



## PARTE VIII – PERSPECTIVAS

<b>1. NOVAS ABORDAGENS E CONTINUIDADE DO PROJETO .....</b>	<b>1</b>
<b>2. NOVOS PROJETOS .....</b>	<b>2</b>
2.1 ANFÍBIOS EM PARCELAS PERMANENTES E SUA APLICAÇÃO COMO BIOINDICADORES DA QUALIDADE AMBIENTAL .....	2
2.1.1. Declínios Populacionais .....	2
2.1.2. Os Anfíbios como Bioindicadores da Qualidade do Ambiente.....	3
2.1.3. Os Anfíbios em Ambientes Florestais .....	4
2.1.4. O Projeto “Anfíbios nos 40,96ha de Parcelas Permanentes” .....	5
Bibliografia.....	6
2.2 O ESTUDO DE INTERAÇÕES ENTRE INSETOS E FRUTOS EM ECOSISTEMAS FLORESTAIS .....	10
2.2.1. Introdução.....	10
2.2.1.1. A importância das interações entre insetos e plantas.....	10
2.2.1.2. Insetos fitófagos, plantas hospedeiras, frutos e sementes .....	11
2.2.2. Contextualização Teórica .....	13
2.2.2.1. Estudo de comunidades – diversidade, escalas regionais e locais .....	13
2.2.2.2. Hipóteses sobre diversidade baseadas em interações herbívoro-planta.....	14
2.2.2.3. Interações tróficas, matrizes de associação e redes complexas .....	14
2.2.3. Como estudar interações entre insetos e frutos? .....	16
2.2.3.1. Frutos: do campo ao laboratório .....	16
2.2.3.2. E se não trabalhamos com frutos?.....	17
2.2.3.3. Insetos: dos frutos às coleções .....	17
2.2.4. Contribuições para o projeto Parcelas Permanentes.....	18
2.2.4.1. Pesquisas de interações em projetos de Parcelas Permanentes.....	18
2.2.4.2. Contribuições para o projeto “40ha de Parcela Permanentes” .....	20
Agradecimentos.....	21
Referências Bibliográficas.....	21
2.3. O USO DO SENSORIAMENTO REMOTO PARA ESTIMATIVA DE BIOMASSA E ESTOQUE DE CO <sub>2</sub> NAS PARCELAS PERMANENTES DE CERRADO, CERRADÃO E DE FLORESTA ESTACIONAL SEMIDECIDUAL: ESBOÇO METODOLÓGICO .....	25
2.3.1. Introdução.....	25
2.3.2. Materiais e Métodos .....	27
2.3.2.1. Áreas de estudo .....	27
2.3.2.2. Dados fitossociológicos .....	27
2.3.2.3. Dados de sensoriamento remoto .....	28
2.3.2.3.1. O satélite CBERS-II.....	28
2.3.2.3.2. O satélite QuickBird.....	29
2.3.2.4. Métodos e forma de análise dos resultados.....	29
2.3.2.4.1. Aquisição dos dados e estimativa de biomassa.....	30
2.3.2.4.2. Pré-processamento das imagens.....	31
2.3.2.4.3. Análise dos dados.....	31
Referências Bibliográficas.....	32
2.4. AVALIAÇÃO DE MÉTODOS FITOSSOCIOLÓGICOS POR MEIO DE SIMULAÇÕES PARA UM TRECHO DE CERRADÃO NA ESTAÇÃO ECOLÓGICA DE ASSIS, SP. ....	34
2.4.1. Resumo .....	34
2.4.2. Introdução.....	34
2.4.3. Material e Método.....	38



2.4.4. <i>Forma de Análise dos Resultados</i> .....	39
<i>Referências Bibliográficas</i> .....	39
2.5. RECONSTRUÇÃO PALEOAMBIENTAL (VEGETAÇÃO E CLIMA) NOS PARQUES ESTADUAIS DA ILHA DO CARDOSO E CARLOS BOTELHO-SP DURANTE O QUATERNÁRIO TARDIO.....	41
<i>Resumo</i> .....	41
2.5.1. <i>Introdução</i> .....	41
2.5.2. <i>Isótopos estáveis do carbono (<math>^{12}\text{C}</math>, <math>^{13}\text{C}</math>) e datação por <math>^{14}\text{C}</math> em estudos de reconstrução paleoambiental</i> .....	43
2.5.2.1. <i>Isótopos estáveis do carbono</i> .....	43
2.5.2.1.1. <i>Fracionamento isotópico pelas plantas <math>\text{C}_3</math></i> .....	43
2.5.2.1.2. <i>Fracionamento isotópico pelas plantas <math>\text{C}_4</math></i> .....	43
2.5.2.1.3. <i>Fracionamento isotópico pelas plantas CAM</i> .....	44
2.5.2.1.4. <i>Fracionamento isotópico da MOS</i> .....	44
2.5.2.2. <i>Carbono 14</i> .....	44
2.5.2.2.1. <i>Formação do radionuclídeo <math>^{14}\text{C}</math> na atmosfera</i> .....	44
2.5.2.2.2. <i>Ciclo do <math>^{14}\text{C}</math></i> .....	45
2.5.3. <i>Palinologia do Quaternário como indicadora de trocas de vegetação e clima</i> .....	47
2.5.4. <i>Estudo paleoambiental nos Parques Estaduais da Ilha do Cardoso e Carlos Botelho</i> ...	49
2.5.4.1. <i>Metodologia</i> .....	49
2.5.4.1.1. <i>Vegetação</i> .....	49
2.5.4.1.2. <i>Solos</i> .....	49
2.5.4.1.3. <i>Solos do mangue</i> .....	51
2.5.5. <i>Considerações finais</i> .....	54
2.5.6. <i>Referências bibliográficas</i> .....	54



# 1. Novas abordagens e continuidade do projeto

Ricardo Ribeiro Rodrigues & Natália Macedo Ivanauskas

Nesses primeiros quatro anos do projeto, todo o esforço foi no sentido de instalação dos 40,96ha de Parcelas Permanentes em fragmento protegidos em Unidades de Conservação das 4 (quatro) principais formações florestais do estado de São Paulo, com 10,24ha em cada, sendo: Floresta de Restinga no Parque Estadual da Ilha do Cardoso, Floresta Ombrófila Densa submontana no Parque Estadual de Carlos Botelho, Floresta Estacional Semidecidual na Estação Ecológica de Caetetus e Cerradão na Estação Ecológica de Assis.

Os primeiros trabalhos foram principalmente de caracterização dessas quatro parcelas, tanto do meio físico, como do biótico. Então nessa primeira fase, no meio físico, foram realizados levantamentos ultradetalhados do solo de cada parcela, do relevo, da dinâmica da água no solo das parcelas, da luz nas várias situações florestais das quatro parcelas, da geologia e geomorfologia regional, onde estão inseridas as parcelas. No meio biótico foi realizada a caracterização da vegetação ocorrente em cada parcela, considerando os arbustos e árvores acima de 15cm de PAP (perímetro na altura do peito) nas quatro parcelas, as epífitas nas quatro parcelas, as lianas em três parcelas, e mais recentemente as ervas de uma das parcelas. Ainda no meio biótico foi feita a caracterização dos microorganismos de solo e folhas de duas das quatro parcelas.

Ainda dentro da linha da caracterização, iniciaram mais no final dessa primeira fase do projeto Parcelas Permanentes, os trabalhos de caracterização da fauna ocorrente nas parcelas. Os primeiros trabalhos nessa linha estão sendo desenvolvidos com anfíbios, mas outros grupos de fauna devem iniciar essa caracterização, considerando que estamos falando de parcelas de 320x320m de tamanho, ou seja, com possibilidades restritas de caracterização da fauna nas parcelas, cuja caracterização tem visado principalmente grupos indicadores de habitats.

Paralelamente e posteriormente aos trabalhos de caracterização, iniciaram-se os trabalhos de ecologia, como os de caracterização silvigenica da vegetação das parcelas, o mapeamento e caracterização das árvores mortas e das clareiras, a produção e decomposição da serapilheira, o banco de sementes, alguns aspectos de biologia floral e reprodutiva das espécies ocorrentes nas clareiras e outros.

Mais recentemente iniciaram os trabalhos de interações do diversos fatores das parcelas permanentes, destacando os trabalhos de interação fruto e insetos, de vegetação e fatores ambientais (solo, água no solo, luz etc), de modelagens da vegetação em função de alterações ambientais etc. Essa nova fase de projetos de interações está ainda em andamento é que pretendemos reforçar nos próximos anos, em paralelo com projetos de ecologia experimental, usando as parcelas, com enfoque de ecologia funcional, tanto de comunidade como de populações. Vale ainda destacar que algumas lacunas continuam sendo levantadas e



equacionadas, como os trabalhos relacionados com caracterização genética de populações, os trabalhos de caracterização de outros grupos de fauna indicadora etc.

## 2. Novos projetos

### ***2.1 Anfíbios em Parcelas Permanentes e sua Aplicação como Bioindicadores da Qualidade Ambiental***

Jaime Bertoluci

#### 2.1.1. Declínios Populacionais

O declínio global dos anfíbios, cujas primeiras evidências surgiram no final da década de 1980, é hoje uma hipótese seriamente considerada e testada nos trabalhos científicos, sendo apropriadamente simbolizada pela extinção do sapo-dourado da Costa Rica, *Bufo periglenes* (Pounds & Crump 1994). Depois de mais de 20 anos de estudos em diversas partes do mundo, concluiu-se que se trata de um problema complexo envolvendo a interação, ainda pouco conhecida, entre a sensibilidade especial dos membros do grupo (que o torna um bom indicador biológico) e variadas causas atuando isoladamente ou em conjunto. Alguns declínios puderam ser associados a causas locais, como perda de hábitat (Johnson, 1992; Waldick, 1997), poluição da água por pesticidas (Hall & Henry, 1992), chuva ácida (Clark, 1992; Dunson et al., 1992; Freda & Taylor, 1992), patógenos (Crawshaw, 1992; Blaustein et al., 1994a; Daszak, 1998; Collins, 2003), introdução de espécies exóticas (Moyle, 1973; Hayes & Jennings, 1986) e consumo humano (Blaustein & Wake, 1990). O aquecimento global (Herman & Scott, 1992; Ovaska, 1997), o aumento da radiação ultravioleta (Blaustein et al., 1994b; Blaustein & Wake, 1995; Ovaska, 1997; Jablonski, 1998) e o comércio internacional (Tyler, 1997) podem ser consideradas causas globais. Causas complexas, que envolvem a interação de vários fatores, também já foram apontadas como responsáveis por alguns declínios (Klesecker et al., 2001). Evidências quantitativas dos declínios forma obtidas em alguns poucos casos (e.g. Houlihan et al. 2000).

Revisões recentes sobre declínios de anfíbios podem ser encontradas em Lips et al. (2000), para a América Latina, e Semlitsch (2003a), para todo o mundo, e o estado de conservação de todas as espécies brasileiras foi avaliado em 2003 durante o Global Amphibian Assessment Review Workshop – Tropical South America an East of the Andes, dedicado a atualizar a situação dos anfíbios em uma escala mundial (<http://www.globalamphibians.org/>).

No Brasil, foram encontradas evidências de declínio ou extinção de populações de anuros em algumas áreas de Mata Atlântica do sudeste, incluindo Santa Tereza, no Espírito Santo (Weygoldt, 1989), e Serra do Japi (Haddad & Sazima, 1992) e Boracéia (Heyer et al., 1988, 1990; Bertoluci & Heyer, 1995, Bertoluci et al. 2005), em São Paulo, mas os dados para todas essas localidades ainda são muito escassos e preliminares para que sejam considerados sugestivos. Deve-se salientar a necessidade do desenvolvimento de estudos de longa-duração, pois



flutuações temporais naturais entre extremos de tamanho populacional já foram demonstradas para vários anfíbios em estudos com essa característica (Pechman et al., 1991).

### 2.1.2. Os Anfíbios como Bioindicadores da Qualidade do Ambiente

Em Biologia da Conservação, os bioindicadores são usados na avaliação da magnitude de perturbações antrópicas, no monitoramento de tendências populacionais de outras espécies e na identificação de áreas de alta diversidade regional (Caro & O'Doherty 1999, Niemi & McDonald 2004).

Certas características da biologia dos anfíbios – como a posse de uma pele permeável, a postura de ovos e embriões pouco protegidos em massas gelatinosas transparentes, a presença de um estágio larval livre-natante em seu ciclo de vida, sua intensa filopatria (fidelidade de hábitat, reduzida capacidade de dispersão, áreas domiciliares pequenas), a utilização de um largo espectro de habitats através de um contínuo entre o ambiente terrestre e o ambiente aquático, certos aspectos de sua biologia populacional (incluindo uma vida longa em populações relativamente estáveis), a complexidade de suas interações nas comunidades e a facilidade de estudo – tornam-nos bioindicadores particularmente sensíveis da qualidade ambiental, respondendo rapidamente a fatores como fragmentação do hábitat, alterações hidrológicas e na química da água de ambientes aquáticos, contaminação do ar e da água e variações climáticas de larga escala (Vitt et al. 1990, Wake & Morowitz 1991, Skelly 1996, Wake 1998, Sparling et al. 2000, U.S. EPA 2002, Andreani et al. 2003).

A fragmentação da floresta pode influenciar diretamente a diversidade de anfíbios. O tamanho do fragmento está positivamente correlacionado com o número de espécies, e alguns táxons, por serem mais sensíveis a variações microclimáticas, podem ser usados como bioindicadores com maior propriedade (Vallan 2000).

O desmatamento exerce diferentes efeitos sobre as comunidades de anfíbios de florestas tropicais, como o aumento (Heang et al. 1996, Pearman 1997) ou a diminuição da riqueza em espécies de certos táxons (Pearman 1997) e a diminuição da abundância (Lang 2000).

Os anfíbios são indicadores particularmente efetivos de alterações em ambientes aquáticos, incluindo o aporte de sedimentos finos (Bury & Corn 1988, Corn & Bury 1989, Welsh & Ollivier 1998), a contaminação por metais pesados e poluentes de diferentes origens (Pollet & Bendell-Young 2000, Hofer et al. 2005, Relyea 2005) e o aumento da temperatura da água (Welsh 1990). As altas concentrações de alguns poluentes podem induzir severas deformidades nos girinos, como a intensa redução das estruturas orais usadas na alimentação, que podem atingir até 96% dos indivíduos de uma população e diminuir sua taxa de crescimento por meio da redução de sua capacidade de forrageio (Christopher et al. 1996).

Mudanças climáticas globais podem provocar mudanças na fenologia de espécies de diferentes grupos (McCarty 2001), incluindo as épocas reprodutivas dos anuros (Beebee 1995).



Muitos estudos demonstraram de forma conclusiva que valores muito baixos de pH podem ter importantes efeitos ecológicos sobre as comunidades de anfíbios. As deformações e a mortalidade impostas aos anfíbios que se desenvolvem em ambientes ácidos variam dentro e entre espécies e dependem de sua interação com outros parâmetros físicos, químicos e biológicos (Pierce 1993). Contudo, há evidências de que essa sensibilidade extrema a ambientes acidificados não se estende à vida adulta. Rana temporaria, por exemplo, é capaz de suportar valores de pH tão baixos quanto 4,0 (Pasanen et al. 1998).

Estimativas da atividade de vocalização dos anuros em ambientes aquáticos de reprodução para fins de avaliação e monitoramento populacional (Scott & Woodward 1994, Zimmerman 1994) constituem-se em um método relativamente simples capaz de gerar dados de boa qualidade (e.g. Bridges and Dorcas 2000). A relação positiva (esperada) entre os índices de vocalização e o tamanho populacional foi validada pelo uso de técnicas de marcação e recaptura (Shirose et al. 1997, Driscoll 1998).

### 2.1.3. Os Anfíbios em Ambientes Florestais

As florestas tropicais abrigam as maiores diversidades de espécies de anfíbios anuros conhecidas (Crump 1971, 1974; Duellman 1978, 1988, 1999; Heyer et al. 1990; Bertoluci 1998). Os anfíbios são importantes consumidores terciários ou quaternários em ecossistemas florestais (Steward & Woolbright 1996). Estudos recentes demonstraram que os anfíbios da serapilheira exercem um controle substancial da densidade de suas presas, desempenhando, assim, um importante papel na regulação da dinâmica de nutrientes da floresta (Wyman 1998, Beard et al. 2002). A importância desse papel é reforçada pela grande abundância local que esses animais podem apresentar em alguns ecossistemas (Burton & Likens 1975, Petranka 1998), por seu efeito direto sobre o fluxo de nutrientes, na forma do consumo substancial de fitoplâncton durante a fase larvária (Seale 1980), e por sua função, ímpar entre os vertebrados, no transporte de nutrientes entre os ecossistemas aquáticos e terrestres (Semlitsch 2003b).

Estimativas precisas das densidades de anfíbios de serapilheira são, desse modo, necessárias para a compreensão da estrutura e da dinâmica dos ecossistemas florestais (e.g. Huang & Hou 2004), além de servirem como base para o monitoramento dos anfíbios e para estudos ecológicos que pretendam investigar o papel de diversos fatores na organização das comunidades naturais. Entre os métodos capazes de fornecer essas informações, podemos incluir a procura visual, transectos auditivos, armadilhas-de-queda e amostragem por parcelas (Heyer et al. 1994), este último já usado com sucesso tanto em florestas temperadas como tropicais (Lloyd et al. 1968, Scott 1976, Inger 1980, Toft 1980, Fauth et al. 1989, Allmon 1991, Rocha et al. 2001, Vonesh 2001, Huang & Hou 2004).

As relações precisas que os anfíbios mantêm com a estrutura da floresta ainda são muito pouco compreendidas. Entre os fatores que influenciam a distribuição dos anfíbios no mosaico florestal, destaca-se o regime de luz associado às características do dossel.



Skelly e colaboradores (2002) demonstraram que os gradientes formados pelo dossel podem agir como filtros para a distribuição das larvas de anfíbios entre as lagoas da floresta. Em outro estudo, desenvolvido nas wetlands do nordeste de Connecticut (EUA), a riqueza de espécies de anfíbios foi baixa na maioria das 17 lagoas temporárias estudadas (relativamente sombreadas) e maior em áreas mais iluminadas (Skelly et al. 2005). As espécies comportaram-se como especialistas-de-dossel-aberto ou como generalistas. Experimentos de translocação usando girinos de espécies desses dois grupos mostraram que o desenvolvimento dos generalistas foi menos afetado pelos níveis de iluminação da lagoa do que o dos especialistas. Essas descobertas sugerem que o dossel das florestas pode exercer uma forte influência sobre os padrões de diversidade de anfíbios.

Por outro lado, um dossel fechado é necessário à manutenção das temperaturas e umidades adequadas ao desenvolvimento embrionário e larval de muitos anfíbios de riacho da região temperada (Corn et al. 2003) e de espécies neotropicais cujos ovos, embriões e/ou larvas desenvolvem-se total ou parcialmente no ambiente terrestre, como é o caso dos anuros de diferentes linhagens dos gêneros *Adenomera* (Heyer 1973), *Brachycephalus* (Pombal et al. 1994), *Cycloramphus* (Haddad & Sazima 1989, Verdade & Rodrigues 2003) e *Eleutherodactylus* (Lynn & Lutz 1946). Em um estudo na Amazônia Equatoriana, Pearman (1997) mostrou que a riqueza de espécies de anuros do gênero *Eleutherodactylus* diminuiu em áreas que sofreram desmatamento, presumivelmente devido à falta das condições microclimáticas citadas acima.

#### 2.1.4. O Projeto “Anfíbios nos 40,96ha de Parcelas Permanentes”

Este projeto tem por finalidade o estudo da composição de espécies e de aspectos da ecologia dos anfíbios das quatro Parcelas Permanentes, de 10,24ha cada, alocadas em Floresta de Restinga (Parque Estadual da Ilha do Cardoso), Floresta Ombrófila Densa Sub-Montana (Parque Estadual de Carlos Botelho), Floresta Estacional Semidecidual (Estação Ecológica de Caetetus) e Cerradão (Estação Ecológica de Assis), pelo projeto temático: “40ha de Parcelas Permanentes”. Por meio de procura visual no interior das parcelas e da estimativa do número de machos em atividade de vocalização em ambientes aquáticos previamente selecionados, pretende-se, ao longo de 22 meses de trabalho de campo, estimar a biodiversidade de anfíbios em cada área de estudo e obter dados sobre sua distribuição espacial e temporal e sobre as estações reprodutivas dos anuros.

Além de contribuir para o aumento do conhecimento da anurofauna das florestas paulistas, as informações obtidas (padrões de vocalização e presença e abundância de espécies de folheto nas parcelas) formarão um banco de dados que poderão ser utilizados como base para o monitoramento futuro de populações selecionadas com vistas à detecção de possíveis alterações populacionais. Serão detectadas espécies mais adequadas para servirem como bioindicadoras do estado de conservação das áreas de estudo e dos fragmentos adjacentes.



As análises de correlação entre parâmetros físicos e da vegetação e a riqueza e abundância de anfíbios no interior das parcelas lançarão luz sobre a importância relativa de fatores que mantêm a diversidade de anfíbios em ambientes florestais.

## Bibliografia

- Allmon, W. D. 1991. A plot study of forest floor litter frogs, Central Amazon, Brazil. *Journal of Tropical Ecology* 7: 503-522.
- Andreani, P., F. Santucci & G. Nascetti. 2003. Le rane verdi del complesso *Rana esculenta* come bioindicatori della qualità degli ambienti fluviali italiani. *Biologia Ambientale* 17: 35-44.
- Beard, K. H., K. A. Vogt & A. Kulmatiski. 2002. Top-down effects of a terrestrial frog on forest nutrient dynamics. *Oecologia* 133: 583-593.
- Beebe, T. J. C. 1995. Amphibian breeding and climate. *Nature* 347: 219-220.
- Bertoluci, J. 1998. Annual patterns of breeding activity in Atlantic Rainforest anurans. *Journal of Herpetology* 32: 607-611.
- Bertoluci, J. & W. R. Heyer. 1995. Boracéia update. *Froglog* 14: 2-3.
- Bertoluci, J., V. K. Verdade, M. T. Rodrigues, D. Pavan, N. Liou & M. C. Lange. 2005. Anuros da Estação Biológica de Boracéia (EBB): 25 anos após declínios. Resumo do II Congresso Brasileiro de Herpetologia. Belo Horizonte.
- Blaustein, A. R. & D. B. Wake. 1990. Declining amphibian populations: a global phenomenon? *Trends in Ecology and Evolution* 5: 203-204.
- Blaustein, A. R. & D. B. Wake. 1995. The puzzle of declining amphibian populations. *Scientific American* 272: 52-57.
- Blaustein, A. R., D. B. Wake & W. P. Sousa. 1994. Amphibian declines: judging stability, persistence, and susceptibility of populations to local and global extinctions. *Conservation Biology* 8: 60-71.
- Blaustein, A. R., D. G. Hokit & R. K. O'Hara. 1994a. Pathogenic fungus contributes to amphibian losses in the Pacific Northwest. *Biological Conservation* 67: 251-254.
- Blaustein, A. R., P. D. Hoffman, D. G. Hokit, J. M. Kiesecker, S. C. Walls & J. B. Hays. 1994b. UV repair and resistance to solar UV-B in amphibian eggs: A link to population declines? *Proceedings of the National Academy of Science, USA* 91: 1791-1795.
- Bridges, A. S. & M. E. Dorcas. 2000. Temporal variation in anuran calling behavior: implications for surveys and monitoring programs. *Copeia* 2000: 587-592.
- Burton, T. M. & G. E. Likens. 1975. Salamander populations and biomass in the Hubbard Brook Experimental Forest, New Hampshire. *Copeia* 1975: 541-546.
- Bury, R. B. & P. S. Corn. 1988. Responses of aquatic and streamside amphibians to timber harvest: a review. Pp. 165-181 in K. J. Raedeke (ed.), *Streamside management: riparian wildlife and forestry interactions*. College of Forest Resources, University of Washington, Seattle, Washington, USA.
- Caro, T. M. & G. O'Doherty. 1999. On the use of surrogate species in Conservation Biology. *Conservation Biology* 13: 805-.
- Christopher, R. L., O. M. Kinney, A. P. Fiori, J. D. Congdon & C. L. Rowe. 1996. Oral deformities in tadpoles (*Rana catesbeiana*) associated with coal ash deposition: effects on grazing ability and growth. *Freshwater Biology* 36: 723-730.
- Clark, K. L. 1992. Monitoring the effects of acidic deposition on amphibian populations in Canada. Pp. 63-66 in C. A. Bishop & K. E. Pettit (eds.), *Declines in Canadian Amphibian Populations: Designing a National Monitoring Strategy*. Canadian Wildlife Service, Ottawa, Ontario.



- Collins, J. P. 2003. Pathogens and amphibian declines. *Froglog* 55: 1-2.
- Corn, P. S. & R. B. Bury. 1989. Logging in Western Oregon: responses of headwater habitats and stream amphibians. *Forest Ecology and Management* 29: 39-57.
- Corn, P. S., R. B. Bury & E. J. Hyde. 2003. Conservation of North American stream amphibians. Pp. 24-36 in R. D. Semlitsch (ed.), *Amphibian Conservation*. Smithsonian Books. Washington. 324 pp.
- Crawshaw, G. J. 1992. The role of disease in amphibian decline. Pp. 60-62 in C. A. Bishop & K. E. Pettit (eds.), *Declines in Canadian Amphibian Populations: Designing a National Monitoring Strategy*. Canadian Wildlife Service, Ottawa, Ontario.
- Crump, M. L. 1971. Quantitative analysis of the ecological distribution of a tropical herpetofauna. *Occasional Papers of the Museum of Natural History of the University of Kansas* 3: 1-62.
- Crump, M. L. 1974. Reproductive strategies in a tropical anuran community. *Miscellaneous Publications of the Museum of Natural History of the University of Kansas* 61: 1-68.
- Daszak, P. 1998. A new fungal disease associated with amphibian population declines: recent research put into perspective. *British Herpetological Society Bulletin* 65:38-41.
- Driscoll, D. 1998. Counts of calling males as estimates of population size in the endangered frogs *Geococcyx alba* and *G. vitellina*. *Journal of Herpetology* 32: 475-481.
- Duellman, W. E. 1978. The biology of an equatorial herpetofauna in Amazonian Ecuador. *Miscellaneous Publications of the Museum of Natural History of the University of Kansas* 65: 1-352.
- Duellman, W.E., 1988, Patterns of species diversity in anuran amphibians in the american tropics. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 75: 79-104.
- Duellman, W. E. 1999. Distribution patterns of amphibians in South America. Pp. 255-328 in W. E. Duellman (ed.), *Patterns of Distribution of Amphibians – a global perspective*. The Johns Hopkins University Press. Baltimore.
- Duellman, W. E. & L. Trueb. 1986. *Biology of Amphibians*. McGraw-Hill Book Co., New York. 670 pp.
- Dunson, W. A., R. L. Wyman & E. S. Corbett. 1992. A symposium on amphibian declines and habitat acidification. *Journal of Herpetology* 26: 349-352.
- Fauth, J. E., B. I. Crother & J. B. Slowinski. 1989. Elevational patterns of species richness, evenness and abundance of the Costa Rican leaf-litter herpetofauna. *Biotropica* 21: 178-185.
- Freda, J. & D. H. Taylor. 1992. Behavioral response of amphibian larvae to acidic water. *Journal of Herpetology* 26: 429-433.
- Haddad, C. F. B. & I. Sazima. 1989. A new species of *Cycloramphus* from southeastern Brazil (Amphibia, Leptodactylidae). *Herpetologica* 45: 425-429.
- Haddad, C. F. B. & I. Sazima. 1992. Anfíbios anuros da Serra do Japi, Pp.188-211 in L. P. C. Morellatto (org.), *História Natural da Serra do Japi: ecologia e preservação de uma área florestal no Sudeste do Brasil*. Editora da Unicamp/FAPESP, Campinas.
- Hall, R. J. & P. Henry. 1992. Assessing effects of pesticides on amphibians and reptiles - status and needs. *Herpetological Journal* 2: 65-71.
- Hayes, M. P. & M. R. Jennings. 1986. Decline of ranid frog species in Western North America: are bullfrogs (*Rana catesbeiana*) responsible? *Journal of Herpetology* 20: 490-509.
- Heang, K. B., L. B. Liat & M. R. K. Lambert. 1996. To determine the effects of logging and conversion of primary forests to tree crop plantations on herpetofaunal diversity in Peninsular Malaysia. *Conservation, Management and Development of Forest Resources* 1996: 126-140.



- Herman, T. B. & F. W. Scott. 1992. Assessing the vulnerability of amphibians to climatic warming. Pp. 46-49 in C. A. Bishop & K. E. Pettit (eds.), *Declines in Canadian Amphibian Populations – designing a national monitoring strategy*. Canadian Wildlife Service, Ottawa, Ontario.
- Heyer, W. R. 1973. Systematics of the marmoratus group of the frog genus *Leptodactylus* (Amphibia, Leptodactylidae). *Los Angeles Co. Museum Contributions in Science* 251: 1-50.
- Heyer, W. R., A. S. Rand, C. A. G. Cruz & O. L. Peixoto. 1988. Decimations, extinctions, and colonizations of frog populations in southeast Brazil and their evolutionary implications. *Biotropica* 20: 230-235.
- Heyer, W. R., M. A. Donnelly, R. W. McDiarmid, M. S. Foster, L. A. C. Hayek. 1994. *Measuring and Monitoring Biological Diversity: standard methods for amphibians*. Washington, DC, Smithsonian Institution Press.
- Heyer, W. R., A. S. Rand, C. A. G. Cruz, O. L. Peixoto & C. E. Nelson. 1990. Frogs of Boracéia. *Arquivos de Zoologia, São Paulo* 31: 231-410.
- Houlahan, J. E., C. S. Findlay, B. R. Schmidt, A. H. Meyer & S. L. Kuzmin. 2000. Quantitative evidence for global amphibian population declines. *Nature* 404: 752-755.
- Huang, C.-Y. & P.-C. L. Hou. 2004. Density and diversity of litter amphibians in a monsoon forest of Southern Taiwan. *Zoological Studies* 43 (4): 795-802.
- Hofer, R., R. Lackner & G. Lorbeer. 2005. Accumulation of toxicants in tadpoles of the Common Frog (*Rana temporaria*) in High Mountains. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 49: 192-199.
- Inger, R. F. 1980. Densities of floor-dwelling frogs and lizards in lowland forests of Southeast Asia and Central America. *American Naturalist* 115: 761-770.
- Jablonski, N. G. 1998. Ultraviolet light-induced neural tube defects in amphibian larvae and their implications for the evolution of melanized pigmentation and declines in amphibian populations. *Journal of Herpetology* 32: 455-457.
- Johnson, B. 1992. Habitat loss and declining amphibian populations. Pp. 71-75 In C. A. Bishop & K. E. Pettit (eds.), *Declines in Canadian Amphibian Populations: Designing a National Monitoring Strategy*. Canadian Wildlife Service, Ottawa, Ontario.
- Kleseker, J. M., A. R. Blaustein & L. K. Belden. 2001. Complex causes of amphibian population declines. *Nature* 410: 681-684.
- Lang, D. A. 2000. What is the impact of conventional logging on anuran diversity and abundance in the Bulungan research forest, East Kalimantan? Report for the Center of International Forestry Research. Bogor, Indonesia. 49 pp.
- Lips, K., B. Young, J. Reaser, R. Ibáñez & A. Salas. 2000. Amphibian declines in Latin America: Workshops to design a monitoring protocol and database. *Froglog* 37: 1-4.
- Lloyd, M., R. F. Inger & F. W. King. 1968. On the diversity of reptile and amphibian species in a Bornean rain forest. *American Naturalist* 102: 497-515.
- Lynn, W. G. & B. Lutz. 1946. The development of *Eleutherodactylus guentheri* Stdnr., 1864 (Salientia). *Boletim do Museu Nacional* 71: 1-46.
- McCarty, J. P. 2001. Ecological consequences of recent climate change. *Conservation Biology* 15: 320-331.
- Moyle, P. B. 1973. Effects of introduced bullfrogs, *Rana catesbeiana*, on the native frogs of the San Joaquin Valley, California. *Copeia* 1973: 18-22.
- Niemi, G. J. & M. E. McDonald. 2004. Application of ecological indicators. *Annual Review on Ecology, Evolution and Systematics* 35: 89-111.
- Ovaska, K. 1997. Vulnerability of amphibians in Canada to global warming and increased solar ultraviolet radiation. Pp. 206-225 in D. M. Green (ed.), *Amphibians in Decline: Canadian Studies of a Global Problem*. SSAR, ST. Louis.



- Pasanen, S., M. Laitinen & T. Aleonen. 1998. Effects of pH on the wintering of the common frog (*Rana temporaria* L.). *Annals Zoological Fennici* 35: 29-36.
- Pearman, P. B. 1997. Correlates of amphibian diversity in an altered landscape of Amazonian Ecuador. *Conservation Biology* 11: 1211-1225.
- Pechmann, J. H. K., D. E. Scott, R. D. Semlitsch, J. P. Caldwell, L. J. Vitt & J. W. Gibbons. 1991. Declining amphibians populations: the problem of separating human impacts from natural fluctuations. *Science* 253: 892-895.
- Petranka, J. W. 1998. Salamanders of the United States and Canada. Smithsonian Press, Washington, DC. 587 pp.
- Pierce, B. A. 1993. The effects of acid precipitation on amphibians. *Ecotoxicology* 2: 65-77.
- Pollet, I. & L. I. Bendell-Young. 2000. Amphibians as indicators of wetland quality in wetlands formed from oil sands effluent. *Environmental Toxicology and Chemistry* 19: 2589-2597.
- Pombal, J.P., Jr., I. Sazima & C.F.B. Haddad. 1994. Breeding behavior of the Pumpkin Toadlet, *Brachycephalus ephippium* (Brachycephalidae). *Journal of Herpetology* 28: 516-519.
- Pounds, J. A. & M. L. Crump. 1994. Amphibian declines and climate disturbance: the case of the Golden Toad and the Harlequin Frog. *Conservation Biology* 8: 72-85.
- Relyea, R. 2005. The impact of insecticides and herbicides on the biodiversity and productivity of aquatic communities. *Ecological Applications* 15: 618-627.
- Rocha, C. F. D., M. Van Sluys, M. A. S Alves, H. G. Bergallo & D. Vrcibradic. 2001. Estimates of forest floor litter frog communities: a comparison of two methods. *Austral Ecology* 26: 14-21.
- Scott, J. N., Jr. 1976. The abundance and diversity of the herpetofaunas of tropical forest litter. *Biotropica* 8: 41-58.
- Scott, N. J., Jr. & B. D. Woodward. 1994. Surveys at breeding sites. Pp. 118-124 in W. R. Heyer, M. A. Donnelly, R. W. McDiarmid, L. C. Hayek & M. S. Foster (eds.), *Measuring and Monitoring Biological Diversity: standard methods for amphibians*. Washington, DC, Smithsonian Institution Press.
- Seale, D. B. 1980. Influence of amphibian larvae on primary production, nutrient flux, and competition in a pond ecosystem. *Ecology* 61: 1531-1550.
- Semlitsch, R. D. (ed.). 2003a. *Amphibian Conservation*. Smithsonian Books. 324 pp.
- Semlitsch, R. D. 2003b. Introduction: General threats to amphibians. Pp. 1-23 in R. D. Semlitsch (ed.), *Amphibian Conservation*. Smithsonian Books. Washington. 324 pp.
- Shirose, L. J., C. A. Bishop, D. M. Green, C. J. MacDonald, R. J. Brooks & N. J. Helferty. 1997. Validation tests of an amphibian call count survey technique in Ontario, Canada. *Herpetologica* 53:12-320.
- Skelly, D. K. 1996. Pond drying, predators and the distribution of *Pseudacris* tadpoles. *Copeia* 1996: 599-605.
- Skelly, D. K., L. K. Freidenburg & J. M. Kiesecker. 2002. Forest canopy and the performance of larval amphibians. *Ecology* 83: 983-992.
- Skelly, D. K., M. A. Halversoni, L. K. Freidenburg & M. C. Urban. 2005. Canopy closure and amphibian diversity in forested wetlands. *Wetlands Ecology and Management* 13 (3): 261-268.
- Sparling D. W., G. Linder & C. A. Bishop. 2000. *Ecotoxicology of Amphibians and Reptiles*. Pensacola, SETAC Press.
- Stewart, M. M., & L. L. Woolbright. 1996. Amphibians. Pp. 273-320 in D. P. Reagan & R. B. Waide (eds.), *The Food Web of a Tropical Rain Forest*. Chicago, University of Chicago Press.
- Toft, C. A. 1980. Seasonal variation in populations of Panamanian litter frogs and their prey: a comparison of wetter and drier sites. *Oecologia* 47: 34-38.



- Tyler, M. 1997. Commercial trade in Australian Native Fauna. *Froglog* 23: 3.
- U.S. EPA. 2002. Methods for evaluating wetland condition: using amphibians in bioassessments of wetlands. Office of Water, U.S. Environmental Protection Agency, Washington, DC. EPA-822-R-02-022.
- Vallan, D. 2000. Influence of forest fragmentation on amphibian diversity in the nature reserve of Ambohitantely, highland Madagascar. *Biological Conservation* 96: 31-43.
- Verdade, V. K. & M. T. U. Rodrigues. 2003. Description of a new species of *Cycloramphus* (Anura, Leptodactylidae) from Atlantic Forest, Brazil. *Herpetologica* 59: 513-518.
- Vitt, L. J., J. P. Caldwell, H. M. Wilbur & D. C. Smith. 1990. Amphibians as harbingers of decay. *Bioscience* 40: 418.
- Vonesh, J. R. 2001. Patterns of richness and abundance in a tropical African leaf-litter herpetofauna. *Biotropica* 33: 502-510.
- Wake, D. B. 1998. Action on amphibians. *Trends in Ecology and Evolution* 13: 379-380.
- Waldick, R. 1997. Effects of forestry practices on amphibian populations in eastern North America. Pp. 191-205 In D. M. Green (ed.), *Amphibians in Decline: Canadian Studies of a Global Problem*. SSAR, ST. Louis.
- Welsh, H. H. Jr. 1990. Relictual amphibians and old-growth forests. *Conservation Biology* 4: 309-319.
- Welsh, H. H. Jr. & L. M. Ollivier. 1998. Stream amphibians as indicators of ecosystem stress: A case study from California's Redwoods. *Ecological Applications* 8: 1118-1132.
- Weygoldt, P. 1989. Changes in the composition of mountain stream frog communities in the Atlantic Mountains of Brazil: frogs as indicators of environmental deteriorations? *Studies on Neotropical Fauna and Environment* 243: 249-255.
- Wyman, R. L. 1998. Experimental assessment of salamanders as predators of detrital food webs: effects on invertebrates, decomposition and the carbon cycle. *Biodiversity and Conservation* 7: 641-650.
- Zimmerman, B. L. 1994. Audio strip transects. Pp. 118-124 in W. R. Heyer, M. A. Donnelly, R. W. McDiarmid, L. C. Hayek & M. S. Foster (eds.), *Measuring and Monitoring Biological Diversity: standard methods for amphibians*. Washington, DC, Smithsonian Institution Press.

## **2.2 O estudo de interações entre insetos e frutos em ecossistemas florestais**

Rafael D. Loyola  
Umberto Kubota  
Thomas M. Lewinsohn

### 2.2.1. Introdução

#### 2.2.1.1. A importância das interações entre insetos e plantas

Existem várias razões pelas quais interações entre insetos e plantas recebem uma grande atenção de biólogos e agrônomos. Atualmente reconhece-se que a relação entre insetos e plantas tem uma importância crucial para o conhecimento fundamental da biodiversidade terrestre (Schoonhoven et al. 1998). Note-se o fator quantitativo: plantas e insetos representam dois dos maiores taxa de organismos vivos, tanto em número de espécies quanto em biomassa total. A



biomassa de todos os insetos na Amazônia brasileira, por exemplo, supera a de todos os vertebrados terrestres em aproximadamente nove vezes (Holden 1989)!

Insetos herbívoros e plantas estão unidos por relações intrincadas. A vida animal não pode existir na ausência de plantas, as quais servem como fonte primordial de energia para quase todos os organismos heterotróficos. Em contrapartida, a longa exposição de plantas aos animais foi, supostamente, a principal causa do desenvolvimento de uma grande diversidade do primeiro grupo (Schoonhoven et al. 1998). Insetos com sua grande variação em forma e história de vida, provavelmente foram uma das forças moldadoras do reino vegetal. Tal papel foi proposto há algum tempo por Ehrlich & Raven (1964), os quais atribuíram à interface plantas-herbívoros (especialmente insetos) o título de a maior zona de interação para a geração da diversidade de formas de vidas terrestre no presente.

Price (2002) afirma que os recursos fornecidos pelas plantas são, claramente, a base para a espetacular irradiação adaptativa dos animais atualmente existentes. A dominância de plantas com flores (Angiospermae) pode ser explicada com base em relações mutualísticas entre plantas e seus polinizadores e dispersores de sementes (para detalhes ver Regal 1977): (1) a polinização por animais voadores permite a fecundação cruzada de plantas da mesma espécie, ainda que estejam distribuídas em manchas ou muito dispersas espacialmente, (2) a dispersão de sementes a longas distâncias por aves e morcegos leva à ocupação, por plantas, de manchas bastante dispersas, reduzindo a herbivoria e a predação de suas sementes, (3) esta dispersão de longa distância resultou em uma especialização de espécies de planta em microhabitats particulares, reduzindo mais ainda a herbivoria, a predação de sementes e a pressão exercida por parasitas, e por fim (4) as novas relações ecológicas estabelecidas por angiospermas resultaram em espécies colonizadoras com estruturas populacionais que contribuem para mudanças evolutivas rápidas, especiação e irradiação adaptativa.

A relação com plantas é fundamental para as diversas espécies animais, incluindo os insetos, que delas dependem, assim como para o Homem. Desde a remota praga de gafanhotos enviada a um Faraó no Egito, por desígnio divino, até as questões ambientais de hoje, o Homem, as plantas e os animais relacionam-se estreitamente entre si e continuarão a fazê-lo (Price 2002).

### 2.2.1.2. *Insetos fitófagos, plantas hospedeiras, frutos e sementes*

O uso de hospedeiras por espécies de insetos fitófagos está geralmente restrito a plantas filogeneticamente próximas, muitas vezes de uma única família ou gênero (Strong et al. 1984, Bernays & Chapman 1994). Espécies de plantas taxonomicamente (ou filogeneticamente) relacionadas freqüentemente apresentam compostos químicos muito similares e podem ser incluídas como novas hospedeiras de um animal herbívoro mais facilmente que plantas não relacionadas (Southwood 1961b, Ehrlich & Raven 1964, Feeny 1975, Holloway & Herbert 1979). Os padrões filogenéticos levam a uma dependência estatística (autocorrelação) de caracteres biológicos entre espécies, ou seja, as espécies filogeneticamente mais próximas tendem a ser



mais parecidas para um dado caráter ou conjunto de caracteres distintos (Harvey & Pagel 1991, Jordano 1995, Diniz-Filho 2000). Esta tendência pode ser estendida para características ecológicas (Kelly & Purvis 1993, Rees 1993, Crawley et al. 1997) e até mesmo para as interações bióticas, mais especificamente para interações herbívoro-planta. Além disto, devido às características intrínsecas de cada comunidade (e.g., fenologia das plantas, abundância, distribuição espacial) apenas uma fração do conjunto de plantas hospedeiras potenciais é utilizada em cada momento e local (Strong et al. 1984, How et al. 1993, Singer & Parmesan 1993).

São raros os estudos que demonstram a relação entre insetos herbívoros e frutos em ecossistemas florestais. Estudos de insetos herbívoros de frutos carnosos, por exemplo, concentram-se em um grupo taxonômico de moscas herbívoras (Diptera: Tephritidae) – por ser o principal grupo que ataca este tipo de fruto (White & Elson-Harris 1992) – e de plantas de interesse comercial (e.g., Zucchi 2000a, 2000b, Uramoto 2002, Uramoto et al. 2004,). Sem contestar sua óbvia importância, estes estudos não fornecem informações que permitam construir redes detalhadas de interações entre herbívoros e plantas em comunidades locais. Tais redes são necessárias para uma análise das interações diretas e indiretas entre plantas e herbívoros, além de serem importantes devido ao limitado número de estudos de redes herbívoros-plantas realizados até hoje em comunidades tropicais (Godfray et al. 1999).

É importante ressaltar que, ao contrário da herbivoria de partes vegetativas, realizada por grande parte dos insetos fitófagos, comunidades de insetos predadores de sementes (e.g., insetos que atacam frutos secos) consomem propágulos, o que pode acarretar efeitos demográficos diretos (Janzen 1971). Além disto, esta guilda de insetos apresenta um alto nível de especialização, i.e., associa-se a uma só planta hospedeira, ou poucas espécies congênicas ou co-familiares que são utilizadas durante seu desenvolvimento (Janzen 1980a). Muitos sistemas planta-predadores de sementes têm sido estudados com enfoques em interações populacionais. Em âmbito comunitário, ao contrário dos estudos com outros herbívoros, até hoje o único estudo mais conhecido de uma guilda local de insetos predadores de sementes é o de Janzen (1980a), realizado em Guanacaste, Costa Rica.

Estudos em diversas escalas mostram a relação entre o número de espécies de insetos herbívoros associados às plantas hospedeiras com a distribuição geográfica (Southwood 1961a, Strong et al. 1977), arquitetura (Lawton 1983), a abundância local (Marquis 1991), quantidade de recursos produzidos (Cytrynowicz 1991, Basset 1996, Marques et al. 2000) e diversas outras características das espécies de hospedeiras (Strong et al. 1984, Kubota 2003, Lewinsohn et al. 2005). Enquanto isto, outros estudos com enfoque na entomofauna demonstram relação entre a distância taxonômica das hospedeiras e o grau de similaridade da fauna de herbívoros (Novotny et al. 2002b). Tais padrões podem ser influenciados pela filogenia, tanto das plantas hospedeiras quanto dos insetos herbívoros.



## 2.2.2. Contextualização Teórica

### 2.2.2.1. *Estudo de comunidades – diversidade, escalas regionais e locais*

A variação em riqueza de espécies entre comunidades locais dentro de uma única região parece ser o resultado de processos ecológicos também locais (interações entre espécies, heterogeneidade de habitats), ao passo que variações entre comunidades locais ao longo de diferentes regiões podem incorporar tanto processos locais como regionais (Tokeshi 1999). Se uma comunidade local representar uma amostra retirada de um grande conjunto (pool) regional de espécies, então a riqueza do pool regional restringirá a riqueza das comunidades locais. Com base em tal suposição, Cornell & Lawton (1992) propuseram que a riqueza (número de espécies) de diferentes localidades pode: (a) aumentar proporcionalmente com a respectiva riqueza regional – o que as caracteriza como comunidades insaturadas, nas quais a riqueza local é independente de interações bióticas; ou (b), que a riqueza em espécies de cada comunidade local aumenta até um determinado limite (de maneira assintótica), caracterizando-as como comunidades saturadas, nas quais a riqueza é limitada por interações bióticas.

A riqueza de espécies nos fornece uma importante base para a comparação entre comunidades; contudo, não é nada informativa a respeito da frequência relativa de cada espécie, i.e., o quão comuns ou raras algumas espécies são em determinadas comunidades. Portanto, a diversidade (medida que incorpora tais informações) pode ser mais informativa dependendo do tipo de estudo realizado (Morin 1999, Magurran 2003). Assim, a diversidade encontrada em um único local (ou habitat) é denominada diversidade alfa ( $\alpha$ ) (Whittaker 1975). Por outro lado, em uma escala regional, a substituição/mudança (turnover) na composição em espécies entre diferentes habitats, ou locais, também contribuirá com a diversidade de uma região. A diversidade beta ( $\beta$ ) é este componente interhabitat da diversidade (Morin 1999), mas também pode ser considerada como uma taxa de reposição de espécies entre localidades (com o mesmo tipo de habitat; Magurran 2003), ou entre espécies hospedeiras que, neste caso, correspondem a um caso particular de habitat (Lewinsohn et al. 2001, Summerville et al. 2003). Avançando neste sentido, Lewinsohn et al. (2001, 2005) sinalizam a possibilidade de tratar a diversidade beta como vários componentes aditivos ou multiplicativos (conforme o modelo estatístico utilizado) que correspondem à alteração de espécies de insetos herbívoros respectivamente entre espécies hospedeiras, localidades e/ou habitats distintos.

Em estudos de interação entre insetos e frutos, estes diferentes componentes da diversidade podem ser calculados, tanto para insetos quanto para plantas, desde que o estudo seja realizado em diversos habitats e escalas espaciais (que podem ser representados pela junção dos diferentes habitats). Tais informações são fundamentais para o entendimento da comunidade e em especial a diversidade beta pode ser útil para elucidar a dinâmica da biodiversidade, essencial segundo alguns ecólogos (e.g., Pimm 1991).



### 2.2.2.2. Hipóteses sobre diversidade baseadas em interações herbívoro-planta

Insetos herbívoros – inclusive aqueles que atacam frutos e sementes – podem também afetar a diversidade e a composição de comunidades de plantas. Insetos herbívoros associados a espécies de plantas competitivamente dominantes (inibindo seu crescimento e reprodução) podem atuar como predadores chave, que permitem a persistência de outras espécies competitivamente inferiores (Strauss & Zangeri 2002). De fato, uma das mais antigas e importantes hipóteses para a grande diversidade de árvores em florestas tropicais destaca a ação de herbívoros e patógenos especialistas (Janzen 1970, Connell 1971). Estes autores propuseram que, como a densidade de sementes e plântulas é maior no entorno das plantas mãe, a mortalidade resultante de ataques dependentes de densidade, por herbívoros especializados, também será mais intensa na mesma proximidade. Herbívoros localizam áreas com grandes concentrações de recursos mais rapidamente e permanecem nelas por mais tempo (Root 1973). Assim, a hipótese de Janzen-Connell prediz que a probabilidade de sobrevivência e estabelecimento de uma plântula deve ser inversamente relacionada com a distância da planta mãe (ou de outros adultos da mesma espécie).

O processo pode ser visualizado da seguinte forma: com a produção de sementes de uma determinada árvore há uma pequena explosão local da população de plântulas. Quanto mais próxima as árvores adultas coespecíficas estiverem, maior será a predação das sementes pré-dispersão. As sementes que permaneceram próximas a planta mãe são mais intensamente consumidas que aquelas dispersas a uma grande distância da mesma. Com isto, uma determinada área ao redor da planta mãe será um espaço relativamente mais disponível para árvores adultas de outras espécies. Assim, o espaçamento das árvores não é uma característica selecionada per se (“seleção para raridade”, uma contradição evolutiva; Harper 1981), senão uma consequência da ação dos herbívoros (ver Janzen 1980b).

Em suma, quanto maior for a eficiência dos insetos em localizar manchas de sementes, no espaço e no tempo, e em eliminar plântulas próximas entre si, maior será o número de espécies arbóreas esperadas em uma comunidade (Janzen 1980b).

### 2.2.2.3. Interações tróficas, matrizes de associação e redes complexas

A avaliação de parâmetros estruturais das comunidades ecológicas, tais como as propriedades de redes tróficas e os padrões de interações entre espécies, têm sido utilizados como uma nova abordagem em pesquisas sobre os efeitos da perda de diversidade na organização e funcionamento de comunidades biológicas (Dunne et al. 2002, Melián & Bascompte 2002). Efetivamente, estudos de interações no nível da comunidade local e em âmbitos maiores representam uma ponte entre a descrição (inventários, composição) e a dinâmica destas comunidades (Lewinsohn 2004). Conseqüentemente, o entendimento das relações entre a diversidade de espécies e as propriedades estruturais de comunidades é importante para a compreensão das relações entre diversidade e funções ecossistêmicas mais diretamente



mensuráveis. Uma vez que a estrutura da comunidade e suas propriedades funcionais (ecossistêmicas) são co-determinantes (Mooney et al. 1996), as duas abordagens mencionadas revelam-se complementares. Em suma, a detecção e avaliação de processos reguladores da composição em espécies de uma comunidade são, portanto fundamentais para o melhor entendimento dos padrões de diversidade encontrados na natureza.

A investigação de processos organizadores na estrutura das associações insetos-plantas pode ser realizada por meio de matrizes de associações. Revelar a estrutura de uma matriz de associações é um passo inicial no estudo dos padrões de interação inseto-planta, contudo fundamental para identificar os processos que os estruturam.

Matrizes de associação não-aleatórias podem assumir duas configurações básicas: (1) aninhada, na qual as espécies que consomem (e as que são consumidas por) menos espécies estão interligadas com subconjuntos das espécies que consomem (ou que são consumidas por) mais espécies – este aninhamento é necessariamente bilateral, e (2) compartimentada, na qual a maioria dos fitófagos consome plantas dentro de categorias taxonômicas restritas (e.g., gênero, tribo) e estas, por sua vez, estão associadas com subgrupos restritos da entomofauna fitófaga (Prado & Lewinsohn 2004). Pode ainda ocorrer uma distribuição aninhada dentro dos compartimentos (Lewinsohn et al. 2006). De forma geral, diz-se que os compartimentos nas matrizes de associações são representações de conjuntos de espécies que interagem muito entre si e pouco com outros conjuntos (Yodzis 1980, Pimm 1991). O tipo de estruturação encontrada depende provavelmente de características do habitat (como nível de degradação, isolamento) mas estudos sobre estes efeitos são ainda incipientes.

Recentemente, o interesse na análise de teias tróficas foi reavivado pelo desenvolvimento de novas teorias e ferramentas sobre redes complexas em diversas áreas, incluindo a ecologia (Strogatz 2001, Dunne et al. 2002a, 2002b). Redes bipartidas, em que há duas classes de elementos, relacionados cada um somente com elementos da outra classe, têm características próprias, com grande potencial para elucidar sistemas desta natureza (Borgatti & Everett 1997), mas suas propriedades ainda foram pouco exploradas (Strogatz 2001). Na ecologia, os avanços mais importantes têm surgido de estudos de redes bipartidas para comunidades mutualísticas (Olesen & Jordano 2002, Bascompte et al. 2003, Jordano et al. 2003). Estes trabalhos fornecem novos insights sobre a estrutura de comunidades que são importantes para o entendimento tanto de processos como coevolução (Bascompte et al. 2003) quanto para estabilidade de ecossistemas (Dunne et al. 2002b). Entretanto, ainda não foram estudadas redes de interações antagonísticas, em especial redes planta-herbívoro, como redes complexas bipartidas (Lewinsohn et al., em elaboração); tais redes têm sido investigadas na forma de matrizes, com ênfase na compartimentação de suas interações (Prado & Lewinsohn 2004).

Algumas propriedades de redes complexas e estruturas de comunidades estão relacionadas às respostas das redes a perturbações (Strogatz 2001, Melián & Bascompte 2002). Em



comunidades de insetos e plantas, descritores topológicos como número de ligações ou conectância podem ser influenciados por diversos fatores relacionados às plantas ou aos insetos.

Embora constituam uma abordagem recente, estudos sobre propriedades de redes tróficas a partir da teoria de redes complexas são importantes para o entendimento da organização de ecossistemas, e suas relações com diferentes tipos de estabilidade ecológica (Pimm 1991, Jordán et al. 1999). O modo como as comunidades estão estruturadas, e o modo como as ligações tróficas se distribuem através da comunidade devem relacionar-se com a fragilidade e a persistência das mesmas (Pimm 1991, McCann et al. 2000). O estudo de redes tróficas tornou-se uma das principais áreas de pesquisa em Ecologia (May 1986, Pimm et al. 1991), pois tais redes são uma descrição tratável da diversidade, das interações entre espécies e da estrutura e função dos ecossistemas (Paine 1980, Martinez & Lawton 1995, Winemiller & Polis 1996).

Estudos de interações entre dois níveis tróficos bem definidos, embora menos explorados, têm vantagens próprias substanciais. Redes mutualísticas entre plantas e animais, por exemplo, contemplam não somente as relações tróficas entre os parceiros mutualísticos (Jordano 1987), mas também a complexidade de efeitos evolutivos que, neste caso, guiam processos coevolutivos (Thompson 1999, 2005). Portanto, uma análise comparativa da topologia e dos padrões de interação em tais redes poderá revelar padrões invariantes, com profundas implicações para a estabilidade e dinâmica coevolutiva de tais agrupamentos mutualísticos (Jordano et al. 2003) e também de agrupamentos antagonísticos como os de plantas e animais herbívoros (Lewinsohn et al. 2006).

### 2.2.3. Como estudar interações entre insetos e frutos?

#### 2.2.3.1. *Frutos: do campo ao laboratório*

O sistema planta-herbívoro formado por frutos (secos ou carnosos) e seus endófitos é excelente para a investigação de interações de espécies entre dois níveis tróficos definidos. O procedimento utilizado garante a confiabilidade das interações (conexões), pois se baseia nos endófitos que emergem dos frutos coletados em campo e mantidos no laboratório. Em verdade, a maior vantagem de insetos endófitos é essa: uma vez registrados a partir de sua coleta ou criação em seus hospedeiros, sua associação com a planta hospedeira está assegurada (Lewinsohn et al. 2001). Assim, superamos o importante problema metodológico de estudos nos quais insetos adultos são amostrados na vegetação sem demonstrar sua associação trófica com a planta em que foram capturados (Basset et al. 2003).

A amostragem de frutos deve ser realizada de maneira não-destrutiva, já que os frutos são coletados considerando a sua distribuição espacial e abundância no campo. As coletas visam o menor impacto possível na reprodução das populações de plantas amostradas, o que quer dizer que as amostragens podem ser ajustadas à frutificação de cada espécie ou mesmo indivíduo. Os frutos são coletados em categorias, conforme as características de cada espécie de planta – arquitetura, fenologia, abundância e microhabitat das plantas-mãe, tipo de fruto e modo de



deiscência e de dispersão: (a) frutos imaturos nas plantas e (b) frutos maduros pré-dispersão e pós-dispersão (no solo). Isto porque há insetos que atacam e geram conseqüências distintas em diferentes etapas da maturação de um fruto (Janzen 1971, Lewinsohn 1980).

No caso de um estudo em âmbito comunitário (i.e., com diversas espécies de plantas hospedeiras), após a coleta, são amostrados e processados separadamente frutos de diferentes indivíduos. O número de indivíduos amostrados depende do tipo de estudo e das perguntas (hipóteses) que se pretende responder. Ainda assim, a seleção das espécies pode ser feita conforme suas abundâncias, facilidade de coleta e características fenológicas. As amostras são padronizadas por número de frutos, volume, ou peso fresco, para cada espécie. Estes métodos baseiam-se nos protocolos de Lewinsohn (1980) e Novotny et al. (2005).

#### 2.2.3.2. *E se não trabalhamos com frutos?*

É importante levar em consideração que o transporte e manutenção de partes de plantas em laboratório exige muitos cuidados, tanto para evitar o ressecamento como a decomposição por fungos e bactérias. O método aqui apresentado pode ser empregado, com os devidos ajustes, para outras partes da planta (folhas com galhas ou minas; ramos brocados; flores).

Insetos que modificam a estrutura de suas hospedeiras (como galhadores e minadores) podem ser detectados no campo, reduzindo o volume de material a ser coletado para processamento posterior em laboratório (Lewinsohn et al. 2001). Além disto, é possível avaliar a diversidade local de insetos galhadores por meio de inventários em campo, sem a necessidade de coletas (Fernandes & Price 1991) porque muitas vezes galhas são tão características quanto a morfologia dos próprios insetos (Gagné 1994).

#### 2.2.3.3. *Insetos: dos frutos às coleções*

Amostras de frutos são levadas ao laboratório e mantidas em frascos de criação. Parte dos frutos e sementes é normalmente dissecada para extração de imaturos (larvas e pupas) que são fotografados e fixados, formando uma coleção de referência. O restante é mantido em condições de ambiente, apenas com controle de fungos e ressecamento, até a eclosão de adultos. Larvas que empupam fora dos frutos são separadas e mantidas em vermiculita esterilizada para simular condições de solo. Dimensões e pesos de frutos e sementes e número de sementes são também obtidos. Estes dados são importantes para testar as predições de hipóteses ecológicas relacionadas às interações, todavia, como já dito, isto depende dos tipos de questões ecológicas que se escolheu investigar.

Em frutos secos e tecidos lenhosos, insetos imaturos podem levar muitos meses para completar seu desenvolvimento. Neste caso, a dissecção dos frutos permite achar imaturos imediatamente, sem os cuidados de acomodação em condições adequadas ao seu desenvolvimento (Lewinsohn et al. 2001). De qualquer maneira, informações sobre os insetos são essenciais para o conhecimento da história natural das espécies e dos sistemas estudados. Assim, é importante registrar dados bionômicos relevantes. As principais características funcionais



a registrar para cada espécie de inseto são: (1) se infesta frutos imaturos ou maduros e, conforme o caso, após a deiscência ou dispersão; (2) se infesta sementes e danifica embriões ou somente a polpa ou outros tecidos acessórios, como arilos.

Por fim, os insetos adultos são montados e identificados até o menor nível taxonômico possível. Caso a identificação das espécies de insetos fitófagos não seja necessária, é possível uma separação dos imaturos e adultos em morfoespécies (Lewinsohn et al. 2001). De fato, um dos maiores problemas que surgem ao se trabalhar com insetos predadores de sementes, por exemplo, é a identificação de seus endófagos associados (Janzen, comunicação pessoal).

Faz-se ainda necessário formar uma coleção de referência de insetos depositada na própria instituição onde a pesquisa é realizada (laboratórios, museus). Séries representativas das espécies de insetos mais comuns de cada área devem preferencialmente ser depositadas em sedes de Unidades de Conservação estudadas (se for o caso) e em coleções maiores (no Brasil, coleções como as do Museu de Zoologia da USP, da Universidade Federal do Paraná, do INPA, Museu Paraense Emilio Goeldi, e outras com igual importância regional e nacional).

#### 2.2.4. Contribuições para o projeto Parcelas Permanentes

##### 2.2.4.1. Pesquisas de interações em projetos de Parcelas Permanentes

A importância de interações biológicas para a organização e funcionamento de comunidades e dos ecossistemas de que formam parte é explicitamente ressaltada por muitos pesquisadores. Thompson (1997) considera a conservação da diversidade de interações um componente essencial de qualquer programa de conservação. Ele define biodiversidade de interações como “a diversidade de maneiras nas quais pares, ou grupos, de espécies interagem entre si, dentro e entre populações, e a diversidade de decorrências causadas por tais interações”.

Consideramos, portanto, que a compreensão de qualquer sistema ecológico natural requer a caracterização de sistemas de interações bióticas e a investigação de seus processos geradores, mantenedores e reguladores.

Apesar disto, programas de pesquisa de maior extensão espacial, e/ou maior duração, na prática não costumam incluir estudos de interações em seus objetivos iniciais. Há razões para isto. Historicamente, estudos de maior âmbito visaram compreender a dinâmica de interação entre vegetação, nutrientes, e decomposição, centrando-se em medir e elucidar a produção primária, sua distribuição, regulação e ciclagem (por exemplo, o projeto em Hubbard Brook; Borman & Likens 1979). Projetos mais recentes concentram-se na diversidade da vegetação e em suas mudanças espaciotemporais, sem incorporar interações com outros componentes da biota (Condit 1995). Um recente balanço, em livro, das pesquisas do maior conjunto internacional de parcelas permanentes não tem nenhuma entrada, que dirá seção, referente a estudos de interações bióticas (Losos & Leigh 2004).

Uma exceção que vale ser notada é a tentativa pioneira de produzir uma rede trófica abrangente para uma área de floresta tropical em Porto Rico (Reagan & Waide 1996). Este estudo



envolveu um grande número de pesquisadores ao longo de décadas. Ainda assim, a rede trófica produzida é bem “resolvida” (diferenciada ao nível de espécie ou gênero) apenas para os vertebrados maiores. Os demais taxa são agregados em grandes categorias (como ordens de insetos), o que impossibilita análises seja de redes interativas (utilizando a teoria de redes complexas, v. acima), seja dos componentes de diversidade, como também indicamos acima.

Como proceder então para incorporar pesquisas de interações em programas de longo prazo? O primeiro obstáculo, sem dúvida, é o “simples” conhecimento da biota animal e microbiana pertinente. Especialmente em regiões tropicais, a biota mais conspícua e acessível (especialmente plantas superiores e vertebrados) é extensa e demanda anos de esforço para ser corretamente inventariada. A biota microbiana e de invertebrados, então, pode exigir décadas de esforço por equipes de especialistas que simplesmente inexistem.

Ao invés de estabelecer como pré-requisito inventários locais completos dos taxa envolvidos na interação a pesquisar recomendamos recortes mais estreitos e, assim, mais tratáveis (Lewinsohn 2001). Em se tratando de interações planta-animal, é possível combinar restrições de (a) âmbito taxonômico, das plantas e/ou animais, (b) órgão da planta (c) tipo e/ou classe funcional do órgão ou das plantas (por exemplo, trepadeiras; frutos carnosos), (d) tipo de interação ou modo de alimentação (“guilda”) dos animais.

Dentro de tais recortes, estudos restritos tornam-se mais viáveis – demandam menos esforço de campo; há menor diversidade de organismos (portanto, de taxa a aprender e de especialistas a consultar); podem ser realizados em menor tempo. Mesmo assim, trata-se de estudos que exigem normalmente três ou mais anos para serem realizados, a não ser que inventários de base sejam previamente disponíveis.

Estudos que exemplificam levantamentos, de âmbitos comunitários, que se centraram em um dado tipo de interação com plantas, são listados em Jordano et al. (2003; polinizadores/visitantes florais; dispersores) e em Lewinsohn et al. (2005; insetos herbívoros). Exemplos notáveis de estudos herbívoro-planta em áreas tropicais são os de Janzen (1980a), para predadores de sementes em Costa Rica; Novotny et al. (2002a) para insetos folívoros em plantas de Papua-Nova Guiné; e Diniz & Morais (1997) para lagartas folívoras em cerrados de Brasília.

Embora quase a totalidade dos estudos comunitários mais extensos de interações bióticas tenha sido realizada fora de parcelas permanentes, estas representam uma oportunidade única para realizar estudos em que “conjuntos de herbívoros e suas associações de hospedeiros podem ser registrados recorrentemente para avaliar a sua variação sazonal e entre anos, para rastrear alterações de prazo mais longo, ou para comparar diferentes regiões geográficas” (Lewinsohn et al. 2005). Evidentemente, as mesmas recomendações valem para outras interações, como mutualismos com polinizadores, dispersores ou espécies protetoras; ou associações com bactérias, fungos ou nematódeos em folhas e raízes, entre outros.



#### 2.2.4.2. Contribuições para o projeto “40ha de Parcelas Permanentes”

Assim, o conhecimento das espécies de insetos que atacam frutos nas Parcelas Permanentes desse projeto temático, seus níveis de especialização, taxas de infestação de frutos e outras informações adquiridas pelo estudo de interações entre insetos e tais elementos vegetais deverá fornecer informações valiosas sobre a estrutura, geração e a manutenção da biodiversidade nos ecossistemas florestais do estado de São Paulo. Segundo Janzen (1980b) estudos sobre a especificidade de hospedeiros são extremamente necessários e para isto é preciso saber onde uma determinada espécie é encontrada se alimentando no campo e com que frequência. Este tipo de informação deveria ser disponível para algumas espécies de herbívoros de uma grande variedade de habitats. De forma semelhante, tais informações deveriam ser obtidas para algumas espécies vegetais bem escolhidas que aparecessem num único habitat. A configuração do projeto temático “Diversidade, Dinâmica e Conservação em Florestas do Estado de São Paulo: 40ha de Parcelas Permanentes” permite a aquisição de ambos tipos de informação.

A escolha de fragmentos diversos, protegidos e bem representativos para estudos genético-ecológicos visando à conservação, pode apontar direções essenciais para o entendimento da biodiversidade de nossas florestas tropicais. Ao destacarmos estudos em parcelas permanentes, certamente o que está em discussão é nossa compreensão de como funcionam os ecossistemas florestais tropicais, com sua diversidade e complexidade de interações (Kageyama et al. 2001).

Em 1980, Janzen afirmava que com a exceção de alguns insetos de importância econômica, nem mesmo um só estudo completo havia sido realizado sobre as variações geográficas na alimentação de um herbívoro tropical de ampla distribuição (Janzen 1980b). Da mesma forma, praticamente não havia estudos de comunidades de herbívoros associados a plantas, que permitissem análises de diversidade de associações ou de níveis de especialização. Embora este já não seja mais o caso – veja-se as referências acima – sem dúvida, estamos muito aquém do necessário para produzir um modelo mais geral que caracterize a rede interativa de componentes funcionalmente importantes das comunidades, e no qual possamos explorar causas potenciais para manutenção ou alteração dos elencos de espécies e de suas interações.

Em maior prazo, estudos como os aqui indicados deverão possibilitar dois avanços importantes: primeiro, a compreensão das correlações e conseqüências funcionais dos conjuntos de interações bióticas a que diferentes espécies – especialmente as plantas - estão relacionadas. Segundo, prever e monitorar possíveis extinções “secundárias” (Gilbert 1980) ou “coextinções” (Koh et al. 2004) em áreas sujeitas a perturbações mais drásticas.

Os projetos de doutorado de Rafael D. Loyola (Diversidade, especificidade de hospedeiras e estrutura de interações em comunidades de insetos predadores de sementes) e Umberto Kubota (Efeitos filogenéticos em comunidades de interações insetos-plantas: insetos herbívoros de frutos carnosos), orientados por Thomas M. Lewinsohn, recentemente incorporados nesta nova etapa do projeto temático “40ha de Parcelas Permanentes”, que está sendo desenvolvido nas quatro principais formações florestais do estado de São Paulo, representam investidas iniciais em



elucidar interações biológicas importantes para a organização ecológica de tais parcelas. O conhecimento e compreensão das comunidades destes insetos fitófagos poderão ser articulados com estudos de dispersão e demografia de indivíduos vegetais nessas parcelas permanentes, processos funcionais com os quais a frugivoria e predação de sementes estão eminentemente relacionados.

## Agradecimentos

Agradecemos ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Nível Superior (CAPES) pelas bolsas de doutorado concedidas a Rafael D. Loyola e Umberto Kubota, respectivamente. A pesquisa de Thomas M. Lewinsohn vem sendo apoiada pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP – Projeto 98/05085-2 do Programa BIOTA/Fapesp) e pelo CNPq.

## Referências Bibliográficas

- Bascompte, J., Jordano, P., Melián, C. J. & Olesen, J. M. 2003. The nested assembly of plant-animal mutualistic networks. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States*, 100:9383-9387.
- Basset, Y. 1996. Local communities of arboreal herbivores in Papua New Guinea: predictors of insect variables. *Ecology*, 77:1906-1919.
- Basset, Y., Novotny, V., Miller, S.E., Kitching, R.L., (eds.). 2003. *Arthropods of tropical forests: spatio-temporal dynamics and resource use in the canopy*. Cambridge University Press, Cambridge, UK.
- Bernays, E.A. & Chapman, R.F. 1994. *Host-plant specialisation by phytophagous insects*. Chapman & Hall, London.
- Borgatti, S. P. & Everett, M. G. 1997. Network analysis of 2-mode data. *Social Networks*, 19:243-269.
- Bormann, F. H. & Likens, G. E. 1979. *Pattern and process in a forested ecosystem*. Springer, New York.
- Condit, R. 1995. Research in large, long-term tropical forest plots. *Trends in Ecology and Evolution*, 10:18-22.
- Connell, J. H. 1971. On the role of natural enemies in preventing competitive exclusion in some marine animals and in rains forests trees. In: den Boer, P. J. & Gradwell, G. R. (eds.). *Dynamics of population*. Centre for Agricultural Publishing and Documentation, Wageningen, pp. 298-312.
- Cornell, H. V. & Lawton, J. H. 1992. Species interactions, local and regional processes, and limits to the richness of ecological communities: a theoretical perspective. *Journal of Animal Ecology*, 61:1-12.
- Crawley, M. J.; Harvey, P. H. & Purvis, A. 1997. Comparative ecology of the native and alien floras of British Isles. In: Silvertown, J., Franco, M. & Harper, J. L. (eds.). *Plant Life Histories: Ecology, Phylogeny and Evolution*. Cambridge University Press, Cambridge, pp. 36-56.
- Cytrynowicz, M. 1991. Resource size and predictability, and local herbivore richness in a subtropical Brazilian cerrado community. In: Price, P. W., Lewinsohn, T. M., Fernandes, G. W. & Benson, W. W. (eds.). *Plant-animal interactions: evolutionary ecology in tropical and temperate regions*. John Wiley, New York. pp. 561-589.
- Diniz, I. R. & Morais, H. E. 1997. Lepidopteran caterpillar fauna of Cerrado host plants. *Biodiversity and Conservation*, 6:817-836.



- Diniz-Filho, J.A.F. 2000. Métodos Filogenéticos Comparativos. Editora Holos, Ribeirão Preto.
- Dunne, J. A., Williams, R. J. & Martinez, N. D. 2002a. Food-web structure and network theory: The role of connectance and size. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 99:12917-12922.
- Dunne, J.A., Williams, R.J. & Martinez, N. D. 2002b. Network structure and biodiversity loss in food webs: robustness increases with connectance. *Ecology Letters*, 5:558:567.
- Ehrlich, P. & Raven, P. 1964. Butterflies and plants: a study in co-evolution. *Evolution*, 18:586-608.
- Feeny, P. 1975. Biochemical coevolution between plants and their insects herbivores. In: Gilbert, L. E. & Raven, P. H. (eds.). *Coevolution of Animals and Plants*. University of Texas Press, Austin. pp. 3-19.
- Fernandes, G. W. & Price, P. W. 1991. Comparison of tropical and temperate galling species richness: the roles of environmental harshness and plant nutrient status. In: Price, P. W., Lewinsohn, T. M., Fernandes, G. W. & Benson, W. W. (eds.). *Plant-animal interactions: evolutionary ecology in tropical and temperate regions*. John Wiley, New York. pp. 91-115.
- Gagné, R. J. 1994. *The gall midges of neotropical region*. Cornell University Press, Ithaca.
- Gilbert, L. E. 1980. Food web organization and the conservation of Neotropical diversity. - In: Soulé, M. E. & Wilcox, B. A. (eds.), *Conservation Biology*. Sinauer, Sunderland, pp. 11-33.
- Godfray, H. C. L., Lewis, O. T. & Memmott, J. 1999. Studying insect diversity in the tropics. *Philosophical Transactions of the Royal Society, London, Biological Sciences*, 354:1811-1824.
- Harper, J. L. 1981. The meanings of rarity. In: Synge, H. (ed.) *The biological aspects of rare plant conservation*. John Wiley, pp. 189-203.
- Harvey, P. H., & Pagel, M.D. 1991. *The Comparative Method in Evolutionary Biology*. Oxford University Press, Oxford.
- Holden, C. 1989. Entomologists wane as insects wax. *Science*, 246:734-736.
- Holloway, J.D. & Herbert, P.D.N. 1979. Ecological and taxonomic trends in macrolepidopteran host plant selection. *Biological Journal of the Linnean Society*, 11:229-251.
- How, S. T., Abrahamson, W.G. & Craig, T. P. 1993. Role of host-plant phenology in host use by *Eurosta solidaginis* (Diptera: Tephritidae) on *Solidago* (Compositae). *Environmental Entomology*, 22:388-396.
- Janzen, D. H. 1970. Herbivores and the number of tree species in tropical forests. *American Naturalist*, 102:592-595.
- Janzen, D.H. 1971. Seed predation by animals. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 2:465-492.
- Janzen, D.H. 1980a. Specificity of seed-attacking beetles in a Costa Rican deciduous forest. *Journal of Ecology*, 68:929-952.
- Janzen, D. H. 1980b. *Ecologia vegetal nos trópicos*. EDUSP, São Paulo.
- Jordán, F., Takacs-Santa, A. & Molnar, I. 1999. A reliability theoretical quest for keystones. *Oikos*, 86:453-462.
- Jordano, P. 1987. Patterns of mutualistic interactions in pollination and seed dispersal: connectance, dependence asymmetries and coevolution. *American Naturalist*, 129:657-677.
- Jordano, P. 1995. Angiosperm fleshy fruits and seed dispersers: a comparative analysis of adaptation and constraints in plant-animal interactions. *American Naturalist*, 145:163-191.
- Jordano, P., Bascompte, J. & Olesen, J. M. 2003. Invariant properties in coevolutionary networks of plant-animal interactions. *Ecology Letters*, 6:69-81.
- Kageyama, P., Gandara, F. & Cavalcanti, T. 2001. Estudo da biodiversidade em parcelas permanentes grandes, tendo como base espécies arbóreas raras, visando à conservação



- genética. In: Garay, I. e Dias, B.F.S (eds.). Conservação da biodiversidade em ecossistemas tropicais. Vozes, Petrópolis. pp. 370-375.
- Kelly, C. K. & Purvis, A. 1993. Seed size and establishment conditions in tropical trees – on the use of taxonomic relatedness in determining ecological patterns. *Oecologia* 94:356-360.
- Koh, L. P., Dunn, R. R., Sodhi, N. S., Colwell, R. K., Proctor, H. C. & Smith, V. S. 2004. Species Coextinctions and the Biodiversity Crisis. *Science*, 305:1632-1634.
- Kubota, U. 2003. Fenologia da comunidade de Asteraceae, variação temporal e determinantes locais de riqueza de insetos endófitos de capítulos. Dissertação de Mestrado. Instituto de Biologia – Unicamp, Campinas.
- Lawton, J. H. 1983. Plant architecture and the diversity of phytophagous insects. *Annual Review of Entomology*, 28:23-39.
- Lewinsohn, T.M. 1980. Predação de sementes em Hymenaea (Leguminosae: Caesalpinioideae): aspectos ecológicos e evolutivos. Dissertação de Mestrado. Instituto de Biologia – Unicamp, Campinas.
- Lewinsohn, T. M. 2001. Esboço de uma estratégia abrangente de inventários de biodiversidade. In: Garay, I. & Dias, B. F. S. (eds.), Conservação da biodiversidade em ecossistemas tropicais. Editora Vozes, Petrópolis, pp. 376-384.
- Lewinsohn, T. M. 2004. Em busca do Mons Venneris: é possível unificar as ecologias de comunidades? In: Coelho, A. S., Loyola, R. D. & Souza, M. B. G. (eds.), Ecologia teórica: desafios para o desenvolvimento da Ecologia no Brasil. O Lutador, Belo Horizonte, pp. 105-122.
- Lewinsohn, T.M., Prado, P. I. K. L. & Almeida, A. M. 2001. Inventários bióticos centrados em recursos: insetos fitófagos e plantas hospedeiras. In: Garay, I. & Dias, B.F.S (eds.). Conservação da biodiversidade em ecossistemas tropicais. Petrópolis, Vozes. pp. 174-189.
- Lewinsohn, T. M., Basset, Y. & Novotny, V. 2005. Insects on plants: diversity of herbivore assemblages revisited. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 36:597-620.
- Lewinsohn, T.M., Jordano, P., Prado, P. I. K. L., Olesen, J. M. & Bascompte, J. 2006. Structure in plant-animal assemblages. *Oikos*, no prelo.
- Losos, E. C. & Leigh, E. G., Jr. (eds.). 2004. Tropical forest diversity and dynamism: findings from a large-scale plot network. University of Chicago Press, Chicago.
- Magurran, A.E. 2003. Measuring Biological Diversity. Blackwell, Oxford.
- Marques, E. S. A.; Price, P. W. & Cobb, N. S. 2000. Resource abundance and insect herbivore diversity on woody fabaceous desert plants. *Environmental Entomology*, 29:696-703.
- Marquis 1991. Herbivore fauna of Piper (Piperaceae) in a Costa Rican wet forest: diversity, specificity, and impact. In: Price, P. W., Lewinsohn, T. M., Fernandes, G. W. & Benson, W. W. (eds.). Plant-animal interactions: evolutionary ecology in tropical and temperate regions. John Wiley, New York. pp. 179-208.
- Martinez, N.D. & J.H. Lawton. 1995. Scale and food web structure – from local to global. *Oikos*, 73:148-154.
- May, R.M. 1986. The search for patterns in the balance of nature: advances and retreats. *Ecology*, 67:1115-1126.
- McCann, K., Hastings, A., Harrison, S. & Wilson, W. 2000. Population outbreaks in a discrete world. *Theoretical Population Biology*, 57:97-108.
- Melián, C.J. & Bascompte, J. 2002. Food web structure and habitat loss. *Ecology Letters*, 5:37-46.
- Mooney, H.A., Cushman, J. H., Medina, E., Sala, O. E. & Schulze, E. D. (eds.) 1996. Functional roles of biodiversity: a global perspective. John Wiley & Sons, New York.
- Morin, P. J. 1999. Community Ecology. Blackwell Science Inc., Oxford.



- Novotny, V., Basset, Y., Miller, S. E., Drozd, P. & Cizek, L. 2002a. Host specialization of leaf-chewing insects in a New Guinea rainforest. *Journal of Animal Ecology*, 71:400-412.
- Novotny, V., Miller, S. E., Basset, Y., Cizek, L., Drozd, P., Darrow, K. & Leps, J. 2002b. Predictably simple: assemblages of caterpillars (Lepidoptera) feeding on rainforest trees in Papua New Guinea. *Proceedings of Royal Society of London B*, 269:2337-2344.
- Novotny, V., A.R. Clarke, R.A.I. Drew, S. Balagawi & B. Clifford. 2005. Host specialisation and species richness of fruit flies (Diptera: Tephritidae) in a New Guinea rainforest. *Journal of Tropical Ecology*, 21:67-77.
- Olesen, J. M. & Jordano, P. 2002. Geographic patterns in plant-pollinator mutualistic networks. *Ecology*, 83:2416-2424.
- Paine, R.T. 1980. Food webs: linkage, interaction strength and community infrastructure. *Journal of Animal Ecology*, 49:667-685.
- Pimm, S.L. 1991. *The balance of nature? Ecological issues in the conservation of species and communities*. University of Chicago Press, Chicago.
- Pimm, S.L., Lawton, J. L. & Cohen, J. E. 1991. Food web patterns and their consequences. *Nature*, 350:669-674.
- Prado, P. I. & Lewinsohn, T. M. 2004. Compartments in insect-plant associations and their consequences for community structure. *Journal of Animal Ecology*, 73:1168-1178.
- Price, P. W. 2002. Species interactions and the evolution of biodiversity. In: Herrera, C. M. & Pellmyr, O. (eds.) *Plant-animal interactions: an evolutionary approach*. Oxford: Blackwell Science, pp. 3-25.
- Reagan, D. P. & Waide, R. B. (eds.). 1996. *The food web of a tropical rain forest*. University of Chicago Press, Chicago.
- Rees, M. 1993. Trade-offs among dispersal strategies in British plants. *Nature*, 366:150-152.
- Regal, P. J. 1977. Ecology and evolution of flowering plant dominance. *Science*, 196:622-629.
- Root, R. B. 1973. Organization of a plant arthropod association in simple and diverse habitats: the fauna of collards (*Brassica oleracea*). *Ecological Monographs*, 43:95-124.
- Schoonhoven, L. M., Jermy, T. & van Loon, J. J. A. 1998. *Insect-plant biology: from physiology to evolution*. Chapman & Hall, London.
- Singer, M.C. & C. Parmesan. 1993. Sources of variation in patterns of plant insect association. *Nature*, 361:251-253.
- Southwood, T. R. E. 1961a. The number of species of insect associated with various trees. *Journal of Animal Ecology*, 30:1-8.
- Southwood, T. R. E. 1961b. The evolution of the insect-host tree relationship – a new approach. *Proceedings of the XIth International Congress on Entomology, Vienna, 1960*, 1:651-654.
- Strauss, S. Y. & Zangeri, A. R. 2002. Plant-insect interactions in terrestrial ecosystems. In: Herrera, C. M. e Pellmyr, O. (eds.) *Plant-animal interactions: an evolutionary approach*. Blackwell Science Ltd., Oxford, pp. 77-106.
- Strogatz, S.H. 2001. Exploring complex networks. *Nature*, 410:268-327
- Strong, D. R. J.; Lawton, J. H. & Southwood, T. R. E. 1984. *Insects on plants. Community patterns and mechanisms*. Oxford: Blackwell.
- Strong, D. R.; McCoy, E. D. & Rey, J. R. 1977. Time and number of herbivore species – the pests of sugarcane. *Ecology*, 58:167-175.
- Summerville, K.S., Crist, T.O., Kahn, J.K., & Gering, J.C. 2003. Community structure of arboreal caterpillars within and among four tree species of the eastern deciduous forest. *Ecological Entomology*, 28:747-757.



- Thompson, J. N. 1997. Conserving interaction biodiversity. In: Pickett, S. T. A., Ostfeld, R. S., Shachak, M. & Likens, G. E. (eds.), The ecological basis of conservation: heterogeneity, ecosystems, and biodiversity. Chapman and Hall, New York, pp. 285-293.
- Thompson, J.N. 1999. The raw material for coevolution. *Oikos*, 84:5–16.
- Thompson, J.N. 2005. The geographic mosaic of coevolution. Chicago University Press, Chicago.
- Tokeshi, M. 1999. Species coexistence: ecological and evolutionary perspectives. Blackwell Science Ltd., Oxford.
- Uramoto, K. 2002. Biodiversidade de moscas-das-frutas do gênero *Anastrepha* (Diptera, Tephritidae) no campus Luiz de Queiroz, Piracicaba, São Paulo. Dissertação de Mestrado. Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” – USP, Piracicaba.
- Uramoto, K., Walder J. M. M. & Zucchi, R. A. 2004. Biodiversidade de moscas-das-frutas do gênero *Anastrepha* (Diptera, Tephritidae) no campus da ESALQ-USP, Piracicaba, São Paulo. *Revista Brasileira de Entomologia*, 48:409-414.
- White I. M. & Elson-Harris, M. M. 1992. Fruit flies of economic significance: their identification and bionomics. CAB International, Wallingford.
- Whittaker, R. H. 1975. Communities and ecosystems. MacMillan, New York.
- Winemiller, K.O. & Polis, G. A. 1996. Food webs: what can they tell us about the world? In: Polis, G. A. & Winemiller, K.O. (eds.). Food webs: integration of patterns and dynamics. Chapman & Hall, New York, pp. 1-22.
- Yodzis, P. 1980. The connectance of real ecosystems. *Nature*, 60:27-55.
- Zucchi, R. A. 2000a. Taxonomia. In: Malavasi, A. & Zucchi, R. A. (eds.). Moscas-das-frutas de importância econômica no Brasil: conhecimento básico e aplicado. Editora Holos, Ribeirão Preto, pp. 13-24.
- Zucchi, R. A. 2000b. Espécies de *Anastrepha*, sionímias, plantas hospedeiras e parasitóides. In: Malavasi, A. & Zucchi, R. A. (eds.). Moscas-das-frutas de importância econômica no Brasil: conhecimento básico e aplicado. Editora Holos, Ribeirão Preto, pp. 412-448.

### ***2.3. O uso do sensoriamento remoto para estimativa de biomassa e estoque de CO<sub>2</sub> nas parcelas permanentes de Cerrado, Cerradão e de Floresta Estacional Semidecidual: esboço metodológico***

Eduardo da Silva Pinheiro

#### **2.3.1. Introdução**

Nos últimos tempos, as paisagens de nosso planeta sofreram grandes modificações ocasionadas, principalmente, pelo desenvolvimento social e econômico da humanidade, incluindo mudanças climáticas, desmatamentos, perda de biodiversidade, poluição e desertificação. Historicamente, a Terra passou por mudanças climáticas, em ciclos alternados de aquecimento e resfriamento. No entanto, pesquisas indicam uma tendência para o aquecimento global a partir da metade do século XVIII, ocasionado pelo aumento, além do nível normal, dos gases do efeito estufa (GEE) na atmosfera. O incremento dos GEE na atmosfera, principalmente dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>), contribui para o aumento do efeito estufa natural e acréscimo da temperatura média do planeta (ODUM, 1983; LARCHER, 2000).



A comunidade científica tem desenvolvido pesquisas com o intuito de minimizar os problemas causados pelas emissões dos GEE. Uma das linhas de pesquisa está relacionada à capacidade das florestas em seqüestrar carbono atmosférico. Segundo BROWN (1997) devido à atividade fotossintética, as florestas fixam CO<sub>2</sub> da atmosfera na forma de carboidratos. No Brasil, há poucas pesquisas sobre o auxílio das florestas nativas para minimizar os efeitos das mudanças climáticas, por meio do seqüestro de carbono. A elaboração de projetos nesta temática possui um caráter de pioneirismo, devido à sua complexidade científica e à carência de especialistas brasileiros nesta área (BRASIL, 2004).

A pesquisa florestal é fundamental, pois auxilia no desenvolvimento de estudos para mitigar as mudanças climáticas globais e permite compreender as relações entre a dinâmica (padrões de crescimento e mortalidade) e a variação de biomassa e estoque de carbono. Ainda, a regeneração florestal pode ser um importante mecanismo para o seqüestro de carbono da atmosfera. No Brasil, as principais pesquisas sobre seqüestro e estoque de carbono concentram-se na Amazônia, em áreas florestais e/ou ecótonos entre floresta e cerrado. Os estudos relacionados à quantificação de estoque de carbono na Mata Atlântica e no Cerrado ainda são incipientes.

No Estado de São Paulo, diversas pesquisas são desenvolvidas para conservar os remanescentes florestais, destacando-se o projeto temático "Diversidade, dinâmica e conservação em florestas do Estado de São Paulo: 40ha de parcelas permanentes", desenvolvido com o apoio da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP 1999/09635-0). Neste projeto é investigada a dinâmica (espacial e temporal) das principais unidades fitogeográficas paulistas (Floresta de Restinga, Floresta Ombrófila densa Sub-Montana, Floresta Estacional Semidecidual e Cerradão) por meio de quatro Parcelas Permanentes, de 10,24ha cada, totalizando então 40,96ha, instaladas, em Unidades de Conservação. Neste contexto, algumas questões motivam esta pesquisa:

- Qual a contribuição das unidades fitogeográficas Cerrado, Cerradão e Floresta Estacional Semidecidual para o estoque de carbono?
- Nos últimos anos, foram desenvolvidos novos sensores remotos com diferentes possibilidades de obtenção de dados da superfície terrestre. Qual a contribuição destes sensores para estimar a biomassa vegetal?

Considerando as questões acima citadas foi elaborada a seguinte hipótese:

A partir de fragmentos de unidades fitogeográficas que representam o Cerrado, o Cerradão e a Floresta Estacional Semidecidual em São Paulo, sensores remotos apoiados em equações alométricas adequadas, são capazes de gerar estimativas de biomassa para áreas amplas com alta confiabilidade.

O objetivo geral da pesquisa é avaliar a contribuição de diferentes unidades fitogeográficas, tanto de savana como de Florestas, para o estoque do carbono. Para tanto, é proposta a integração entre dados adquiridos em levantamentos de campo e produtos de sensoriamento remoto e Sistemas de Informações Geográficas. Os objetivos específicos são:



- Estimar, avaliar e comparar a biomassa vegetal e o estoque de carbono em duas Parcelas Permanentes (de 10,24ha cada uma) inseridas, respectivamente, nas unidades fitogeográficas Cerradão e Floresta Estacional Semidecidual;
- Desenvolver uma metodologia para estimar a biomassa e o estoque de carbono, relacionando dados de sensoriamento remoto com os dados de vegetação coletados no campo;
- Mapear de forma detalhada o Uso/Cobertura da terra na Estação Ecológica e na Floresta Estadual de Assis/SP;
- Estimar a biomassa vegetal e o estoque de carbono em diferentes fisionomias de Cerrado na Estação Ecológica e Floresta Estadual de Assis;
- Testar equações alométricas para estimativa de biomassa, desenvolvidas especificamente para a área do Cerrado<sup>1</sup> ;
- Avaliar a aplicabilidade de dados de sensoriamento remoto, obtidos pelos sensores QuickBird e CBERS-II, para estimar da biomassa em diferentes fisionomias de Cerrado.

## 2.3.2. Materiais e Métodos

### 2.3.2.1. Áreas de estudo

Nesta pesquisa foram selecionadas duas áreas do projeto “40ha de Parcelas permanentes” a saber:

- Parcela Permanente (10,24ha) de Cerradão na Estação Ecológica de Assis, localizadas entre as coordenadas 22°33'23”S a 22°38'40”S e 50°20'59”W a 50°20'52”W GR;
- Parcela Permanente (10,24ha) de Floresta Estacional Semidecidual da Estação Ecológica de Caetetus, localizada entre as coordenadas 22°22'23”S a 22°26'01”S e 49°40'11”W a 49°43' 39”W GR.
- E fragmentos remanescentes de Cerrado, de diferentes fisionomias, da Estação Ecológica e da Floresta Estadual de Assis, SP.

### 2.3.2.2. Dados fitossociológicos

Na pesquisa serão utilizados os seguintes dados adquiridos em levantamentos de campo:

- Dados secundários de DAP e altura das árvores obtidos no levantamento fitossociológico do projeto “Parcelas Permanentes”. A área de amostragem em cada local compreende parcelas com 320x320m (10,24ha), 256 sub-parcelas com 20x20m (PAP ≥ 15cm) (Figura 1). As parcelas já se encontram georreferenciadas (RODRIGUES, et al., 2002), permitindo desta forma a análise integrada com dados de sensoriamento remoto;

<sup>1</sup> Equações alométricas para estimativa de biomassa vegetal na área do Cerrado na Estação Ecológica de Assis estão sendo desenvolvidas por pesquisadores do Instituto Florestal de São Paulo/E.E. de Assis (Pesquisas em andamento sob coordenação da Profa. Dra. Giselda Durigan).

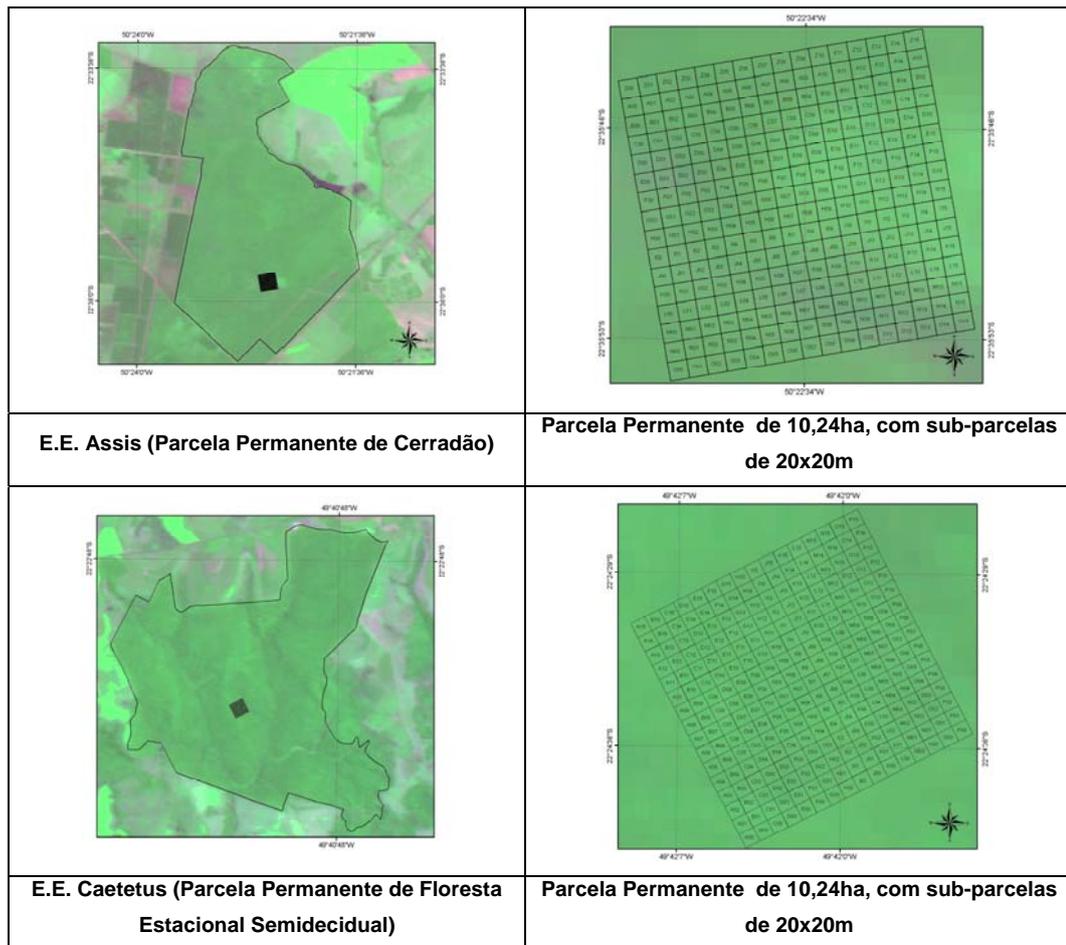


Figura 1. Áreas de estudo, com as duas Parcelas Permanentes, de 10,24ha cada. Imagem CCD do satélite CBERS-II (08/02/2005).

- Na Estação Ecológica de Assis e na Floresta Estadual de Assis serão efetuados levantamentos fitossociológicos adicionais em parcelas com área de 10.000m<sup>2</sup>.

### 2.3.2.3. Dados de sensoriamento remoto

Os dados de sensoriamento remoto empregados na pesquisa serão obtidos por meio de sensores a bordo de dois satélites, descritos a seguir:

#### 2.3.2.3.1. O satélite CBERS-II

O satélite Sino-Brasileiro de Recursos Terrestres (CBERS-II), lançado em órbita em 2003, representa uma grande conquista para a soberania nacional, para o avanço tecnológico brasileiro e para os estudos ambientais. Este satélite foi construído a partir de uma cooperação entre o Brasil e a República Popular da China. Uma característica singular do CBERS-II é sua carga útil com múltiplos sensores (Tabela 1), com resoluções espaciais, espectrais e temporais variadas (INPE, 2004). Nesta pesquisa será utilizada a imagem CCD/CBERS-II referente à órbita/ponto 159/125.



Tabela 1. Especificações técnicas das imagens CBERS-II

Sensores	CCD	WFI	IRMSS
Resolução temporal	26 dias (nadir) 3 dias (off-nadir)	5 dias	26 dias
Largura da faixa imageada	113 km	890 km	120 km
Resolução Espacial	20 x 20 m	260 x 260 m	80 x 80 m (160 x 160 m termal)
Resolução Espectral	Pan: 0,51 - 0,73 $\mu\text{m}$ B: 0,45 - 0,52 $\mu\text{m}$ G: 0,52 - 0,59 $\mu\text{m}$ R: 0,63 - 0,69 $\mu\text{m}$ NIR: 0,77- 0,89 $\mu\text{m}$	G: 0,63-0,69 $\mu\text{m}$ NIR: 0,77-0,89 $\mu\text{m}$	Pan: 0,50 - 1,10 $\mu\text{m}$ SWIR: 1,55-1,75 $\mu\text{m}$ SWIR: 2,08-2,35 $\mu\text{m}$ TIR: 10,40-12,50 $\mu\text{m}$
Resolução Radiométrica	8 bits (256 níveis de cinza)		
Visada lateral	$\square$ 32°	-	-

Pan: Pancromático; B: Azul; G: Verde; R: Vermelho; NIR: Infravermelho próximo; SWIR: Infravermelho médio; TIR: Infravermelho termal.

Fonte: Adaptada de INPE (2004).

#### 2.3.2.3.2. O satélite QuickBird

O satélite norte-americano QuickBird foi lançado em órbita em 2001, seus sensores possuem a mais alta resolução espacial para plataformas orbitais de uso comercial, atualmente disponível (DIGITALGLOBE, 2003). Na Tabela 2 constam as especificações técnicas de suas imagens.

Tabela 2. Especificações técnicas das imagens QuickBird

Largura da faixa imageada	16,5 km ( <i>nadir</i> ); 20,8 km ( <i>off-nadir</i> )
Resolução Espacial	0,61 m ( <i>nadir</i> ) Pancromática 2,44 m ( <i>nadir</i> ) Multiespectral 0,72 m (25° <i>off-nadir</i> ) Pancromática 2,88 m (25° <i>off-nadir</i> ) Multiespectral
Resolução Espectral	<u>Pancromático: 0,45 – 0,90 <math>\mu\text{m}</math></u> Azul: 0,45 – 0,52 $\mu\text{m}$ Verde: 0,52 – 0,60 $\mu\text{m}$ Vermelho: 0,63 – 0,69 $\mu\text{m}$ Infravermelho próximo: 0,76 – 0,90 $\mu\text{m}$
Resolução Radiométrica	11 bits (2048 níveis de cinza)

Fonte: Adaptada de DigitalGlobe (2003).

#### 2.3.2.4. Métodos e forma de análise dos resultados

A pesquisa realizar-se-á em duas etapas. Na primeira serão feitas análises da biomassa vegetal e estoque de carbono entre duas unidades fitogeográficas: Cerrado e Floresta Estacional Semidecidual, do projeto “Parcelas Permanentes”.

Na segunda etapa os estudos se concentrarão na Estação Ecológica e Floresta Estadual de Assis, onde será mapeado o Uso/Cobertura da terra de forma detalhada. Serão realizados levantamentos de campo para a determinação de riqueza e diversidade das fisionomias de



Cerrado, além de serem analisadas conjuntamente com a biomassa e o estoque de carbono na área. O fluxograma da Figura 2 resume os procedimentos que serão aplicados na pesquisa.

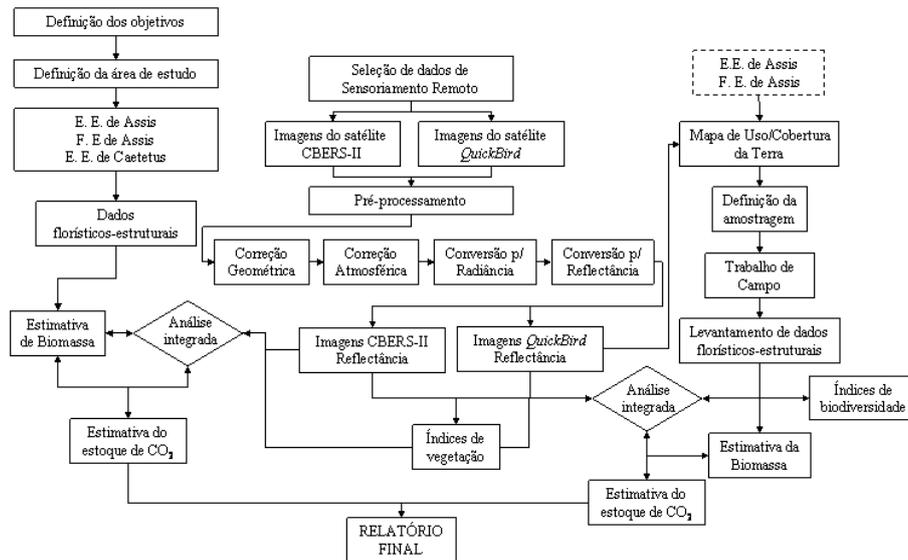


Figura 2. Desenho do método da pesquisa para uso de sensoriamento remoto na estimativa de biomassa e estoque de CO<sub>2</sub> em Cerrado, Cerradão e de Floresta Estacional Semidecidual, na Estação Ecológica e da Floresta estadual de Assis, Assis, SP e na Estação Ecológica de Caetetus, Gália, SP.

#### 2.3.2.4.1. Aquisição dos dados e estimativa de biomassa

A biomassa pode ser estimada por métodos diretos ou indiretos. No método direto (destrutivo) toda a vegetação é cortada e pesada. No método indireto, indicado para grandes extensões florestais, a biomassa é estimada através de sua correlação com alguma variável de fácil medição e que não implique na destruição do material vegetal. O método indireto é baseado em inventários florestais. A biomassa é usualmente estimada por meio de expressões alométricas, que caracterizam a relação entre peso fresco e variáveis independentes, como o DAP - 1,30 de altura do solo, altura total (H) e volume (V) (BROWN et al., 1989).

Para estimar da biomassa vegetal e estoque de carbono nas áreas selecionadas, serão utilizados os dados de DAP das parcelas já existentes nas Unidades de Conservação. A obtenção da biomassa será feita por meio do método indireto a partir da aplicação da equação alométrica descrita por BROWN (1997).

Para estimar a biomassa do Cerrado na Estação Ecológica de Assis e na Floresta Estadual de Assis, além dos dados de Cerradão coletados da Parcela Permanente, serão realizados novos levantamentos fitossociológicos. O método de parcelas será aplicado em diferentes fisionomias de Cerrado (cerrado sensu stricto, cerrado denso e cerradão) (DURIGAN, 2003). Serão estabelecidas dez parcelas retangulares medindo 10x100m. As parcelas amostradas serão georreferenciadas através de um aparelho Sistema de Posicionamento Global (GPS), permitindo sua análise integrada com os dados de sensoriamento remoto. Após a coleta dos dados em campo será



estimada a biomassa vegetal por meio do método indireto. Para estimar a biomassa da parte aérea e raízes será aplicada a equação que está sendo desenvolvida especificamente para áreas de Cerrado<sup>1</sup>. Finalmente, multiplicar-se-á a biomassa total em cada parcela por 0,5 para estimar a quantidade de carbono fixado nos diferentes tipos de vegetação (BROWN, 1997; KOEHLER et al., 2002).

#### 2.3.2.4.2. Pré-processamento das imagens

No pré-processamento das imagens de satélite serão realizadas a correção geométrica, a correção atmosférica e a conversão dos números digitais para radiância e reflectância. Para corrigir as distorções da imagem Quickbird será utilizado o Modelo Função Racional (TAU e HU, 2001). As imagens CBERS-II/CCD serão corrigidas por meio do Modelo Polinomial de 1º grau com reamostragem por vizinho-mais-próximo.

Para corrigir os efeitos de interferência atmosférica nas imagens QuickBird e CBERS-II é proposto o uso da metodologia apresentada por CHAVEZ (1996). Este método baseia-se na subtração do pixel escuro (DOS – Dark object subtraction). Os alvos escuros presentes na imagem com valores de reflectância próxima de “0” aparecem com valores superiores ao real, devido à interferência da atmosfera. Desta forma, o valor mais baixo entre os pixels é calculado e subtraído de todos os pixels da imagem, para cada banda individualmente (LUIZ, et al., 2003).

A conversão das imagens QuickBird para radiância será realizada segundo a metodologia descrita por KRAUSE (2003). Para transformar as imagens CBERS-II/CCD em radiância espectral será testado o método descrito por MARKHAM e BARKER (1986). A transformação dos valores de radiância espectral para valores de reflectância aparente será realizada por métodos descritos por (LILLESAND e KIEFER, 2000). Em outra etapa, a partir das imagens QuickBird e CBERS-II, serão calculados os seguintes índices de vegetação: Índice de Vegetação com Diferença Normalizada (NDVI) e o Índice de Vegetação Ajustado para Influência do Solo (SAVI).

#### 2.3.2.4.3. Análise dos dados

Para integrar os dados de biomassa com as imagens de satélite serão utilizadas técnicas estatísticas, sobretudo os modelos de regressão. Na metodologia de análise e integração entre os dados de SR (valores de reflectância das bandas e índices de vegetação NDVI e SAVI) e a estimativa de biomassa será aplicado um modelo de regressão múltipla (NETER et al., 1989). Cabe citar que serão utilizados modelos distintos, um para cada conjunto de dados de satélite (QuickBird e CBERS-II).

Numa primeira etapa do trabalho será estabelecida uma matriz de correlação para o conjunto de imagens de satélite com objetivo de evitar problemas de autocorrelação e com isso, redundância de dados. A partir da seleção das imagens menos correlacionadas será estabelecida uma segunda matriz de correlação, entre as imagens de satélite e as estimativas de biomassa. O ajuste e a seleção das equações para estimar a biomassa (variáveis dependentes) em função das imagens de satélite (variáveis independentes) seguirá etapas descritas por NETER et al., (1989).



Neste sentido, serão realizadas algumas análises para verificar problemas no ajuste da curva de regressão, a saber: Teste gráfico Box Plot, Teste gráfico Scatter Plot, Variância do erro não constante (heterocedasticidade).

Para reduzir o número de variáveis, assim como determinar as melhores variáveis a serem incluídas no modelo, será aplicado o Método Stepwise (WERKEMA e AGUIAR, 1996). Para determinar a importância de cada uma das variáveis independentes (imagens de satélite) no modelo de regressão, será aplicado o teste sobre os coeficientes individuais de regressão. Na última etapa serão avaliados os coeficientes de correlação e determinação para verificar a relação entre biomassa vegetal e imagens de satélites.

Espera-se que os modelos de regressão permitam analisar de forma quantitativa as relações entre dados de biomassa da vegetação e de sensoriamento remoto. A análise integrada entre produtos de SR e dados florísticos-estruturais poderá contribuir para consolidar a compreensão dos sistemas ecológicos vegetais e seu estoque de carbono. Finalmente, espera-se contribuir para o avanço do conhecimento sobre estoque de carbono nas unidades fitogeográficas de Cerrado/Cerradão e Floresta Estacional Semidecidual, além de compreender de forma mais adequada do uso de novos sensores remotos para estimar biomassa vegetal.

## Referências Bibliográficas

- BRASIL. Comunicado nacional inicial do Brasil à convenção-quatro das Nações Unidas sobre mudança do Clima. Coordenação-Geral de Mudanças Globais. Brasília: Ministério da Ciência e Tecnologia, 2004. 274 p.
- BROWN, S. Estimating biomass and biomass change of tropical forests: a primer. United Nations Rome: Food and Agriculture Organization (FAO). Forestry Paper – 134. 1997, 82 p. Disponível em: <<http://www.fao.org/docrep/W4095E/W4095E00.htm>> Acessado em: 02 fev. 2004.
- BROWN, S., GILLESPIE, A. J. R., LUGO, A. E. Biomass estimation methods for tropical forest with applications to forest inventory data. *Forest Science*, v.35, p.881-902, 1989.
- CHAVEZ, P.S. Image-based atmospheric corrections - revisited and improved. *Photogrammetric Engineering and Remote Sensing*, v. 62, p. 1025-1036, 1996.
- DIGITALGLOBE. QuickBird imagery products – products guide. 2003. 54 p. Disponível em: <<http://www.digitalglobe.com>>. Acessado em: 9 abr. 2003.
- DURIGAN, G. Métodos para análise de vegetação arbórea. In: CULLEN Jr., L.; RUDRAN, R., PADUA-VALLADARES, C. (Org.) Métodos de Estudos em Biologia da Conservação e Manejo da vida Silvestre. Curitiba – PR. Ed.da UFPR; Fundação o Boticário de Proteção à Natureza. 2003. p. 455-479.
- INSTITUTO NACIONAL DE PESQUISAS ESPACIAIS (INPE). O satélite CBERS. 2004. Disponível em: <<http://www.cbbers.inpe.br>>. Acessado em: 28 jun. 2004.
- KOEHLER, H.S.; WATZLAWICK, L.F.; KIRCHNER, F.F. Fontes e níveis de erros nas estimativas do potencial de fixação de carbono. In: (Ed.) SANQUETA, C. R. S.; WATZLAWICK, L.F.; BALBINOT, R.; ZILIOTTO, M.A.; GOMES, F. dos S. As florestas e o carbono. UFPR, Curitiba, 2002 p. 251-264.
- KRAUSE, K. Radiance conversion of QuickBird data. Technical note. Colorado, USA. DigitalGlobe, 2003, 4p. Disponível em: <<http://www.digitalglobe.com>> Acessado em: 7 jun. 2004.
- LARCHER, W. *Ecofisiologia vegetal*. São Carlos: RIMA, 2004, 531 p.



LILLESAND, T.M.; KIEFER, R.W. Remote sensing and image interpretation. 4 ed. New York: John Wiley & Sons. 2000. 721 p.

LUIZ, A.J.B.; GÜRTLER, S.; GLERIANI, J.M.; EPIPHANIO, J.C.N.; CAMPOS, R.C. Reflectância a partir do número digital de imagens ETM+. In: Simpósio Brasileiro de Sensoriamento Remoto, 11., 2003, Belo Horizonte. Anais... São José dos Campos: INPE, 2003. p. 2071-2078. CD ROOM.

MARKHAM, B.L.; BARKER, J.L. Landsat MSS and TM postcalibration on dynamic ranges of exoatmospheric reflectances and at-satellite temperatures. Lanham: EOSAT, 1986. 21 p. (Landsat Technical notes n.1).

NETER, J.; WASSERMAN, W; KUTNER, M. H. Applied Linear Regression Models. Boston, 2 ed. 1989. 667 p.

ODUM, E. P. Ecologia. Rio de Janeiro: Interamericana. Brasil. 1983. 434 p.

RODRIGUES, R. R.; et al. Dinâmica, diversidade e conservação em florestas do Estado de São Paulo: 40ha parcelas permanentes. Piracicaba. Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, 2002. 126p. (Relatório Científico FAPESP 1999/09635-0). Disponível em: <<http://www.lerf.esalq.usp.br/parcelas/>>. Acessado em: 15/12/2004.

TAU, V.; Y, HU. A comprehensive study of the rational function model for photogrammetric processing. Photogrammetric Engineering and Remote Sensing. v.67, n. 12 p. 1347 – 1357, 2001.

WERKEMA, M.C.C.; AGUIAR, S. Análise de regressão: como entender o relacionamento entre as variáveis de um processo. Belo Horizonte. Fundação Christiano Ottoni, Escola de Engenharia da UFMG. 1996. 311 p.



## **2.4. Avaliação de métodos fitossociológicos por meio de simulações para um trecho de Cerradão na Estação Ecológica de Assis, SP.**

Carolina Mathias Moreira

João Luís Ferreira Batista

Ricardo Ribeiro Rodrigues

### 2.4.1. Resumo

O projeto temático “Diversidade, dinâmica e conservação em florestas do Estado de São Paulo: 40ha de parcelas permanentes” (BIOTA/FAPESP 1999/09635-0) amostrou 10,24ha de parcelas permanentes em cada uma das quatro principais formações florestais do Estado de São Paulo: Floresta de Restinga, Floresta Atlântica de Encosta, Floresta Estacional Semidecidual e Cerradão. Em cada área, todos os indivíduos com CAP maior ou igual a 15cm foram amostrados, georreferenciados e identificados. O presente trabalho completará e checará em campo os dados coletados na área amostral da Estação Ecológica de Assis e utilizará estes dados em simulações de métodos de levantamento fitossociológico (quadrantes, parcelas contíguas e parcelas independentes), sob diferentes intensidades amostrais. Serão feitas 1.000 (mil) simulações para cada situação, através do software R, e serão geradas tabelas com os índices fitossociológicos mais utilizados, para cada simulação. Será avaliado o comportamento de cada índice, para cada situação estudada, em relação ao valor do parâmetro, obtido em toda a área amostral (10,24ha). O objetivo é fornecer um estudo estatístico aprofundado de cada método, indicando o grau de confiabilidade dos valores das estimativas provenientes de cada tipo de amostragem, fornecendo subsídios consistentes para a definição do método de amostragem em estudos de vegetação arbustivo-arbórea, de acordo com os objetivos do levantamento.

### 2.4.2. Introdução

“Se muito vale o já feito, mais vale o que será; e o que foi feito é preciso conhecer, para melhor prosseguir” (Milton Nascimento & Fernando Brant, 1978)

Os estudos sobre a composição florística e a estrutura fitossociológica das formações florestais são de fundamental importância, pois oferecem subsídios para a compreensão da estrutura e da dinâmica destas formações, parâmetros imprescindíveis para o manejo e regeneração das diferentes comunidades vegetais (Manzatto 2001).

Segundo definição de Martins (1989), a fitossociologia envolve o estudo das inter-relações de espécies vegetais dentro da comunidade vegetal no espaço e no tempo, e refere-se ao estudo quantitativo da composição, estrutura, dinâmica, história, distribuição e relações ambientais da



comunidade vegetal, sendo justamente esta idéia de quantificação que a distingue de um estudo florístico.

A metodologia de estudos fitossociológicos nasceu na Europa, sendo que nas Américas desenvolveram-se técnicas de análise quantitativa e a fitossociologia teve seu maior enfoque nos estudos do componente arbóreo das florestas (Martins 1979).

No Brasil, os primeiros estudos fitossociológicos foram feitos com o objetivo de conhecer melhor a estrutura florestal, como uma forma de combate às epidemias, e foram realizados através do Instituto Oswaldo Cruz. Os estudos começaram a ter caráter acadêmico, com enfoques ecológicos, quando o pesquisador Stanley A. Cain, da Universidade de Michigan (EUA) veio ao Brasil com o intuito de aplicar os conceitos e métodos fitossociológicos, que foram desenvolvidos para florestas temperadas, às florestas tropicais. Deste estudo resultou uma publicação (Cain & Oliveira Castro apud Martins 1989) que é um dos principais textos didáticos de fitossociologia da vegetação brasileira, e o primeiro sobre a vegetação tropical (Martins 1989).

Ainda segundo esta publicação de Martins (1989), onde é feito um histórico dos estudos fitossociológicos no Brasil, o autor conclui que, para a região Sudeste, as principais preocupações dos pesquisadores eram: conhecer as florestas antes que acabem e tentar conscientizar que é necessário preservar as que ainda restam; entender as relações com o ambiente abiótico (em especial condições edáficas e climáticas); e uma preocupação especial com relação aos métodos de levantamento e análise, enfatizando a análise numérica.

Realçando esta preocupação com relação aos métodos, Gibbs et al. (1980) afirmam que o método deve fornecer máxima informação, com menor tempo de trabalho no campo e que em qualquer levantamento fitossociológico a qualidade do resultado da informação sobre a composição e estrutura da comunidade será de acordo com o método de amostragem empregado e o esforço despendido na coleta dos dados.

Cottam & Curtis (1959), ao comparar os resultados obtidos aplicando uma parcela e quatro métodos de amostragem por distância, na mesma floresta, em Wisconsin (EUA), concluíram que o método de quadrantes é superior aos outros métodos de distância para fornecer dados sobre as espécies, por ponto, e é menos tendencioso.

Os métodos adotados em levantamentos fitossociológicos têm sido ora o de quadrantes, ora o de parcelas, com ligeira predominância para o de parcelas. O limite diamétrico de inclusão também tem variado, mas há uma tendência de se padronizar em 5cm. O tamanho e a forma das parcelas e a área amostrada também variam (Durigan & Leitão Filho 1995).

Os primeiros levantamentos fitossociológicos no Brasil empregaram o método de parcelas (Heindjik & Campos apud Martins 1989). O método de quadrantes foi introduzido por Martins (1979), em estudo realizado no Parque Estadual de Vassununga, município de Santa Rita do Passa Quatro, SP.

Ao comparar os métodos de quadrantes e de parcelas, para uma floresta em Mogi-Guaçu, SP, Gibbs et al. (1980) concluíram que o método de quadrantes estimou melhor o número de



indivíduos das espécies dominantes e, além disso, utiliza um terço do tempo necessário para a amostragem por parcelas. No entanto, um quinto das espécies raras não foi amostrado por nenhum dos dois métodos (o número de espécies do fragmento era conhecido, devido a trabalhos anteriores). Com isso, os autores recomendam que seja utilizado o método de quadrantes, mais um levantamento florístico ao acaso. Trata-se do primeiro trabalho de comparação entre métodos fitossociológicos para florestas tropicais.

Já em estudo realizado por Pagano et al. (1995) em Floresta Estacional Semidecidual, os autores utilizaram o método de parcelas múltiplas e compararam estes resultados com estudo realizado anteriormente, na mesma área, por Pagano & Leitão-Filho (1987), onde foi empregado o método de quadrantes. Foram encontradas diferenças nos resultados, tanto na composição florística como na estrutura fitossociológica, obtendo um número maior de espécies com o método de parcelas.

Em estudo recente, Rocha (2003), avaliou métodos de parcela e de quadrantes para laudos de perícia ambiental, constatando que o método de quadrantes não apresenta diferença estatisticamente significativa dos dados de volume levantados pelo método de parcelas, sendo que o método de quadrantes apresenta, ainda, a vantagem de ser de fácil aplicação em campo, demandar menor tempo e ser eficiente na amostragem florística.

No entanto, Gorenstein (2002) observou que o método de quadrantes apresenta viés na estimativa de densidade absoluta, superestimando-a em comunidades com padrão de distribuição regular e subestimando-a em comunidades com padrão de distribuição agrupado, pois o método pressupõe que o padrão de distribuição das árvores é completamente aleatório. Mas não se sabe a influência deste viés nos parâmetros relativos (IVI e IVC) do estudo fitossociológico.

Durigan et al. (2000) recomendam o método de quadrantes principalmente quando o objetivo é amostrar riqueza e diversidade, pois este método abrange uma área maior, amostrando um maior número de microhabitats e, portanto, mais espécies. O método de parcelas é recomendado pelos autores para estudos fitossociológicos, por possibilitar a elucidação das correlações espaciais da vegetação com outros fatores ambientais, tanto físicos como bióticos e também temporais, pela possibilidade de reavaliações periódicas, quando usadas parcelas permanentes, associando a levantamentos florísticos fora da área das parcelas, resolvendo assim a desvantagem de amostrar menos espécies que o método de quadrantes.

Ao estudar a dinâmica de um fragmento de Floresta Estacional Semidecidual, Manzatto (2001) reafirma que o método de quadrantes mostrou-se adequado na caracterização da riqueza local das espécies e possibilita assim uma melhor caracterização do mosaico florestal da própria heterogeneidade ambiental do fragmento.

Em mais um estudo comparativo de métodos para levantamentos fitossociológicos, Vanini (1999) comparou o método de parcelas fixas com o método de parcelas variáveis (Bitterlich), para caixetais. A autora concluiu que o método de área variável amostrou satisfatoriamente o número



de espécies, demandando um tempo dois terços menor do que o método de área variável. O fato de que os caixetais não têm sub-bosque desenvolvido facilita o uso do método de área variável.

Uma característica comum a estes estudos comparativos é que, geralmente, são utilizados os resultados obtidos na amostragem por parcelas como referência para comparar os resultados obtidos com o método de quadrantes (ou outro). O presente trabalho apresenta a possibilidade de comparar ambos os resultados com aqueles encontrados na parcela permanente, que representa o censo da população estatística em estudo, fornecendo assim dados mais precisos na avaliação do viés de cada método.

A discussão, entretanto, não acaba com a escolha do método a ser empregado, pois a intensidade amostral adequada para cada situação é de extrema importância, já que toda comunidade florestal tem uma área mínima de amostragem que, abaixo dela, a comunidade não se expressa (Rodrigues 1989).

Sendo assim, uma questão importante refere-se ao tamanho amostral: que tamanho deve ter a amostra, de modo a fornecer um número total de indivíduos ou uma área total, na qual as abundâncias relativas das espécies estejam "suficientemente" representadas? (Martins & Santos 1999).

A curva do coletor tem sido geralmente usada para verificar a área mínima a ser amostrada, ou suficiência amostral. Esta é uma interpretação incorreta da função da curva. Cada vez que se somam as unidades amostrais para expressar o tamanho cumulativo da amostra, a soma inclui todas as unidades amostrais anteriores, de forma que cada área acumulada é totalmente dependente da área acumulada anteriormente. Os problemas com esse tipo de curva são muitos. Um deles refere-se à ordenação das unidades amostrais. Dependendo da forma como elas são ordenadas, o formato da curva será diferente (Martins & Santos 1999).

Mesmo assim, a maioria dos trabalhos emprega a curva do coletor e a julga como suficiente para indicar que os resultados provenientes daquela amostragem são livres de incerteza. Além disso, são analisadas, geralmente, as dez primeiras espécies e famílias com os maiores Índices de Valor de Importância (IVI). Este número (10), porém, não é baseado em nenhum estudo estatístico ou de método, podendo resultar em sub-utilizações dos dados gerados – se a confiabilidade da tabela de parâmetros fitossociológicos for maior do que as dez primeiras espécies/famílias - ou inferências errôneas – se a confiabilidade da tabela de parâmetros fitossociológicos for menor do que as dez primeiras espécies/famílias.

Dessa forma, esse trabalho tem como objetivo geral: contribuir com os estudos da eficiência e particularidades dos principais métodos utilizados em levantamentos de vegetação florestal, gerando dados acerca da confiabilidade dos resultados obtidos em cada método, testando a seguinte hipótese: A ordem das espécies na tabela de parâmetros fitossociológicos é alterada de acordo com o método e o esforço amostral empregados.

Para alcançar esse objetivo, serão cumpridas as seguintes ações:



- Conferir e completar no campo os dados de levantamento fitossociológico de 10,24ha de parcela permanente alocada num fragmento de Cerradão no oeste do Estado de São Paulo (E.E. de Assis);
- Simular amostragens, nessa parcela, empregando os métodos de parcela e quadrantes e quatro intensidades amostrais, utilizando dois tamanhos de parcela para parcelas independentes e uma parcela única de 1ha, totalizando assim 13 situações de amostragem (parcela pequena, parcela grande e quadrantes, com quatro intensidades amostrais cada, mais a parcela única);
- Fazer 1.000 simulações para cada situação de amostragem, ou seja, 13.000 simulações ao todo;
- Gerar gráficos e tabelas e compará-los entre si.

### 2.4.3. Material e Método

Os dados obtidos no levantamento realizado pelo Projeto Parcelas Permanentes na EE de Assis, serão checados e completados em campo. Estes dados, coletados em 10,24ha de formação Cerradão, representam o censo da população estatística em estudo, e serão denominados, neste trabalho, de Mapa de Árvore.

Os índices analisados serão aqueles que compõem os principais parâmetros fitossociológicos recomendados por Mueller-Dumbois & Ellenberg (1974): Freqüência, Densidade e Dominância, nos seus valores absolutos e relativos, e os Índices de Valor de Importância (IVI) e Cobertura (IVC).

Estes índices serão analisados através de simulações por computador, com o uso do software R. Serão simuladas amostragens empregando o método de parcelas independentes, o método de quadrantes e uma grande parcela em bloco de 1 hectare. Para cada método serão testadas quatro intensidades amostrais: 1ha; 0,75ha; 0,5ha; e 0,25ha, detalhadas na tabela 1. O número de pontos quadrantes para cada intensidade amostral foi calculado de acordo com o número de árvores amostradas em cada situação, pelas parcelas, sabendo-se que na área ocorrem aproximadamente 2.200 árvores por hectare.

Tabela 1: Situações de amostragem, para diferentes métodos de levantamento fitossociológico e diferentes intensidades amostrais, a serem simuladas na parcela permanentes em estudo na EE de Assis, SP.

Situação	1	2	3	4	5
Área amostrada (m <sup>2</sup> )	10.000	7.500	5.000	2.500	10.000
Parcelas de 10 x 10m	100	75	50	25	Parcela única
Parcelas de 50 x 50m	4	3	2	1	
Pontos quadrantes	550	413	275	138	
Total de situações: 13					



Para cada situação serão feitas 1.000 (mil) simulações, totalizando, desta forma 13.000 simulações (quatro intensidades amostrais e três métodos, mais a parcela única).

Para cada simulação e para o Mapa de Árvore será gerada uma tabela com os principais parâmetros fitossociológicos, sendo que a tabela do Mapa de Árvore fornece os valores paramétricos da população estatística em estudo.

#### 2.4.4. Forma de Análise dos Resultados

Os resultados serão analisados das seguintes formas:

- Estudo do viés (Vício da estimação): a média de cada índice, obtida nas 1.000 simulações, para cada situação, será comparada com os valores paramétricos;
- Estudo de precisão: serão calculados o erro padrão e o intervalo de confiança (95%) para cada um dos conjuntos de 1.000 simulações;
- Estudo da distribuição dos índices: serão gerados e analisados os seguintes gráficos:
  - Gráficos de densidade – para verificar simetria e curtose;
  - Gráficos de probabilidade normal – para verificar a proximidade da distribuição das estimativas dos índices com a distribuição normal;
  - Gráficos Quantil-Quantil – para verificar a proximidade das distribuições das estimativas entre métodos e intensidades amostrais.

#### Referências Bibliográficas

- COTTAM, G.; CURTIS, J.T. The use of distance-measures in phytosociological sampling. *Ecology*, v.37, p.451-460, 1959.
- DURIGAN, G.; LEITÃO-FILHO, H.F. Florística e fitossociologia de matas ciliares do oeste paulista. *Revista do Instituto Florestal*, v.7, n.2, p.197-239, 1995.
- DURIGAN, G.; RODRIGUES, R.R.; SCHIAVINI, I. A heterogeneidade ambiental definindo a metodologia de amostragem da floresta ciliar. In: *Matas Ciliares: conservação e recuperação* (Rodrigues, R.R. & Leitão-Filho, H.F., eds). São Paulo: Edusp: Fapesp, 2000.
- GIBBS, P.E.; LEITÃO-FILHO, H.F.; ABBOTT, R.J. Application of the point centered quarter method in a floristic survey of an area of gallery forest at Mogi-Guaçu, SP, Brazil. *Revista Brasileira de Botânica*, v.3, p. 17-22, 1980.
- GORENSTEIN, M.R. Métodos de amostragem no levantamento da comunidade arbórea em floresta estacional semidecidual. Dissertação de mestrado. Universidade de São Paulo, 2002.
- INSTITUTO FLORESTAL Divisão de florestas e estações experimentais. <http://iflorestsp.br/unidades.htm>. Acesso em 23 março 2004.
- MANZATTO, A.G. Dinâmica de um fragmento de Floresta Estacional Semidecidual no município de Rio Claro, SP: diversidade, riqueza florística e estrutura da comunidade no período de 20 anos (1978-1998). Dissertação de Mestrado. Rio Claro: UNESP, 2001.
- MARTINS, F. R. Fitossociologia de florestas no Brasil: um histórico bibliográfico. *Pesquisa série Botânica*, São Leopoldo, 40, 1989.
- MARTINS, F. R. O método de quadrantes e a fitossociologia de uma floresta residual do interior do estado de São Paulo: Parque Estadual de Vassununga. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo, 1979.



- MARTINS, F.R.; SANTOS, F.A.M. Técnicas usuais de estimativa da biodiversidade. Revista Holos 1 (edição especial): 236-267, 1999.
- MUELLER-DUMBOIS, D. & ELLENBERG, H. Aims and methods of vegetation ecology. New York, Willey & Sons, 1974.
- PAGANO, S.N.; LEITÃO-FILHO, H.F.; CAVASSAN, O. Variação temporal da composição florística e estrutura fitossociológica de uma floresta Mesófila Semidecídua. Revista Brasileira de Biologia, v.55, n.2, p.241-258, 1995.
- PAGANO, S.N.; LEITÃO-FILHO, H.F.; SHEPHERD, G.J. Estudo fitossociológico em mata mesófila semidecídua no município de Rio Claro (Estado de São Paulo). Acta Botanica Bras. 10:49-61, 1987.
- ROCHA, F.T. Levantamento florestal na Estação Ecológica dos Caetetus como subsídios para laudos de desapropriação ambiental. Dissertação de Mestrado. Universidade de São Paulo, 2003.
- RODRIGUES, R.R. (org.) 2º Relatório Temático do Projeto Parcelas Permanentes. Relatório Científico II. Disponível no endereço <http://www.lerf.esalq.usp.br/parcelas/relatorio2.pdf>. Acesso em 25 mar 2004.
- RODRIGUES, R.R. Análise estrutural das formações ripárias. In: SIMPÓSIO SOBRE MATA CILIAR, 1. São Paulo, 1989. Anais. Campinas: Fundação Cargil, 1989.
- VANINI, A. Estudo comparativo de dois métodos de amostragem fitossociológica em caixetais. Dissertação de Mestrado. Piracicaba: ESALQ, 1999.



## **2.5. Reconstrução paleoambiental (vegetação e clima) nos Parques Estaduais da Ilha do Cardoso e Carlos Botelho-SP durante o Quaternário tardio**

Elaine Vidotto

Luiz C. R. Pessenda

Susy E. M. Gouveia

Frésia S. Ricardi-Branco

José A. Bendassolli

Ramon Aravena

Antonio A. Buso Júnior

### Resumo.

Neste capítulo, apresentam-se os conceitos básicos sobre a utilização dos isótopos estáveis  $^{12}\text{C}$  e  $^{13}\text{C}$  e o radioativo  $^{14}\text{C}$  da matéria orgânica do solo (MOS) e da palinologia, em estudos de reconstrução paleoambiental relativos às trocas de vegetação. Descrevem-se as características isotópicas das plantas de ciclo fotossintético  $\text{C}_3$  (árvores e algumas gramíneas),  $\text{C}_4$  (maioria das gramíneas) e CAM (orquídeas), com seus respectivos intervalos de variação natural e a determinação da idade  $^{14}\text{C}$  em anos A.P. Expõem-se sucintamente os métodos físico e químico de extração da fração humina da MOS, a síntese de benzeno desse material e a detecção do  $^{14}\text{C}$  por espectrometria de cintilação líquida de baixo nível de radiação de fundo. Descrevem-se também o tratamento químico das amostras de solos para a extração do pólen e o procedimento para análise e contagem dos grãos de pólen, bem como a construção dos diagramas polínicos. Apresenta-se nesse capítulo o estudo que vem sendo desenvolvido no Parque Estadual da Ilha do Cardoso (PEIC) e no Parque Estadual Carlos Botelho (PECB) com o objetivo de obter um aumento dos registros paleoambientais baseados em dados polínicos de manguezais e isotópicos da MOS em florestas tropicais, visando contribuir com os estudos de reconstrução vegetacional e climática durante o Pleistoceno tardio e Holoceno na região Sudeste do Brasil.

### 2.5.1. Introdução

O interesse em pesquisas do Quaternário ( $\cong$  1,8 milhões de anos) está voltado especialmente aos fatos ocorridos após a última glaciação ( $\cong$  20.000 anos) que causaram mudanças climáticas em todo o planeta. Os períodos glaciais e interglaciais causaram mudanças no padrão climático, com consideráveis variações na temperatura, chuvas e umidade relativa.

O estudo das variações vegetacionais e climáticas ocorridas no Quaternário tardio (Pleistoceno superior e Holoceno) no Brasil iniciaram-se com os registros palinológicos de sedimentos lacustres da Amazônia (Absy & Van der Hammen, 1976; Absy, 1979; Colinvaux, 1987), do Brasil Central (Ledru, 1993; Salgado-Labouriau *et al.*, 1997) e das regiões Sul e Sudeste



(Lorscheitter, 1983; De Oliveira, 1992; Behling, 1995a, b). O cenário paleovegetacional fornecido pela análise palinológica, apesar da falta de dados paleoecológicos sobre várias formações vegetais do Brasil, tem proporcionado subsídios à elucidação de vários problemas biogeográficos e importantes subsídios para o entendimento das flutuações climáticas que ocorreram no Brasil, especialmente durante o último ciclo glacial. Frentes frias mais intensificadas durante fases glaciais, associadas a mudanças climáticas globais, modelaram a paisagem do atual território brasileiro. A vegetação moderna ainda está se acomodando ante essas mudanças, embora o nível de destruição antropogênica esteja alterando os padrões naturais de estabilização da vegetação, proporcionada pelos mecanismos da sucessão vegetal (De Oliveira *et al.*, 2005).

A utilização inicial dos isótopos do carbono ( $^{12}\text{C}$ ,  $^{13}\text{C}$  e  $^{14}\text{C}$ ) da matéria orgânica do solo (MOS) nos estudos paleoambientais foi efetuada nas regiões Sul (Londrina-PR) e Sudeste (Piracicaba-SP) (Pessenda *et al.*, 1993a, b; Valência, 1993). A importância dos estudos isotópicos está principalmente associada ao fato de que a técnica pode ser utilizada em todas as regiões brasileiras onde há vegetação nativa e solos relativamente espessos, com pelo menos 2m, cuja cronologia determinada pela datação  $^{14}\text{C}$  da MOS (fração humina) e/ou de fragmentos soterrados de carvão para a profundidade em questão representa, em geral, o Holoceno. Outro aspecto a ser enfatizado é que resultados bastante confiáveis sobre as eventuais trocas de vegetação  $\text{C}_3$  (floresta) e  $\text{C}_4$  (savanas) no passado, até  $\cong 50.000$  anos A.P., podem ser obtidos em transecções de centenas de quilômetros, permitindo-se assim o estudo e interpretação da dinâmica passada e atual com significativo alcance regional, em ecossistemas apresentando ecótonos dos mais variados tipos e dimensões. Quando da aplicação conjunta de estudos fitossociológicos nos locais de trabalho, a relação entre os parâmetros utilizados e os valores dos isótopos estáveis do carbono das camadas superficiais dos solos permite a obtenção de uma calibração entre os dados isotópicos e as coberturas vegetais atuais, aspecto de grande relevância na interpretação dos resultados da dinâmica paleovegetacional.

Com o presente trabalho pretende-se obter um aumento dos registros paleoambientais baseados em dados polínicos de manguezais e isotópicos da matéria orgânica do solo (MOS) em florestas tropicais, visando contribuir com os estudos de reconstrução vegetacional e climática durante o Pleistoceno tardio e Holoceno na região Sudeste do Brasil. Com o aspecto multi e interdisciplinar deste projeto, pretende-se efetuar estudos comparativos envolvendo os registros palinológicos e registros isotópicos nas amostras de solo e plantas. O trabalho também apresentará um estudo comparativo entre os resultados da área costeira (PEIC) com os de uma área continental (PECB).



## 2.5.2. Isótopos estáveis do carbono ( $^{12}\text{C}$ , $^{13}\text{C}$ ) e datação por $^{14}\text{C}$ em estudos de reconstrução paleoambiental

### 2.5.2.1. Isótopos estáveis do carbono

Os isótopos estáveis ocorrem naturalmente na atmosfera, hidrosfera, litosfera e biosfera. Existem átomos de mesmo elemento com massa diferente. Cada elemento tem um isótopo dominante “leve” ( $^{12}\text{C}$ ,  $^{14}\text{N}$ ,  $^{16}\text{O}$ ,  $^{32}\text{S}$ ,  $^1\text{H}$ ) e um ou mais isótopos “pesados” ( $^{13}\text{C}$ ,  $^{15}\text{N}$ ,  $^{17}\text{O}$ ,  $^{18}\text{O}$ ,  $^{33}\text{S}$ ,  $^2\text{H}$ ), com abundância natural menor ou próxima de 1%. Alguns isótopos mais pesados tomam parte das mesmas reações químicas que os leves, porém o fazem em diferentes taxas. As reações químicas e processos físicos, tais como, evaporação e condensação, discriminam os isótopos pesados. O entendimento desses processos na natureza iniciou-se nas décadas de 1950 e 1960, com aplicações práticas na hidrologia, na exploração do petróleo e na geoquímica. Mais tarde, verificou-se que nas plantas há a discriminação dos isótopos do carbono nos processos biológicos do ciclo da fotossíntese e na fixação do  $^{15}\text{N}$  (Berrier & Prosser, 1996).

Na década de 1970, foi demonstrado e aceito que as composições isotópicas das plantas diferiam amplamente e que a relação dos isótopos estáveis do carbono poderia ser utilizada para distinguir os diferentes tipos de ciclos fotossintéticos  $\text{C}_3$  (árvores e algumas gramíneas) e  $\text{C}_4$  (maioria das gramíneas), definida como:

$$\delta^{13}\text{C}(\text{‰}) = \left( \frac{R_{\text{amostra}} - R_{\text{padrão}}}{R_{\text{padrão}}} \right) \times 1000 \quad (1)$$

onde  $R = ^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ , sendo medida por espectrometria de massa na unidade por mil (‰); e  $R_{\text{padrão}}$  = a razão dos isótopos do carbono do padrão PDB (molusco fóssil *Belemnitella americana* da Formação Peedee).

#### 2.5.2.1.1. Fracionamento isotópico pelas plantas $\text{C}_3$

Plantas com ciclo fotossintético  $\text{C}_3$  reduzem o  $\text{CO}_2$  a fosfoglicerato, um composto com três carbonos, via enzima ribulose bifosfato carboxilase/oxigenase (Boutton, 1996). Aproximadamente 85% das espécies de plantas possuem o ciclo  $\text{C}_3$  (Ehleringer *et al*, 1991), e espécies  $\text{C}_3$  são dominantes na maioria dos ecossistemas das regiões boreais aos trópicos. Plantas com ciclos  $\text{C}_3$  têm valores de  $\delta^{13}\text{C}_{\text{PDB}}$  de aproximadamente -32‰ a -22‰, com uma média de -27‰ (Boutton, 1991).

#### 2.5.2.1.2. Fracionamento isotópico pelas plantas $\text{C}_4$

As plantas  $\text{C}_4$  são representadas pela maioria das gramíneas e compreendem 5% das espécies de plantas. A distribuição geográfica e a produtividade relativa de gramíneas  $\text{C}_4$  estão fortemente correlacionadas com temperatura, distribuição sazonal e quantidade de precipitação (Lloyd & Farquhar, 1994).

As plantas  $\text{C}_4$  reduzem o  $\text{CO}_2$  a ácido aspártico ou málico, compostos por quatro carbonos, via enzima carboxilase fosfoenolpiruvato (PEP). Plantas com ciclo  $\text{C}_4$  discriminam menos contra



$^{13}\text{CO}_2$  durante a fotossíntese e, portanto, têm valores de  $\delta^{13}\text{C}_{\text{PDB}}$  maiores do que plantas  $\text{C}_3$ , entre -17‰ e -9‰, com uma média de -13‰ (Boutton, 1991). Assim os intervalos de valores não se sobrepõem e os dois grupos diferem em média de cerca de 14‰.

#### 2.5.2.1.3. Fracionamento isotópico pelas plantas CAM

As espécies CAM compreendem aproximadamente 10% das espécies de plantas e são usualmente suculentas (Bender *et al.*, 1973). Valores de  $\delta^{13}\text{C}$  de -28‰ a -10‰ são encontrados em espécies CAM facultativas, porém para algumas espécies CAM-obrigatórias, os valores isotópicos foram comparáveis aos das plantas  $\text{C}_4$  (Boutton, 1996).

#### 2.5.2.1.4. Fracionamento isotópico da MOS

A mineralização da MOS e os processos associados à formação do húmus em solos induzem a pequenas variações da abundância de  $^{13}\text{C}$ . Geralmente, um pequeno enriquecimento de  $^{13}\text{C}$  pode ser observado do topo para o fundo dos perfis de solo, sendo os horizontes mais profundos 1 a 3‰ mais ricos em  $^{13}\text{C}$  do que o topo do perfil (Stout *et al.*, 1981; Nadelhoffer & Fry, 1988; Balesdent *et al.*, 1993).

Esse enriquecimento da MOS com a profundidade pode ser devido a: (i) alteração da composição isotópica da vegetação com o tempo, como consequência de variações recentes no conteúdo de  $^{13}\text{C}$  no  $\text{CO}_2$  atmosférico; (ii) uma possível decomposição diferencial dos componentes bioquímicos das plantas, os quais são conhecidos isotopicamente heterogêneos; e (iii) um fracionamento isotópico durante a mineralização da MOS. Esse enriquecimento, sendo sempre menor que 4‰, não é grande o suficiente para mascarar a diferença de 14‰ entre a serrapilheira de plantas  $\text{C}_3$  e  $\text{C}_4$  (Boutton, 1996; Roscoe *et al.*, 2000).

Portanto, a MOS, que provém quase exclusivamente da vegetação de cobertura, aparece como um testemunho dos eventos climáticos que ocorreram nos últimos milhares de anos. Com a aplicação dos isótopos estáveis do carbono ( $^{12}\text{C}$ ,  $^{13}\text{C}$ ) é possível determinar a origem dessa MOS (plantas  $\text{C}_3$ ,  $\text{C}_4$  ou mistura de plantas), enquanto a datação por  $^{14}\text{C}$  estabelece a cronologia, como será explicado no item a seguir.

### 2.5.2.2. Carbono 14

#### 2.5.2.2.1. Formação do radionuclídeo $^{14}\text{C}$ na atmosfera

O método da datação por  $^{14}\text{C}$  tem por base a contínua produção do carbono radioativo na alta atmosfera. O radionuclídeo  $^{14}\text{C}$  é formado continuamente na estratosfera, camada superior que se situa aproximadamente a 16 km da superfície terrestre. A reação processa-se quando nêutrons secundários interagem com átomos do elemento  $^{14}\text{N}$  presente nos gases atmosféricos através da reação [ $^{14}\text{N} (n, p) ^{14}\text{C}$ ] (Libby *et al.*, 1949).

A oxidação do  $^{14}\text{CO}_2$  é rápida e, por meio da movimentação atmosférica, distribui-se pelos demais reservatórios naturais, como os oceanos e a biosfera, permanecendo aí de acordo com os respectivos tempos de residência, após sua assimilação e incorporação (Libby *et al.*, 1949).



#### 2.5.2.2.2. Ciclo do $^{14}\text{C}$

As plantas assimilam o  $^{14}\text{C}$  via fotossíntese, formando compostos orgânicos. Os animais, ao se alimentarem dos vegetais, incorporam o radionuclídeo. Durante a vida do organismo, há um equilíbrio entre a atividade específica do  $^{14}\text{C}$  em relação à do ambiente, sendo que a relação  $^{14}\text{C}/^{12}\text{C}$  de todos os seres vivos, em todas as latitudes e longitudes, é observada na mesma proporção. A assimilação é constante durante a vida do organismo, devido à contínua absorção de  $\text{CO}_2$  pelas plantas (Libby *et al.*, 1949).

Quando o equilíbrio é rompido, isto é, quando o organismo morre, ocorre apenas a desintegração radioativa do  $^{14}\text{C}$  que decai em taxa constante. Libby *et al.* (1949) verificaram que a metade do  $^{14}\text{C}$  na atmosfera original teria se desintegrado após 5.568 anos. Estimou-se que o  $^{14}\text{C}$  estaria presente numa amostra entre  $\cong 50.000$  e  $60.000$  anos, ou após dez meias-vidas. A desintegração radioativa do  $^{14}\text{C}$  se faz por emissão da partícula  $\beta^-$ , ou de um elétron, que possui uma energia máxima de  $0,156$  MeV, formando o  $^{14}\text{N}$  estável ( $^{14}\text{C} \rightarrow ^{14}\text{N} + \beta^-$ ).

A meia vida  $T$  (tempo necessário para que a atividade se reduza à metade) do  $^{14}\text{C}$  de  $5.730$  anos  $\pm 30$  anos foi determinada com precisão pelo *National Bureau of Standard*, em 1961. Na 5ª Conferência sobre a Datação por  $^{14}\text{C}$ , realizada nos Estados Unidos em 1962, adotou-se o valor de  $T = 5.568 \pm 30$  anos, que apresenta um erro da ordem de 3%, uniformizando os resultados obtidos por diversos laboratórios durante a implantação do método nos anos de 1950 (Pessenda, 1998).

A atividade de uma amostra depende do número total de núcleos radioativos presentes e de uma probabilidade de decaimento ( $\lambda$ ) constante para cada nuclídeo. A atividade do  $^{14}\text{C}$  pode ser determinada pela equação:

$$A = A_0 \cdot e^{-\lambda t} \quad (2)$$

onde:  $t$  = tempo decorrido após a morte do organismo,  $A$  = atividade específica da amostra no tempo- $t$  qualquer,  $A_0$  = atividade específica da amostra no tempo- $t = 0$ , sendo representada pelo padrão Ácido Oxálico NIST; e  $\lambda$  = constante de desintegração, sendo igual a  $0,693/T$  ( $T$  = meia vida do  $^{14}\text{C}$ ).

A detecção da atividade do  $^{14}\text{C}$  em amostras de origem ambiental pode ser realizada por três técnicas analíticas:

- Espectrometria de Cintilação Líquida de Baixo Nível de Radiação de Fundo (utilizada no Laboratório de  $^{14}\text{C}$  do CENA/USP), em que amostras com aproximadamente 3 g de carbono são sintetizadas em um sistema de vácuo em  $\text{CO}_2$ ,  $\text{C}_2\text{H}_2$  e  $\text{C}_6\text{H}_6$  e o  $^{14}\text{C}$  natural é detectado por cintilação líquida (Pessenda & Camargo, 1991);
- Contador Proporcional Gasoso (CPG), em que amostras com aproximadamente 1 g de carbono são transformadas em  $\text{CO}_2$ ,  $\text{CH}_4$  ou  $\text{C}_2\text{H}_2$  em sistema de vácuo e posteriormente detectadas (Libby *et al.*, 1949; Edwards, 1990); e



- Acelerador de Partículas Acoplado a um Espectrômetro de Massa (*Accelerator Mass Spectrometry – AMS*), onde o carbono da amostra, aproximadamente 300 µg, apresenta-se na forma sólida (grafite). Os passos analíticos até a obtenção do CO<sub>2</sub> purificado são idênticos à cintilação líquida. Após, os átomos do carbono são ionizados, acelerados e detectados (Grootes *et al.*, 1989; Biondi & Fessenden, 1999).

O limite de detecção da técnica permite determinar até aproximadamente 60.000 anos Antes do Presente (A.P.), sendo Presente o ano de 1950, em materiais como carbonatos de águas subterrâneas, matéria orgânica do solo, turfas, conchas, madeiras, fragmentos de carvão, celulose, ossos etc.

Para a datação de amostras, assume-se que a concentração de <sup>14</sup>C manteve-se constante no passado. No entanto, foram determinadas variações de <sup>14</sup>C, devido às mudanças no campo magnético terrestre, no fluxo de radiações cósmicas causadas por intensidade da atividade solar, em alterações geoquímicas nos reservatórios naturais do <sup>14</sup>C e na troca entre eles. Tais variações foram determinadas pela correlação das datações com cronologias de anéis de crescimento de árvores de clima temperado, em sedimentos de lagos e em bolhas de ar preservadas no gelo de glaciais etc. Essas alterações são consideradas no processo de datação das amostras (Suess, 1967; Bucha, 1970; Jong & Mook, 1980; Olsson, 1980; Pessenda *et al.*, 1993b; Lisi *et al.*, 1996).

A técnica de datação por <sup>14</sup>C tem sido utilizada em muitos estudos da matéria orgânica do solo (MOS) desde a década de 50, por possibilitar o acompanhamento de processos de deposição ao longo do perfil, verificar a estabilidade das diferentes frações e estimar a cronologia da formação da MOS do solo.

Devido à complexidade da formação do solo, questionamentos referem-se sobre qual é a fração ideal da MOS a ser datada. O acúmulo de restos vegetais, madeira, folhas e raízes no solo produz um fornecimento contínuo de matéria orgânica fresca (Campbell *et al.*, 1967; Goh *et al.*, 1976; Martel & Paul, 1974; Scharpenseel *et al.*, 1968 e Trumbore, 1996), a qual passa por uma série de processos químicos levando à liberação de carboidratos, proteínas e ligninas, componentes orgânicos com diferentes ciclos de degradação.

Outro aspecto é a contaminação dos solos com carbono jovem, cujas fontes mais importantes são: invasão de raízes, infiltração de compostos orgânicos dissolvidos em água, influência de microorganismos e da fauna do solo, resultando no rejuvenescimento das datações obtidas.

Desta forma, na determinação da datação de solos pelo método de <sup>14</sup>C, materiais como madeira e fragmentos de carvão são normalmente preferíveis aos componentes da MOS. Os fragmentos de carvão encontrados nos solos são considerados biologicamente inertes e fisicamente estáveis em relação a trocas isotópicas com o meio externo, sendo desta forma um dos materiais mais apropriados para a datação por <sup>14</sup>C. Na maioria dos solos, no entanto, tais materiais são ausentes ou presentes em quantidades muito pequenas para serem datados pelos métodos convencionais (cintilação líquida e proporcional gasoso).

Um estudo realizado com o objetivo de comparar as datações da fração humina com as datações <sup>14</sup>C de fragmentos de carvão soterrados em profundidades similares mostrou que em



geral houve uma boa concordância entre as datações dos fragmentos de carvão e da fração humina, até aproximadamente 150 cm de profundidade, sendo as datações dos fragmentos de carvão em média 10% mais antigas na profundidade 200 cm. Portanto, uma estimativa da datação da MOS pode ser obtida através da datação da fração humina, principalmente no que se refere aos primeiros 150 cm de profundidade (Gouveia & Pessenda, 1999; Gouveia, 2001; Pessenda *et al.*, 2001).

### 2.5.3. Palinologia do Quaternário como indicadora de trocas de vegetação e clima

O conhecimento dos ecossistemas pretéritos por meio do estudo estratigráfico dos fósseis contidos em sedimentos fornece subsídios à compreensão da evolução ecológica de uma região e de suas possíveis mudanças. Entre esses fósseis podemos citar os grãos de pólen, que são fontes seguras de informação sobre a vegetação que esteve presente em diferentes áreas da Terra em épocas diversas.

O pólen, juntamente com os demais palinóforos (todas as formas de microfósseis encontradas nas preparações palinológicas), se deposita na superfície, em locais com condições favoráveis de sedimentação, tais como, lagos, pântanos, turfeiras e terrenos alagadiços. Nestes locais o pólen é preservado e vai se depositando em camadas. Com o acúmulo dessas camadas sucessivas, os depósitos vão se estratificando ao longo do tempo geológico.

Em 1916 o geólogo sueco Lennart von Post publicou um trabalho pioneiro realizado no sul da Suécia sobre a importância do pólen fóssil como instrumento para se interpretar a história climática e da vegetação. Este trabalho demonstrou que por meio de sondagens em turfeiras poder-se-ia retirar amostras em diferentes profundidades e após o devido tratamento químico (para destruir tudo o que não fosse pólen), identificar e contar os grãos de pólen para a reconstituição da flora e, conseqüentemente, do clima da região estudada (Salgado-Labouriau, 1961).

A metodologia para a interpretação paleoecológica, a partir da análise palinológica, fundamenta-se no fato de que todos os tipos polínicos conservados em testemunhos do Quaternário são suscetíveis de comparação com gêneros modernos, uma vez que não ocorreu extinção de plantas (Barberi, 2001).

Os grãos de pólen e os esporos possuem um envoltório externo, a exina, constituída de esporopolenina, que é elástica e tem grande resistência ao ataque por agentes químicos redutores, possibilitando a preservação dos grãos quando depositados em ambientes redutores, como lagoas e turfeiras. Além disso, possuem características morfológicas próprias como formas, dimensões, ornamentações e aberturas, que permitem sua classificação em grupos taxonômicos distintos (Salgado-Labouriau, 1984).

As variações climáticas ocorridas no Pleistoceno e Holoceno provocaram mudanças na vegetação, as quais foram registradas pelo conteúdo polínico dos sedimentos. A análise palinológica tornou-se uma ferramenta importante dentro dos estudos paleoclimáticos do



Quaternário em regiões continentais, complementando os dados provenientes de testemunhos marinhos e de gelo (Bradley, 1999). Porém, é importante lembrar que o registro palinológico do Quaternário também engloba mudanças na cobertura vegetal causadas por alterações antropogênicas, tais como o uso da terra para monoculturas, queimadas, etc. Estas mudanças também podem ser registradas pelas assembléias polínicas. Por isso, é importante saber qual é a escala temporal e espacial do estudo polínico, para poder separar os sinais climáticos dos causados por outros fatores (Amaral, 2003).

As reconstituições paleoambientais/paleoclimáticas através da palinologia são possibilitadas por quatro atributos básicos dos grãos de pólen (Faegri & Iversen, 1989; Bradley, 1999):

- determinação da família, gênero e algumas vezes espécie vegetal, através das características morfológicas dos grãos de pólen;
- produção em grande quantidade e alta capacidade de dispersão pelo vento, água, insetos ou animais;
- são extremamente resistentes à degradação em determinados ambientes sedimentares;
- refletem a vegetação no tempo da deposição do pólen.

O estudo dos mecanismos de dispersão, transporte e deposição de pólen e esporos, em ambientes atuais, é fundamental para utilização destes elementos como indicadores paleoambientais. A compreensão destes mecanismos indicará o quanto de pólen e esporos despositados em sedimentos de uma determinada região refletem a vegetação circunvizinha (Amaral, 2003).

Os diferentes tipos de vegetação possuem alguns elementos característicos que podem defini-las. Os representantes de tipos específicos da vegetação são chamados de *taxa* indicadores e os estudos da chuva polínica moderna são necessários para definir esses *taxa*. Uma vez definida a associação de *taxa* indicadores, esta pode ser utilizada como indicadora de parâmetros climáticos responsáveis por mudanças da vegetação, tais como, a duração da estação seca ou a temperatura média no inverno (Ledru, 2002).

Os manguezais também são bons locais para estudos palinológicos, principalmente os que se desenvolvem em substratos lamosos, pois são propícios para a deposição e preservação dos grãos de pólen. Além disso, o substrato lamoso dos manguezais é normalmente anóxico e esta condição garante a boa preservação do registro polínico.

Entretanto, alguns aspectos da sedimentação dentro do manguezal devem ser levados em consideração ao se realizar a análise palinológica. Como os manguezais ocupam a zona de intermaré, os sedimentos podem ser redistribuídos por correntes de maré, causando mistura do registro palinológico. Outro aspecto importante a ser considerado é a remobilização dos sedimentos por agentes bioturbadores, como os caranguejos.

Os estudos dedicados à interpretação do registro palinológico em manguezais têm demonstrado que, apesar das limitações impostas pela bioturbação e redistribuição dos sedimentos pela ação da maré, os resultados da análise palinológica podem fornecer informações



importantes sobre a história da vegetação neste ecossistema, além de contribuir com dados para a reconstrução de alterações do nível do mar e da evolução sedimentar costeira (Blasco *et al.*, 1996; Suguio, 1999; Grindrod *et al.*, 2002).

#### 2.5.4. Estudo paleoambiental nos Parques Estaduais da Ilha do Cardoso e Carlos Botelho.

##### 2.5.4.1. Metodologia

###### 2.5.4.1.1. Vegetação

A base de interpretação de estudos do Quaternário que visam reconstruir mudanças paleoambientais (paleovegetação e paleoclima) deve ser feita a partir da análise da paisagem atual. Assim, necessita-se conhecer quais os fatores que influem na dinâmica atual do local de estudo, como por exemplo, o tipo de vegetação presente na área e o clima da região.

A florística e a estrutura da vegetação de restinga presente no PEIC e da mata atlântica de encosta, no PECB, está bem caracterizada no Projeto Parcelas Permanentes - Biota e há ainda outros estudos disponíveis para a mata de encosta e para o mangue. Desse modo pretende-se um acesso a esses dados da vegetação, que são de suma importância para o desenvolvimento desse projeto.

Neste estudo será analisada a composição isotópica ( $\delta^{13}\text{C}$ ) foliar das plantas, onde serão enviadas aproximadamente 4 mg das amostras coletadas em cada área, após terem sido lavadas, secas, moídas e pesadas, ao Laboratório de Isótopos Estáveis do CENA/USP, para a determinação de  $^{13}\text{C}$  em um espectrômetro de massa ANCA SL 2020 da Europa Scientific. Os resultados serão expressos pela unidade relativa “ $\delta$ ”, determinada em relação ao padrão internacional PDB (equação 1).

###### 2.5.4.1.2. Solos

###### 2.5.4.1.2.1. Amostragem.

Para a datação por  $^{14}\text{C}$  da MOS, serão feitas trincheiras de aproximadamente 100 cm de largura x 200 cm de comprimento x até 400 cm de profundidade, de onde serão coletados aproximadamente 5 kg de solo por camada, a cada 10 cm, no sentido das camadas inferiores para as superiores. As amostras de solo serão acondicionadas em sacos plásticos e identificadas. Tradagens serão realizadas para a coleta de amostras para a determinação isotópica ( $\delta^{13}\text{C}$ ).

Tanto no PEIC como no PECB as trincheiras e as tradagens serão realizadas fora da área da parcela permanente, a uma distância de aproximadamente 100 metros, que será escolhida em função da condição dominante dentro da parcela, que melhor represente aquela formação em termos de florística e de características ambientais.



No laboratório as amostras serão passadas em peneiras de malha grossa para o destorroamento e, durante o peneiramento, fragmentos de carvão, restos de raízes, folhas, insetos, etc. serão separados. Após secagem, as amostras serão passadas em peneiras de malha de 2 mm, obtendo-se desta forma a terra fina seca ao ar (TFSA).

#### 2.5.4.2.2.2. Granulometria.

A análise granulométrica dos solos será realizada no Laboratório de Análises de Solos do Departamento de Ciência do Solo - ESALQ/USP, através do método do densímetro (Kiehl, 1979).

#### 2.5.4.1.2.3. Carbono orgânico total.

Partindo-se de 80 mg de TFSA peneirada a 0,210 mm será determinado o carbono orgânico total, no Laboratório de Isótopos Estáveis do CENA/USP, em analisador elementar acoplado a um espectrômetro de massa ANCA SL 2020, da Europa Scientific.

#### 2.5.4.1.2.4. Composição isotópica (d13C).

Serão enviados aproximadamente 80 mg de TFSA, peneirada a 0,210 mm, ao Laboratório de Isótopos Estáveis do CENA/USP, para a determinação da composição isotópica da MOS (equação 1).

#### 2.5.4.1.2.5. Análise do $^{14}\text{C}$ .

##### 2.5.4.1.2.5.1. Extração química da humina.

Partindo-se de aproximadamente 500 g de TFSA peneirada a 0,21 mm a amostra será submetida a pré-tratamento físico e flotações (HCl 0,01M) para a retirada de resíduos orgânicos como fragmentos de carvão, raízes e insetos. A amostra será submetida a tratamentos ácido (HCl 0,5M, 80°C, 4 h), alcalino (Na<sub>4</sub>P<sub>2</sub>O<sub>7</sub> e NaOH 0,1N, pH 13) e novamente ácido (HCl 3M, 100°C, 12 h) para a eliminação dos ácidos húmicos, fúlvicos, resíduos orgânicos (açúcares, proteínas, gorduras) e contaminação com CO<sub>2</sub> atmosférico. Após lavagem final com água destilada até atingir pH 6-7, o resíduo será seco em bandejas de alumínio a 60°C, desagregado em almofariz de porcelana e acondicionado em sacos plásticos para posterior síntese de benzeno (Pessenda et al., 1996a, 1996b). Os resíduos ácidos/básicos serão neutralizados e descartados.

Devido a baixa concentração de carbono nas amostras da fração humina, a quantidade de benzeno obtida muitas vezes inferior a 1 mL, requer significativa diluição com benzeno espectrográfico, afetando a precisão e exatidão do método. Para se evitar tais problemas, alíquotas de CO<sub>2</sub> da combustão das amostras com teores inferiores a 1 g de carbono serão coletadas em recipientes especiais de vidro e enviadas ao Laboratório Isotracer em Toronto, Canadá, para análises de  $^{14}\text{C}$  por AMS (Accelerator Mass Spectrometry). As amostras com teores maiores serão sintetizadas a benzeno e analisadas no Laboratório de  $^{14}\text{C}$  do CENA/USP pela técnica de cintilação líquida (Pessenda & Camargo, 1991).



#### 2.5.4.1.2.5.2. Síntese do benzeno

Em um sistema fechado sob vácuo a amostra será queimada a uma temperatura de 700°C. O CO<sub>2</sub> produzido será mantido em contato com o lítio metálico previamente aquecido em câmara de reação (600 a 700°C) para a formação do carbeto de lítio (LiC<sub>2</sub>). Ao término da reação, a câmara será resfriada a temperatura ambiente e água destilada será adicionada, ocorrendo a hidrólise do carbeto e a produção do acetileno (C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>). A formação de benzeno ocorrerá pela trimerização do acetileno em contato com um catalisador a 90°C por 2 horas, efetuando-se sua coleta em um "trap" resfriado a -180°C sob vácuo. O benzeno sintetizado será transferido para frascos especiais de vidro, ao qual será adicionado solução cintiladora contendo 43,75 g de PPO e 2,59 g de POPOP por litro de tolueno.

Quando o rendimento de síntese da amostra apresentar-se inferior a 3 mL, o volume será completado com benzeno espectrográfico mineral, levando-se em consideração esta diluição no cálculo final.

#### 2.5.4.1.2.5.3. Cálculo da idade 14C.

A determinação da idade de uma amostra é uma estimativa relativa a atividade residual de 14C medida de uma amostra (Aamostra), em equilíbrio original com a atividade de 14C de um reservatório de carbono (Apadrão). Por convenção, as datações obtidas pelo método de 14C natural são referenciadas como idade 14C convencional em anos AP (Antes do Presente), sendo presente o ano de 1950 e o valor de Apadrão, determinado pela contagem líquida do padrão ácido oxálico proveniente da National Bureau of Standards, normalizado para d13C -25,0‰. Os valores de Aamostra são determinados através da contagem das amostras de benzeno, obtidas a partir dos átomos de carbono das amostras, em espectrômetro de cintilação líquida. Os dados são submetidos a procedimento matemático específico (Pessenda & Camargo, 1991), corrigindo-se a idade 14C convencional para o fracionamento isotópico. Benzeno e tolueno gerados na determinação da atividade 14C serão armazenados para posterior incineração que será efetuada pelo sistema de gerenciamento de resíduos, recentemente implantado no CENA.

### 2.5.4.1.3 Solos do mangue

#### 2.5.4.1.3.1. Coleta dos testemunhos

Os testemunhos do mangue serão coletados através da utilização de um vibrotestemunhador (Martin & Flexor, 1989). Serão utilizados para amostragem tubos de alumínio de 3 polegadas e 6 m de comprimento. Os perfis amostrados serão levados intactos ao laboratório para posterior abertura e descrição macroscópica dos depósitos sedimentares. Assim que as seções de testemunhos são transportadas do campo ao laboratório, devem ser mantidas, se possível, em salas frias com temperatura de 4°C, para evitar o crescimento de fungos e bactérias nos solos. Esses organismos podem interferir na datação por <sup>14</sup>C. Fungos podem metabolizar



compostos de carbono dos solos e podem trocar CO<sub>2</sub> com a atmosfera, durante o processo de respiração, contaminando assim os solos com carbono recente.

#### 2.5.4.1.3.2. Amostragem

As amostras dos testemunhos destinadas para as análises de palinologia, sedimentologia e mineralogia serão coletadas em sacos plásticos a cada 2 cm. As amostras serão mantidas em geladeira até a fase de tratamento químico. Uma reserva de amostras, assim como as alíquotas que não forem analisadas, permanecerão armazenadas em geladeira no laboratório.

#### 2.5.4.1.3.3. Tratamento químico das amostras para extração do pólen

Os estudos palinológicos serão coordenados pela pesquisadora Dra. Fresia S. Ricardi-Branco, do Departamento de Geologia e Recursos Naturais do Instituto de Geociências da UNICAMP. O tratamento químico das amostras seguirá a metodologia clássica estabelecida por Faegri & Iversen (1989) para testemunhos do Quaternário. De uma forma geral, a extração do pólen consiste em dissolver da amostra a ser estudada, tudo que não é pólen, envolvendo as seguintes etapas: a) dissolução de silicatos por HF; b) remoção de colóides de sílica com HCl diluído; c) destruição de ácidos húmicos por solução de KOH; d) centrifugação e lavagem dos resíduos com água destilada e e) montagem de lâminas para observação em microscópio óptico.

O tratamento químico das amostras será realizado no Laboratório 14C do CENA - USP, que é coordenado pelo Prof. Dr. Luiz Carlos Ruiz Pessenda. O volume de cada amostra deverá ser medido com precisão, provavelmente 5g. Todos os tratamentos serão feitos em tubos de centrifuga de 15 ml, com graduações. Recomenda-se que os tubos sejam de polipropileno, pois são resistentes a todos os reagentes a serem usados. Depois de cada tratamento os tubos serão centrifugados e o líquido residual será cuidadosamente decantado, para evitar a perda desnecessária de pólen. Em cada etapa do processo, a centrifugação será definida como 3000 rotações por minuto (rpm) durante 10 minutos.

##### 2.5.4.1.3.3.1. Remoção de silicatos com HF

Às amostras serão adicionados HF 70% em quantidade de ácido suficiente para cobri-las. As amostras permanecerão no ácido por no mínimo 18 horas. Para a retirada do HF, centrifuga-se as amostras. Após a centrifugação, o HF será descartado em um recipiente de plástico para posterior neutralização. Esse ácido nunca deverá ser descartado na pia.

##### 2.5.4.1.3.3.2. Remoção de colóides de sílica com HCl ( a quente)

Após a retirada do HF adiciona-se HCl 50%. As amostras serão deixadas em banho-maria por 10 minutos. Para a retirada do HCl centrifugam-se as amostras. Repete-se o processo até o ácido sair incolor. Centrifugam-se as amostras com água destilada por duas vezes.

##### 2.5.4.1.3.3.3. Destruição de ácidos húmicos por solução de 10% de KOH



Para a retirada dos ácidos húmicos utiliza-se KOH 10%. As amostras imersas em KOH serão deixadas em banho-maria por 10 minutos. Deve-se mexer as amostras ocasionalmente. Para a retirada do KOH centrifugam-se as amostras. Repete-se o procedimento até o KOH sair incolor. Centrifugam-se as amostras com água destilada por duas vezes.

#### 2.5.4.1.3.3.4. Separação dos palinomorfos por densidade

Após as lavagens com água destilada adiciona-se cloreto de zinco ( $ZnCl_2$ , densidade =  $2,0g/cm^3$ ) às amostras. Centrifuga-se e passa-se o sobrenadante para outro tubo de vidro e descarta-se o precipitado. Ao sobrenadante junta-se HCl (25%) para abaixar a densidade e precipitar o material de interesse. Centrifugam-se as amostras e, ao final do processo descarta-se o ácido e lava-se o material precipitado por três vezes com água destilada.

Após o tratamento químico deixam-se as amostras em repouso por 30 minutos, em uma solução de glicerina 10%, para a re-hidratação dos grãos de pólen e esporos. Retira-se essa solução com a centrifugação das amostras. Ao resíduo final adiciona-se, em média, 5 gotas de glicerina.

#### 2.5.4.1.3.3.5. Contagem e identificação dos grãos e construção dos diagramas polínicos

Após a montagem das lâminas iniciar-se-á o processo de contagem e identificação dos grãos de pólen que serão efetuadas em microscópio óptico no Laboratório  $^{14}C$  do CENA com objetivas de 40x e 100x. Em cada amostra serão contados em média 250 a 300 grãos de taxa de árvores e herbáceas. A determinação dos tipos polínicos será feita com ajuda de coleção de referência da Prof<sup>a</sup>. Dra. Frésia Ricardi-Branco, além de consultas a diversos atlas polínicos (Absy, 1975; Markgraf & D'Antoni, 1978; Roubik & Moreno, 1991; Colinvaux *et al.*, 1999) e coleção de referência que está sendo montada no Laboratório de  $^{14}C$  do CENA.

Os diagramas polínicos devem sintetizar os resultados da pesquisa da forma mais clara possível, de modo a permitir ao leitor visualizar as variações quantitativas e qualitativas dos dados obtidos.

#### 2.5.4.1.3.4. Datação por $^{14}C$

Estima-se selecionar cerca de 10-15 amostras na totalidade dos testemunhos estudados, que serão pré-tratadas fisicamente para remoção de folhas, insetos, raízes, etc. e quimicamente com HCl 4-8% por 4-6 h a temperatura de 80°C. Posteriormente serão secas em estufa a 55°C por 48 horas e efetuada a síntese de benzeno e detecção do  $^{14}C$  por espectrometria de cintilação líquida no Laboratório de  $^{14}C$  do CENA. No caso de amostras com teores inferiores a 1,5 g de carbono serão enviadas em cápsulas de vidro, na forma de  $CO_2$ , ao Laboratório Isotracer no Canadá para determinação da idade pelo método do  $^{14}C$  por AMS.

#### 2.5.4.1.3.5. Composição isotópica ( $\delta^{13}C$ ) e carbono orgânico total



Após tratamento ácido (HCl 4% a 70°C durante 5h) e pesagem, serão enviados aproximadamente 20 mg das amostras ao Laboratório de Isótopos Estáveis do CENA/USP, para a determinação de  $^{13}\text{C}$  e carbono orgânico total em analisador elementar acoplado a um espectrômetro de massa ANCA SL 2020 da Europa Scientific. Os resultados são expressos pela unidade relativa “ $\delta$ ”, determinada em relação ao padrão internacional PDB (equação 1):

### 2.5.5. Considerações finais

O número de trabalhos utilizando registros palinológicos de manguezais no Brasil é bastante limitado, assim como os estudos isotópicos da MOS em restingas visando a reconstrução paleoambiental em relação à vegetação e ao clima. Este estudo deverá reforçar de forma significativa os estudos de mudanças vegetacionais e climáticas ocorridas durante o Pleistoceno tardio e o Holoceno na região Sudeste do Brasil.

O Projeto Parcelas Permanentes tem como objetivo geral fazer a caracterização ambiental detalhada das quatro principais formações florestais ocorrentes no Estado de São Paulo, entre elas, Floresta de Restinga no Parque Estadual da Ilha do Cardoso e Floresta Úmida de Encosta no Parque Estadual Carlos Botelho. Pretende-se com o presente trabalho obter um registro da vegetação existente nos locais de estudo nos últimos 20.000 anos A.P. e também um registro de eventuais variações climáticas que tenham ocorrido neste período.

### 2.5.6. Referências bibliográficas

- Absy, M. L. 1975. Polen e Esporos do Quaternário de Santos (Brasil). *Hoehnea*, 5: 1-26.
- Absy, M.L. 1979. *A palynological study of Holocene sediments in the Amazon Basin*. Amsterdam. 84p. Thesis – University of Amsterdam.
- Absy, M.L. & Van der Hammen, T. 1976. Some paleoecological data from Rondonia, Southern part of Amazon Basin. *Acta Amazônica*, 6(3): 283-299.
- Amaral, P.G.C. 2003. Contribuição palinológica ao estudo da evolução do manguezal do Rio Itanhaém, litoral sul de São Paulo. São Paulo, 71p. Dissertação (Mestrado) - Instituto de Geociências, Universidade de São Paulo.
- Balesdent, J.; Girardin, C.; Mariotti, A. 1993. Site-related  $\delta^{13}\text{C}$  of tree leaves and soil organic matter in a temperate forest. *Ecology*, 74: 1713-1721.
- Barberi, M. 2001. Mudanças paleoambientais na região dos cerrados do Planalto Central durante o Quaternário tardio: o estudo da Lagoa Bonita, DF. São Paulo, 210p. Tese (Doutorado) - Instituto de Geociências, Universidade de São Paulo.
- Behling, H. 1995a. A high resolution Holocene pollen record from Lago do Pires, SE Brazil: vegetation, climate and fire history. *Journal of Paleolimnology*, 14(3): 253-268.
- Behling, H. 1995b. Investigations into the Late Pleistocene and Holocene history of vegetation and climate in Santa Catarina (S Brazil). *Vegetation History and Archaeobotany*, 4(3): 127-152.
- Bender, M.M.; Rouhani, I.; Vines, M.; Black Jr., C.C. 1973.  $^{13}\text{C}/^{14}\text{C}$  ratio change in crassulacean acid metabolism plants. *Plant Physiology*, 52: 427-430.
- Berrier, A. & Prosser, J.S. 1996. Automated analysis of light-element stable isotopes by isotope ratio mass spectrometry. In: Boutton, T.W. & Yamasaki, S.I. (Ed.). *Mass spectrometry of soils*. New York: Marcel Dekker. p.1-17.



- Biondi, F. & Fessenden, S.E. 1999. Radiocarbon analysis of *Pinus lagunae* tree rings. Implications for tropical dendrochronology. *Radiocarbon*, 41(3): 241-249.
- Blasco, F.; Saenger, P., Janodet, E. 1996. Mangroves as indicators of coastal change. *Catena*, 27: 167-178.
- Boutton, T.W. 1991. Stable carbon isotope ratios of natural materials. II. Atmospheric, terrestrial, marine and freshwater environments. In: Coleman, D.C.; Fry, B. (Ed). *Carbon isotope techniques*. New York: Academic Press, p.155-171.
- Boutton, T.W. 1996. Stable carbon isotope ratios of soils organic matter and their use as indicators of vegetation and climate change. In: Boutton, T.W.; Yamasaki, S.I. (Ed). *Mass spectrometry of soils*. New York: Marcel Dekker, p.47-82.
- Bradley, R.S. 1999. *Paleoclimatology reconstruction climates of the Quaternary*. Harcourt / Academic Press, San Diego, USA, 613p.
- Bucha, V. 1970. Influence of the earth's magnetic field on radiocarbon dating. In: Olsson, I.U. (Ed.). *Radiocarbon variations and absolute chronology*. Stocholm: Almqvist and Wiksell, p.501-510.
- Campbell, C.A.; Paul, E.A.; Rennie, D.A.; McCallum, K.J. 1967. Factores affecting the accuracy of the carbon-dating method in soil humus studies. *Soil Science*, 1(2): 81-85.
- Colinvaux, P.A. 1987. Amazon diversity in light of the paleoecological records. *Quaternary Science Reviews*, 6:63-114.
- Colinvaux, P.A.; DE Oliveira, P.E.; Patiño, J.E.M. 1999. *Amazon Pollen Manual and Atlas*. Harwood Academic Publishers. The Netherlands, 332p.
- De Oliveira, P.E. 1992. *A palynological record of late Quaternary vegetational and climatic change in Southeastern Brazil*. 134p. Columbus. Dissertation (Ph.D.) – The Ohio State University.
- De Oliveira, P.E.; Behling, H.; Ledru, M.P.; Barberi, M.; Salgado-Labouriau, M.L.; Garcia, M.J.; Medeanic, S.; Barth, O.M.; Barros, M.A.; Scheel-Ybert, R. 2005. Paleovegetação e Paleoclimas do Quaternário do Brasil. In: Souza, C.R.G.; Suguio, K.; Oliveira, A.M.S.; De Oliveira, P.E. (Ed.). *Quaternário do Brasil*, Ribeirão Preto, Holos Editora, p.52-74.
- Domingues, E.N & Silva, D.A. 1988. Geomorfologia do Parque Estadual de Carlos Botelho (SP). *Boletim Técnico do Instituto Florestal*, 42: 71-105.
- Edwards, T.W.D. 1990. *Examples and critiques of quaternary dating methods*. Waterloo: University of Waterloo. (Short Course, 3).
- Ehleringer, J.R.; Sage, R.F.; Flanagan, L.B.; Pearcy, R.W. 1991. Climate change and the evolution of C<sub>4</sub> photosynthesis. *Trends in Ecology and Evolution*, 6: 95-99.
- Faegri, K.; Iversen, J. 1989. *Textbook of pollen analysis*, 4<sup>th</sup> ed. Wiley, Chichester.
- Goh, K.M.; Molloy, P.J. 1976. Radiocarbon datinh of palesols using soil organic matter components. *Journal of Soils Science*, 29: 567-573.
- Gouveia, S.E.M. & Pessenda, L.C.R. 1999. Datação da fração humina da matéria orgânica do solo e sua comparação com idades <sup>14</sup>C de carvões fósseis. *Química Nova*, 22(6): 810-814.
- Gouveia, S.E.M. 2001. Isótopos do carbono na avaliação do remonte biológico de Latossolos e Podzólicos e de eventos paleoclimáticos em distintas localidades do Brasil. Piracicaba, 116p. Tese (Doutorado) - Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo.
- Grindrod, J.; Moss, P.; Van Der Kaars, S. 2002. Late Quaternary Mangrove Pollen Records from Continental Shelf and Ocean Cores in the North Australian-Indonesian Region. In: P. Kershaw, B.; David, N.; Tapper, D.; J. Brown (Eds.) Bridging Wallace's Line: *The environmental and cultural history and dynamics of the SE-Asian-Australian Region*. Catena Verlag GMBH, Reiskirchen, p.360.
- Grootes, M.; Farwell, G.W.; Schmidt, P.H.; Leach, D.D.; Stuiver, M. 1989. Rapid response of tree cellulose radiocarbon content to changes in atmospheric <sup>14</sup>CO<sub>2</sub> concentration. *Tellus*, 41B: 134-148.



- Jong, A.F.M. & Mook, W.G. 1980. Medium-term atmospheric  $^{14}\text{C}$  variations. *Radiocarbon*, 22: 267-272.
- Kiehl, E.J. 1979. *Manual de edafologia; relações solo/planta*. São Paulo: Ceres.
- Ledru, M.-P. 1993. Late Quaternary and climatic changes in Central Brazil. *Quaternary Research*, 39: 90-98.
- Ledru, M.-P. 2002. Late Quaternary history and evolution of the cerrados as revealed by palynological records. In: Oliveira, P.S. and Marquis, R.J. (Eds). *The cerrados of Brazil: Ecology and natural history of a neotropical savanna*. Columbia University Press.
- Libby, W.F.; Anderson, B.C.; Arnold, J.R. 1949. Age determination by radiocarbon content; world-wide assay of natural radiocarbon. *Science*, 109: 227-228.
- Lisi, C.S.; Pessenda, L.C.R.; Cruz, M.L.C.; Pessin, G. 1996. Purificação de  $\text{CO}_2$  sintetizado de amostras de ossos destinadas à datação por C-14 via espectrometria de cintilação líquida. *Química Nova*, 19(6): 609-612.
- Lloyd, J. & Farquhar, G.D. 1994.  $^{13}\text{C}$  discrimination during  $\text{CO}_2$  assimilation by the terrestrial biosphere. *Oecologia*, 99: 201-215.
- Lorscheitter, M.L. 1983. Evidence of sea oscillations of the late quaternary in Rio Grande do Sul, Brazil, provided by palynological studies. *Quaternary of South America and Arctic peninsula*, 1:53-60.
- Markgraf, V. & D'Antoni, H.L. 1978. *Pollen flora of Argentina*. Univ. of Arizona Press, Tucson.
- Martel, Y.A. & Paul, E.A. 1974. The use of radiocarbon of organic matter in the study of soil genesis. *Soil Science Society of America Proceedings*, 38: 501-506.
- Nadelhoffer, K.F. & Fry, B. 1988. Controls on natural nitrogen-15 and carbon-13 abundance in forest soil organic matter. *Soil Science Society America Journal*, 52: 1633-1640.
- Negreiros, O.C. 1982. Características fitossociológicas de uma floresta latifoliada pluviosa tropical visando ao manejo do palmito, *Euterpe edulis* Mart. Dissertação (Mestrado) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo.
- Olsson, I.U. 1980.  $^{14}\text{C}$  in extractives from wood. *Radiocarbon*, 22: 515-524.
- Pessenda, L.C.R. & Camargo, P.B. 1991. Datação radiocarbônica de amostras de interesse arqueológico e geológico por espectrometria de cintilação líquida de baixa radiação de fundo. *Química Nova*, 14(2): 98-103.
- Pessenda, L.C.R.; Valencia, E.P.E.; Telles, E.C.C.; Cerri, C.C.; Camargo, P.B.; Martinelli, L.A. 1993a. The association  $^{14}\text{C}$  dating and  $^{13}\text{C}$  in palaeoecology studies in Brazilian tropical and subtropical soils. In: International Symposium on Perspectives for Environmental Geochemistry in Tropical Countries, Niterói. *Proceedings...Niterói*: UFF, Departamento de Geoquímica, p.89-92.
- Pessenda, L.C.R.; Camargo, P.B.; Cruz, M.V.L.; Lisi, C.S.; Valencia, E.P.E. 1993b. Laboratório de radiocarbono do CENA/USP no programa internacional de intercomparação laboratorial de resultados. *Química Nova*, 16(3): 221-223.
- Pessenda, L.C.R.; Valencia, E.P.E.; Aravena, R.; Telles, E.C.C.; Boulet, R. 1998. Paleoclimate studies in Brazil using carbon isotopes in soils. In: Wasserman, J.C.; Silva-Filho, E.; Villas-Boas, R. (Eds.). *Environmental geochemistry in the tropics*. Berlin: Springer-Verlag, p. 7-16.
- Pessenda, L.C.R.; Gouveia, S.E.M.; Aravena, R. 2001b. Radiocarbon dating of total soil organic matter and humin fraction and its comparison with  $^{14}\text{C}$  ages of fossil chacoal. *Radiocarbon*, 43(2B): 595-601.
- Roscoe, R.; Buurman, P.; Velthors, E.J.; Pereira, J.A.A. 2000. Effects of fire on soil organic matter in a “cerrado sensu-stricto” from Southeast Brazil as revealed by changes in  $\delta^{13}\text{C}$ . *Geoderma*, 95(1): 141-160.
- Roubik, D.W. & Moreno, J.E. 1991. Pollen and spores of Barro Colorado Island, Missouri Botanical Garden.



- Salgado-Labouriau, M.L. 1961. Pollen grains of plants of the "Cerrado" I. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 33(1): 119-130.
- Salgado-Labouriau, M.L. 1984. Reconstrucción de los ambientes a través de los granos de polen. *Investigation y Ciencia (Spanish edition of the Scientific American)*, 96 septiembre, 3: 6-17.
- Salgado-Labouriau, M.L. 1997. Late Quaternary palaeoclimate in the savannas of South America. *Journal of Quaternary Science*, 12 (5): 371-379.
- São Paulo (Estado). 1998. Secretaria do Meio Ambiente. *Planos de Manejo das Unidades de Conservação: Parque Estadual da Ilha do Cardoso - Plano de Gestão Ambiental - fase 1*. Mendonça, A.L.F.; Campanhã, R.A.C.; Campolim, M.; Maretti, C.C.; Raimundo, S. (Org.). São Paulo: SMA, v.4, 164p.
- Scharpenseel, H.W.; Ronzani, C.; Pietig, F. 1968. Comparative age determinations on different humic-matter fractions. In: Symposium on the use of isotopes and radiation in soil organic matter studies, Vienna, 1968. Proceedings. Vienna: IAEA, p.67.
- Setzer, J. 1946. Contribuição para o estudo do clima do estado de São Paulo. Escolas Profissionais Salesianas, São Paulo.
- Stout, J.D.; Goh, K.M.; Rafter, T.A. 1981. Chemistry and turnover of naturally occurring resistant organic compounds in soil. In: PAUL, E.A.; LADD, J.N. (Ed) *Soil biochemistry*. New York:Marcel Dekker, p.1-73.
- Suess, H.E. 1967. Brislecone pine calibration of radiocarbon time scale 5200 B.C. to 1500 B.C. In: International Atomic Energy Agency, Vienna. *Radioactivity dating and Methods of Low Level Counting*. Vienna: IAEA, p.143-151.
- Suguio, K. 1999. *Geologia do Quaternário e mudanças ambientais (passado + presente = futuro?)*. Paulo's Comunicação e Artes Gráficas, São Paulo, 366p.
- Trumbore, S.E. 1996. Applications of accelerator mass spectrometry to soil science. In: Boutton, T.W.; Yamasaki, S.I. (Ed.). *Mass spectrometry of soils*. New York: Marcel Dekker, p.311-340.
- Valencia, E.P.E. 1993. *Datação por <sup>14</sup>C e razão isotópica <sup>13</sup>C/<sup>12</sup>C de solos sob climas tropical e subtropical do Brasil*. Piracicaba, 91p. Dissertação (Mestrado) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo.