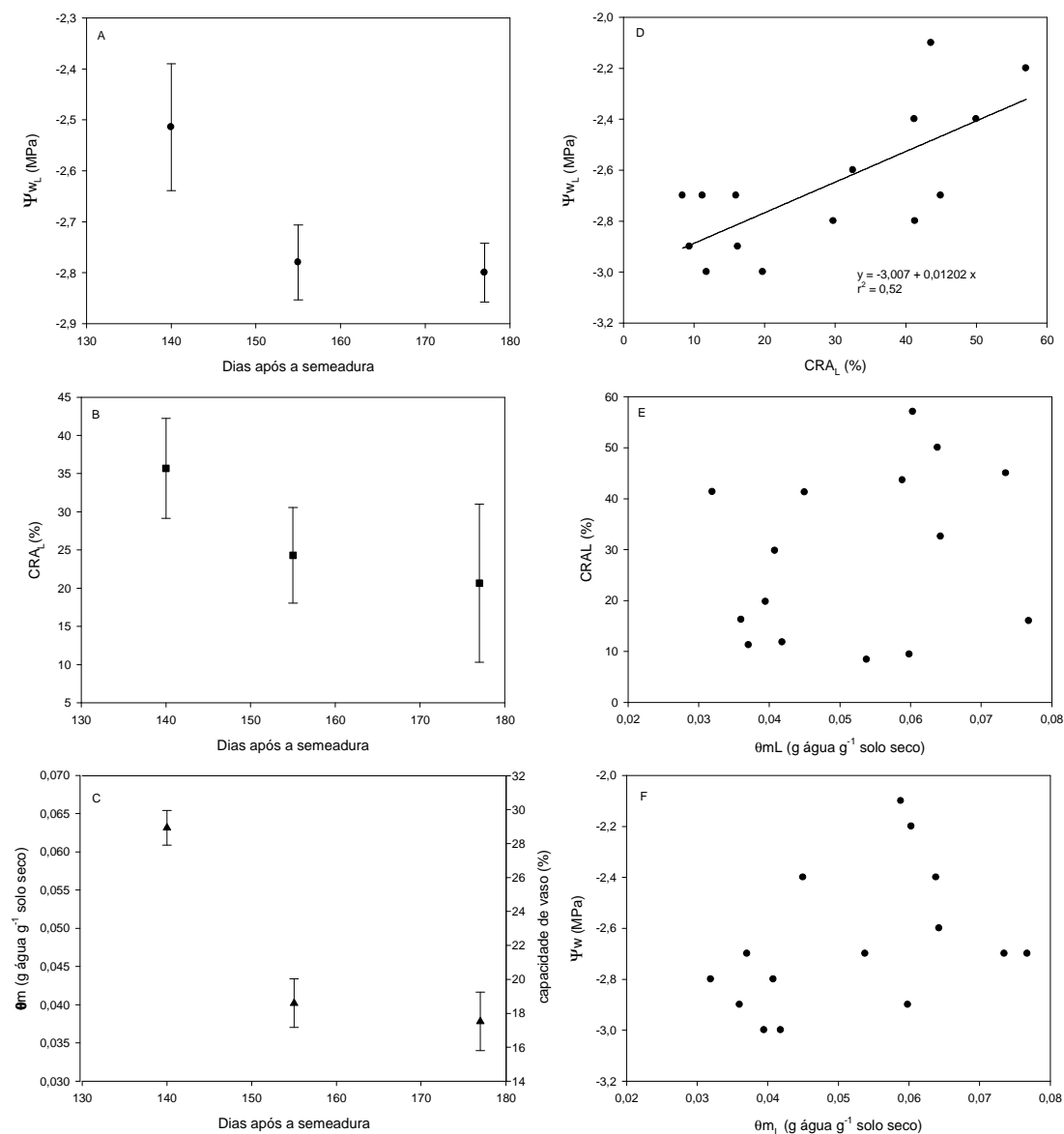


Fig. 4 Valores letais (obtidos de plantas 'S') de potencial hídrico caulinar (Ψ_{wL} , A), conteúdo relativo de água foliar (CRA_L , B), capacidade de vaso (CV_L , C) e conteúdo gravimétrico de água do solo (θ_{mL} , C) de plantas jovens de *Araucaria angustifolia*. Os valores apresentados em A, B e C são médias \pm erro padrão, obtidas a partir de plantas mortas 140 (n=7), 155 (n=5) e 177 (n=3) dias após a semeadura, que correspondem a 60, 75 e 97 dias de suspensão da rega, respectivamente. Os gráficos D, E e F ilustram, respectivamente, as correlações entre Ψ_{wL} e CRA_L (D), CRA_L e θ_{mL} (E), Ψ_{wL} e θ_{mL} (F).

Tabela 1 Síntese das análises de correlação das variáveis letais de relações hídricas de plantas jovens de *Araucaria angustifolia* induzidas à seca (plantas 'S').

Correlação	
Variável	Valor de P
$\Psi_{wL} * CRA_L$	0,0022
$\Psi_{wL} * \theta_{mL}$	0,1319
$CRA_L * \theta_{mL}$	0,3421

Ψ_{wL} : potencial hídrico letal; CRA_L : conteúdo relativo de água foliar letal; θ_{mL} : conteúdo gravimétrico de água no solo letal.

Tabela 2 Síntese da ANOVA das variáveis de relações hídricas e de crescimento de plantas jovens de *Araucaria angustifolia* hidratadas (plantas 'H') ou induzidas à seca sob neblina (plantas 'M').

ANOVA			
Variável	GL	GL _{erro}	Valor de P
Gs	1	26	0,1839
T	1	26	0,1864
CRA ₈	1	12	0,0410
CRA ₁₆	1	12	0,0408
Ψ_{w8}	1	12	0,3828
Ψ_{w16}	1	12	0,1072
CV _A e θm_A	1	26	0,0000
CV _B e θm_B	1	26	0,0006
CV _C e θm_C	1	26	0,1838
MSRL _A	1	26	0,0006
MSRL _B	1	26	0,0641
MSRL _C	1	26	0,1838
Altura da parte aérea	1	26	0,0012
CTPA	1	26	0,0000
GR	1	26	0,0031
CRP	1	26	0,3160
MSPA	1	26	0,0000
MSRT	1	26	0,0000
MSRP	1	26	0,0000
MSRL	1	26	0,0009
MST	1	26	0,0000

gs: condutância estomática; T: taxa de transpiração; CRA₈ e CRA₁₆: conteúdo relativo de água nas folhas medido as 8:00 e as 16:00 horas, respectivamente; Ψ_{w8} e Ψ_{w16} : potencial hídrico medido as 8:00 e as 16:00 horas, respectivamente; CV_{A,B,C}: capacidade de vaso nos três níveis de solo (A = 0-10 cm; B = 10-30 cm, C=30-40 cm); $\theta m_{A,B,C}$: conteúdo gravimétrico de água no solo nos três níveis de solo; MSRL_{A,B,C} = massa seca das raízes laterais no três níveis do solo. CTPA: comprimento total da parte aérea; GR: grau de ramificação da parte aérea; CRP: comprimento da raiz principal; MSPA: massa seca da parte aérea; MSRT: massa total de raiz; MSRP: massa seca da raiz principal; MSRL: massa seca da raiz lateral; MST: massa seca total.

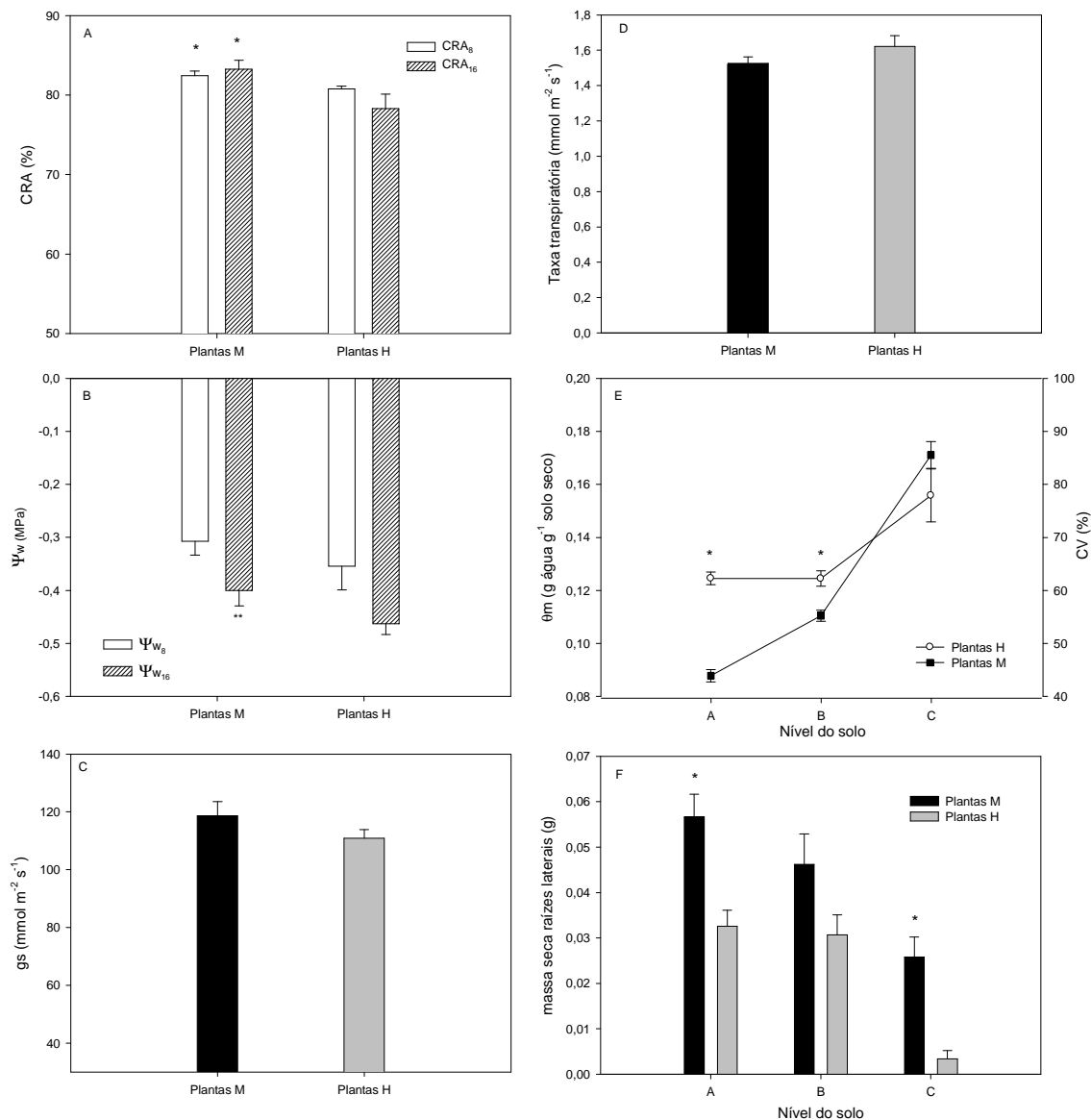


Fig. 5 Relações hídricas das plantas e do solo e massa de raízes laterais de plantas jovens de *Araucaria angustifolia* hidratadas ('H') ou submetidas à seca sob neblina ('M'). Medidas de conteúdo relativo de água foliar (CRA, A) e de potencial hídrico (Ψ_w , B) foram realizadas nos horários de menor (8 h) e maior (16 h) DPV. Medidas de condutância estomática (gs, C) e taxa de transpiração (T, D) foram realizadas entre 9 e 11h da manhã. As medidas de capacidade de vaso e de conteúdo gravimétrico de água no solo (CV e θ_m , E) e as de massa seca de raízes laterais (MSRL, F) são apresentadas para os três níveis de solo (A = 0-10 cm; B = 10-30 cm, C=30-40 cm). Os valores apresentados são médias \pm erro padrão. * indica diferença significativa ($P \leq 0,05$).

Tabela 3 Medidas de crescimento de plantas jovens de *Araucaria angustifolia* hidratadas (plantas 'H'), induzidas à seca (plantas 'S') ou induzidas à seca sob neblina (plantas 'M'). Os valores apresentados são médias \pm erro padrão.

Variáveis	Plantas S	Plantas M	Plantas H
Altura da parte aérea (cm)	28,69 (1,50)	39,31 (1,21) a	32,14 (1,55) b
CTPA (cm)	30,29 (1,88)	97,56 (3,30) a	60,63 (4,84) b
GR (%)	3,95 (2,69)	59,37 (1,33) a	42,78 (4,91) b
CRP (cm)	30,87 (2,16)	44,98 (1,26) a	47,91 (2,57) a
MSPA (g)	1,06 (0,09)	3,04 (0,13) a	1,86 (0,15) b
MSRP (g)	0,20 (0,01)	0,60 (0,03) a	0,37 (0,03) b
MSRL (g)	0,04 (0,01)	0,17 (0,02) a	0,10 (0,01) b
MSRT (g)	0,25 (0,02)	0,77 (0,03) a	0,47 (0,03) b
MST (g)	1,30 (0,11)	3,82 (0,16) a	2,17 (0,24) b

Letras diferentes na linha indicam diferença significativa ($P \leq 0,05$). Os valores para as variáveis obtidos das plantas 'S' não foram utilizados para análise estatística. CTPA: comprimento total da parte aérea; GR: grau de ramificação da parte aérea; CRP: comprimento da raiz principal; MSPA: massa seca da parte aérea; MSRP: massa seca da raiz principal; MSRL: massa seca da raiz lateral; MSRT: massa total de raiz; MST: massa seca total.

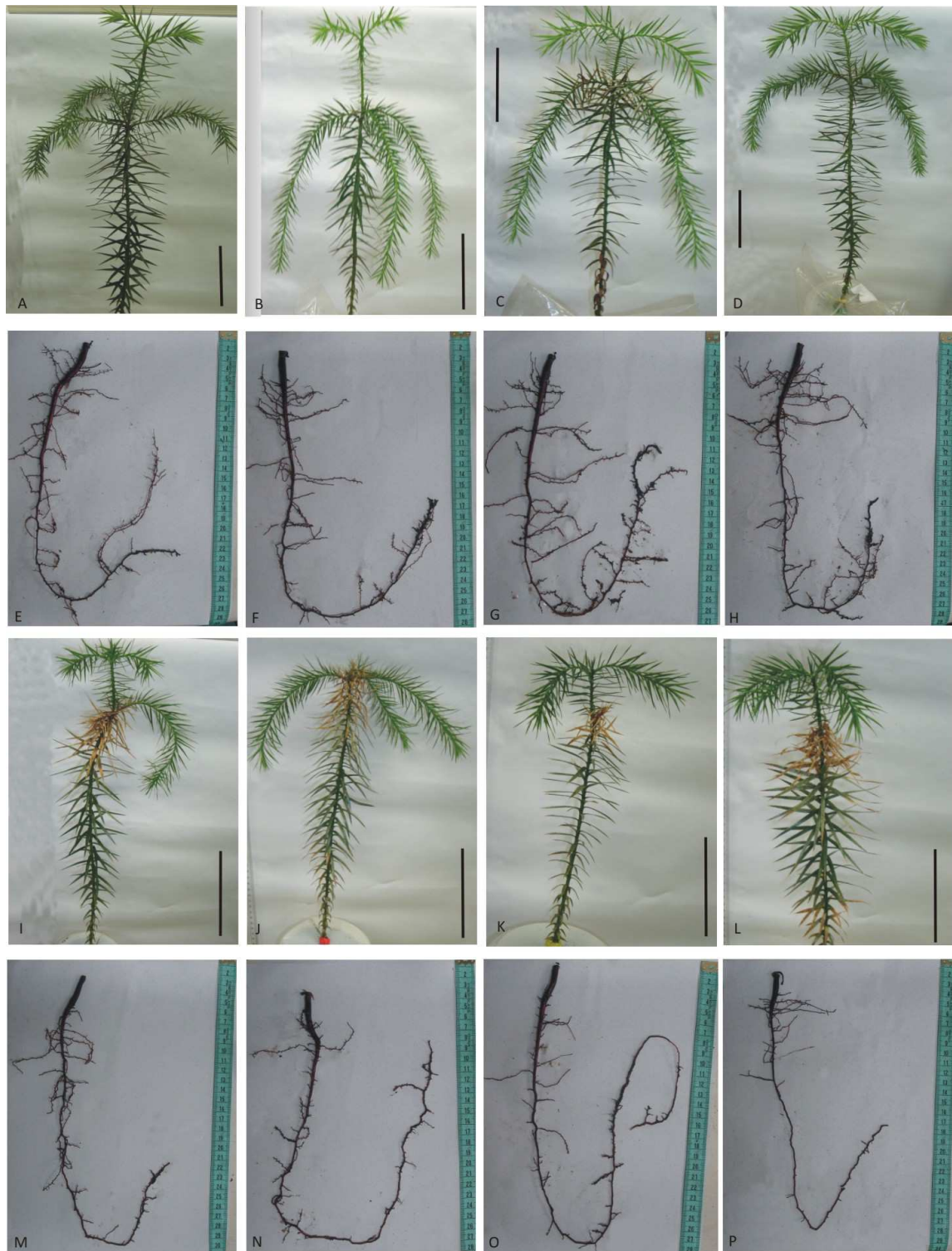


Fig. 6 Aspecto geral das partes aéreas e das raízes de plantas jovens de *Araucaria angustifolia* submetidas à seca sob neblina (A-H) e hidratadas (I-P). Barras (A-D; I-L) indicam 10 cm.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Augé RM, Duan X, Croker JL, Witte WT, Green CD (1998) Foliar dehydration tolerance of twelve deciduous tree species. *Journal of Experimental Botany*, 49 (321): 753–759.
- Atzmon N, Moshe Y, Schiller G (2004) Ecophysiological response to severe drought in *Pinus halepensis* Mill. trees of two provenances. *Plant Ecology*, 171: 15-22.
- Baltzer JL, Davies SJ, Bunyavejchewin S, Noor NSM (2008) The role of desiccation tolerance in determining tree species distributions along the Malay–Thai Peninsula. *Functional Ecology*, 22: 221–231.
- Baoli D, Chunying Y, Chunyang L (2005) Responses of conifers to drought stress. *Chinese Journal Applied Environment Biology*, 11: 115-122.
- Breshears DD, Mcdowell NG, Goddard KL, Dayem KE, Martens SN, Meyer CW, Brown KM (2008) Foliar absorption of intercepted rainfall improves woody plant water status most during drought. *Ecology*, 89: 41-47.
- Breshears DD, Myers OB, Meyer CW, Barnes FJ, Zou CB, Allen CD, Mcdowell NG, Pockman WT (2009) Tree die-off in response to global change-type drought: mortality insights from a decade of water potential measurements. *Frontiers in Ecology and the Environment*, 7 (4): 185-189.
- Brodribb TJ, Hill RS (1999) The importance of xylem constraints in the distribution of conifer species. *New Phytologist*, 143: 365-372.
- Brodribb TJ, Holbrook NM, Edwards EJ, Gutierrez MV (2003) Relationship between stomatal closure, leaf turgor and xylem vulnerability in eight tropical dry forest trees. *Plant Cell and Environment*, 26: 443– 450.
- Brodribb TJ, Holbrook NM (2004) Stomatal protection against hydraulic failure: a comparison of coexisting ferns and angiosperms. *New Phytologist*, 162: 663–670.
- Brodribb TJ, Cochard H (2009) Hydraulic Failure Defines the Recovery and Point of Death in Water-Stressed Conifers. *Plant Physiology*, 149: 575–584.

- Burgess SSO, Dawson TE (2004) The contribution of fog to the water relations of *Sequoia sempervirens* (D. Don): foliar uptake and prevention of dehydration. *Plant, Cell and Environment*, 27: 1023–1034.
- Cavelier J, Goldstein G (1989) Mist and fog interception in elfin cloud forest in Colombia and Venezuela. *Journal of Tropical Ecology*, 5: 309-322.
- Chapman DS & Augé RM (1994) Physiological Mechanisms of Drought Resistance in Four Native Ornamental Perennials. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 119(2):299–306.
- Cochard H (1992) Vulnerability of several conifers to air embolism. *Tree Physiology*, 11: 393-402.
- Cochard H, Froux F, Mayr S, Coutard C (2004) Xylem wall collapse in water-stressed pine needles. *Plant Physiology*, 134: 401–408.
- Cosgrove DJ (2005) Growth of the plant cell wall. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 6: 850-861.
- Dawson TE (1998) Fog in the California redwood forest: ecosystem inputs and use by plants. *Oecologia*, 117: 476-485.
- Dillenburg LR; Franco AMS, Coutinho AL, Korndorfer CL, Clebsch CC; Duarte LS; Ferla L, Rosa LMG, Silva LGR, Garbin ML, Mósena M, Zandavalli RB, Yamasaki S (2009). *Aspectos ecofisiológicos da regeneração de Araucaria angustifolia* (no prelo). In: Fonseca CRDS, Souza AF, Leal-Sanchet A, Dutra TL, Backes A, Ganade G (Org.). Floresta de Araucária: ecologia, conservação e desenvolvimento sustentável. Ribeirão Preto: Holos, v. 1, p. 57-65.
- Dillenburg LR, Rosa LMG, Mósena M (2010) Hypocotyl of seedlings of the large-seeded species *Araucaria angustifolia*: an important underground sink of the seed reserves. *Trees*, 24: 705–711.
- Duarte LS, dos Santos MMG, Hartz SM, Pillar VD (2006) Role of nurse plants on Araucaria Forest Expansion over grassland in south Brazil. *Austral Ecology*, 31: 520-528.
- Engelbrecht BMJ & Kursar TA (2003) Comparative drought-resistance of seedlings of 28 species of co-occurring tropical woody plant. *Oecologia*, 136:383–393.

- Engelbrecht BMJ, Comita LS, Condit R, Kursar TA, Tyree MT, Turner BL, Hubbell SP (2007) Drought sensitivity shapes species distribution patterns in tropical forests. *Nature*, 447: 80-84.
- Espigares T, López-Pintor A, Benayas JMR (2004) Is the interaction between *Retama sphaerocarpa* and its understory herbaceous vegetation always reciprocally positive? Competition-facilitation shift during *Retama* establishment. *Acta Oecologia*, 26: 121-128.
- Ferreira AG, Handro W (1979) Aspects of seed germination in *Araucaria angustifolia* (Bert.) O. Ktze. *Revista Brasileira de Botânica*, 2: 7-13
- Guarnaschelli AB, Prystupa P, Lemcoff JH (2006) Drought conditioning improves water status, stomatal conductance and survival of *Eucalyptus globulus* subsp. *bicostata* seedlings. *Annals of Forest Science*, 63: 941–950.
- Hacke UG & Sperry JS (2001) *Functional and ecological xylem anatomy*. Urban & Fischer Verlag 4/2, 97-115.
- Hueck K (1972) *As Florestas da América do Sul*, UNB- Polígono, São Paulo.
- Hutley LB, Doley D, Yates DJ, Boonsaner A (1997) Water balance of an Australian subtropical rainforest at altitude: the ecological and physiological significance of intercepted cloud and fog. *Australian Journal of Botany*, 45: 311–329.
- Ingraham NL & Matthews RA (1995) The importance of fog-drip water to vegetation: Point Reyes Península, Califórnia. *Journal of Hydrology*, 164: 269-285.
- IUCN (2011) IUCN Red List of Threatened Species. Version 2011.1. <<http://www.iucnredlist.org>>. Downloaded on 16 June 2011.
- Jones HG (1992) *Plants and microclimate: a quantitative approach to environmental plant physiology*. Cambridge University Press, Australia.
- Kimmins JP (1987) *Forest Ecology*. Macmillan, New York – USA.
- Klein RM (1960). O aspecto dinâmico do pinheiro brasileiro. *Sellowia*, 12: 17-51.
- Kyriakopoulos E & Richter H (1981) Pressure-volume curves and drought injury. *Physiologia Plantarum*, 52:124-128.
- Kursar TA, Engelbrecht BMJ, Burke A, Tyree MT, Omari BE, Giraldo JP (2009) Tolerance to low leaf water status of tropical tree seedlings is related to drought performance and distribution. *Functional Ecology*, 23: 93–102.

- Lee CS, Kim JH, Yi H, You YH (2004) Seedling establishment and regeneration of Korean red pine (*Pinus densiflora* S. et Z.) forests in Korea in relation to soil moisture. *Forest Ecology and Management*, 199: 423–432.
- Lindmann CAM (1906). *A vegetação no Rio Grande do Sul (Brasil Austral)*. Porto Alegre.
- Limm EB, Simonin KA, Bothman AG, Dawson TE (2009) Foliar water uptake: a common water acquisition strategy for plants of the redwood forest. *Oecologia* 161: 449–459.
- Lovett GM, Reiners WA, Olson RK (1982) Cloud droplet deposition in subalpine balsam fir forests: hydrological and chemical inputs. *Science* 218: 1302–1303.
- Mastroberti AA & Mariath JEA (2003) Compartmented cells in the mesophyll of *Araucaria angustifolia* (Araucariaceae). *Australian Journal of Botany*, 51: 267–274.
- Mastroberti AA & Mariath JEA (2008) Development of mucilage cells of *Araucaria angustifolia* (Araucariaceae). *Protoplasma* 232: 233–245
- McDowell N, Pockman WT, Allen CD, Breshears DD, Cobb N, Kolb T, Plaut J, Sperry J, West A, Williams DG, Yepez EA (2008) Mechanisms of plant survival and mortality during drought: why do some plants survive while others succumb to drought? *New Phytologist* 178, 719–739.
- Narvaes IS, Brena DA, Longhi SJ (2005) Estrutura da regeneração natural em floresta ombrófila mista na Floresta Nacional de São Francisco de Paula, RS. *Ciência Florestal*, 15 (4): 331–342.
- Oliveira RS, Dawson TE, Burgess SSO, Nepstad DC (2005) Hydraulic redistribution in three Amazonian trees. *Oecologia*, 145: 354–363.
- Pallardy SG, Cermák J, Ewers FW, Kaufmann MR, Parker WC, Sperry JS (1995). Water transport dynamics in trees and stands. In.: Smith WK, Hinckley TM (Eds.). *Resource physiology of conifers: acquisition, allocation and utilization*. San Diego, California: Academic Press, p. 301–389.
- Pharis RP (1966) Comparative drought resistance of five conifers and foliage moisture content as a viability index. *Ecology*, 47: 211–221.

- Richter H (1976) *The water status in the plant experimental evidence*. In: Lange, O.L., Kappen, L., Schulze, E.P. (Eds.), *Water and Plant Life*. Springer-Verlag, New York, pp. 42–58.
- Rizzini CT (1997) *Tratado de fitogeografia do Brasil: aspectos ecológicos, sociológicos e florísticos*. Âmbito Cultural Edições Ltda. 2a ed. 747 p.
- Rundel PW (1982) *Water uptake by organs than roots*. In: Lange OL, Nobel PS, Osmond CB, Ziegler H (eds) *Physiological Plant Ecology II: Water relations and carbon assimilation*. Encyclopedia of Plant Physiology, vol 12. Springer-Verlag, Berlin, pp 111-134.
- Scholander PF, Hammel HT, Hemingsen EA, Bradstreet ED (1965) Hydrostatic pressure and osmotic potentials in leaves of mangroves and some other plants. *Proceedings of the National Academy Science*, 51:119- 125.
- Stockey RA, Ko H (1986) Cuticle micromorphology of *Araucaria de Jussieu*. *Botanical Gazette*, 147(4): 508-548.
- Stone EC, Went FW, Young CL (1950) Water absorption from the atmosphere by plants growing in dry soil. *Science*, 111: 546-548.
- Stone EC, Fowells HA (1955) Survival value of dew under laboratory condition with *Pinus ponderosa*. *Forest Science*, 1: 183-188.
- Stone EC, Shachori AY, Stanley RG (1956) Water absorption by needles of *Ponderosa* pine seedlings and its internal redistribution. *Plant Physiology* 31(2): 120-125.
- Stone EC (1957a) Dew as an ecological factor. I. A review of the literature. *Ecology* 38: 407–413.
- Stone EC (1957b) Dew as an ecological factor. II. The effect of artificial dew on the survival of *Pinus ponderosa* and associated species. *Ecology* 48: 414-422.
- Tyree MT & Sperry JS (1989) Vulnerability of xylem to cavitation and embolism. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 40: 19–38.
- Tyree MT, Vargas G, Engelbrecht BMJ, Kursar TA (2002) Drought until death do us part: a case study of the desiccation-tolerance of a tropical moist forest seedling-tree, *Licania platypus* (Hemsl.) Fritsch. *Journal of Experimental Botany*, 53: 2239-2247.
- Weathers KC (1999) The importance of cloud and fog in the maintenance of ecosystems. *Tree*, 14: 214-215.

- Weathers KC, Lovett GM, Likens GE, Caraco NFM (2000) Cloudwater Inputs of Nitrogen to Forest Ecosystems in Southern Chile: Forms, Fluxes, and Sources. *Ecosystems* 3: 590–595.
- Yamasaki S, Dillenburg LR (1999) Measurements of leaf relative water content in *Araucaria angustifolia*. *Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal*, 11 (2): 69-75.
- Yamasaki S (2000) Respostas fisiológicas de plântulas de *Araucaria angustifolia* (Bert.) O. Ktze. à baixa disponibilidade de água no solo. Dissertação (Mestrado em Botânica), Programa de Pós-Graduação em Botânica, Instituto de Biociências, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, RS, 83p.
- Yates DJ, Hutley LB (1995) Foliar uptake of water by wet leaves of *Sloanea woollsii*, an Australian subtropical rainforest tree. *Australian Journal of Botany*, 43: 157 – 167.
- Woodward I (2004) Tall storeys. *Nature* 428: 807-808.
- Zadroga F (1981) The hydrological importance of a montane cloud forest area of Costa Rica. In *Tropical Agricultural Hydrology* (eds. Lal R., Russell E.W.). Wiley, New York– USA. p. 59–73.
- Zandavalli RB (2006) Importância da competição durante o estabelecimento e crescimento inicial da *Araucaria angustifolia* Tese (Doutorado em Botânica), Programa de Pós-Graduação em Botânica, Instituto de Biociências, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, RS, 167p.
- Zimmermann D, Westhoff M, Zimmermann G, Geßner P, Gessner A, Wegner LH, Rokitta M, Ache P, Schneider H, Vásquez JA, Kruck W, Shirley S, Jakob P, Hedrich R, Bentrup F-W, Bamberg E, Zimmermann U (2007) Foliar water supply of tall trees: evidence for mucilage-facilitated moisture uptake from the atmosphere and the impact on pressure bomb measurements. *Protoplasma*, 22: 11-34.

Capítulo 4

Absorção foliar de água em plantas de *Araucaria angustifolia*

Francine F. Cassana^A, Rafael S. Oliveira^B & Lúcia R. Dillenburg^A

^A Departamento de Botânica, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Av. Bento Gonçalves 9500, 91501-970, Porto Alegre, RS, Brasil.

^B Instituto de Biologia, Cidade Universitária Zeferino Vaz, Universidade Estadual de Campinas, Rua Monteiro Lobato, 255, 13083-970, Campinas, SP, Brasil.

ABSTRACT

In this study, we conducted two short-term experiments to determine whether some fraction of intercepted mist water might be directly absorbed through leaf surfaces and if so, the importance of this to the water relations of *Araucaria angustifolia* seedlings. Leaves of well-watered plants and water-stressed plants were able to absorb distilled water when fully submerged at an average rate of $0.40 \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$. In the second experiment, our approach was to expose plants to deuterium-enriched artificial water mist and compare water relations and isotopic composition between plants under the following conditions: a) well-watered plants (plants 'Hs'); b) well-watered plants submitted to night-time mist (plants 'Hm'); c) water-stressed plants (plants 'Ss') and; d) water-stressed plants submitted to night-time mist (plants 'Sm'). Isotopic analyses demonstrated leaf water absorption and the benefits of foliar water uptake to the water status of water-stressed plants, and that mist water deposition causes a decoupling of foliar water relations from soil water availability. Under these conditions, the enrichment of deuterium ($\delta^2\text{H}$) in the soil of water-stressed plants indicates the exudation of the water absorbed by the leaves, which was exuded to the soil.

Key words: Brazilian pine, drought, foliar water uptake, isotopic analyses, mist, water relations.

INTRODUÇÃO

A interceptação e absorção de água por folhas de diferentes espécies, incluindo diversas coníferas, foram evidenciadas por inúmeros trabalhos, que confirmaram a importância de uma atmosfera úmida para o desempenho ecofisiológico destas espécies (eg. Stone *et al.*, 1955; Boucher *et al.*, 1995; Corbin *et al.*, 2005; Breshears *et al.*, 2008). Por exemplo, estudos com absorção de água por folhas de *Sequoia sempervirens* e de outras espécies desta floresta (e.g. Dawson, 1998; Burgess & Dawson, 2004; Limm *et al.*, 2009; Simonin *et al.*, 2009) demonstraram que, em períodos de intensa neblina, 8 a 43% desta fonte de água foram obtidas por esta conífera, enquanto que 6 a 100% da água da neblina interceptada e precipitada ao solo foram utilizadas por outras espécies do sub-bosque, sendo que algumas pareceram ser completamente dependentes desta fonte de água (Dawson, 1998). Ainda, os resultados obtidos por estes estudos indicaram que as folhas de *S. sempervirens* são capazes de interceptar e absorver a água presente na neblina, que, embora em pequenas quantias, seria suficiente para iniciar um fluxo reverso de água na seiva do xilema, implicando em um sistema-solo-planta-atmosfera bidirecional (Burgess & Dawson, 2004; Simonin *et al.* 2009).

Para determinar a importância das gotículas de água da neblina para a vegetação arbórea (*Pinus muricata* e *Cupressus macrocarpa*) em três sítios na Califórnia, Ingraham & Matthews (1995) coletaram amostras de água da neblina, da chuva, do solo e das árvores para análises da composição isotópica estável (δD e $\delta^{18}O$) ao final dos períodos de chuva e de intensa neblina. Os autores verificaram que a

importância da neblina para as coníferas variou sazonalmente e entre os locais estudados. Apenas em um sítio, as coníferas utilizavam mais a água do solo que, no entanto, poderia conter gotículas da neblina precipitadas e infiltradas, pelo menos na profundidade da zona de raiz, apoiando, assim, a ideia de que a neblina possa atuar na recarga de água do solo, podendo, em certos ambientes, ser um fator que favorece a sobrevivência das coníferas.

Neste contexto, diferentes fontes de água podem ser utilizadas pelas plantas e a caracterização da composição isotópica das fontes comparadas com as dos tecidos xilemáticos, pode ser empregada na determinação de qual e como cada fonte de água é utilizada pelas plantas em um determinado local (Dawson & Ehleringer, 1991; Ehleringer & Dawson, 1992; Dawson, 1998; Corbin *et al.*, 2005). Estudos com composição isotópica da água, ou melhor, a partir do fracionamento dos seus constituintes, hidrogênio (^1H , ^2H ou Deutério) ou oxigênio (^{16}O , ^{18}O), proporcionam um maior entendimento das relações hídricas das plantas. Durante o transporte de água entre as raízes e a parte aérea, a composição isotópica da água no xilema permanece inalterada do solo até os tecidos que sofrem perda de água, onde ocorre o enriquecimento evaporativo de isótopos pesados de Hidrogênio e Oxigênio, o que depende da umidade atmosférica, da taxa de transpiração e da composição isotópica da água presente na atmosfera (Ehleringer & Dawson, 1992).

No Rio Grande do Sul, as regiões mais altas do Planalto das Araucárias são diferenciadas climaticamente por receber constantes eventos de neblina, caracterizados pela passagem de nuvens através das copas das árvores, o que permite a coalescência de minúsculas gotículas de água nas superfícies foliares (ou de qualquer

objeto sólido), formando gotas maiores que precipitam ao solo da floresta (Machado, 1950; Loewe, 1960; Moreno, 1961; Kerfoot, 1968; Ingraham & Matthews, 1995; Holder, 2004).

Devido à drástica redução em sua área de ocorrência, atualmente o pinheiro brasileiro é considerado uma espécie criticamente ameaçada de extinção (IUCN, 2011), e várias limitações dos programas de reflorestamento estão relacionadas à carência de informações de muitos aspectos ecológicos e fisiológicos desta espécie (Duarte *et al.*, 2002). Embora importantes progressos já tenham sido feitos no sentido de compreender a ecologia desta espécie (p.ex., Inoue *et al.*, 1978; Duarte & Dillenburg, 2000; Duarte *et al.*, 2002; Mósena & Dillenburg, 2004; Zandavalli *et al.*, 2004; Franco *et al.*, 2005; Duarte *et al.* 2006; Korndorfer *et al.*, 2008; Dillenburg *et al.*, 2010; Löwe & Dillenburg, 2011), pouco se sabe sobre as relações hídricas da mesma. Assim, um importante aspecto ainda a ser estudado, em especial considerando os ambientes altos e úmidos que a espécie caracteristicamente ocupa, é a sua capacidade de aproveitamento da água atmosférica através da absorção foliar de água e as implicações ecofisiológicas desta absorção.

Os resultados obtidos a partir dos experimentos realizados nos capítulos anteriores nos dão evidências da existência do processo de absorção foliar pelas plantas do pinheiro brasileiro, no entanto, não nos permitem concluir se este processo realmente contribuiu para as importantes consequências observadas nas relações hídricas, crescimento e sobrevivência das plantas. Assim, este estudo contempla experimentos de curto prazo que pretendem: a) avaliar se as folhas da espécie são aptas à absorção de água e; b) elucidar a contribuição da água depositada sobre as

folhas do pinheiro brasileiro para as relações hídricas da espécie. Com base no exposto, formulamos as seguintes hipóteses: (a) as folhas da espécie são aptas à absorção de água, independentemente da condição hídrica do solo; (b) a absorção foliar de água é um importante mecanismo para manutenção de um alto status hídrico das plantas, principalmente quando o conteúdo de água no solo é baixo e; (c) em condições de baixa disponibilidade de água no solo, a água absorvida pelas folhas é conduzida em direção às raízes via fluxo reverso na seiva do xilema.

MATERIAL E MÉTODOS

Coleta, preparo das sementes, plantio e condições de cultivo

Pinhões adquiridos da Floresta Nacional de Araucária (FLONA) de São Francisco de Paula foram submetidos ao teste de imersão em água para a retirada dos pinhões inviáveis (sobrenadantes). Os pinhões foram desinfestados com hipoclorito de sódio a 2% por 20 minutos. As sementes foram escarificadas, removendo-se parcialmente os integumentos, a fim de evitar o efeito inibitório dos mesmos na germinação (Ferreira & Handro, 1979). A fim de minimizar possíveis perdas de unidades amostrais, os pinhões foram germinados em bandejas com vermiculita e, posteriormente, plantados nos recipientes de cultivo (garrafas PET 2L), contendo cerca de 1,6 litros de areia média lavada. As plantas foram cultivadas em bancadas do laboratório de Ecofisiologia Vegetal da UFRGS. Os experimentos descritos a seguir apresentaram esta etapa inicial em comum.

Experimento 1: Taxa de absorção de água pelas folhas do pinheiro brasileiro

Delineamento experimental

Durante os três primeiros meses de cultivo todas as plantas foram irrigadas semanalmente, de forma que atingissem cerca de 100% da capacidade de vaso. Após este período, as plantas foram divididas em dois grupos: aquelas que permaneceram sendo irrigadas semanalmente (plantas hidratadas) e aquelas que a irrigação foi realizada uma vez por mês até os nove meses após a semeadura, quando cessamos a irrigação (plantas estressadas). Cada tratamento foi repetido 10 vezes, totalizando 20 unidades experimentais (plantas).

Imposição das condições experimentais e avaliações

Com cerca de um ano de idade, as plantas foram utilizadas para a quantificação da provável taxa de absorção em momentos em que as folhas estiveram completamente molhadas. O princípio destas avaliações foi baseado na redução ou não do peso de um determinado volume de água onde foi imerso um ramo com diversas folhas de araucária. A redução no peso do volume inicial de água indicaria a absorção de água pelo ramo (Burgess & Dawson, 2004). Assim, ramos laterais foram mantidos imersos em um béquer com cerca de 150 mL de água destilada, de forma que não atingisse as laterais ou o fundo do béquer. Um filme plástico foi envolto sobre o béquer e as folhas imersas para prevenir a evaporação. O sistema foi mantido sobre uma balança eletrônica, e mudanças no peso do frasco foram registradas ao final de um período de

24h no escuro, quando as folhas do ramo imerso foram excisadas e utilizadas para medidas de área foliar total através do uso do planímetro ótico (modelo LI-3100, Licor Inc., EUA). Os resultados foram expressos em taxa de absorção de água ($\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$).

Análise estatística

A análise estatística foi realizada a análise de variância (ANOVA) em delineamento experimental inteiramente casualizado, seguido de teste de separação de médias DMS ($P \leq 0,05$). As análises estatísticas foram realizadas por meio do programa Statistix 8.0 (Analytical Software, Tallahassee, FL, USA).

Experimento 2: Relações hídricas e marcação por água deuterada

Delineamento experimental

As plantas foram mantidas bem hidratadas durante os dois primeiros meses de desenvolvimento inicial. Após este período, a irrigação de um grupo de plantas foi suspensa (plantas 'S'), enquanto que outro grupo de plantas continuou sendo irrigado semanalmente (plantas 'H'). Cerca de 70 dias após a suspensão da irrigação das plantas 'S' (~130 dias após a semeadura), os recipientes de cultivo foram envoltos em sacos plásticos com intuito de impermeabilizar a base do recipiente e a zona superficial do solo. Pratos plásticos foram colocados no topo do recipiente e massa de modelar foi colocada na interface prato plástico – caule. Em seguida, as plantas foram submetidas a uma câmara úmida ('m') ou seca ('s'), totalizando quatro grupos de plantas: Plantas irrigadas e submetidas à câmara úmida (Plantas 'Hm') ou à câmara

seca (Plantas 'Hs') e plantas induzidas à seca e submetidas à câmara úmida (Plantas 'Sm') ou mantidas na câmara seca (Plantas 'Ss'). Cada tratamento foi repetido oito vezes, totalizando 32 unidades experimentais (plantas).

Imposição das condições experimentais

As câmaras foram construídas nas bancadas do laboratório e mediam 1.15x1.15x0.70 m (LxAxP) construídas com canos de PVC e plástico transparente. Cada câmara continha um registrador eletrônico de dados (LOGBOX-RHT, Novus Produtos Eletrônicos Ltda, Brasil) para monitoramento da temperatura (T, em °C) e a umidade relativa (UR, em %), a cada trinta minutos. Estes valores foram utilizados para o cálculo do déficit de pressão de vapor entre as folhas e a atmosfera (DPV; Fig. 1), através da seguinte equação (Jones, 1992):

$DPV = Esat - E$, sendo:

$Esat$ (Pressão de saturação de vapor d'água) = $0,61078 \exp(17,269.T / T+237,3)$

E (Pressão parcial exercida pelo vapor d'água) = $Esat.UR / 100$

A câmara úmida continha um vaporizador controlado por um timer digital (FDD-60/SB2, Smart) que funcionou por ~12 horas noturnas entre os dias 13 e 14 de dezembro de 2010, até a completa vaporização de 3,7 L de água enriquecida com deutério (composição isotópica de -436‰). Para esse enriquecimento, utilizamos a água da torneira com composição isotópica de -18 ‰ na qual adicionamos cerca de 0,265 µL de água deuterada (99,9%).

Avaliações de relações hídricas das plantas

Após a manutenção das plantas nas câmaras pelo período descrito acima, avaliamos, entre 6h e 8h da manhã, o potencial hídrico das plantas (Ψ_w) através do corte transversal do caule, com medição da pressão do xilema com uso de uma câmara de pressão ou tipo Scholander (PMS Scientific Instruments, USA; Scholander *et al.*, 1965). Antes das medidas de Ψ_w , cada planta foi lavada cuidadosamente com água da torneira (para retirar qualquer resquício de água enriquecida com deutério) e seca com papel toalha.

Em seguida, as partes aéreas (n=8) e amostras de solo (~400 g; n=4; amostras compostas do solo de cada dois recipientes de cultivo) próximo às raízes (região mediana da raiz principal) foram acondicionadas separadamente em frascos com rosca vedados com parafilme e imediatamente congelados para posterior determinação da composição isotópica de água.

O solo restante foi homogeneizado em uma bandeja, para determinação do conteúdo de água no solo (CAS). Para isso averiguamos a massa úmida (MU) das amostras (em torno de 150 g), as quais foram levadas em placas de petri para a estufa a 60°C até peso constante, quando verificamos a massa seca (MS). Calculamos o conteúdo de água no solo através do uso da seguinte equação: $CAS = (MU-MS)/MS$.

Análise da composição isotópica (δ^2H) das partes aéreas das plantas e do solo

Para extração e caracterização isotópica das diferentes fontes de água, as amostras foram encaminhadas ao Laboratório SIRFER Lab Manager da Universidade de Utah, Departamento de Biologia, Estados Unidos da América – USA.

Inicialmente, as amostras de material vegetal e do solo foram submetidas à destilação criogênica à vácuo para extração da água. Posteriormente, a composição isotópica de cada amostra de água (água do vaporizador, da parte aérea e do solo) foi determinada a partir de uma amostra gasosa gerada da amostra líquida colocada em um espectrômetro de massa. A composição isotópica de hidrogênio estável de todas as amostras foi determinada pelo método zinco-redução proposto por Coleman *et al.* (1982).

As composições isotópicas do Hidrogênio foram expressas na notação delta (δ), de acordo com a seguinte equação:

$$\delta = (R_A/R_P - 1) \cdot 1000\text{‰}, \text{ onde}$$

R_A e R_P são a razão molar do D/H (para δD) da amostra e do padrão, respectivamente. A razão molar padrão é definida como Standard Mean Ocean Water (SMOW) com R_P de D/H = 0,00015576 (Ehleringer & Dawson, 1992).

Análise estatística

Para medidas de Ψ_w e conteúdo de água no solo, realizamos análise de variância (ANOVA) em esquema fatorial (2x2), seguido do teste de comparação de médias DMS ($P \leq 0,05$). As análises estatísticas foram realizadas por meio do programa Statistix 8.0 (Analytical Software, Tallahassee, FL, USA).

Os valores de δ^2H foram incorporados a um modelo estatístico (“mixing model”) descrito por Phillips & Gregg (2001) que determina a proporção relativa de água de neblina utilizada pelas plantas. Para o cálculo da proporção relativa de cada fonte de água utilizada por determinada planta, este modelo incorpora as médias da

composição isotópica de cada fonte ($\delta^2\text{H}_{\text{solo}}$ e $\delta^2\text{H}_{\text{neblina}}$) e também leva em conta a variabilidade da assinatura isotópica de ambas as fontes e da mistura ($\delta^2\text{H}$ parte aérea). Assim, este modelo também pode prover estimativas sobre o grau de incerteza associada à proporção utilizada pela planta de cada fonte de água.

RESULTADOS

Taxa de absorção foliar de água

Após 24h de submersão das folhas em água, plantas cultivadas em solo hidratado apresentaram, em média, uma taxa de absorção de $0,39 \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, não diferindo estatisticamente daquelas cultivadas sob estresse hídrico (Fig. 2).

Relações hídricas e marcação por água deuterada

Plantas 'Sm' apresentaram melhoria significativa no Ψ_w , embora não atingissem status hídrico similar a de plantas hidratadas (Fig. 3A). Não houve diferenças entre o conteúdo de água no solo de plantas estressadas (Plantas 'Ss' e 'Sm'; Fig. 3B). O Ψ_w foi correlacionado com o conteúdo de água no solo, e as plantas aspergidas (Plantas 'Sm' e 'Hm') apresentaram Ψ_w menos negativo do que plantas submetidas à câmara seca (Plantas 'Ss' e 'Hs'), para determinada condição hídrica do solo (Fig. 3C).

A proporção relativa de água deuterada utilizada pela parte aérea das plantas 'Sm' e 'Hm' variou entre 14% e 19% (Fig. 4), o que equivale ao enriquecimento isotópico do hidrogênio ($\delta^2\text{H}$) de 77,76‰ e 74,98‰, respectivamente (Fig. 5A).

De acordo com o modelo de Phillips & Gregg (2001), ~24% da água enriquecida com deutério foi observado no solo das plantas 'Sm' (Fig. 4). Neste solo, o enriquecimento isotópico do hidrogênio ($\delta^2\text{H}$) foi cerca de 8 vezes maior do que o das plantas 'Ss' (Fig. 5B).

DISCUSSÃO

A disponibilidade de água no solo não interferiu na taxa de absorção de água pelas folhas do pinheiro brasileiro (Fig. 2), mas o benefício da absorção foliar no status hídrico das plantas se manifestou apenas nas plantas com baixo conteúdo de água no solo (plantas 'Sm'; Fig. 3A), fatos que corroboram nossas duas primeiras hipóteses. Alguns estudos comprovaram a melhoria no status hídrico de plantas em condições de saturação da atmosfera e baixa disponibilidade de água no solo (e.g. Stone, 1957; Breshears *et al.*, 2008) e, aparentemente, o aumento no estresse hídrico aumenta a capacidade de absorção foliar de água (e.g. Katz *et al.*, 1989; Limm *et al.*, 2009). No caso da *Araucaria angustifolia*, nossos estudos ainda são inconclusivos se a taxa de absorção de água realmente independe da condição hídrica do solo, já que o período prolongado de submersão das folhas no experimento 1 provavelmente tenha estabelecido condições diferentes para a absorção foliar de água daquelas estabelecidas em condições naturais (Burgess & Dawson, 2004).

A análise da composição isotópica ($\delta^2\text{H}$) confirmou a capacidade de absorção de água pelas folhas do pinheiro brasileiro, já sugerida por resultados dos experimentos anteriores. Esta capacidade se manifestou mesmo quando as plantas

não foram submetidas à baixa disponibilidade de água no solo, dado o maior enriquecimento isotópico observado nas partes aéreas das plantas que receberam água enriquecida com deutério sobre suas folhas: a diferença de magnitude da δD entre plantas submetidas à vaporização e aquelas mantidas em câmara seca indicou a capacidade de absorção de água pelas folhas tanto das plantas 'Hm' quanto das 'Sm' (Fig. 4 e 5A).

Independente da condição hídrica do solo, as folhas do pinheiro brasileiro são capazes de absorver a água presente na atmosfera, mas os efeitos desta absorção são importantes para prover melhorias substanciais no status hídrico das plantas apenas quando estas estão submetidas a estresse hídrico. De acordo com Limm *et al.* (2009), a absorção de água por folhas de diferentes espécies e ecossistemas pode ser uma estratégia ecológica comum para a prevenção ao estresse hídrico. Essa fonte direta de água pode representar de 30 a 42% do conteúdo de água da folha, o que sugere um papel significativo como fonte alternativa de água para a parte aérea de algumas espécies durante períodos de déficit hídrico (Slatyer, 1960; Rundel, 1982; Oliveira *et al.*, 2005; Breshears *et al.* 2008; Limm *et al.* 2009). A interceptação de água da neblina e da chuva foi estudada por Holder (2004) em dois sítios de diferentes altitudes da floresta tropical na Guatemala, e seus resultados demonstraram que a interceptação da água presente na neblina foi mais significativa em períodos de seca do que na estação chuvosa, favorecendo a vegetação que sofreu estresse hídrico devido aos meses de baixa precipitação pluviométrica por prover uma fonte de água e por reduzir a evapotranspiração.

Nas plantas 'Sm', a aspersão de água sobre as partes aéreas proporcionou uma melhoria significativa no potencial hídrico (Fig. 3A), mas o conteúdo de água no solo destas plantas se assemelhou ao das plantas não aspergidas (plantas 'Ss', Fig. 3B), fatos que indicam o desacoplamento do status hídrico da parte aérea em relação à condição de água no solo (Fig. 3C) e um certo grau de isolamento hidráulico planta-solo, conforme já sugerido no capítulo 2.

Nossa terceira hipótese, que prediz que em condições de baixa disponibilidade de água no solo, a água absorvida pelas folhas é conduzida em direção às raízes via fluxo reverso na seiva do xilema é aceita. A evaporação da água superficial do solo das plantas 'Ss' e 'Sm' gerou um enriquecimento da composição isotópica do hidrogênio ($\delta^2\text{H}$) e quando comparamos os valores de $\delta^2\text{H}$ do solo das plantas 'Ss' com o das plantas 'Hs', podemos estimar o enriquecimento devido à evaporação em cerca de 29‰ (Fig. 5B). Assim, o maior enriquecimento do $\delta^2\text{H}$ das plantas 'Sm' (~150‰) pode ser explicado, em parte, pelo processo evaporativo da água no solo, mas também pode ser uma indicação da exsudação da água que, absorvida pelas partes aéreas, foi exsudada para o solo. Embora esta exsudação de água para o solo não tenha sido o suficiente para detectarmos um aumento nas medidas de conteúdo de água no solo, o maior enriquecimento do $\delta^2\text{H}$ no solo indica a possibilidade do fluxo negativo na seiva do xilema.

Burgess & Dawson (2004) investigaram se alguma fração de água interceptada a partir da neblina poderia ser diretamente absorvida através da superfície foliar de *Sequoia sempervirens*. Os resultados obtidos indicaram que as folhas de *S. sempervirens* são capazes de interceptar e absorver a água presente na neblina, que,

embora em pequenas quantias, seria suficiente para iniciar um fluxo reverso de água na seiva do xilema, mantendo em níveis adequados o status hídrico da planta.

Em outro estudo, com absorção de água pelas folhas de *Sequoia sempervirens*, o potencial hídrico foliar se manteve em valores superiores ao potencial hídrico do solo, o que levou *Simonin et al.* (2009) a reconhecerem o desacoplamento das relações hídricas foliares em relação ao solo e a questionar o modelo unidirecional solo-planta-atmosfera (SPAC), que prediz que a água absorvida pelas raízes equipara-se à perda de água pelas folhas e o potencial hídrico foliar máximo se aproxima, mas não excede, o máximo potencial hídrico do solo. Importantes implicações conceituais neste modelo são sugeridas pelos autores, com a inserção de novos termos decorrentes do impacto da absorção foliar nas relações hídricas de plantas sujeitas a constantes eventos de neblina, como a eficiência de absorção foliar e a taxa de perda de água das raízes para o solo (*Simonin et al.*, 2009).

Nossos resultados demonstraram que, independente da condição de água no solo, as folhas do pinheiro brasileiro são aptas à absorção da água e contribuem para o reconhecimento do papel ecológico da absorção da água depositada sobre suas folhas (sob a forma de chuva ou neblina), como um fator determinante para a regeneração da espécie no ambiente florestal e na colonização de novos ambientes. No entanto, os benefícios ecofisiológicos da absorção foliar em *A. angustifolia* se manifestam apenas em plantas submetidas a condições de baixa disponibilidade de água no solo, pela manutenção de um alto status hídrico. O aumento do potencial hídrico nessas plantas provavelmente ocorre como efeito exclusivo da absorção de água pelas folhas e indica o desacoplamento das relações hídricas da parte aérea das relações hídricas do solo.

Nossos resultados também contribuíram com importantes evidências ao reconhecimento do movimento bidirecional de água (da folha para os ramos, caule e raízes) em plantas de *A. angustifolia*. No entanto, experimentos utilizando medidas diretas do fluxo da seiva do xilema (como o método baseado no princípio do pulso de calor, onde o fluxo de massa da seiva é determinado a partir da velocidade de um curto pulso de calor movido ao longo do tecido xilemático por condução e convecção) em indivíduos jovens e adultos e em situações de intensa presença de neblina no ecossistema natural da espécie deverão ser futuramente conduzidos.

Figuras

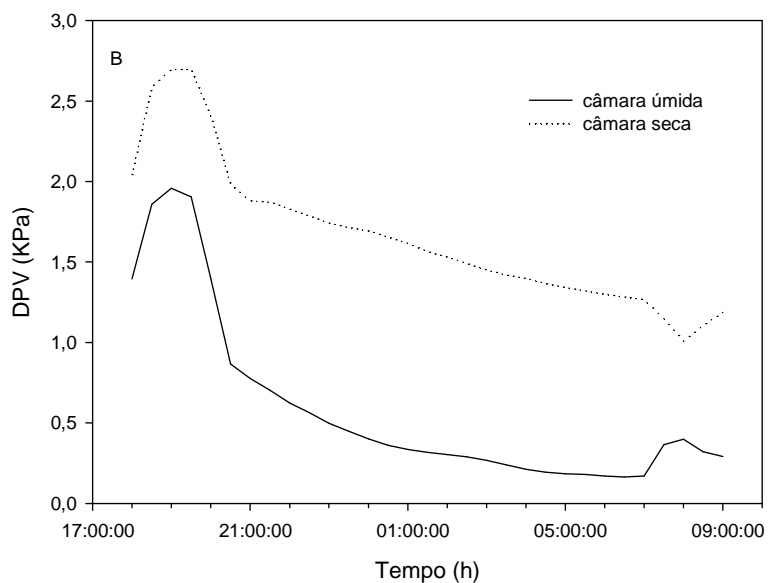


Fig. 1. Variações no déficit de pressão de vapor (DPV) no interior das câmaras seca e úmida durante o a execução do experimento de relações hídricas e marcação por água deuterada.

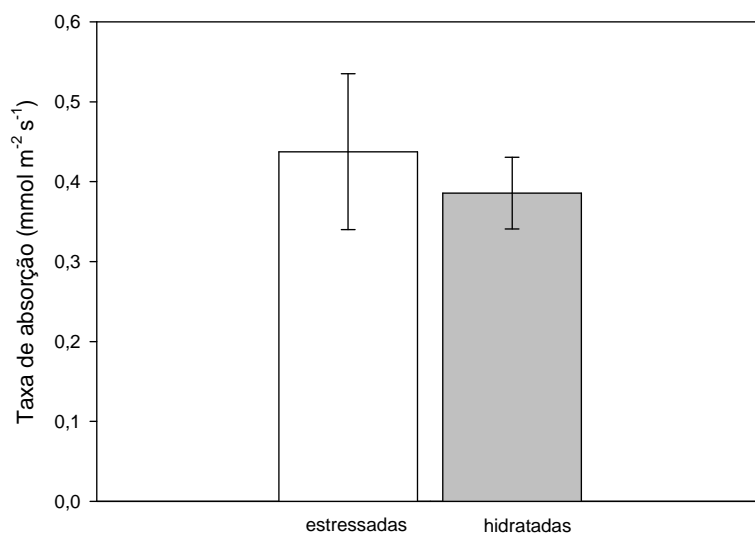


Fig. 2. Taxa de absorção de água ($\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) pelas folhas de plantas jovens do pinheiro brasileiro cultivadas em solo hidratado ou sob estresse hídrico.

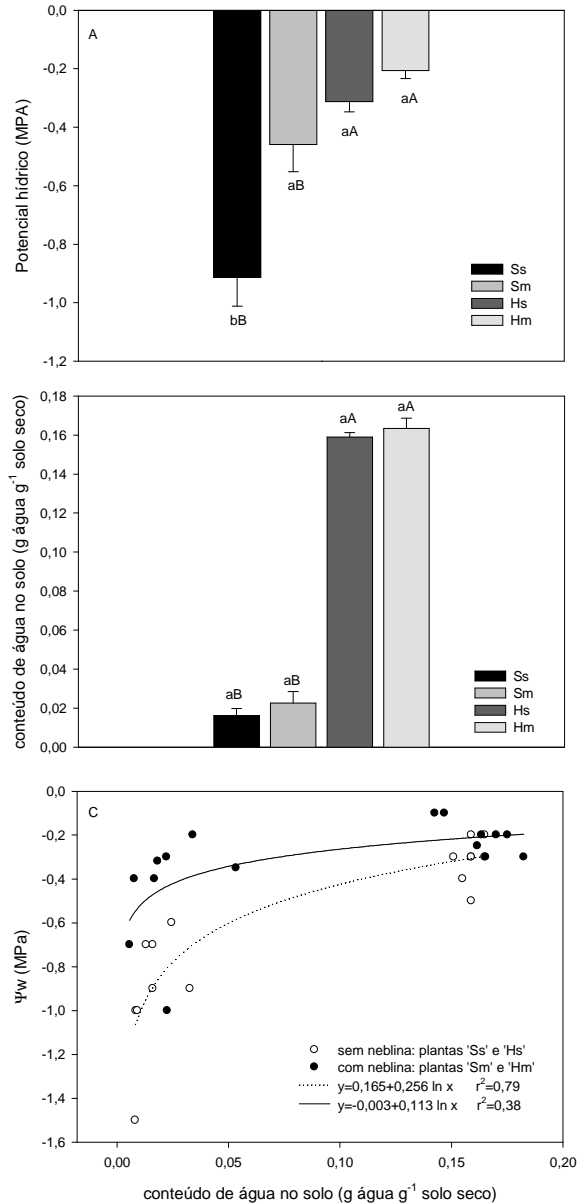


Fig. 3. Potencial hídrico (A), conteúdo de água no solo (B) e potencial hídrico como função do conteúdo de água do solo (C) de plantas de *Araucaria angustifolia* cultivadas com baixo (S) ou alto (H) conteúdo de água no solo em resposta aos tratamentos de aspersão da parte aérea (m: aspersão com água deuterada; s: sem aspersão). Nas Figs. 3A e 3B os valores apresentados são médias \pm erro padrão e diferentes letras minúsculas e maiúsculas indicam diferenças significativas ($P < 0.05$) entre os tratamentos com aspersão da parte aérea em cada condição de água no solo, e entre as condições de água no solo em cada tratamento com aspersão da parte aérea, respectivamente.

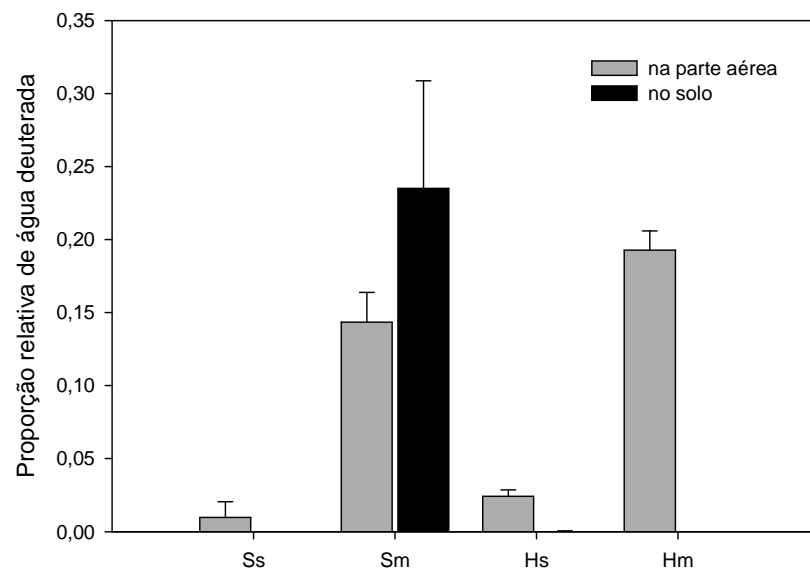


Fig. 4. Proporção relativa de água deuterada, de acordo com o modelo de Phillips & Gregg (2001), na parte aérea e no solo de plantas de *Araucaria angustifolia* cultivadas com baixo (S) ou alto (H) conteúdo de água no solo em resposta aos tratamentos de aspersão da parte aérea (m: aspersão com água deuterada; s: sem aspersão).

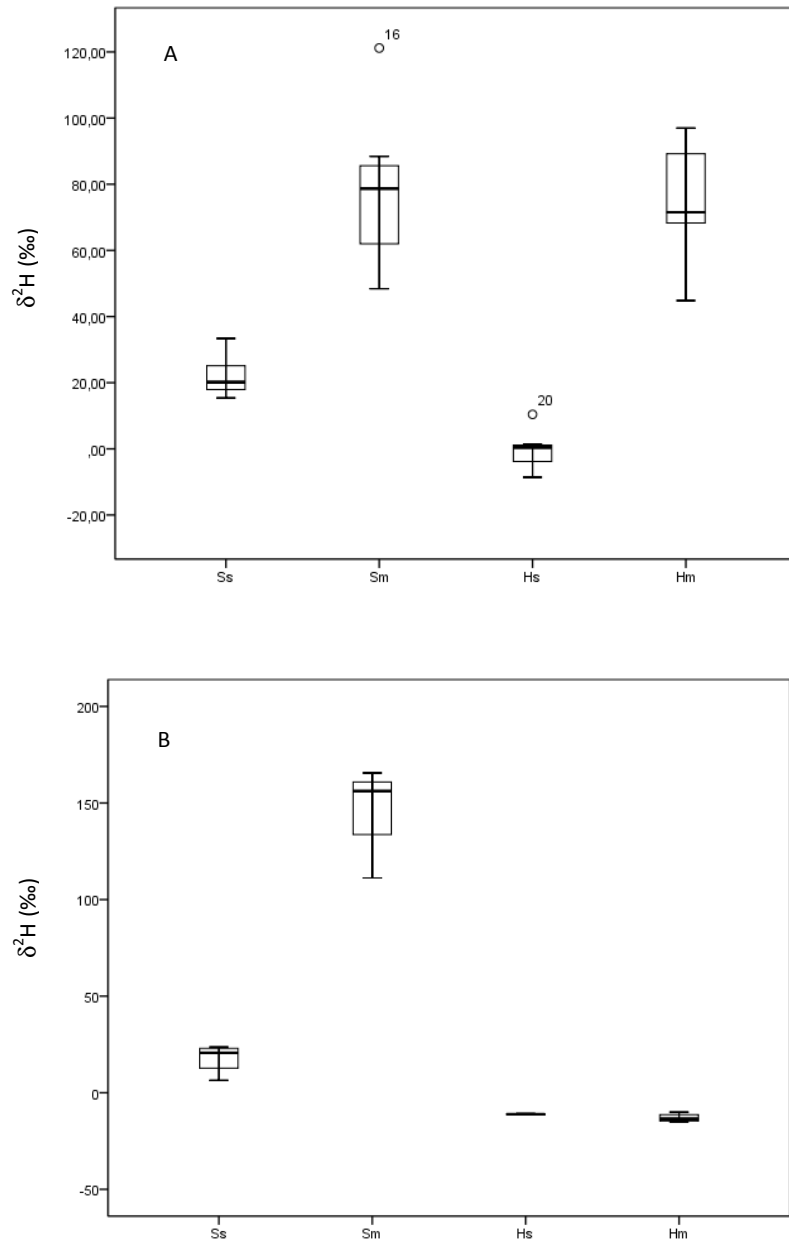


Fig. 5. Composição isotópica do hidrogênio ($\delta^2\text{H}$) na parte aérea (A) e no solo (B) de plantas de *Araucaria angustifolia* cultivadas com baixo (S) ou alto (H) conteúdo de água no solo em resposta aos tratamentos de aspersão da parte aérea (m: aspersão com água deuterada; s: sem aspersão).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Boucher J-F, Munson AD, Bernier PY (1995) Foliar absorption of dew influences shoot water potential and root growth in *Pinus strobus* seedlings. *Tree Physiology*, 15: 819-823.
- Breshears DD, Mcdowell NG, Goddard KL, Dayem KE, Martens SN, Meyer CW, Brown KM (2008) Foliar absorption of intercepted rainfall improves woody plant water status most during drought. *Ecology*, 89: 41-47.
- Burgess SSO, Dawson TE (2004) The contribution of fog to the water relations of *Sequoia sempervirens* (D. Don): foliar uptake and prevention of dehydration. *Plant, Cell and Environment* 27: 1023–1034.
- Coleman ML, Shepard TJ, Durham JJ, Rouse JE, Moore GR (1982) Reduction of water with zinc for hydrogen isotope analysis. *Analytical Chemistry*, 54:993-995.
- Corbin JD, Thomsen MA, Dawson TE, D'Antonio CM (2005) Summer water use by California coastal prairie grasses: fog, drought, and community composition. *Oecologia* 145: 511–521.
- Dawson TE & Ehleringer JR (1991) Streamside trees that do not use stream water. *Nature*, 350: 335-337.
- Dawson TE (1998) Fog in the California redwood forest: ecosystem inputs and use by plants. *Oecologia* 117: 476-485.
- Dillenburg LR, Rosa LMG, Mósena M (2010) Hypocotyl of seedlings of the large-seeded species *Araucaria angustifolia*: an important underground sink of the seed reserves. *Trees*, 24: 705–711.
- Duarte LS & Dillenburg LR (2000) Ecophysiological responses of *Araucaria angustifolia* (Araucariaceae) seedlings to different irradiance levels. *Australian Journal of Botany*, 48: 531-537.
- Duarte LS, Dillenburg LR, Rosa LMG (2002) Assessing the role of light in the regeneration of *Araucaria angustifolia* (Araucariaceae). *Australian Journal of Botany* 50: 741-751.

- Duarte LS, dos Santos MMG, Hartz SM, Pillar VD (2006) Role of nurse plants on Araucaria Forest Expansion over grassland in south Brazil. *Austral Ecology*, 31: 520-528.
- Ehleringer JR & Dawson TE (1992) Water uptake by plants: perspectives from stable isotope composition. *Plant Cell Environment* 15: 1073-1082.
- Ferreira AG & Handro W (1979) Aspects of seed germination in *Araucaria angustifolia* (Bert.) O. Ktze. *Revista Brasileira de Botânica*, 2: 7-13.
- Franco AC, Duarte HM, Gebler A, de Mattos EA, Nahm M, Rennenberg H, Ribeiro KT, Scarano FR, Lüttge U (2005) In situ measurements of carbon and nitrogen distribution and composition, photochemical efficiency and stable isotope ratios in *Araucaria angustifolia*. *Trees*, 19: 422-430.
- Holder CD (2004) Rainfall interception and fog precipitation in a tropical montane cloud forest of Guatemala. *Forest Ecology and Management*, 190: 373–384.
- Ingraham NL & Matthews RA (1995) The importance of fog-drip water to vegetation: Point Reyes Península, Califórnia. *Journal of Hydrology* 164: 269-285.
- Inoue MT, Galvão F, Torres DV (1978) A produção primária de *Araucaria angustifolia* (Bert.) O. Ktze. no estágio de muda em dependência da intensidade luminosa. *Silvicultura*, 4: 54-56.
- IUCN (2011) IUCN Red List of Threatened Species. Version 2011.1. <<http://www.iucnredlist.org>>. Downloaded on 16 June 2011.
- Jackson PC, Cavellier J, Goldstein G, Meinzer FC, Holbrook NM (1995) Partitioning of water resources among plants of a lowland tropical forest. *Oecologia* 101: 197-203.
- Jones HG (1992) *Plants and microclimate: a quantitative approach to environmental plant physiology*. Cambridge University Press, Australia.
- Katz C, Oren R, Schulze E-D, Milburn JA (1989) Uptake of water and solutes through twigs of *Picea abies* (L.) Karst. *Trees*, 3: 33-37.
- Kerfoot O (1968) Mist precipitation on vegetation. *Forestry Abstracts*, 29: 8-20.
- Korndorfer CL, Mósena M, Dillenburg LR (2008) Initial growth of Brazilian pine (*Araucaria angustifolia*) under equal soil volumes but contrasting rooting depths. *Trees* 22: 835-841.

- Limm EB, Simonin KA, Bothman AG, Dawson TE (2009) Foliar water uptake: a common water acquisition strategy for plants of the redwood forest. *Oecologia*, 161: 449–459.
- Loewe F (1960) *Fog precipitation*. Australia Bureau of Meteorology, Seminar on Rain, Sydney, Session 2, Paper 3, 18 pp.
- Löwe TR & Dillenburg LR (2011) Changes in light and nutrient availabilities do not alter the duration of use of seed reserves in *Araucaria angustifolia* seedlings. *Australian Journal of Botany* 59: 32-37.
- Machado FP (1950) *Contribuição ao estudo do Rio Grande do Sul*. Rio de Janeiro: IBGE, 91p.
- Moreno JA (1961) *Clima do Rio Grande do Sul*. Porto Alegre, RS: Secretaria de Agricultura, 38p.
- Mósená M & Dillenburg LR (2004) Early growth of Brazilian pine (*Araucaria angustifolia* [Bertol.] Kuntze) in response to soil compaction and drought. *Plant and Soil*, 258: 293-306.
- Oliveira RS, Dawson TE, Burgess SSO, Nepstad DC (2005) Hydraulic redistribution in three Amazonian trees. *Oecologia*, 145: 354-363.
- Phillips DL & Gregg JW (2001) Uncertainty in source partitioning using stable isotopes. *Oecologia*, 127:171-179.
- Rundel PW (1982) Water uptake by organs other than roots. In *Physiological Plant Ecology*. Vol. II. Water Relations and Carbon Assimilation. (eds. Lange O.L., Nobel P.S., Osmond C.B. & Ziegler H.) pp. 111–134. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York – USA.
- Scholander PF, Hammel HT, Hemingsen EA, Bradstreet ED (1965) Hydrostatic pressure and osmotic potentials in leaves of mangroves and some other plants. *Proceedings of the National Academy Science*, 51: 119- 125.
- Simonin KA, Santiago LS, Dawson TE (2009) Fog interception by *Sequoia sempervirens* (D. Don) crowns decouples physiology from soil water deficit. *Plant, Cell and Environment*, 32: 882–892.
- Slatyer RO (1960) Absorption of water by plants. *Botanical Review*, 26: 331–392.

- Stone EC, Fowells HA (1955) Survival value of dew under laboratory condition with *Pinus ponderosa*. *Forest Science*, 1: 183-188.
- Stone EC (1957) Dew as an ecological factor. II. The effect of artificial dew on the survival of *Pinus ponderosa* and associated species. *Ecology*, 48: 414-422.
- Zandavalli RB, Dillenburg LR, Souza PV (2004) Growth responses of *Araucaria angustifolia* (Araucariaceae) to inoculation with the mycorrhizal fungus *Glomus clarum*. *Applied Soil Ecology*, 25: 245-255.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Confirmando evidências de características morfo-anatômicas que facilitariam a absorção de água pelas folhas do pinheiro brasileiro (e.g. Widholzer et al., 2004; Mastroberti & Mariath, 2003; 2008), nosso estudo demonstrou importantes consequências da interceptação e deposição de água nas folhas, comprovando a existência da absorção foliar e a sua relevância para as relações hídricas, crescimento e sobrevivência da espécie.

Uma das primeiras e mais pronunciadas consequências foi a melhoria do status hídrico das plantas submetidas à baixa disponibilidade de água no solo. Propomos diferentes abordagens metodológicas a fim de testar se a presença de água sobre e ao redor das folhas poderia promover essa melhoria no status hídrico, tanto por diminuição do déficit de pressão de vapor e, conseqüentemente, da transpiração, quanto por absorção foliar. Em um primeiro momento, utilizamos a aspersão com solução nutritiva com intuito de separar os efeitos indiretos dos efeitos diretos da presença de água sobre e ao redor das partes aéreas das plantas, mas foi através do uso de água enriquecida com deutério que finalmente comprovamos que a espécie absorve a água depositada sobre suas folhas. Embora tenhamos, na maior parte do tempo, nos preocupado em separar estes efeitos, diretos e indiretos, para comprovar que as folhas da espécie são aptas à absorção de água, foi através do experimento de sobrevivência que percebemos a importância da deposição de água sobre as folhas para a ecofisiologia da espécie, já que tanto os efeitos direto quanto indireto da neblina incidem nas condições naturais de ocorrência da espécie.

Nossos inúmeros testes de estresse hídrico por longos períodos, até então não impostos à espécie, indicam o caráter conservador da espécie em relação ao uso de água. Em um primeiro momento, partimos de uma capacidade de vaso de 100% e não irrigamos as plantas por nove meses. Em outro momento, verificamos que plântulas ainda com o vínculo do pinhão sobreviviam por mais de um mês em solo seco, apenas com aspersão de água sobre as partes aéreas. Posteriormente, demonstramos que a espécie sobrevive à seca por, no máximo, 97 dias de suspensão da irrigação do solo, mas quando submetidas a condições de saturação de água atmosférica são capazes de sobreviver por mais de um ano. No entanto, é necessário o aprofundamento do estudo das relações hídricas da espécie, em especial com relação à sua capacidade de ajuste osmótico e à suscetibilidade do xilema aos fenômenos de cavitação e embolia.

Importantes implicações no crescimento das plantas foram observadas quando estas foram sujeitas à periódica deposição de água nas folhas, principalmente no acúmulo de massa e na taxa de ramificação da parte aérea, o que pode ser explicado pelo aumento da turgescência celular e, conseqüentemente, das trocas gasosas da espécie. Estudos futuros poderão contemplar metodologias para determinação da taxa fotossintética da espécie, além de medidas não destrutivas da taxa transpiratória. Também, pesquisas com aspersão foliar de substâncias nutritivas e uso de surfactantes poderão ser realizadas, com o intuito de explorar uma técnica que talvez permita maior sobrevivência, crescimento inicial e estabelecimento das plântulas a campo, assim contribuindo para viabilização do reflorestamento da espécie. Segundo Aquino (2005), mesmo sendo uma espécie de reconhecida importância socioeconômica e ambiental, a baixa produtividade, o longo ciclo de maturação e a carência de pesquisas

científicas tem sido as principais limitações para o cultivo, no curto ou médio prazo, do pinheiro brasileiro.

Finalmente, além da comprovação da entrada de água para o interior das folhas do pinheiro brasileiro, os estudos com água enriquecida com deutério demonstraram o desacoplamento do status hídrico foliar em relação à água do solo e nos deram indícios de que é possível a existência de um fluxo reverso na seiva do xilema dependendo da disponibilidade de água no solo.

As questões propostas neste estudo foram respondidas, mas geraram outros questionamentos: os resultados obtidos se equivaleriam no estabelecimento e regeneração de plântulas no campo, sujeitas a maiores alterações de DPV e maiores densidades de fluxo de fótons? Qual o papel da neblina para as relações hídricas de plantas adultas, em especial na hidratação das folhas apicais? De que forma a presença de água ao redor e sobre as folhas ajuda a prevenir o colapso hidráulico de folhas e ramos?

Assim, reconhecemos o papel ecofisiológico da presença de água sobre as folhas de plantas jovens do pinheiro brasileiro e, embora estudos desta natureza com espécies arbóreas nos estágios iniciais de crescimento foram recentemente reconhecidos como uma lacuna no conhecimento científico (Qiu *et al.*, 2010), ainda é necessário verificar os efeitos da deposição de água sobre as folhas da espécie na ecofisiologia de plantas adultas, ocorrentes no seu ecossistema natural.

Ainda que este trabalho não tenha tido um cunho anatômico, os possíveis caminhos desta absorção foram discutidos. Além dos canais transcuticulares observados por Widholzer *et al.* (2004), especulamos que os plugues estomáticos

exercçam um papel fundamental nesta absorção e que sua constituição química (ceras e mucilagens, conferindo caráter hidrofóbico ou hidrofílico, dados não mostrados) estaria condicionada ao estágio de desenvolvimento foliar e à disponibilidade de água no ambiente, principalmente à umidade atmosférica. Um rápido estudo com folhas de árvores juvenis, não descrito nesta tese, demonstrou que folhas jovens absorveriam maiores quantias de água do que folhas velhas, não somente devido à presença de ceras nas superfícies foliares e nos plugues estomáticos, mas também, possivelmente, devido à presença da hipoderme com maior número de camadas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aquino, FM (2005) Cultivo da *Araucaria angustifolia*: Viabilidade econômico-financeira e alternativas de incentivo. Florianópolis: BRDE, 2005. 53 p
- Mastroberti AA, Mariath JEA (2003) Compartmented cells in the mesophyll of *Araucaria angustifolia* (Araucariaceae). *Australian Journal of Botany*, 51: 267-274.
- Mastroberti AA., Mariath JEA (2008) Development of mucilage cells of *Araucaria angustifolia* (Araucariaceae). *Protoplasma*, 232: 233-245.
- Qiu Y, Hong-lang X, Liang-ju Z, Sheng-cun X, Mao-xian Z, Cai-zhi L & Liang Z (2010) Research progress on water uptake through foliage. *Acta Ecologica Sinica* 30: 172-177.
- Widholzer CFN, Mastroberti AA, Mariath JEA (2004) Pontoações na superfície foliar de *Araucaria angustifolia* (Bertolini) O. Kuntze (Araucariaceae – Gymnosperme) In: 55º Congresso Nacional de *Botânica*, Viçosa, MG, Sociedade Botânica do Brasil (resumo).