



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO  
CENTRO DE FILOSOFIA E CIÊNCIAS HUMANAS  
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS GEOGRÁFICAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GEOGRAFIA

A fotografia mostra um ambiente natural com vegetação densa e arbustiva. No primeiro plano, há uma rocha ou superfície onde o líquen Cladonia substellata está crescendo. O líquen apresenta uma estrutura característica de pequenas cúpulas ou estrelas brancas sobrepostas. O fundo é composto por folhas verdes e galhos secos de plantas locais.

**Influência do nitrogênio na  
produção de substâncias  
degradadoras do milonito por  
*Cladonia substellata* (líquen)**

RECIFE

2009

HERIKA MARIA DA SILVA BARBOSA

**Influência do nitrogênio na  
produção de substâncias  
degradadoras do milonito por  
*Cladonia substellata* (líquen)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Geografia, da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito para a obtenção do Título de Mestre em Geografia.

**Orientadora**

Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Eugênia C. Pereira

**Co-orientador**

Prof. Dr. Emerson Peter Falcão da Silva

**Co-orientador**

Prof. Dr. Nicácio Henrique da Silva

**RECIFE**

**2009**

**Barbosa, Herika Maria da Silva**

**Influência do nitrogênio na produção de substâncias degradadoras do milonito por cladonia substellata (líquen) / Herika Maria da Silva Barbosa. – Recife: O Autor, 2009.**

**75 folhas : il., fig.**

**Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. CFCH. Geografia, 2009.**

**Inclui: bibliografia e anexos.**

**1. Geografia. 2. Solos. 3. Solos - Formação. 4. Líquens. 5. Nitrogênio – Efeitos sobre as plantas. I. Título.**

**911  
910**

**CDU (2.  
ed.)  
CDD (22. ed.)**

**UFPE  
BCFCH2009/107**

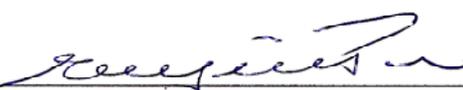
UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO - UFPE  
CENTRO DE FILOSOFIA E CIÊNCIAS HUMANAS – CFCH  
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS GEOGRÁFICAS –DCG  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GEOGRAFIA

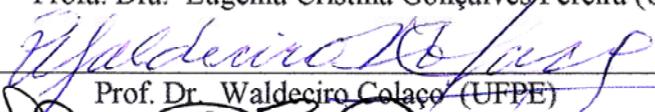
**HERIKA MARIA DA SILVA BARBOSA**

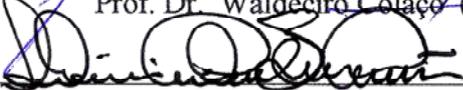
**Título: “INFLUÊNCIA DO NITROGÊNIO NA PRODUÇÃO DE SUBSTÂNCIAS  
DEGRADADORAS DO MILONITO POR Cladonia substellata (LÍQUEN)”**

**BANCA EXAMINADORA**

**TITULARES:**

Orientador:   
\_\_\_\_\_  
Profa. Dra. Eugênia Cristina Gonçalves Pereira (UFPE)

1º. Examinador:   
\_\_\_\_\_  
Prof. Dr. Waldecir Colaco (UFPE)

2º. Examinador:   
\_\_\_\_\_  
Prof. Dr. Antônio Carlos de Barros Corrêa (UFPE)

APROVADA em 31 de agosto de 2009

RCMS

Dedico este trabalho, de maneira especial, aos meus pais Luis Amaro e Iranise Maria, que me deram a oportunidade de alcançar mais esta conquista, um sonho antigo, e que, com toda dedicação, compreensão e amor estimularam-me a lutar sempre, a cada momento, até o fim dessa jornada. Aos meus irmãos Henaly e Ênio, por uma vida inteira compartilhada, e pela amizade que, sem dúvida, torna meus dias mais felizes.

## AGRADECIMENTOS

Não quero simplesmente agradecer... Mas trazer para dentro do meu texto aqueles que já o percorrem nas entrelinhas. Neste sentido remeto-me:

A Deus pelo dom da vida, renovado a cada provação que se apresenta e nos sonhos que se concretizam, como este que agora se torna eternidade.

À toda minha família, em especial às minhas avós Maria Barbosa e Otacília Custódio, exemplos de dignidade, perseverança e honestidade, que em suas palavras de sabedoria me fizeram acreditar que sempre é possível ir mais além.

À professora Eugênia, minha orientadora, pelo imprescindível e valioso apoio prestado em todas as fases de execução desta dissertação, desde a idéia original, às discussões e à redação. Obrigada pela confiança que sempre me transmitiu e pela ajuda constante e incansável, especialmente nos momentos mais difíceis, permitindo-me seguir adiante e acreditar no sucesso desta dissertação. Deixo-lhe a minha sincera gratidão e profundo reconhecimento.

Ao Prof. Dr. Nicácio manifesto os meus agradecimentos pela pronta disponibilidade, sempre que precisei de ajuda, pelos conselhos e pelo encorajamento que naturalmente sempre me foi transmitido.

Ao Prof. Dr. Emerson Peter, a quem coube a co-orientação deste trabalho, uma palavra de apreço e de estima pelos seus sábios conselhos e por todo o apoio concedido para tornar possível a realização deste trabalho.

À banca examinadora pelas valiosas sugestões que muito contribuíram para o aperfeiçoamento deste trabalho dissertativo.

Aos meus grandes amigos-irmãos, desde o início da graduação, Bárbara, Diana, Girlan, Kézia e Simone. Acredito que todo gesto generoso, todo oferecimento de ajuda, ainda nas coisas mais simples, cativa e desperta saudáveis reações de amizade e sinceridade. Obrigado por fazerem parte da minha vida!

A todos da “minha” turma de licenciatura em geografia, em especial à Luciana e Priscila, agora mestras, que partilharam comigo alegrias, angústias, conquistas, enfim, momentos importantes do mestrado. À Cecília pela alegria contagiante que por vezes me fez esquecer das dificuldades desta trajetória. A Pedro Argemiro por me incentivar sempre, mesmo que distante, provando que para a amizade não existem fronteiras geográficas.

À Ana Paula e Heitor pela amizade conquistada e pelos questionamentos curiosos acerca do tema trabalhado me trazendo grandes contribuições. Agradeço também os

incentivos e companhias constantes nos momentos de diversão, que me serviram de suporte para retomar as energias e continuar sempre em frente.

Aos colegas do mestrado em Geografia, especialmente a Sérgio Villarim, pelos vários momentos partilhados em aulas, discussões e trabalhos de campo.

A todos os meus amigos-pesquisadores do Laboratório de Produtos Naturais-UFPE, em especial à Helena Paula, Milena, Mônica e Talytha pelas conversas informais, pelo companheirismo, pelas idéias e discussões científicas que muito acrescentaram no meu trabalho, assim como pelos incentivos.

Aos professores Dr. Gork Mariano e Dr. Joaquim Correia, e aos colegas Alex Moraes, Maurílio Amâncio e Douglas Farias, do Departamento de Geologia-UFPE, pelas contribuições e pelo apoio técnico prestado.

Aos colegas do NAPA/NAEG por toda ajuda e apoio didáticos prestado.

A João Virgínio, símbolo de simplicidade e dedicação, pelo tempo a mim destinado e por toda a ajuda na montagem dos experimentos ao longo dessa jornada.

Finalizando, gostaria de agradecer a todos aqueles que direta ou indiretamente contribuíram para a concretização deste trabalho.

*“Sei que meu trabalho é uma gota no oceano, mas sem ele, o oceano seria menor” (Madre Teresa de Calcutá)*

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Vista geral do talo de *Cladonia substellata* (Vainio) em seu ambiente natural, Mamanguape (PB) 31
- Figura 2.** Estrutura molecular do ácido úsnico 32
- Figura 3.** Mapa do município de Pombos e sua localização no estado de Pernambuco 34
- Figura 4:** Pacote litológico-milonito da Serra das Russas, município de Pombos-PE 36
- Figura 5.** Mapa do município de Mamanguape e sua localização no estado da Paraíba 37
- Figura 6.** Cromatografia em Camada Delgada (CCD) dos extratos orgânicos de *Cladonia substellata*. 1- campo (tempo zero); 2- controle/24h; 3-uréia 1%/24h; 4 – uréia 0,1%/24h; 5-uréia 0,01%/24h; 6-controle/3 meses; 7-uréia 1%/3 meses; 8-uréia 0,1%/ 3 meses; 9-uréia 0,01%/3 meses; 10-controle 6 meses; 11-uréia 1%/6 meses; 12-uréia 0,1%/6 meses; 13-uréia 0,01%/6 meses; CC-controle de campo; CL-controle de laboratório; USN 1 e USN 2- ácido úsnico padrão purificado. 50
- Figura 7.** A-Cromatograma em fase líquida (CLAE) do extrato orgânico de *Cladonia substellata*, obtido no momento da sua coleta (controle de campo); B- CLAE do USN padrão Merck. Legenda: USN-ácido úsnico; TR- tempo de retenção da substância na coluna cromatográfica 51
- Figura 8.** Curva de calibração do ácido úsnico (USN), isolado do líquen *Cladonia substellata*, obtida por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). Calibração direta:  $Y = 2881x - 12,973$ ;  $R^2 = 0,9973$ . Dados resultantes de três replicatas 52
- Figura 9.** Quantificação do ácido úsnico (USN) em amostras de *Cladonia substellata* submetidas a ensaios laboratoriais com ou sem adição da uréia ao substrato. Legenda: CTRL: controle. 53
- Figura 10.** Esquema da montagem dos experimentos 60
- Figura 11.** Cromatografia em Camada Delgada (CCD) dos extratos orgânicos de milonito. Legenda: 1- campo (tempo zero); 2- controle/24h; 3-uréia 1%/24h; 4 – uréia 0,1%/24h; 5-uréia 0,01%/24h; 6-controle/3 meses; 7-uréia 1%/3 meses; 8-uréia 0,1%/ 3 meses; 9-uréia 0,01%/3 meses; 10-controle 6 meses; 11-uréia 1%/6 meses; 12-uréia 0,1%/6 meses; 13-uréia 0,01%/6 meses; CC-controle de campo; CL-controle de laboratório; USN 1 e USN 2- ácido úsnico padrão purificado. 61
- Figura 12.** Curva de calibração USN- Erro padrão = 0,18675;  $R = 0,99682$ ; Equação da reta:  $Y = 3,45x \cdot 10^{-5} \times B$  62
- Figura 13.** Concentração de ácido úsnico (mg/mL) nos extratos de milonito submetidos extratos orgânicos de milonito submetidos ou não à uréia, condicionados sob *Cladonia substellata* 63

**Figura 14.** Micrografias do milonito submetido ou não à uréia, sob *Cladonia substellata*. Legenda: A-controle laboratório; B-uréia 1%; C-uréia 0,1%; D-uréia 0,01%

## RESUMO

As rochas são colonizadas pelos líquens, que contribuem, junto com outros fatores ambientais, para o processo de formação do solo. Os líquens têm a capacidade de adaptação a ambientes das mais variadas características, e assimilam nutrientes contidos na umidade atmosférica, interagindo com os demais fatores do ecossistema. Neste contexto, a captação de nitrogênio disperso no ambiente induz a produção de suas substâncias fenólicas, que quando percoladas para o substrato rochoso promovem sua degradação química (quelação). O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito de fonte de exógena de nitrogênio, sob forma de uréia, na produção de substâncias quelantes de *Cladonia substellata* Vainio e, a ação destas sobre o milonito subjacente ao líquen, em condições de laboratório. Os experimentos foram conduzidos em cúpulas transparentes contendo amostras de líquen sobrepostas à rocha triturada, coletadas, respectivamente, em Mamanguape-PB e Pombos-PE. Foram utilizados tratamento com uréia a 1%, 0,1% e 0,01%, ou apenas com água deionizada (controle). Amostras de líquen e rocha foram coletadas e posteriormente o material foi extraído com solventes orgânicos para análise por cromatografias em camada delgada e líquida de alta eficiência e, por espectrofotometria. Por CCD (rocha ou líquen) verificou-se que, além do ácido úsnico, outras substâncias fenólicas também foram detectadas. Através de CLAE observou-se que tanto sob condições ambientais quanto laboratoriais o líquen produziu o ácido úsnico e que este mecanismo foi intensificado quando a *C. substellata* foi submetida à adição de uréia, principalmente na concentração de 0,01%. As análises em espectrofotômetro com os extratos da rocha indicaram que o ácido úsnico se fez presente na rocha durante todo o processo, evidenciando que houve transporte do talo para o substrato. Com base nestas considerações fica comprovada que a fonte de nitrogênio atuou na rota metabólica do líquen, contribuindo na produção de ácido úsnico e outros fenóis, os quais interagiram com o milonito.

**PALAVRAS-CHAVE:** intemperismo químico, líquen, milonito, uréia

## ABSTRACT

The rocks are colonized by lichens, which contribute, along with other environmental factors, to the process of soil formation. Lichens have the ability of adaptation in environments in a variety of features, and assimilate nutrients from atmospheric moisture, interacting with other factors of the ecosystem. In this context, the catchment of nitrogen dispersed in the environment induces the production of their phenolic substances, which when leached to the rocky substrate promote its chemistry degradation (chelation). The objective of this study was to evaluate the effect of exogenous source of nitrogen, in the form of urea, on production of chelating substances from *Cladonia substellata* Vaini and, the action of these mylonite on the underlying lichen, under laboratory conditions. The experiments were conducted in transparent domes containing samples of lichen superimposed on the crushed rock, collected, respectively, in Mamanguape-PB and Pombos-PE. Were used urea treatment to 1%, 0.1% and 0.01%, or only with deionized water (control). Samples of lichen and rock were collected and subsequently the material was extracted with organic solvents for analysis by Thin Layer Chromatography (TLC) and High Performance Liquid Chromatography (HPLC) and spectrophotometry. By TLC was verified that beyond usnic acid, other phenolics substances were also detected. By HPLC was observed that under both environmental conditions and lichen laboratory produced usnic acid and that this mechanism was enhanced when the *C. substellata* was submitted to addition of urea, mainly at concentration of 0.01%. The analysis by spectrophotometer with rock extracts indicates that usnic acid was present in the rock during the entire process, showing that there was transport of the stem to the substrate. Based on these considerations is proved that the source of nitrogen appeared in the metabolic pathway of lichen, contributing to the production of usnic acid and other phenols, which interacted with the mylonite.

**KEYWORDS:** chemistry weathering, lichen, mylonite, urea

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b>	13
<b>2 REVISÃO DE LITERATURA</b>	
2.1 Rochas e intemperismo	18
2.1.1 Rochas metamórficas e milonito	20
2.2 Solo	21
2.3 Pedogênese	22
2.4 Ciclagem de nutrientes	23
2.4.1 O nitrogênio e sua relação com os líquens	24
2.5 Líquens	
2.5.1 Os líquens e seu funcionamento	26
2.5.2 Caracterização de <i>Cladonia substellata</i> (Vainio)	29
2.5.3 Substâncias líquênicas, ácido úsnico e quelação	30
<b>3 CARACTERIZAÇÃO DAS ÁREAS DE COLETA</b>	
3.1 Município de Pombos-PE (Milonito)	33
3.2 Município de Mamanguape-PB ( <i>Cladonia substellata</i> )	35
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	
<b>4 RESULTADOS E DISCUSSÕES</b>	
4.1 Influência da uréia na biossíntese do ácido úsnico pelo líquen <i>Cladonia substellata</i>	43
4.2 Interação de <i>Cladonia substellata</i> e milonito: influência da uréia na produção de substâncias quelantes	56
<b>ANEXOS</b>	
ANEXO A	65
ANEXO B	71

## 1 INTRODUÇÃO

A Geografia é uma ciência que analisa o espaço de modo integrado, enfocando os aspectos sociais e ambientais, investigando desde a atmosfera até o subsolo, incluindo as pessoas que habitam esses ambientes e suas relações sociais e econômicas. Portanto, por se tratar de uma ciência que estuda diferentes aspectos da superfície da Terra, integra-se com ciências humanas e naturais, entre as quais a Pedologia. Esta está intimamente relacionada ao meio ambiente na medida em que o material de origem do solo é afetado pelos agentes físicos e biológicos.

Toda a dinâmica que rege os fenômenos da natureza contidos no estrato geográfico é produto do antagonismo entre as forças geradas pela energia solar que atua na superfície terrestre, com o auxílio da atmosfera, e a energia do interior da Terra que age na superfície através da crosta terrestre ou litosfera (ODUM, 2004). Esta corresponde à camada mais rígida da Terra, composta por uma grande variedade de tipos de rochas de diferentes composições e idades (POPP, 1999).

De acordo com Kawakubo *et al.* (2005), dentro de uma concepção ecológica o ambiente é analisado sob o prisma da Teoria do Sistema, que parte do pressuposto que na natureza as trocas de energia e matéria se processam através de relações em equilíbrio dinâmico. Esse equilíbrio, entretanto, é freqüentemente alterado pelas intervenções humanas, gerando estados de desequilíbrios temporários ou até permanentes.

As mudanças ambientais têm sido uma das questões mais preocupantes e discutidas, seja no meio científico ou fora dele. Estes problemas são resultantes, em maior parte, da ação do ser humano sobre o ambiente, a qual tem afetado não só o equilíbrio ecológico do planeta, como a manutenção da biodiversidade e da vida humana (SILVA, 1978; ODUM, 2004).

No Brasil, a degradação ambiental atinge níveis críticos e impõe elevados custos à sociedade. Com a finalidade de usufruir de condições ambientais propícias à agricultura, as pessoas têm buscado cada vez mais as terras em espaços produtivos, o que nem sempre o tem levado a considerar seu potencial e suas limitações de uso. Desta forma, os problemas ambientais têm sido intensificados pelo crescimento populacional e, como consequência, tem-se grande perda de solos agricultáveis resultantes de processos erosivos, portanto reduzindo sua capacidade produtiva, o assoreamento dos cursos de água, dentre outros tipos de impacto.

Shiki (1997) aponta que a intensificação da exploração agrícola somada à ausência de conhecimento aprofundado acerca dos ecossistemas, assim como planejamento inadequado na utilização das terras levou a um quadro de intensa degradação ambiental, com perda de

recursos não-renováveis e da biodiversidade não só no Brasil como em outros países. Nesse contexto, Drew (2002) afirma que “os efeitos da agricultura sobre o ambiente relacionam-se diretamente com a escala em que ela é empreendida [...] e que para tal deve-se considerar a intensidade e o grau da alteração provocada ao solo e à vegetação preexistentes assim como a área em que se deu a alteração”.

Os efeitos diretos dos fertilizantes sobre os solos também merecem ser mencionados. Segundo Drew (2002), a agricultura européia tem taxas de utilização de 90kg/ha de nitrogênio-fósforo-potássio (NPK); nos Estados Unidos cerca de 30,5 bilhões de quilogramas são utilizados por ano. Nessas regiões, o nitrogênio e o fósforo deixaram de ser fatores de limitação do crescimento das plantas, havendo provas indicativas do seu uso excessivo.

No ecossistema, não somente o solo, como também as rochas, sofrem influência dos agentes atmosféricos e biológicos (RAVEN *et al.*, 2001). Na esfera biológica as plantas têm grande destaque, pois reagem de maneiras diversas às variações da disponibilidade de nutrientes sob excesso ou deficiência deles. Sob deficiência de nitrogênio as raízes das plantas se alongam e penetram bastante no solo. Quando o nitrogênio é abundante, a penetração da raiz é limitada à camada superior do solo, mas se torna mais extensiva (REMMERT, 1982).

Diferentes das plantas, os líquens não possuem raízes, mas exercem diferentes e importantes funções nos ecossistemas. Uma delas é o fato deste organismo ser considerado um dos primeiros a colonizarem os ambientes através da sua instalação nas superfícies de rochas-*mater*, as quais em exposição sofrem intemperismos físicos e químicos, iniciando seu processo de pedogênese e sucessão ecológica (SEAWARD, 1977; HONEGGER, 1996).

Segundo Ahmadjian & Hale (1973), a penetração das rizinas líquênicas é um dos mecanismos através do qual este organismo entra em contato com a rocha. Esta penetração pode depender da composição química e física da rocha e da natureza do talo. Sabe-se também que além desta função, as rizinas são utilizadas pelo líquen para absorver água e metais dissolvidos. Por outro lado, a desintegração das superfícies das rochas por líquens saxícolas tem sido mencionada com frequência na literatura (LEGAZ *et al.*, 2006).

Ao penetrar nas rochas, as rizinas contraem-se quando secas e expandem-se quando úmidas, e somadas às modificações também observadas nas rochas face às alterações de temperatura, penetram no plano de clivagem das micas, feldspatos ou de qualquer outro mineral clivável, estabelecendo uma densa rede de filamentos que facilita a fragmentação mineral em pequenas partículas.

Através do uso de finas secções de rocha, Jones (1959) observou que a profundidade de penetração das rizinas de líquens crescendo sobre calcário variou de 300 µm a 16mm. O

estudo também mostrou que o talo de espécies endolíticas e pioneiras tiveram pobre desenvolvimento das rizinas. Bachmann (1904) *apud* Ahmadjian & Hale (1973) constatou que rizinas penetravam cristais de micas em granitos e acompanhavam as linhas de clivagem. Ressalta ainda, que a intensidade da penetração das rizinas está relacionada com a natureza do líquen, assim como com a composição mineralógica do substrato.

É também relatada a importância dos líquens como componentes epífitos de muitos ecossistemas florestais (LEMOS *et al.*, 2007). Vale salientar, que a estrutura do substrato e as características ambientais estão entre os principais fatores que afetam a distribuição das espécies líquênicas (HALE, 1957; LEMOS *et al.*, 2007).

Para Culberson (1955) apesar de ser um fator determinante, o equilíbrio hídrico dos líquens depende, em sua totalidade, das condições hídricas impostas, tanto pelo substrato sobre o qual se desenvolve (solo, rochas em córtex ou outros materiais), quanto pelas condições ambientais às quais estão submetidos (precipitação, umidade, temperatura, etc.).

Ainda sob esta ótica, pesquisas comprovaram que estes organismos resistem a diversos fatores ambientais como radiação (SILVA, 2006), temperatura (COSTA *et al.*, 2001a; SILVA, 2005; BARBOSA, 2005; MOURA, 2005) e disponibilidade hídrica, o que lhes permite sobreviver em situações de “stress”, condição possível devido a sua natureza poiquilohídrica, ou seja, absorve seus nutrientes, a partir dos elementos dissolvidos na unidade atmosféricas (SEAWARD, 1997).

Neste contexto, estes seres vivos integram os ciclos biogeoquímicos, que de acordo com Bormann *et al.* (2001, p. 96) são definidos como “ciclos de produtos químicos como carbono, oxigênio, fósforo, nitrogênio e água dentro dos ecossistemas (ciclos de nutrientes no interior do sistema), ou entre eles (ciclos de nutrientes entre sistemas), assim como em toda Biosfera”.

Os compostos mencionados são assimilados e metabolizados continuamente pelos organismos vivos. Para Odum (1975) os ciclos biogeoquímicos tratam-se de caminhos mais ou menos circulares percorridos pelos elementos químicos, passando pelos organismos, voltando ao ambiente e daí, novamente retornando aos organismos. Isto remete a idéia de ser a Terra um sistema dinâmico, em evolução, cujo movimento e estocagem de seus materiais afetam os processos físicos, químicos e biológicos. A circulação na natureza de substâncias essenciais para a manutenção e reprodução dos organismos vivos ocorre por meio de ciclos de diversos elementos.

No caso dos líquens, a capacidade de captação e retenção de elementos contidos no ar facilita sua existência em ambientes onde tais nutrientes são pouco disponíveis para as

plantas, como os desertos. Nestes biomas o fornecimento de nutrientes é pobre e a temperatura é bastante variável. Seu limite de tolerância às oscilações climáticas é superior ao de vários vegetais (GALLOWAY, 1996). Sendo assim, a absorção de alguma solução em contato com o talo é um importante aspecto de sua fisiologia e os índices observados são extremamente altos (AHMADJIAN; HALE, 1973).

O nitrogênio é um nutriente de grande importância para o desenvolvimento agrícola e a fonte mais difundida, especialmente por seu baixo custo e alta concentração de N, é a uréia ( $\text{CH}_4\text{N}_2\text{O}$ ). No meio ambiente, fontes de uréia são provenientes, por exemplo, de fertilização química, de adubos orgânicos nitrogenados naturais, como o esterco, da urina dos animais, onde o N-orgânico deve ser mineralizado por ação microbiana para ser disponível para as plantas. Segundo Mello (1987) através da adubação nitrogenada, a uréia é aplicada em grande volume no solo e parte dela é dissolvida na água através da irrigação ou ainda sofre volatilização (TRIVELIN *et al.* 2002).

Em alguns casos, o nitrogênio orgânico derivado das partes mais antigas do talo liquênico em declínio vital, deve ser mineralizado por microrganismos e íons derivados da amônia absorvidos pelo resto do talo, condições estas que aumentam a circulação deste elemento. Ainda em relação ao nitrogênio, sabe-se que sua incorporação ao talo favorece a produção de fenóis liquênicos, que são por sua vez quelados pelos minerais da rocha ou solos sobre os quais se desenvolvem (LEGAZ, 1987; VASCONCELOS, 2009).

A enzima responsável pela fixação do nitrogênio é uma nitrogenase, muito mais ativa na parte mais central do talo, do que nas zonas apical e basal. Em *Lobaria pulmonaria* e *L. oregana*, a fixação deste elemento é acelerada por baixas concentrações de molibdênio, da ordem de 1 ppm, enquanto que nas concentrações mais altas (10 ppm), inibem a atividade da nitrogenase dos cefalódios separados. Estas estruturas são específicas para líquens que possuem mais de um tipo de fotobionte, sendo elas compostas, via de regra, por algas azuis ou cianobactérias (MARCELLI, 2006).

É importante ressaltar que a amônia pode inibir por si mesma a atividade nitrogenase quando se acumula em grandes quantidades no talo. Este efeito fisiológico é pouco provável, dado que a glutamato desidrogenase fúngica a utiliza eficientemente na síntese do glutamato (LEGAZ *et al.*, 2006). Por isso, dificilmente haverá acúmulo de amônia em líquens em ambiente rico em nitrogênio.

Face ao papel dos líquens como degradadores de rochas, neste trabalho objetivou-se avaliar em laboratório a influência do nitrogênio, na forma de uréia, na produção de

substâncias degradadoras do milonito, pelo líquen *Cladonia substellata*, quando adicionado ao substrato rochoso.

Tendo conhecimento que a importância do solo enquanto recurso natural já é discutida há tempo, assim como os problemas ambientais que o envolve, fica aqui evidenciada a importância da realização de estudos que possam aprofundar questões inerentes à sua formação para que sua qualidade também seja perpetuada. Neste contexto, os líquens merecem destaque por participarem, de forma pioneira, do processo de pedogênese, da ciclagem dos nutrientes e, portanto, do ecossistema favorecendo ainda sucessão ecológica. Vale salientar que para tal, devem-se considerar, entre outros fatores, a ação do clima e do tempo.

Por fim, fazem-se necessários aprofundamentos com este direcionamento, para que os líquens tenham suas espécies preservadas e os solos tenham sua formação continuada, garantindo a perpetuação dos ecossistemas e manutenção da biodiversidade.

## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 Rochas e intemperismo

A crosta terrestre é constituída essencialmente de rochas. Para Leinz & Amaral (1998, p. 33) estas são denominadas como “[...] agregado natural, formado por um ou mais minerais [...] que constitui parte essencial da crosta terrestre e é nitidamente individualizado”. Isto ocorre porque os minerais se agregam obedecendo as leis físicas, químicas ou físico-químicas, dependendo das condições em que se formam.

Segundo Teixeira *et al.* (2008) o termo rocha é usado para descrever uma associação de minerais que, por diferentes motivos geológicos, acabam ficando intimamente unidos. A rocha não tem a continuidade física de um mineral e, devido a esta característica, pode ser subdividida em todos os seus minerais constituintes.

De acordo com a sua origem, as rochas se formam por diferentes processos. Ao longo do seu ciclo de transformações, o conjunto de fenômenos que ocorrem sob a influência dos agentes externos constitui o ciclo exógeno de transformações, através do qual se formam as rochas sedimentares. Ao aflorarem na superfície terrestre as rochas sofrem inicialmente ação dos agentes de intemperismo transformando-as em sedimentos e solo (POPP, 1999).

Sobre as rochas sedimentares, Leinz & Amaral (1998) e Suguio (1998) mencionam que estas se formam a partir do material originado da destruição erosiva de qualquer tipo de rocha, material este que deverá ser transportado e posteriormente depositado ou precipitado em um dos muitos ambientes de sedimentação da superfície do globo terrestre.

Ainda em relação às condições de formação e origem das rochas, sabe-se que são resultantes do resfriamento e da consolidação do magma, originando as rochas magmáticas, ou ígneas, que são por estes motivos consideradas de origem primária (LEINZ; AMARAL, 1998). Em complemento, Teixeira *et al.* (2008) consideram as rochas ígneas como sendo resultantes do resfriamento de material rochoso fundido, citando como alguns exemplos o magma, o granito e o gabro. Vale ressaltar que a atividade intempérica e erosiva externa, envolvendo os agentes atmosféricos como o calor do sol, chuva, vento, também atuam sobre estas rochas, causando constantes alterações.

Por fim, as rochas metamórficas, cujos minerais transformam-se por reações mútuas ou por modificações do sistema de cristalização, em novos minerais. Neste caso, sob condições de alta pressão e temperatura às quais é submetida, a rocha passa a ter uma nova

composição mineralógica, com o aparecimento de novas características de ordem estrutural e textural (POPP, 1999).

Segundo Teixeira *et al.* (2008) a formação de rochas metamórficas é controlada, principalmente, por fatores como a natureza do protolito, temperatura, pressão, presença de fluidos e tempo de duração dos processos. Para exemplificar este tipo de rocha, pode-se citar o quartzito, o gnaiss, o mármore, o migmatito (LEINZ; AMARAL, 1998 e TEIXEIRA *et al.*, 2008) e o milonito (TEIXEIRA *et al.*, 2008).

A decomposição das rochas, independente da forma através da qual se originou, leva à formação dos solos, já que sofrem ação contínua dos agentes atmosféricos e biológicos. Por mais compactas que sejam elas, alteram-se com maior ou menor facilidade, quando se encontram afloradas, ou nas proximidades da superfície terrestre. Nessas condições, sofrem ação de processos que, de acordo com a natureza do clima, podem causar a decomposição química e/ou mecânica. Assim, a alteração da rocha difere conforme o tipo de ambiente considerado: úmido, semi-árido, árido, tropical, temperado ou glacial (BIGARELLA, 1985).

As primeiras etapas da ação biótica sobre a face de uma rocha são observadas até mesmo sob as mais desfavoráveis condições de intenso frio, onde é comum a presença de líquens, algas, bactérias e fungos encontrados em ambientes quase glaciais da Antártica e do Norte da Groelândia como também em zonas de gelos eternos de altas montanhas.

Tanto a rocha quanto o relevo são fatores passivos da formação do solo. O clima e a matéria-viva (vegetação, microrganismos, etc.) são fatores ativos da gênese do solo e este resulta da combinação de todos estes fatores, aos quais se pode acrescentar a ação modificadora do ser humano (COSTA, 2001). Nas encostas e paredões rochosos a decomposição tem início com o ataque às rochas a partir das linhas de fragilidade e microfissuras, onde se fixa uma vegetação pioneira de líquens e cianobactérias.

Guerra (1999) considera que nos primeiros estágios da alteração das rochas tem lugar uma fragmentação através de processos físicos, bem como pela hidratação dos minerais, além da ação de outros processos químicos mais complexos. A ação conjunta desses processos em si não daria origem a um solo propriamente dito se não fosse a atividade de organismos como líquens e microrganismos que propiciam a liberação de nutrientes degradadores da rocha.

Legaz *et al.* (2006) fazem referência à capacidade que têm as rizinas de penetrar na rocha e causar desintegração mecânica. Neste mesmo contexto Ahmadjian & Hale (1973) afirmam que estas estruturas, que permitem a ligação entre um líquen e o substrato, são as mais responsáveis pelo intemperismo físico e, que, juntamente com os fatores ambientais, degradam a rocha. Legaz *et al.* (2006) reportam que além de se fixarem ao substrato, as

rizinas também desempenham um papel importante como absorção de água e metais dissolvidos.

Quanto à decomposição química que ocorre sobre as rochas, esta ao mesmo tempo destrói e constrói. É destruidora de rochas sólidas e minerais primários e secundários dos horizontes superiores do solo, mas constrói minerais secundários que se formam dos produtos de decomposição, principalmente nos subsolos de solos desenvolvidos (GUERRA, 1999).

### 2.1.1 Rochas metamórficas e milonito

De acordo com Teixeira *et al.* (2008) as rochas metamórficas resultam da transformação de uma rocha preexistente no estado sólido, cujo processo geológico se dá devido ao aumento de pressão e/ ou temperatura sobre a rocha preexistente, sem que o ponto de fusão dos seus minerais seja atingido. Os processos metamórficos ocorrem, normalmente, associados a processos tectônicos, os quais provocam modificações nas condições físico-químicas sob as quais os protolitos estavam submetidos. Qualquer tipo de rocha pode sofrer metamorfismo desde que em ambientes de alta precipitação e temperaturas com produção de dobras e foliações, além de recristalizações minerais, gerando a rocha metamórfica (TEIXEIRA *et al.* 2008; LEINZ; AMARAL, 1998).

Em se tratando do milonito, rocha analisada neste trabalho, Costa (2001) define como sendo uma rocha de grão finíssimo, com aspecto semelhante ao do sílex, felsitos ou riolitos.

O milonito faz parte da série milonítica, onde o protomilonito (a proporção da matriz é inferior a 50%) e ultramilonito (matriz superior a 90%) aparecem como termos extremos (TEIXEIRA *et al.*, 2008). É comum gerar-se associado a zonas de falha onde ocorreu um intenso e rápido movimento originando rochas extremamente trituradas. Resulta, portanto, de metamorfismo cataclástico ou dinâmico, desenvolvendo-se em faixas longas e estreitas nas adjacências de falhas ou zonas de cisalhamento, onde pressões de alta intensidade causam movimentação e ruptura na crosta (TEIXEIRA *et al.*, 2008).

A composição do milonito dá-se basicamente de feldspato potássico, quartzo, biotita, plagioclásio, sericita, epidoto. A designação vem do termo *milon*, moinho, porque os minerais constituintes foram “moídos” durante o processo de formação da rocha que, como anteriormente mencionado, resulta de ações metamórficas puramente mecânicas. Em outras palavras, as mudanças resultantes, geralmente com desenvolvimento de novos minerais, são

uma resposta termodinâmica a um ambiente intensamente alterado (POPP, 1999; YARDLEY, 2004).

## 2.2 Solo

As linhas gerais de um conceito de gênese do solo foram definidas como um agregado de muitos processos físicos, químicos e biológicos individuais, todos eles contribuintes potenciais do desenvolvimento de quaisquer solos, diferindo suas influências conforme os ambientes (BUNTING, 1971). De maneira geral, é a parte exterior da crosta terrestre em contato direto com os demais componentes do meio ecológico. Desta forma, resultam da ação conjunta de inúmeros agentes dinâmicos que agem sobre as rochas, ocasionando a sua decomposição.

Drew (2002) afirma que os solos vivem em equilíbrio dinâmico com os fatores que determinam as suas características como o clima, os materiais de origem, a topografia, a biota e o tempo. Considera ainda, que o ser humano deve ser adicionado aos fatores de formação de do solo, pois ele assume, pelo menos ao nível local, maior significado que todos os demais fatores naturais em conjunto.

Para Lepsch (2002) o termo solo assume vários conceitos, a depender de quem o estuda. Ao pedólogo, este recurso natural é visto como um objeto completo de estudos básico-aplicados, usando método científico de induções e deduções sucessivas. Neste contexto o solo é abordado como sendo a coleção de corpos naturais dinâmicos, que contém matéria viva, e é resultante da ação do clima e da biosfera sobre a rocha, cuja transformação em solo está relacionada à ação do tempo e sob influência do tipo de relevo.

Alguns autores denominam o processo de formação dos solos de “intemperismo” (BUNTING, 1971; TEIXEIRA, 2008), outros preferem usar o termo “meteorização” (POPP, 1999). O solo é considerado um dos mais importantes elementos do meio natural, pois parte expressiva dos seres vivos que habitam a superfície da Terra depende dele para sobreviver. O próprio ser humano, por exemplo, retira do solo boa parte das substâncias de que necessita, bem como uma grande variedade e quantidade de matérias-primas indispensáveis para sua sobrevivência e seu bem-estar. Da mesma maneira que é considerado o maior usuário do solo, é também, o ser vivo que mais contribui para o seu empobrecimento e destruição.

Guerra (1999), já enfatizava que cerca de 15% das terras eram atingidas pela degradação. Atualmente, em escala mundial, pode-se afirmar que a cada dia aumenta a parcela das terras que são atingidas pela degradação e pela erosão acelerada dos solos, seja

pelas águas, pelo vento, ou pela ação antrópica. Segundo estudos mais recentes divulgados pela FAO, Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação (2009), com base em índices pesquisados num período de vinte anos, a degradação do solo tem se agravado em várias partes do mundo. Como consequência deste fenômeno, tem ocorrido migração, diminuição da produtividade agrícola, insegurança alimentar, prejuízos a recursos e ecossistemas básicos e a perda de biodiversidade genética e de espécies, devido a mudanças nos habitats. Isto implica também na adaptação a novas condições climáticas, visto que a perda de biomassa e de matéria orgânica do solo libera carbono na atmosfera e afeta a qualidade do solo e sua capacidade de reter a água e os nutrientes.

### **2.3 Pedogênese**

Em linhas gerais, pedogênese é a soma de processos que levam à formação do solo. Segundo Gaucher (1971) e Bigarella (1999) em sentido amplo, o termo pedogênese abrange todos os processos de desenvolvimento do solo, caracterizado com um sistema natural aberto, o qual representa um meio em constante evolução, consequente de fenômenos de decomposição, migração e acumulação de substâncias de natureza diversa. Para Retallack (1997), a pedogênese refere-se ao conjunto de processos de formação de solos em estreita interação com a biosfera e a atmosfera.

Os fenômenos são decorrentes da ação de fatores geológicos (rocha-mãe, hidrologia, tempo), geográficos (clima, relevo, erosão) e biológicos (vegetação, organismos vivos animais, incluindo o ser humano), os quais caracterizam a pedogênese como sendo de “formação” contínua do solo ao longo do tempo geológico.

Desta forma, a ação antrópica merece menção, pois no decorrer dos tempos históricos, e de forma mais intensa nos tempos recentes, tem sido fator significativamente importante, principalmente no que se diz respeito ao desmatamento e à remoção do regolito durante as construções de obras arquitetônicas e de engenharia (CARVALHO, 1995).

De acordo com Lepsch (2002) o solo resulta da ação do clima, dos organismos, do material de origem, do relevo e da idade da superfície do terreno. Os organismos são considerados fatores ativos, visto que agem diretamente sobre o material de origem. Entre os organismos que contribuem para a formação e perpetuação dos solos é importante ressaltar as algas, as bactérias, os fungos e os líquens. Estes ao desenvolverem-se sobre rochas recém-expostas iniciam processos físico-químicos, os quais favorecem condições para a fixação de uma sucessão de vegetais maiores.

Os líquens atuam fisicamente através da penetração das rizinas nas rochas e, quimicamente, através da quelação, que, segundo reporta Vicente (1975) refere-se à capacidade que têm os líquens de tomarem do substrato os cátions inorgânicos necessários para sua nutrição e, portanto, para o seu metabolismo.

#### **2.4 Ciclagem de nutrientes**

A Terra é regida por “sistemas”, sendo o sistema um “conjunto de componentes ligados por fluxos de energia e funcionamento como uma unidade. Se o sistema recebe energia do exterior e devolve energia, diz-se que é um sistema aberto; por outro lado, se a energia e, por consequência, a massa, são retidas dentro do sistema diz-se que é um sistema fechado” (DREW, 2002).

Segundo Lima (1975) nenhum organismo vive isolado, independente de outros organismos ou dos fatores físicos, e sobre eles, de alguma forma, exerce também sua influência, como um componente, que também é daquele ambiente.

O ecossistema é, portanto, uma unidade de natureza ativa que combina comunidades bióticas e ambientes abióticos, com os quais interagem (BORMANN *et al.*, 2001). Desta forma, a Terra opera como uma hierarquia de sistemas, todos parcialmente independentes, mas firmemente vinculados entre si. Para Drew (2002) a intervenção humana não pode afetar de maneira significativa a atividade dos sistemas em escala global, como o sistema atmosférico, mas os sistemas de ordem inferior, sobretudo aqueles que envolvem seres vivos (ecossistemas), são vulneráveis às mudanças feitas pelo ser humano.

Os nutrientes essenciais para o crescimento e desenvolvimento dos organismos se movimentam através dos solos, das plantas, dos animais e de seus resíduos. Essa seqüência de transferências, através de uma série de compartimentos, representa a forma mais simples de ciclagem de nutrientes. Esta, em um ecossistema, consiste no fluxo desses nutrientes entre os compartimentos (vegetação e solo) e nas transferências entre um ecossistema e outro (LEITÃO FILHO *et al.*, 1993) sendo importantes para o equilíbrio e funcionamento dos fatores que compõem o ambiente. Como exemplo, pode-se destacar que o nitrogênio volatilizado do solo pode ser absorvido pelos líquens aumentando seu metabolismo e produção de fenóis, podendo variar a composição química do solo (CASTRO *et al.*, 1999). Em adição, quando as condições ambientais favorecem, a precipitação comumente transporta substâncias líquênicas para o substrato (HAWKSWORTH & HILL, 1984).

#### 2.4.1 O nitrogênio e sua relação com os líquens

O ciclo do nitrogênio é o processo pelo qual este elemento se move dentro dos ecossistemas e entre eles por toda a biosfera. Este ciclo envolve muitos processos interligados que são, muitas vezes, mediados pela atividade bacteriana (BORMANN, 2001).

O nitrogênio geralmente entra nos ecossistemas a partir da atmosfera na forma de nitrato ou íons de amônia, através de descargas elétricas, fixação biológica, ou precipitação. Esses compostos de nitrogênio são absorvidos pelas plantas (DREW, 2002; TAIZ & ZEIGER, 2004), que por sua vez são consumidas por animais, que devolvem o nitrogênio para o ambiente, em grande parte na forma de uréia (BORMANN, 2001). É considerado um sistema relativamente aberto, com volumosas entradas provenientes da atmosfera e largas perdas devido à desnitrificação e à lixiviação.

A atmosfera contém uma vasta quantidade (cerca de 78% por volume) de nitrogênio molecular  $N_2$ . Porém, nesta forma, não está diretamente disponível para os organismos vivos. A obtenção de nitrogênio da atmosfera requer a quebra de uma ligação tripla covalente de excepcional estabilidade, entre os dois átomos de hidrogênio ( $N \equiv N$ ) para produzir amônia ( $NH_3$ ) ou nitrato ( $NO_3^-$ ). Tais reações, conhecidas como fixação do nitrogênio, podem ser obtidas por processo industrial e por processo natural (TAIZ & ZEIGER, 2004).

A preferência de assimilação de nitrato como fonte de inorgânica de nitrogênio pode ser decrescente a partir de espécies pioneiras até as espécies das fases mais avançadas de sucessão ecológica, o que sugere que as estratégias de aquisição e de transporte desse elemento são ferramentas importantes no agrupamento das espécies arbóreas em grupos sucessionais (AIDAR *et al.*, 2003 *apud* SILVA *et al.*, 2007).

Em ecossistemas neotropicais, as espécies arbóreas utilizam diferentes estratégias para adquirir e transportar o nitrogênio disponível no ambiente, o que torna possível organizá-las em tipos funcionais relacionados ao uso desse elemento (STEWART & SCHIMIDT, 1998).

Em ecossistemas florestais, o estudo da ciclagem de nutrientes minerais, via serrapilheira, tem grande importância por ser considerada o meio mais importante de transferência de elementos essenciais da vegetação para o solo. Vital *et al.*, (2004) demonstram que o nitrogênio e o cálcio apresentam um valor de transferência, para o solo, mais elevado no final da estação seca, com uma tendência de diminuição nos meses mais chuvosos.

Nos líquens, a fixação de nitrogênio é restrita às espécies que possuem cianobactérias como único fotobionte (HAWKSWORTH & HILL, 1984; NASH III, 1996; LEGAZ *et al.*,

2006), mesmo quando a simbiose se dá com mais duas, três, ou quatro outras algas. Por este processo, o fotobionte supre grandes teores de carbono requeridos para o acúmulo de polióis e crescimento do micobionte. Por sua vez, os polióis facilitam a reidratação do talo, após longo período de ressecamento (NASH III, 1996). Várias espécies liquênicas têm a capacidade de reduzir o nitrogênio atmosférico autoabastecendo-se deste elemento, sendo capazes de crescer em lugares inóspitos e, desta forma, contribuem para a manutenção de um *status* nitrogenado no meio, que favoreça a instalação e crescimento de plantas, ao ceder ao meio ambiente parte de seu nitrogênio fixado.

Com base em pesquisas realizadas por Hawsksworth & Hill (1984) observou-se que todos os líquens que continham cianobactérias fixavam nitrogênio. Nos líquens o glutamato e a glutamina são os produtos primários de assimilação de nitrogênio salientando que a composição destes aminoácidos depende das variações estacionais (LEGAZ *et al.*, 2006).

Em alguns casos, nitrogênio orgânico derivado de restos de antigos talos pode ser mineralizado por microrganismos epífitos e, os íons de amônia absorvidos pelo resto do talo dão condições para a circulação deste elemento (AHMADJIAN & HALE, 1973). Este conceito é sustentado pela observação de que alguns líquens secretam enzimas extracelulares que agem sobre componentes de nitrogênio dos seus substratos (MILLBANK 1982).

A urease é a enzima que catalisa a hidrólise da uréia para dióxido de carbono e amônia, afetando a utilização desse importante fertilizante nitrogenado (LONGO & MELO, 2005). Seja qual for a via utilizada para sua síntese, a uréia é rapidamente hidrolizada pela ação de uma urease que catalisa a reação:  $\text{CO}(\text{NH}_2)_2 + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{CO}_2 + \text{NH}_4^+$  (LEGAZ *et al.*, 1981).

Estudos sobre a concentração de uréia em teste de atividade da urease mostraram que a velocidade de hidrólise da uréia é aumentada com o acréscimo deste elemento na concentração do substrato, até atingir uma quantidade adicionada suficiente para saturar a enzima (DOUGLAS & BREMNER, 1971; TABATABAI & BREMNER, 1972; ZANTUA & BREMNER, 1977).

Ao se analisar as taxas de fixação de nitrogênio pelo líquen, deve-se levar em consideração não somente o efeito da água, irradiação, pH e temperatura, mas também o período do dia e a época do ano. Pereira (1998) reporta uma influência sazonal na produção de metabólitos de espécies de *Cladoniaceae*, considerando que no verão e, portanto sob menor índice pluviométrico na costa da Paraíba, ocorre maior produção de fenóis liquênicos.

No que se diz respeito a estudos referentes à influência dos nutrientes minerais sobre o metabolismo dos fenóis liquênicos, são ainda poucas as referências se comparadas a outras

contribuições realizadas pelos líquens no ecossistema (LEGAZ *et al.*, 2006). Segundo Vasconcelos (2007), com base na realização de experimentos, as substâncias liquênicas de *Cladonia verticillaris* (Raddi) Fr. foram efetivas sobre amostras de migmatito, porém os dados referentes à participação dos líquens enquanto mediador da ciclagem de nutrientes foi considerado pelo autor ainda insuficientes, destacando a importância da continuidade e aprofundamento dos estudos, assim como a aplicação de outras técnicas complementares.

## 2.5 Líquens

### 2.5.1 Os líquens e seu funcionamento

O termo “líquen” foi introduzido pela primeira vez na literatura grega em 300 a.C, para descrever o crescimento excessivo de córtex de oliveiras (HAWKSWORTH & HILL, 1984).

Em meados do século XVIII, os líquens foram considerados pertencentes ao grupo das algas e briófitas. Vale salientar que o fato de viverem expostos à luz e possuírem coloração que muitas vezes inclui tonalidades de verde, fez com que durante muito tempo fossem considerados um tipo de vegetal. Todavia, desde o século XIX autores como Edvard August Vainio, defendiam a idéia de que não havia motivos para considerar os líquens separadamente dos outros fungos [...], pois vários grupos diferentes de fungos podem se liquenizar. A partir de 1950 o Código Internacional de Nomenclatura Botânica (CINB), passou a declarar que o nome atribuído a um líquen deve ser entendido como aplicado a seu fungo, tendo o fotobionte taxonomia particular dentro de seu próprio grupo (MARCELLI, 2006).

Hale-Jr (1983) considera que a relação morfológica e fisiológica entre fungo (micobionte) e alga (fotobionte) em simbiose é de natureza variada e, que a forma de contato pode diferir sob diferentes condições ecológicas.

Margulis & Schwartz (2001) reportam-se aos líquens como seres resultantes de uma associação simbiótica entre fungo, pertencente ao Reino Fungi, e alga, pertencente às divisões Chlorophyta ou Cyanophyta (também conhecidas como Cianobactérias), pertencentes aos Reinos Protista e Monera, respectivamente. Os líquens fazem parte de um grupo bastante diverso, estimando-se que seu número varie de 13.500 a 17.000 espécies (VALÊNCIA & CEBALLOS, 2002).

O fotobionte fornece à associação produtos da fotossíntese e, no caso de ser uma cianobactéria, fornece também nitrogênio. Os benefícios recebidos pelo fotobionte e proporcionados pelo micobionte são menos óbvios, mas pode incluir proteção contra a dessecação, radiação excessiva, manutenção de uma alta pressão parcial de dióxido de carbono (em virtude da atividade respiratória) e, a fixação e provisão de nutrientes minerais retirados do substrato.

Harksworth & Hill (1984) definem este ser vivo como uma associação entre um fungo e uma ou mais espécies de algas para formar um talo estável, no qual o fungo é o exohabitante.

Pelo fato de, morfológicamente, se assemelharem a alguns tipos de vegetais, e pela própria história da Sistemática Botânica, o corpo do líquen, ou seja, o conjunto de fungo e alga é tradicionalmente denominado talo (MARCELLI, 2006). Eles variam em complexidade, sendo encontrados desde formas muito simples até estruturas anatômicas e morfológicas muito complexas.

Aproximadamente 10% das espécies líquênicas contêm cianobactérias (NASH III, 1996), que são organismos chave em muitos ecossistemas florestais (GOWARD & ARSENAULT, 2000) por serem importantes no papel de fixação de nitrogênio e ciclagem de nutrientes, dependendo destes elementos procedentes do meio para o seu metabolismo e desenvolvimento (AHMADJIAN & HALE, 1973; NASH III, 1996). Todavia, vale ressaltar que para que haja um crescimento normal dos talos, os níveis de elementos essenciais devem estar dentro de limites precisos (LEGAZ *et al.*, 2006).

Em vários trabalhos, tem sido referida a eficácia deste ser vivo em acumular metais indicando a qualidade ambiental de áreas afetadas por poluentes (SILVA, 2002; MOTA-FILHO *et al.*, 2007), sua capacidade para fixar nutrientes do solo (VASCONCELOS, 2007) e sua contribuição pedogenética sobre rochas (COSTA *et al.*, 2001a; COSTA *et al.*, 2001b; SILVA, 2005; BARBOSA, 2006).

A comunidade líquênica se desenvolve sobre variados substratos e ambientes, muitas vezes em lugares onde outros organismos não seriam capazes de sobreviver. Fixam-se em troncos e ramificações de árvores (corticólicas), sobre folhas (foliícolas) e sobre rochas (saxícolas) e, praticamente em qualquer tipo de substrato, desde que este se encontre estável por algum tempo. São capazes também de colonizar ambientes extremos em temperatura e umidade (HALE-JR, 1983).

Os líquens crescem frações de milímetros ou até centímetros por ano. Este crescimento envolve a divisão celular e a expansão tanto do micobionte, quanto do fotobionte (HAWKSWORTH 1975; MARCELLI, 1996).

O contato alga/fungo facilita a transferência de nutrientes e produtos da fotossíntese do fotobionte para o micobionte. Este requer altos teores de açúcares elaborados a partir da fotossíntese da alga, para derivar biotroficamente seus carboidratos (NASH III, 1996). Essa associação assume importância significativa na prática, porque aumenta de forma marcante a disponibilidade de nutrientes captados pelo líquen (AHMADJIAN & HALE, 1973; HAWKSWORTH & HILL, 1984).

Os fungos liquenizados têm a capacidade de sintetizar metabólitos únicos na natureza, os quais recebem a denominação de substâncias liquênicas e são resultantes do metabolismo secundário do micobionte. A maioria destas substâncias, antigamente denominadas de “ácidos liquênicos” (CULBERSON *et al.*, 1977) é de natureza fenólica, sendo encontradas depositadas sobre hifas corticais e medulares, na forma de cristais. No talo liquênico, são responsáveis por mecanismos adaptativos e, quando isoladas, apresentam diversas atividades biológicas (HALE-JR, 1983; MÜLLER, 2001).

Determinadas espécies são amplamente distribuídas, denominadas de cosmopolitas, outras possuem distribuição restrita a alguns ambientes (HAWKSWORTH, 1975; NASH III, 1996).

Vale ressaltar, que a atuação liquênica sobre rochas, colabora no processo de pedogênese que estas sofrem ao entrarem em exposição no meio ambiente. Estes organismos são pioneiros da colonização nos lugares desérticos da crosta terrestre, e quando já todos os outros vegetais deixaram de suportar as condições adversas do ambiente ainda eles conseguem se manter.

Segundo Bunting (1971), os líquens colonizam superfícies de rochas já preparadas por algas e fungos, decompondo-se através de ação microfísica ou química. Como consequência, proporcionam crescente acesso da umidade ao interior das rochas, bem como da matéria orgânica morta, o que torna as condições propícias para posterior colonização de vegetais superiores. Contribuem, portanto, para a sucessão ecológica, sendo esta compreendida como um processo sucessivo de substituição de conjuntos de espécies, onde cada um desses períodos em que o ambiente é habitado por um grupo de espécies, com fisionomia e organização próprias, constitui uma *etapa* de sucessão (LIMA, 1971).

### 2.5.2 Caracterização de *Cladonia substellata* (Vainio)

Os líquens por Ahti (1982) denominados de cladoniformes, fazem parte de um grupo de hábito terrícola pertencente à divisão dos Discomycetes e produzem ora um talo dimórfico, diferenciado em estruturas verticais e horizontais, ora um talo fruticoso a folioso.

A composição química dos cladiformes é considerada relata, pois para cada seção, família ou gênero, ocorrem os mesmos compostos majoritários. Os líquens cladoniformes seguem o padrão do gênero *Cladonia*, no qual prevalecem substâncias da série  $\beta$ -orcinol, além de compostos específicos de alguns gêneros ou espécies. Também é possível a separação de gêneros através de análises químicas. Depsídeos da série  $\beta$ -orcinol, com exceção de atranorina, não são encontrados em espécies de *Cladonia*, já em *Cladina* estes compostos são frequentes (AHTI, 1982; 1984).

A família Cladoniaceae pertence à ordem Lecanorales, sendo a família mais representativa posicionada dentro da classe dos Ascomycetes. Possui como fotobionte algas verdes unicelulares e talos que a caracterizam apresentando formas e cores variadas (NASH III, 1996). Possui características morfológicas particulares observadas em líquens da família Cladoniaceae como, por exemplo, talos que evoluem para uma forma arbustiva.

A maioria das espécies de *Cladonia* da zona circumboreal habita solos e húmus altamente ácidos, ou são encontradas sobre podzóis. Algumas espécies são calcícolas, outras confinadas a solos intermediários entre os referidos. Outras adaptações ecológicas incluem a capacidade de algumas espécies para ocupar madeira em decomposição ou substratos rochosos (AHTI, 1982).

*Cladonia substellata* (figura 1) pertence à seção Unciales, visto que possui 98,1% de ácido úsnico (HUOVINEN & AHTI, 1986). Este ácido forma um grupo específico entre as substâncias liquênicas, e é uma das mais bem estudadas na química dos líquens. Este fenol liquênico possui atividades bastante diversificadas (NASH III, 1996).

A *C. substellata* foi descrita por Vainio em 1887 e novamente estudada por Ahti em 1973. Sua coloração verde-amarelada é idêntica à do ácido úsnico, seu principal composto, e os podécios delgados são dicotômicos em suas extremidades. Ocorre sobre solos arenosos, em áreas mais expostas, ou sobre rochas em decomposição, como os espécimes coletados em Minas Gerais (PEREIRA, 1998).



Figura 1: Talo de *Cladonia substellata* (Vainio) em seu ambiente natural, Mamanguape (PB).  
Foto: Barbosa, 2009.

### 2.5.3 Substâncias liquênicas, ácido úsnico e quelação

Culberson *et al.* (1977) aplicam o termo substâncias aos produtos liquênicos, encontrados em tais seres vivos. Ele considera que uma pequena série de derivados fenólicos, composta por quatro estruturas distintas e bem determinadas, pertence exclusivamente aos líquens. São os depsídios, as depsinonas, os dibenzenofuranos e os ácidos úsnicos, além de um composto único, o ácido picrolíquênico, encontrado em *Pertusaria amara* que responde a uma estrutura de depsona.

As substâncias liquênicas têm local específico no interior do líquen para sua produção. Algumas são de origem medular, outras corticais. A localização pode ser ainda mais restrita, como apotécios, sorédios ou himênio. Isto depende sobremaneira da natureza do fotobionte (HALE, 1983; NASH III, 1996), e provavelmente está relacionado a fatores de co-adaptação às peculiaridades do ambiente. Por outro lado, a maioria dos metabólitos secundários tem origem biossintética via ácido chiquímico e acetato polimalonato, e perfazem cerca de 10% do peso seco do talo (HALE-JR, 1983; XAVIER-FILHO, 1989; NASH III, 1996).

Os líquens produzem compostos fenólicos que são únicos deste taxon, e não são registrados em representantes do reino Plantae (CULBERSON *et al.*, 1977). Existem poucas informações sobre enzimas que sintetizam ou catabolizam estes compostos, e menos ainda se conhece sobre sua regulação metabólica.

A pesquisa sobre a biossíntese de fenóis liquênicos é muito dificultada por estes seres crescerem muito lentamente (HILL, 1984). No gênero *Cladonia* o micobionte está sempre em associação com clorofíceas do gênero *Trebouxia*, ordem Chlorococcales e, em menor proporção, com *Pseudotrebouxia*, da ordem Chlorosarcinales.

Segundo menciona Vicente (1975) o ácido úsnico foi, pela primeira vez, isolado por Rochleder & Heldt (1843) de *Ramalina calicaris* e *Usnea barbata*, dentre outras espécies de líquens. À primeira vista se descobriu a existência de duas formas, o ácido D-úsnico, o (+) úsnico ( $[\alpha]_D^{20} + 495^\circ$ ), e o ácido L-úsnico, o (-) úsnico ( $[\alpha]_D^{20} - 495^\circ$ ) com ponto de fusão de seus cristais a aproximadamente 203°C. No entanto, Shibata & Taguchi (1967) descreveram duas novas fórmulas óticas de um composto que deveria ser incluído entre os ácidos úsnicos, o ácido D-isoúsnico, o (+)-isoúsnico, de ( $D^{21} + 500^\circ$ ), isolado pela primeira vez de *Cladonia pleurota* (VICENTE, 1975).

O ácido úsnico, largamente estudado entre as substâncias liquênicas, caracteriza-se por ser uma substância de baixa solubilidade em água, ainda que alguns autores discordem desta afirmação. Também são praticamente insolúveis em glicerol, parcialmente solúveis em etanol e hexano e muito solúveis em acetona e em éter etílico (VICENTE, 1975).

A estrutura do ácido úsnico (figura 2) consta de uma unidade aromática dihidroxilada, de caráter fenólico (anel A), e a ela ligada uma função cetônica, e um grupo metila. O anel B, cíclico de seis carbonos com insaturação, contém uma metila e três grupos cetônicos. O caráter hidrófobo da substância se dá por possuir quatro grupos cetônicos e um anel furano unindo os anéis A e B. Seus cristais, de coloração amarela característica, variam de forma, de acordo com o solvente utilizado na recristalização. Por exemplo, apresenta forma de pena, quando evaporado rapidamente em acetona, ou é prismático por cristalização gradual em benzeno (ASAHINA & SHIBATA, 1954).

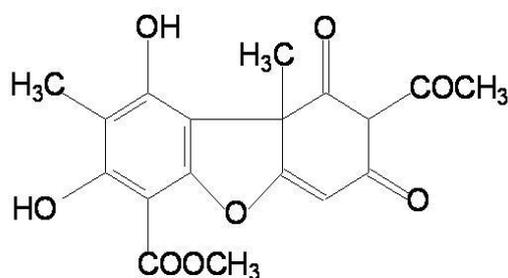


Figura 2: Estrutura molecular do ácido úsnico  
Fonte: PEREIRA, 1998.

Na literatura, é também amplamente reportada a capacidade dos líquens realizarem quelação com substratos dos mais variados (AHMADJIAN & HALE, 1973; XAVIER-FILHO *et al.*, 2006). É natural que destes substratos eles absorvam os sais minerais necessários para sua nutrição, porém também é possível encontrar quantidades anormalmente altas de certos cátions, sendo geralmente paralelas à concentração no talo e a abundância relativa de cátions no substrato (VICENTE, 1975).

Cátions como níquel, cobalto, manganês, prata, ferro, molibdênio ou cobre, são acumulados com facilidade no talo liquênico. Segundo Vicente (1975) as substâncias liquênicas do fungos atuam quelando os cátions inorgânicos do substrato, incorporando-os portanto, ao talo liquênico. Desta forma, os líquens podem extrair de seus substratos de crescimento aqueles íons minerais que são necessários para seu metabolismo. Vale ressaltar, que um excedente de íons no ambiente e, portanto não utilizados pelas plantas por exemplo, podem ser prejudiciais.

### 3 CARACTERIZAÇÃO DAS ÁREAS DE COLETA

#### 3.1 Município de Pombos-PE (milonito)

O município de Pombos (figura 3) localiza-se na mesorregião da Mata Pernambucana e na Microrregião Vitória de Santo Antão do Estado de Pernambuco, limitando-se a norte com Passira, a sul com Primavera, a leste com Vitória de Santo Antão, e a oeste com Gravatá e Chã Grande.

A área municipal ocupa 235,1 km<sup>2</sup> e representa 0.24 % do Estado de Pernambuco. Está inserido na Folha SUDENE de Vitória de Santo Antão na escala 1:100.000. A sede do município tem uma altitude aproximada de 208 metros e coordenadas geográficas de 08 Graus 08 min. 29 seg. de latitude sul e 35 Graus 23 min. 45 seg. de longitude oeste, distando 59,9 km da capital, cujo acesso é feito pela BR-232 (EMBRAPA, 2006).

O município está inserido nas bacias hidrográficas dos rios Capibaribe e Ipojuca e, na do grupo dos pequenos rios litorâneos, no qual encontra-se o rio Pirapama, que possui aí sua nascente. Também têm destaque os rios Canhas e Itapecirica, que deságuam nos rios Itapacurá e Água Azul e, os riachos perenes São João Novo, Pau Amarelo e Broto (EMBRAPA, 2006).

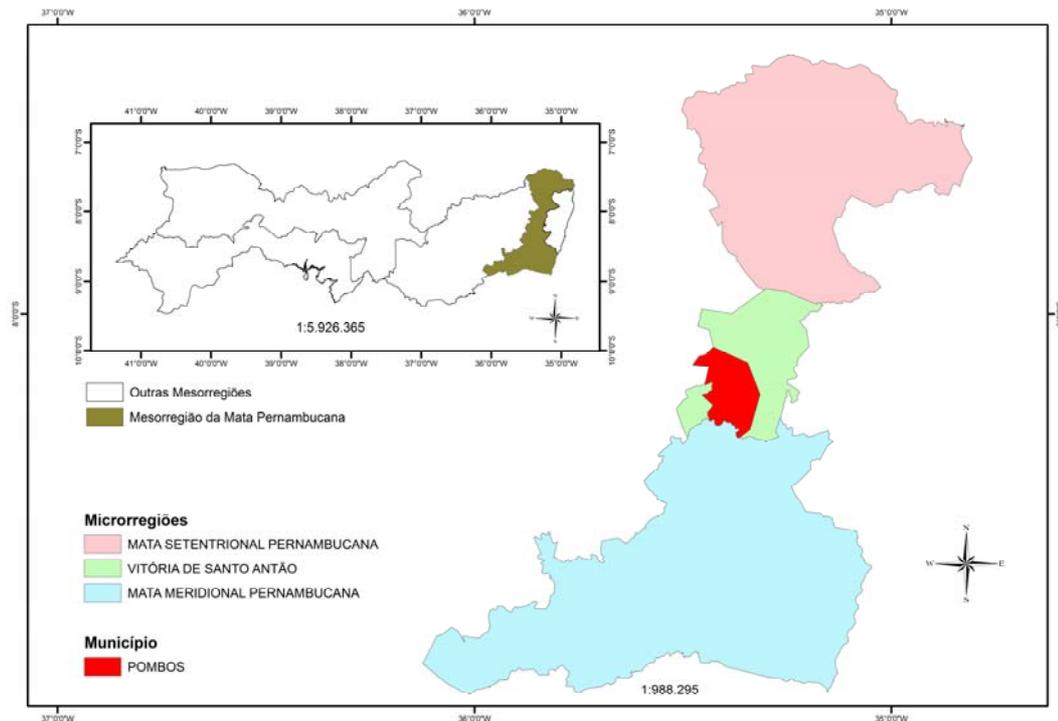


Figura 3: Mapa do município de Pombos e sua localização no estado de Pernambuco. Fonte: ZANE-EMBRAPA com adaptações feitas pelo autor, 2009.

O município de Pombos, em aspectos climáticos, é classificado, segundo Koppen, como As' - Tropical quente e úmido. Está inserido em três unidades de paisagem: as encostas orientais e setentrionais do Planalto da Borborema tendo este território algumas elevações que constituem os primeiros degraus deste maciço e, o planalto litorâneo rebaixado.

Sobre sua cobertura vegetal predomina a caatinga hipoxerófila, porém há áreas expressivas de floresta úmida devido às características geomorfológicas em que está inserido.

Fazendo referência às características pedológicas, trata-se de um município bastante diversificado visto que apresenta solos de diversos tipos que variam de acordo com as condições naturais do seu território. Com base no SiBCS ( Sistema Brasileiro de Classificação de Solos), os tipos de solos que compõem Pombos são o Argissolo, Neossolo, Planossolo, Gleissolo e Latossolo (EMBRAPA, 2006).

Geologicamente, o município está inserido no Planalto da Borborema, ao qual Ab' Saber (1969) refere-se a um maciço em abóbada de estrutura irregularmente amarrotada, decorrente de uma intensa atuação tectônica seguida pela reativação erosiva dos dobramentos, que foram acompanhados pela formação de fraturas e falhas, além de sucessivos aplainamentos. Processos erosivos originaram nessa superfície cristalina, imensos degraus, de níveis altimétricos diferentes e escalonados, denominados superfície de aplainamento (Cristofolletti, 1974).

Na Serra das Russas, local da coleta do milonito (figura 4), que se estende dos municípios de Pombos a Gravatá, é possível observar a orientação das feições geomorfológicas com direção E-W. Ao longo da BR- 232, que liga o litoral ao sertão Pernambucano, nota-se nesta área o surgimento de rochas deformadas, com dobramentos desenvolvidos durante a atuação dos esforços que deram origem à zona de cisalhamento.



Figura 4: Pacote litológico-milonito da Serra das Russas, município de Pombos-PE.  
Foto: Barbosa, 2007

### 3.2 Município de Mamanguape-PB (*Cladonia substellata*)

O Estado da Paraíba localiza-se na porção oriental do Nordeste do Brasil, entre os meridianos 34°45'54" e 38°45'45" oeste, e entre os paralelos de 6°02'12" e 8°19'18" sul.

O município de Mamanguape (figura 5) está localizado na Microrregião Mamanguape e na Mesorregião Mata Paraibana, estando inserido na unidade Geoambiental dos Tabuleiros Costeiros os quais acompanham o litoral de todo o nordeste, apresentando altitude média de 50 a 100 metros.

No nordeste brasileiro, a denominação Tabuleiro é utilizada tanto para o conjunto formado pelos baixos planaltos próximos ao litoral com solo arenoso lixiviado, como para a sua vegetação savânica semelhante ao Cerrado. Oliveira-Filho & Carvalho (1993) mencionam a ocorrência de Tabuleiros nas áreas continentais adjacentes à Restinga, estendendo-se sobre as planícies arenosas formadas sobre o Grupo Geológico Barreiras. Segundo definição adotada pelo Serviço Geológico do Brasil:

Os Tabuleiros compreendem platôs de origem sedimentar, que apresentam grau de entalhamento variável, ora com vales estreitos e encostas abruptas, ora abertos com encostas suaves e fundos com amplas várzeas. De modo geral, os solos são profundos e de baixa fertilidade natural (CPRM, 2005, p.4).

Demattê *et al.* (1996) ressaltam que a formação dos solos nesse ecossistema está diretamente relacionada às condições de drenagem e que, apesar do relevo, em geral plano a suave ondulado, ocorrem microrelevos com tamanho e formas variáveis caracterizados pela drenagem permanentemente imperfeita.

O líquen *Cladonia substellata* foi coletada no município de Mamanguape-PB, às margens da rodovia BR-101, nas proximidades da Reserva Biológica Guaribas, sobre tabuleiros arenosos e, portanto, caracterizados pelo predomínio de solo pobre e mal drenado.

A área da coleta é caracterizada por savana arbórea aberta, semelhante ao Cerrado, com muitas gramíneas, arbustos e árvores isoladas, caracterizada por apresentar solos com elevado teor de areia quartzosa distrófica, segundo Prates *et al.* (1981) e Salgado *et al.* (1981), recebendo atualmente a denominação de Neossolos quartzarênicos (EMBRAPA, 2006).

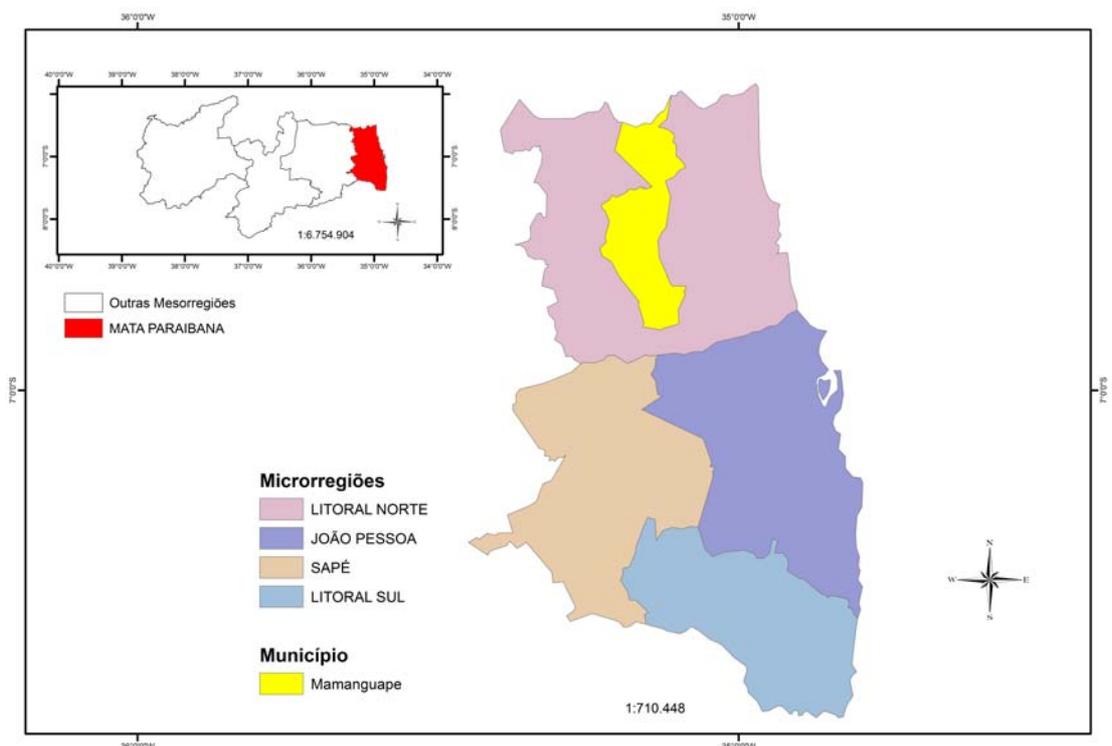


Figura 5: Mapa do município de Mamanguape com sua localização no estado da Paraíba. Fonte: ZANE-EMBRAPA com adaptações feitas pelo autor, 2009.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AHMADJIAN, V.; HALE, M. E. 1973. **The lichens**. Academic Press. New York London. 697p.
- AHTI, T. 1982. **Evolutionary trends in cladoniiform lichens**. Journ. Hattori Bot. Lab. v. 52, p. 331-351.
- AHTI, T. 1984. The status of cladina as a genus segregated from *Cladonia*. **Nova Hedwigia**, v. 79, p. 25-61.
- AHTI, T.; STENROOS, S.; XAVIER FILHO, L. 1993. The lichen family cladoniaceae in Paraíba, Pernambuco and Sergipe, Northeast Brazil. **Tropical Byol.** 50-55.
- AIDAR, M.P.M.; SCHIMIDT, S; MOSS, G.; STEWART, G.R.; JOLY, C.A. 2003. Nitrogen use strategies of neotropical rainforest trees in threatened Atlantic Forest. Plant, cell and environment. 26:389-400. In SILVA, E. F. L. P; JOLY, C. A.; AIDAR, M. P.M. Relações entre precipitação, pulso de nitrogênio no solo e o transporte e uso do nitrato por espécies arbóreas de floresta ombrófila densa submontana, Parque Estadual de Carlos Botelho, SP. **In: Anais do VIII Congresso de Ecologia do Brasil, 23 a 28 de Setembro de 2007, Caxambu – MG.**
- ASAHINA, Y.; SHIBATA, S. 1954. **Chemistry of lichen substances**. Tokio, Japanese Society for the Promotion of Science. 240p.
- BACHMANN, E. Die Beziehungen der Kieselflechten zu ihrem Substrat. *Ber Deut. Bot. Ges.* 22, 101-104.1904. In: AHMADJIAN, V.; HALE, M. E. 1973. **The lichens**. Academic Press. New York London. 697p.
- BARBOSA, H. M. S. 2005. **Análise do comportamento do migmatito sob atuação de *Cladonia substellata* (líquen) como fator de formação primária dos solos**. Monografia de Bacharelado, Curso de Ciências Geográficas, Universidade Federal de Pernambuco. 34p.: il.
- BIGARELLA, J. J. *et al.* 1985. **Rochas do Brasil**. Rio de Janeiro, ADEA-LTC. 310p. : il. col. ; 28 cm.
- BORMANN, F. H; SCHITLLER, F. H. M; BARROS, M. A. L. 2001. **Dicionário de ecologia e ciências ambientais**. 2. ed. – São Paulo: Editora UNESP: Companhia de melhoramentos,
- BUNTING, B. T. 1971. **Geografia do solo**. Ed. Zahar. Rio de Janeiro – Brasil. 259p.
- CARVALHO, I. G. 1995. **Fundamentos da geoquímica dos processos exógenos**. Bureau gráfica e editora Ltda, Salvador, Bahia. 239 páginas, ilustrado.
- CASTRO, F. B.; MULLER, A.; SCHIMITZ, M. F. 1999. **Líquenes fijadores de nitrogênio atmosférico**. Ecologia. N.4, pp. 131-141. Icona, Madrid.

COSTA, D. L. C.; SILVA, H. P. B.; SILVA, N. H.; LIMA, E. S.; MOTA-FILHO, F. O. M.; PEREIRA, E. C. 2001 a. Efeito do ácido úsnico de *Cladonia substellata* (líquen) sobre amostras de calcário de Região Metropolitana do Recife: dados preliminares. In: **Anais do 52º Congresso Nacional de Botânica**. UFPB, J. Pessoa. p. 60.

COSTA, D. L. C.; SILVA, A. M.; MOTA-FILHO, F. O.M; SILVA, N. H.; LIMA, E. S.; PEREIRA, E.C. 2001b. Ação do ácido úsnico de *Cladonia substellata* Vainio (líquen) sobre amostras de granito da Região Metropolitana do Recife. In: **Actas do VI Congresso de geoquímica dos países de Língua Portuguesa**. Faro, Portugal, ISBN 972-9341-33-8, vol. 1: 375-379.

COSTA, J. B. 2001. **Estudo e classificação das rochas por exame macroscópico**. 10ª Edição – Serviço de Educação e Bolsas – Fundação Calouste Gulbenkian – Lisboa.

CPRM - Serviço Geológico do Brasil Projeto cadastro de fontes de abastecimento por água subterrânea. 2005. **Diagnóstico do município de Pombos, estado de Pernambuco**. Organizado [por] João de Castro Mascarenhas, Breno Augusto Beltrão, Luiz Carlos de Souza Junior, Manoel Julio da Trindade G. Galvão, Simeones Neri Pereira, Jorge Luiz Fortunato de Miranda. Recife: CPRM/PRODEEM, 11 p. + anexos.

CRISTOFOLLETI, A. 1974. **Geomorfologia**. São Paulo, Edgard Blucher, Ed. Da universidade de São Paulo, ilust.

CULBERSON, W. L. 1955. **The corticolous communities of lichens and bryophytes in the upland forests of northern Wisconsin**. Ecological Monographs 25:215–231.

CULBERSON, C. F.; CULBERSON, W. L.; JOHNSON, A. 1977. **Second Supplement do Chemical and Botanical Guide of Lichen Products**. St. Lous. The American Byological and Lichenological Society. 400p.

DEMATTE, J.L.I.; MAZZA, J.A.; DEMATTE, J.A.M.1996. **Caracterização e gênese de uma topossequência Latossolo Amarelo-Podzol originado de material da formação Barreiras, Estado de Alagoas**. Scientia Agricola, v.53, n.1, p.20-30.

DOUGLAS, L.A. & BREMNER, J.M. 1971. **A rapid method of evaluating different compounds as inhibitors of urease activity in soils**. Soil Biol. Biochem., 3:309-315.

DREW, D. 2002. **Processos interativos homem – meio ambiente/ David Drew: tradução de João Alves dos Santos: revisão de Suely Bastos; coordenação editorial de Antônio Christofollette**. – 5ª edição. – Rio de Janeiro: Bertrand Brasil, 224p.

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Solos. 2006. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. Rio de Janeiro, 306p.

Food and Agriculture Organization of the United Nations. Disponível em: <<http://www.fao.org/docrep/005/y4586e/y4586e00.htm>>. Acesso em: 13 ago. 2009.

GALLOWAY, D. J. 1996. Lichen biogeography; In **Lichen Biology**; NASH III, T. H.; Ed.; Cambridge University Press, Cambridge, p 199.

GAUCHER, G. 1971. **Tratado de pedologia agrícola**. Barcelona, Ed. Omega. 647p.

GOWARD, I.; ARSENAULT. 2000. **Inland old-growth rain forests: safe havens for rare lichens?** Pp. 759–766.

GUERRA, A. J. T., SILVA, A. S.; BOTELHO, R. G. M. 1999. **Erosão e conservação dos solos: conceitos, temas e aplicações**. Ed. Bertrand Brasil, 340p.

HALE, M. E. 1957. **Lectures notes Lichenology**. West Virginia University. Morgantown.

HALE-JR., M. E., 1983, *The Biology of Lichens*. 3ed. London. Edward Arnold Pub. 90p.

HAWKSWORTH, D. L. 1975. **Lichens** – New introductory, matter and supplementary, Index by Smith, A. L. 1921. The Richmond Publishing CO. Cambridge.

HAWKSWORTH, D. L.; HILL, D. J. 1984. **The lichen-forming fungi**. Blackie & Sons. Ltd. Glasgow.

HILL, D. J. 1984. Studies on the growth of lichens. I. Lobe formation and maintenance of circularity in crustose species. **Lichenologist**, v. 16, p. 273-278.

HONEGGER, R. 1996. Morphogenesis. In: NASH III, T. H. **Lichen Biology**. Cambridge University Press/ USA, 303 p.

JONES, R. J. 1959. **Lichen hyphae in limestone**. *Lichenologist* 1, 119.

KAWAKUBO, F. S.; MORATO, R.; CAMPOS, K. C.; LUCHIARI, A.; ROSS, J. L. S. **Caracterização empírica da fragilidade ambiental utilizando geoprocessamento**. In: Anais XII Simpósio Brasileiro de Sensoriamento Remoto, Goiânia, Brasil, 16-21 abril 2005, INPE, p. 2203-2210.

LEGAZ, M. E.; CIFUENTES, B.; VICENTE, C. 1981. **Metabolismo de la urea em líquenes**. *Trab. Dep. Botânica y F. Veg.* 11: 111-125. Madrid.

LEGAZ, M. E.; VICENTE, C.; GALLO, M.; XAVIER-FILHO, L. 1987. Lichen phenols from *Cladonia dendroides* thalli. **Lichen Physiology and Biochemistry**, v. 2, p. 13- 21.

LEGAZ, M. E.; MILLANES, A. M.; CÓRDOBA, C. V. 2006. Fisiologia dos líquens. In: XAVIER-FILHO, L.; LEGAZ, M. E.; CORDOBA, C.V.; PEREIRA, E. C. G. **Biologia de Líquens**. Rio de Janeiro: Âmbito Cultural, pp. 163.

LEINZ, V. & AMARAL, S.E. 1998. **Geologia Geral**. 13. ed. Ver. São Paulo: Companhia Editora Nacional, 399p.

LEITÃO FILHO, H. F. (org.). 1993. **Ecologia da mata atlântica em Cubatão (SP)**. São Paulo: Editora da Universidade Estadual Paulista; Campinas, SP: Editora da Universidade de Campinas, 184p.

LEMOS, A.; KÄFFER, M. I.; MARTINS, S. A. 2007. **Composição e diversidade de líquens cortícolas em três diferentes ambientes: Florestal, Urbano e Industrial.** Revista Brasileira de Biociência. V.5, supl. 2, p. 228-230, Porto Alegre, Julho.

LIMA, D. A. 1975. **Um pouco de ecologia para o Nordeste.** 2 ed. Recife: Universidade Federal de Pernambuco - Editora Universitária.

LONGO, R. M.; MELO, W. J. 2005. **Hidrólise da uréia em latossolos: efeito da concentração de uréia, temperatura, pH, armazenamento e tempo de incubação.** Revista Brasileira de Ciência do Solo, 29:651-657.

MARCELLI, M.P. 2006. Fungos Liquezados. In: XAVIER-FILHO, L.; LEGAZ, M. E.; CÓRDOBA, C. V.; PEREIRA, E. C. G. **Biologia de Líquens.** Rio de Janeiro: Âmbito Cultural, pp. 23-74.

MARGULIS, L.; SCHWARTZ, K. 1982. **Five Kingdoms.** San Francisco. W. H. Freeman and Co. 328p.

MELLO, F. A. F. 1987. Uréia fertilizante. Campinas: Fundação Cargill. 192 p.

MILLBANK, J. W. 1982. **The assessment of nitrogen fixation and throughput by lichens.** III Losses of nitrogenous compounds by *Peltigera membranacea*, *P. polydactyla* and *Lobaria pulmonaria* in simulated rainfall episodes. *New Phytol.* 92, 229-234.

MOTA-FILHO, F. O.; PEREIRA, E.C. G.; LIMA, E. S.; SILVA, N. H. da S.; FIGUEIREDO, R. C. B. 2007. Influência de poluentes atmosféricos em Belo Jardim (PE) utilizando *Cladonia verticillaris* (líquen) como biomonitor. **Química Nova**, v. 30, n. 5, pp. 1072-1076.

MOURA, D. Z. O. 2006. **Intemperização do milonito sob efeito de *Cladonia substellata* (líquen).** Monografia de Bacharelado, Curso de Ciências Geográficas, Universidade Federal de Pernambuco.

MÜLLER, K. Pharmaceutically relevant metabolites from lichens. 2001. **Applied Microbiology and Biotechnology.** v. 56, p. 9-16.

NASH III, T. H. 1996. **Lichen Biology.** Cambridge, USA, Cambridge University Press. 1ed, 303p.

ODUM, E.P. 1975. **Ecologia;** tradução de Kurt G. Hell. 2. ed. São Paulo, Pioneira; Brasília, INL, 201p. ilustr.

ODUM, E. P. 2004. **Fundamentos da ecologia.** Prefácio de Eugene P. Odum; tradução de Antônio Manuel de Azevedo Gomes. 7. ed. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 927 p.: il. ; 23 cm.

OLIVEIRA-FILHO, A.T. & D.A. CARVALHO. 1993. **Florística da vegetação do extremo Norte do litoral da Paraíba.** Rev. Brasil. Bot.16 (I): 115-130.

PEREIRA, E. C. 1989. **Influência da sazonalidade na detecção de atividade antimicrobiana de *Cladonia* e *Cladina* (líquen).** 193 p. Dissertação do Curso de Mestrado

em Criptógamos. Departamento de Micologia, Departamento de Botânica. Universidade Federal de Pernambuco.

POPP, J. H. 1999. **Geologia Geral**. 5ª edição. Ed. LTC – Livros Técnicos e Científicos Editora S. A. Rio de Janeiro – RJ. 376 p.

PRATES, D. W.; GATTO, L. C. S & COSTA, M. I. P. 1981. **Geomorfologia – Projeto RADAMBRASIL, Levantamento dos recursos naturais**. Rio de Janeiro, Ministério de Minas e Energia, Vol. 23. p. 301–348.

RAVEN, P.R., EVERT, R.F. EICHHOR, S. E. 2001. **Biologia Vegetal**. Sexta edição, Guanabara Koogan. 906p.

REMMERT, H. 1982. **Ecologia**. São Paulo: EPU: Springer: Ed. da Universidade de São Paulo, 335 p.

RETALLACK, G.J. 1997. **A Colour Guide to Paleosols**. John Wiley & Sons, 175 p.

ROCHLEDER, F.; HELDT, W. 1843. **Ann. Chem.**, 48, 1.

SALGADO, O. A.; FILHO, S. J. & GONÇALVES, L. M. C. 1981. As Regiões fitoecológicas, sua natureza e seus recursos econômicos. Estudo fitogeográfico, p. 485-544. In: **Projeto RADAMBRASIL. Levantamento de Recursos Naturais**. Rio de Janeiro, IBGE, Vol. 23, Folhas SB 24/25, 744 p.

SEAWARD, M. R. D. 1997. **Lichen Ecology**, London, Academic Press, 550p.

SHIBATA, S.; H. TAGUCHI. **Occurrence of isousnic acid in lichens, with reference of “isodihydrousnic acid” derived from dihydrousnic acid**. Tetrahedron Letters 48:4867–4871. Chemical and Pharmaceutical Bulletin (Tokyo) 18, 374–378. 1967.

SHIKI, S. 1997. **Sistema agroalimentar no Cerrado brasileiro: caminhado para o caos?** In: SHIKI, S.; SILVA, J. Graziano. Agricultura, meio ambiente e sustentabilidade do Cerrado brasileiro. Uberlândia, p. 101-152.

SILVA, C. E. L. 1978. **Ecologia e sociedade: Uma introdução às implicações da crise ambiental**. – São Paulo: Ed. Loyola, 286p.

SILVA, H. P. B. 2005. **Influência da temperatura na ação quelante do ácido úsnico, e avaliação do comportamento do talo in natura de *Cladonia substellata* vainio sobre granito e calcário da Região Metropolitana do Recife**. Monografia de Graduação. Universidade Federal de Pernambuco. Recife. PE.

SILVA, H. P. B. 2006. **Radiossensibilidade gama de *Cladonia substellata* vainio (líquen) e o conseqüente efeito sobre rochas calcárias**. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Pernambuco. Recife-PE.

SILVA, R. A. 2002. ***Cladonia verticillaris* (líquen) como biomonitor padrão da qualidade do ar no Distrito de Jaboatão-PE**. Dissertação de mestrado, Curso de Gestão Ambiental, Universidade Federal de Pernambuco. 148 p.: il.

STEWART, G.R. & SCHIMIDT, S. 1998. Evolution and ecology of plant mineral nutrition. In: M.C., Scholes, J.D. & Barker, M.G. (Eds.), *Physiological plant ecology*. Blackwell science & British ecological society series, pp.91-114.

SUGUIO, K. **Dicionário de Geologia Marinha**. São Paulo: T. A. Queiroz, 1992. 172 p.

TABATABAI, M.A. & BREMNER, J.M. 1972. **Assay of urease activity in soils**. *Soil Biol. Biochem.*, 5:479-487.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. 2004. **Fisiologia Vegetal**. Trad. Eliane Romanato Santarém... [et al.]. – 3. ed. – Porto Alegre: Artmed.

TEIXEIRA, W.; TOLEDO, M. C. M.; FAIRCHILD, T. R.; TAILORE, F. 2002. **Decifrando a Terra**. São Paulo: Companhia Editora Nacional. 557 p.: il. color. ; 28 cm. 2008.

VALÊNCIA, M. C. de; CEBALLOS, J. A. **Hongos liquenizados**. Universidade Nacional de Colômbia, Bogotá.

VASCONCELOS, T. L. 2007. **Efeito do suprimento exógeno de uréia na produção de substâncias degradadoras do migmatito pelo líquen *Cladonia verticillaris* (Radi) Fr.** Monografia de Graduação, Curso de Bacharelado em Geografia, Universidade Federal de Pernambuco.

VASCONCELOS, T. L. 2009. **Influência do fósforo na produção de substâncias transformadoras do solo sob *Cladonia verticillaris* (Raddi) Fr.** Dissertação de Mestrado, Pós- Graduação de Ciências Geográficas, Universidade Federal de Pernambuco.

VICENT, C. 1975. **Fisiologia das substâncias liquênicas**. 1ª edição. Espanha.

VITAL, A. R. T.; GUERRINI, I. A.; FRANKEN, W. K.; FONSECA, R. C. B. 2004. **Produção de serapilheira e ciclagem de nutrientes de uma floresta estacional semidecidual em zona ripária**. Sociedade de Investigações Florestais, Viçosa-MG, v.28, n.6, p.793-800.

YARDLEY, B. W. D. 2004. **Introdução à Petrologia Metamórfica**. 2ª edição. Editora UNB. 434p.

ZANTUA, M.I. & BREMNER, J.M. 1977. **Stability of urease in soils**. *Soil Biol. Biochem.*, 9:135-140.

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Influência da uréia na biossíntese do ácido úsnico pelo líquen *Cladonia substellata*

Herika Maria da Silva Barbosa <sup>1\*</sup>; Eugênia Cristina Gonçalves Pereira <sup>2</sup>; Emerson Peter da Silva Falcão <sup>3</sup>;  
Nicácio Henrique da Silva <sup>4</sup>

#### RESUMO

Os líquens dependem dos nutrientes procedentes do meio para seu metabolismo e desenvolvimento, em especial de suplementos de nitrogênio. Este trabalho investiga como o nitrogênio, em forma de uréia, atua na via metabólica do líquen *C. substellata* e como este comportamento afeta a produção de seus fenóis. Amostras de líquen foram coletadas em Mamanguape-PB, sendo sobrepostas a substrato rochoso, que foi borrifado com soluções de uréia a 1%, 0,1% e 0,01% sendo mantido um experimento controle que recebeu apenas água deionizada. Amostras foram coletadas a 24 h, 48h, 72h, 7 dias, 15 dias, 30 dias e, posteriormente, a cada mês até 6 meses do experimento. Os extratos obtidos foram submetidos a análises em Cromatografias em Camada Delgada (CCD) e Líquida de Alta Eficiência (CLAE). Como resultado, observou-se que a adição da uréia ocasionou modificação notável no metabolismo do líquen e, portanto, na liberação de fenóis líquênicos. As CCD's qualificaram a presença de ácido úsnico (USN) e de outras substâncias resultantes do seu metabolismo, provavelmente conseqüentes da influência da uréia como fonte exógena. Através de CLAE quantificaram-se as concentrações de USN, o qual foi produzido durante todo o experimento. Extratos do material controle de campo e de laboratório apresentaram os maiores teores da substância. Após submetido a condições laboratoriais, sob influência de uréia, ou não, verificou-se que o líquen teve sua rota metabólica alterada, em função do incremento desta substância, principalmente, sob a concentração de 0,01%.

Palavras-chave: fontes nitrogenadas, metabolismo secundário, substâncias líquênicas.

---

<sup>1</sup> Universidade Federal de Pernambuco, Programa de Pós-Graduação em Geografia, Departamento de Ciências Geográficas, Centro de Filosofia e Ciências Humanas

<sup>2</sup> Departamento de Ciências Geográficas, Centro de Filosofia e Ciências Humanas, UFPE

<sup>3</sup> Departamento de Biologia, Centro Acadêmico de Vitória, UFPE

<sup>4</sup> Departamento de Bioquímica, Centro de Ciências Biológicas, UFPE

\* Trabalho a ser submetido à Acta Botanica Brasílica

\* Autor para correspondência: herikageo@hotmail.com

## ABSTRACT

Lichens depend on nutrients coming from environment for their metabolism and development, particularly of nitrogen supplements. This paper investigates how the nitrogen in urea, operates in the pathway of lichen *C. substellata* and how this behavior affects the production of its phenols. Lichen samples were collected in Mamanguape-PB, being superimposed on bedrock, which was sprayed with solutions of urea at 1%, 0.1% and 0.01% being maintained a control experiment that received only deionized water. Samples were collected at 24 h, 48h, 72h, 7 days, 15 days, 30 days and thereafter every month until 6 months of the experiment. The extracts were subjected to analysis in Thin Layer Chromatography (TLC) and High Performance Liquid Chromatography (HPLC). As a result, it was observed that the addition of urea caused significant change in the metabolism of the lichen, and thus the release of phenols lichens. The TLC's have described the presence of usnic acid (USN) and other substances resulting from its metabolism, probably resulting from the influence of urea as exogenous. By HPLC were quantified the concentrations of USN, which was produced during all experiment. Extracts from the material control field and laboratory showed the highest levels of the substance. After subjected to laboratory conditions, under the influence of urea, or not, it was found that the lichen had its metabolic rout altered due to the increase of this substance, especially in the concentration of 0.01%

Key words: nitrogen sources, secondary metabolism, lichenical substances.

## INTRODUÇÃO

Os líquens são organismos simbióticos resultantes da associação de um fungo (micobionte) e um organismo fotossintetizante (fotobionte) que deve ser uma alga ou uma cianobactéria (NASH III, 1996) e representam cerca de 17.000 espécies distribuídas pelo globo terrestre (HALE, 1957; NASH III, 1996) das quais para o Brasil são citadas 2.874 (MARCELLI, 2006).

No ecossistema exercem funções diversas, servindo de habitat e alimento para muitos animais, além de contribuírem para a ciclagem de nutrientes pela fixação de nitrogênio (AHMADJIAN & HALE, 1973; LEGAZ *et al.*, 2006). Este geralmente entra nos ecossistemas a partir da atmosfera na forma de nitrato ou amoníaco através de descargas elétricas ou precipitação (BORMANN, 2001).

De maneira geral, é considerado um macronutriente, de forma que o Nitrogênio (N) inorgânico disponível no ambiente inclui o N do ar e o N mineral, sendo este representado pelo nitrato e amônia

presentes no solo. O N do ar não é diretamente aproveitável pela planta, mas incorporado com ajuda de microrganismos, através de processos simbióticos (KERBAUY, 2004).

A fixação redutora do nitrogênio atmosférico está restrita a líquens com cinobiontes heterocísticos. Através deste processo o fotobionte supre grandes quantidades de carbono necessário para o acúmulo de políois e crescimento do micobionte. Este açúcar facilita a reidratação do talo liquênico após longo período de ressecamento (NASH III, 1996).

A maioria dos nutrientes é mais ligada ao solo que o nitrogênio e, a forma com a qual se estrutura seu ciclo, faz com que sejam mais facilmente rompidos pelo ser humano dos que os demais ciclos biogeoquímicos existentes na natureza (ODUM, 1975).

A entrada nos líquens de minerais procedentes do substrato também é mencionada na literatura e pode ocorrer através de diferentes vias. Goyal & Seaward (1982) referem-se ao importante papel dos líquens na degradação mecânica das rochas causada pela penetração de suas rizinas. Estas também são responsáveis pela absorção de água e metais dissolvidos. Por outro lado, partículas de pó provenientes do substrato ou das precipitações podem influenciar na composição mineral dos líquens (LEGAZ *et al.*, 2006).

Diferentes formas de nitrogênio podem ser fornecidas, principalmente através de amônia em ambientes rurais; os óxidos de nitrogênio estão em ambientes urbanos. As perdas de amônia por volatilização, por exemplo, estão associadas ao contato da uréia com o solo (MENGEL, 1996; CERETTA, 1997) e à atividade da urease (NELSON *et al.*, 1980; MOAL *et al.*, 1995). A maior entrada de nitrogênio atmosférico ocorre como deposição seca de ácido nítrico gasoso ( $\text{HNO}_3$ ), amônia ( $\text{NH}_3$ ) e dióxido de nitrogênio ( $\text{NO}_2$ ) e, ainda através da deposição de nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ) e íons de amônia ( $\text{NH}_4^+$ ) (HARGREAVES *et al.*, 1992).

Em alguns estudos, Brown & Beckett (1984) demonstram a habilidade dos líquens para fixar e acumular metais e nutrientes no solo, inclusive através das partes basais mortas.

SEWARD (1977) reporta a interação deste organismo com a umidade atmosférica, de onde retiram os elementos essenciais para sua sobrevivência, sendo alguns fotobiontes capazes de fixar nitrogênio do ar. É devido a algumas características anatômicas do líquen que partículas minerais provenientes da atmosfera (BARI *et al.*, 2001) ou do substrato (NIEBOER *et al.*, 1978) ficam agrupadas no seu talo. Neste caso, a nitrogenase é a enzima responsável pela fixação do nitrogênio, que por sua vez, atua geralmente nas zonas apical e basal.

Shields *et al.* (1957) consideram que em alguns casos o nitrogênio orgânico derivado de partes antigas do talo pode ser mineralizado por microrganismos e os íons de amônia derivados são absorvidos pelo restante do talo, dando condições para circulação de nitrogênio. Estas considerações são ratificadas por observações realizadas, concluindo que alguns líquens secretam enzimas extracelulares e estas agem sobre componentes nitrogenados do seu substrato.

Segundo Fogg (1962) a liberação de nitrogênio é uma característica comum do metabolismo das cianobactérias e infere que o mesmo ocorre dentro do talo liquênico. Portanto, estes organismos utilizam o nitrogênio atmosférico para sintetizar proteínas e outras substâncias orgânicas.

Como já mencionado, alguns líquens contêm cianobactérias como fotobiontes e, como consequência produzem glutamato e glutamina como produtos primários de assimilação do nitrogênio. Porém os líquens que contêm alga verde acumulam grandes quantidades de arginina (*E. prunastri*) enquanto que outras espécies (*Parmelia tinctorum* e *Cladonia ragniferina*) acumulam os ácidos glutâmico e aspártico como os mais abundantes no conjunto de aminoácidos livres (LEGAZ *et al.*, 2006).

Os líquens também são relatados na literatura pelo seu papel enquanto bioindicadores ambientais. Sobre este assunto Van Dobben *et al.* (2000) demonstraram a relação entre líquens epífitos, elementos-traço e poluentes atmosféricos gasosos. Entre os vários parâmetros analisados, o SO<sub>2</sub> e o NO<sub>2</sub> atmosféricos foram os fatores mais importantes na determinação de biodiversidade dos líquens, de forma que a maioria das espécies estudadas apresentou sensibilidade a estes compostos.

Sobre o metabolismo liquênico, é importante mencionar também a participação da urease, que é uma enzima de muita restrição e especificidade que tem sido encontrada em muitas espécies de líquens que possuem a capacidade de sintetizar uréia como fonte de nitrogênio orgânico.

A uréia é sintetizada como produto final nas distintas vias de catabolismo da arginina e é hidrolizada por uma urease. Algumas espécies de líquens, em particular aquelas que contêm cianobactérias, produzem urease a qual permanece com atividade constante e não apresenta nenhum incremento em sua atividade quando se adiciona uréia exógena aos talos. Por outro lado, algumas espécies que contêm alga verde sintetizam urease em resposta à adição de uréia exógena (LEGAZ *et al.*, 2006).

Este trabalho teve como objetivo avaliar de que forma o incremento de uréia como fonte exógena de nitrogênio influencia no metabolismo de *Cladonia substellata* e, principalmente, na produção do ácido úsnico.

Sabe-se que o nitrogênio é um elemento de grande importância no ecossistema, participando deste, de várias formas. Bouwnman *et al.* (1997) referem-se aos dejetos animais como importante fonte de amônia regiões com pecuária. Stewart & Schinidt (1998) consideram que em ecossistemas neotropicais, as espécies arbóreas utilizam diferentes estratégias para adquirir e transportar o nitrogênio disponível no ambiente, o que torna possível organizá-las em tipos funcionais. Para Aidar *et al.* (2003) a preferência de assimilação de nitrato como fonte inorgânica de nitrogênio pode ser decrescente a partir de espécies pioneiras até as espécies das fases mais avançadas da sucessão ecológica. Tal consideração sugere que as estratégias de aquisição e transporte deste elemento são ferramentas importantes no agrupamento das espécies arbóreas em grupos sucessionais.

Analisando quantidades de perda de uréia no sistema solo-planta em dois ciclos de cana-de-açúcar, Trivelin *et al.* (2002) utilizando <sup>15</sup>N, observaram que no experimento com cana-soca a aplicação

de uréia em profundidade resultou em 81% de recuperação do n-fertilizante, enquanto na superficial, somente 50%. Perdas de 50% do N-uréia aplicado em superfície representam aquelas que ocorreram no solo, principalmente por volatilização de amônia, assim como pela parte aérea da cana-de-açúcar. Em cana-planta, as perdas foram de 12% do N-uréia, que ocorreram, principalmente, por desnitrificação do solo. Segundo LARA CABEZAS *et al.* (1987) e TRIVELIN *et al.* (1994) no Estado de São Paulo, na cultura de cana-de-açúcar, são aplicados fertilizantes nitrogenados em profundidade (15-25 cm), sendo desprezíveis as perdas de NH<sub>3</sub>.

## MATERIAIS E MÉTODOS

*Cladonia substellata* Vaino foi coletada à margem esquerda da BR-101, no sentido João Pessoa-Natal, no município de Mamanguape-PB. Parte do material foi levado para identificação das características morfológicas e químicas do talo, sendo registrado no herbário da UFP do Departamento de Botânica, sob exsicata n° 46.687. O restante do material foi seco em laboratório à temperatura ambiente (28±3°C) e utilizado na realização dos experimentos.

Foi utilizado na realização dos experimentos 50g do material liquênico, que foi depositado sobre rocha triturada (100g) e, acondicionado em cúpulas de politereflato de etileno (PET).

Durante o procedimento as cúpulas foram mantidas fechadas, e submetidas à luminosidade solar *in direta* com fotoperíodo de 12 horas. Um dos experimentos foi borrifado somente com 1,3 mL de água deionizada (material controle).

O material tratado, além da água deionizada, recebeu soluções de uréia (1,3mL) nas concentrações 1%, 0,1% e 0,01%, borrifados diretamente sobre o substrato. O material liquênico submetido ao substrato enriquecido com uréia, foi borrifado em dias alternados com água deionizada, da mesma forma procedida com o material controle.

Após a montagem do experimento, amostras do líquen (1g) foram coletadas às 24 h, 48 h, 72 h, 7 d, 15 d e 30 d; a partir deste, a cada 30 dias até completar 6 meses. As coletas foram feitas em três pontos distintos dos recipientes, alternando entre o centro e as laterais. O material liquênico foi submetido a extrações sucessivas com éter dietílico, clorofórmio e acetona, à temperatura ambiente (28± 3°C). Posteriormente o material obtido foi acondicionado em temperatura ambiente para evaporação dos solventes, restando no fim deste processo os extratos orgânicos. Foram submetidos à análise por CCD os extratos orgânicos de amostras de *C. substellata* submetidas ou não à uréia, e do material do campo. Para estas análises, após evaporação em temperatura ambiente (28±3°C), os extratos foram aplicados em cromatoplasmas de sílica gel Merck F<sub>245+366</sub> juntamente com o úsnico, principal constituinte de *C. substellata*. A placa foi desenvolvida em sistema unidimensional de solventes A: tolueno: dioxano: ácido acético (180:45: 5 v/v), posteriormente submetida ao ácido sulfúrico a 10%, evaporada e revelada

em chapa aquecedora a 50°C, durante 20 minutos. Desta forma, foi possível realizar a reação de coloração das bandas.

Por fim, foram calculados os valores de Rf a partir das bandas evidenciadas, que foram comparadas à exibida pelo ácido úsnico padrão.

Também foi procedida a Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) utilizando-se como parâmetro de avaliação do comportamento liquênico face à adição de uréia, a produção de ácido úsnico. Esta etapa foi realizada com a utilização de um cromatógrafo HITACHI modelo 655 A-11, acoplado a um detector de UV a 290nm, modelo CG 437-B. As condições cromatográficas foram coluna de fase reversa MicroPack MCH-18 de 300x4mm, volume de injeção de 10µL, sistema isocrático e fase móvel composta por metanol: água deionizada:ácido acético (80:19:0,5 v/v), pressão constante de 88 atm. à temperatura de 28°C ± 3°C. O detector de UV foi regulado a 290 nm para detecção de ácido úsnico (HUNECK & YOSHIMURA, 1996). Através da avaliação do tempo de retenção (TR) na coluna e na área dos picos, foi possível analisar e quantificar a produção do ácido úsnico por *C. substellata*.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

*-Cromatografia em Camada Delgada (CCD):* As amostras controle de campo e de laboratório, bem como às submetidas à uréia em diferentes concentrações, produziram o USN. No entanto, maior número de bandas foi evidenciado nas amostras controle. Estas devem de tratar de fenóis minoritários da espécie, como os ácidos estítico, constítico e criptoestítico, mencionados por Ahti *et al.* (1993), ou metabólitos intermediários das vias biossintéticas da espécie, ou mesmo produtos de degradação.

É possível observar a persistência dessas bandas até 3 meses de experimento (material controle e uréia a 1%). A partir do líquen tratado com uréia a 0,1% e, as amostras subseqüentes da figura 1, observa-se uma diminuição do número de bandas evidenciadas anteriormente. Esta é uma constatação de que o confinamento do líquen, por si só, modifica seu metabolismo. No entanto, nas amostras submetidas à uréia aos 6 meses de experimento, há uma retomada da atividade, sendo novamente detectada parte das bandas. Portanto, é provável que a uréia tenha ativado a urease de *C. substellata*. Esta enzima é induzida pela uréia em várias espécies liquênicas, como *Evernia prunastri* (ESTÉVEZ & VICENTE, 1976), *Lobaria pulmonaria* (VICENTE *et al.*, 1978), *Parmelia roystonea* (XAVIER FILHO & VICENTE, 1978) e *Cladonia verticillaris* (VICENTE & XAVIER FILHO, 1979).

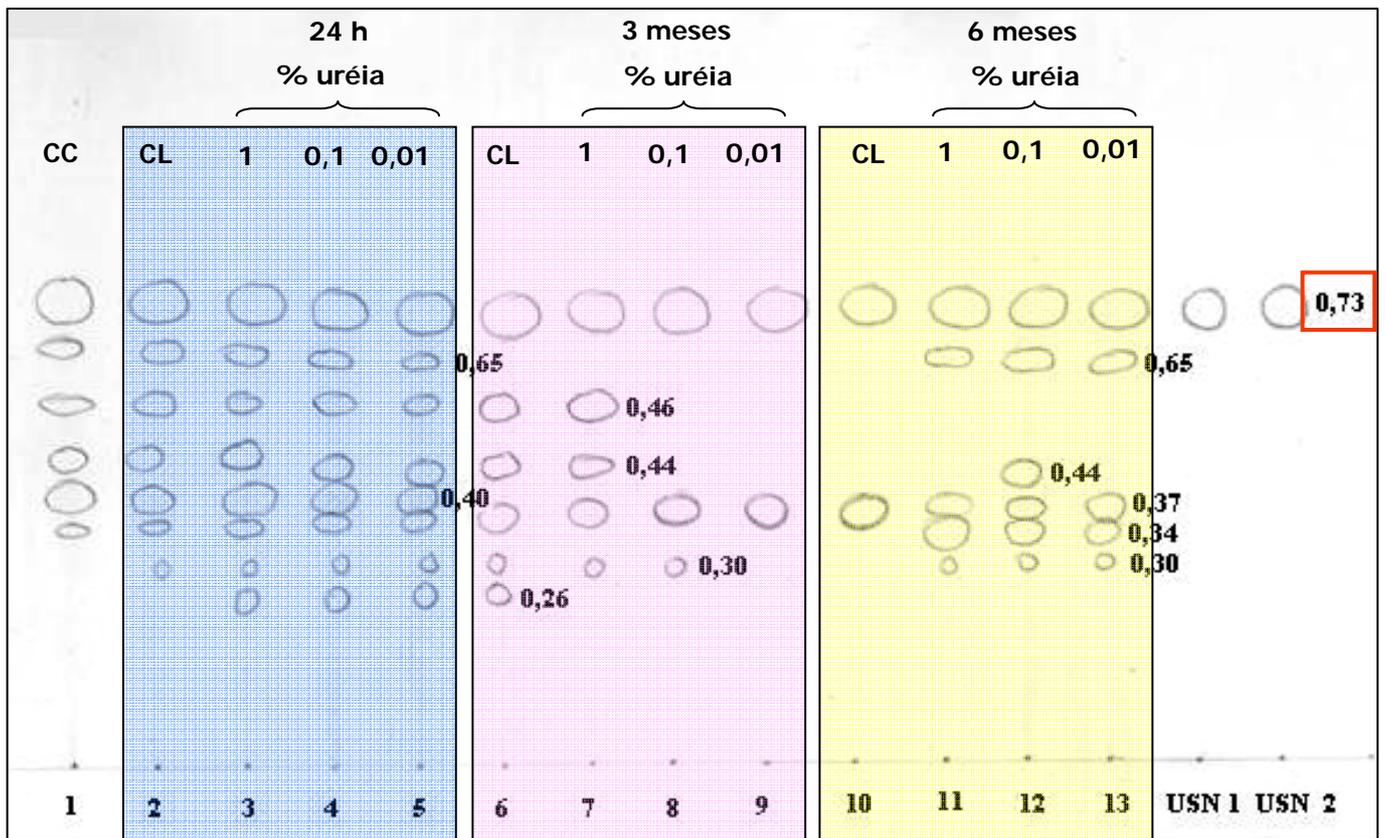


Figura 6: Cromatografia em Camada Delgada (CCD) dos extratos orgânicos de *C.substellata*. 1- campo (tempo zero); 2- controle/24h; 3-uréia 1%/24h; 4 –uréia 0,1%/24h; 5-uréia 0,01%/24h; 6-controle/3 meses; 7-uréia 1%/3 meses; 8-uréia 0,1%/3 meses; 9-uréia 0,01%/3 meses; 10-controle 6 meses; 11-uréia 1%/6 meses; 12-uréia 0,1%/6 meses; 13-uréia 0,01%/6 meses; CC-controle de campo; CL-controle de laboratório; USN1 e USN 2-padrões de ácido úsnico purificados.

Analisando o comportamento de migmatito e de quartzo sob influência de *C. verticillaris*, suplementada com uréia durante 3 meses, Vasconcelos (2006) verificou a volatilização deste nutriente e sua possível captação pelo talo liquênico.

Através das CCD's realizadas com os extratos orgânicos do líquen em experimento com quartzo observou-se certa variação na produção de substâncias. Nas amostras que receberam adição de uréia a 0,1% foram verificadas bandas do ácido fumarprotocetrárico (FUM) em todos os extratos, a diminuição de bandas intermediárias e o acréscimo das referentes à atranorina (ATR). O FUM também se fez presente nos experimentos com adição de uréia a 1%, em todos os extratos.

Em relação às bandas intermediárias, observou-se uma maior quantidade na CCD das amostras com adição de uréia, 0,1%. As bandas de ATR aparecem nos extratos 10 d, 15 d e 3 meses (VASCONCELOS, 2006). Com isto, pode-se traçar um perfil de comportamento frente à uréia pelas duas espécies.

-*Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE)*: Honda (2006) indica o uso da CLAE para identificação de substâncias liquênicas, pois é uma técnica que permite a separação de compostos de diferentes classes químicas.

Analisando o extrato orgânico de *C. substellata* referente ao controle de campo, (figura 2), observou-se que o pico de maior área, com tempo de retenção (RT) de 16,79 min, trata-se do ácido úsnico (USN). Picos menores com TR inferior devem ser referentes a compostos minoritários presentes na espécie.

Huovinen & Ahti (1986) reportam para *C. substellata* a presença do USN como composto majoritário, com teor aproximado de 98,1%. São reportados também os ácidos estítico, criptoestítico e constítico (Ahti *et al.*, 1993), porém em baixíssimas concentrações.

Para avaliação da biossíntese do USN por *C. substellata* usada nos ensaios, com ou sem adição de uréia ao substrato, obtiveram-se extratos do material coletado.

Os valores obtidos para área de cada pico foram utilizados para cálculo do teor do USN em cada amostra analisada, a partir de curva de calibração (figura 3). Erros inerentes à calibração direta foram estimados pelo desvio padrão, resultante de injeções com três repetições, para cada amostra analisada. A equação da reta, obtida por regressão linear, apresentou  $R^2$  abaixo de 1 para o USN.

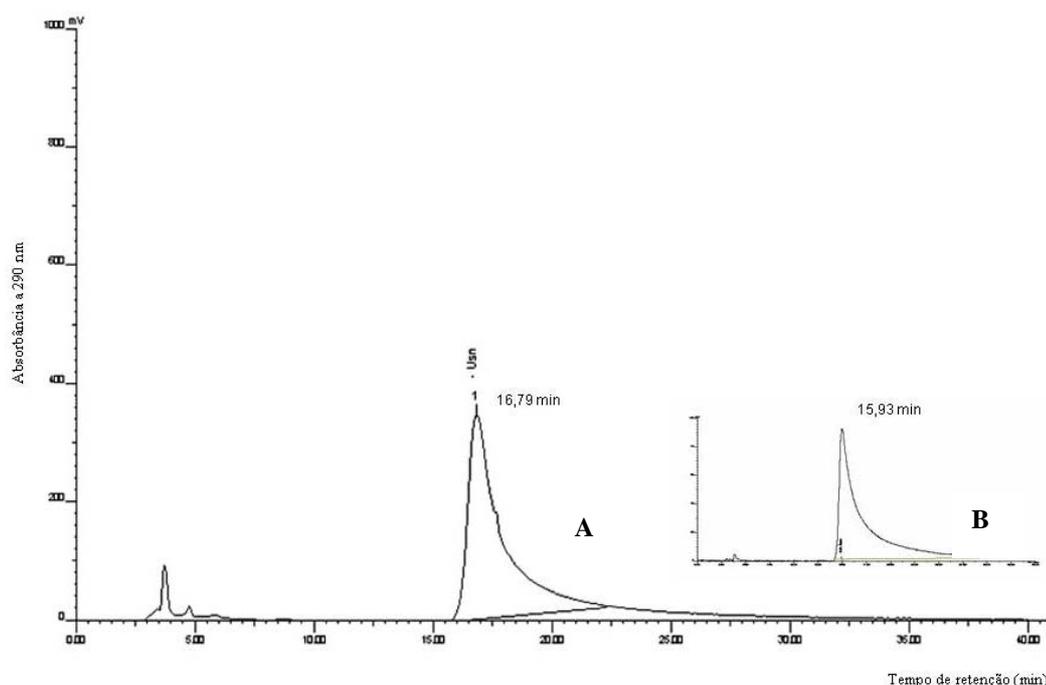


Figura 7: A-Cromatograma em fase líquida (CLAE) do extrato orgânico de *Cladonia substellata*, obtido no momento da sua coleta (controle de campo); B- CLAE do USN padrão Merck. Legenda: USN-ácido úsnico; TR- tempo de retenção da substância na coluna cromatográfica.

Com a equação da reta definida, foram calculados os teores do USN nos diferentes tratamentos e tempos de experimento (figura 4). Foi possível constatar que o material ao ser retirado do campo, apresentava teor de USN (0,900 mg) aproximado do referido por Huovieren & Ahti (1986).

Ao ser transportado para o laboratório e submetido à montagem dos experimentos, o líquen às 24h já demonstra uma queda no teor do USN (0,699 mg). Vicente *et al.* (1980) reportam que esta substância pode funcionar como recurso energético em caso de estresse nutricional. Esta pode ser uma explicação para a queda no teor do USN, quando transportado para o laboratório.

Na figura 4 é também observado o decréscimo no teor do USN, nas amostras controle, ou seja, que receberam apenas água deionizada, aos 3 e 6 meses com, respectivamente, 0,201mg e 0,219 mg. Por outro lado, as amostras que receberam a influência da uréia apresentaram queda discreta no teor de USN às 24h, quando comparadas ao controle de laboratório, mas retomaram sua produtividade aos 3 meses e, praticamente recuperaram todo o USN aos 6 meses, sobretudo as amostras tratadas com uréia a 0,1% (0,764 mg).

Líquens que contêm alga verde sintetizam urease como uma resposta a adição de uréia exógena (LEGAZ & BROWN, 1983). Isto sugere que a aplicação de fonte exógena de nitrogênio no substrato, pode tê-la volatilizado em forma de amônia e CO<sub>2</sub>, sendo este último utilizado pelo líquen para realização da fotossíntese e, a uréia na modificação da rota metabólica do ácido úsnico, incrementando a produtividade do líquen.

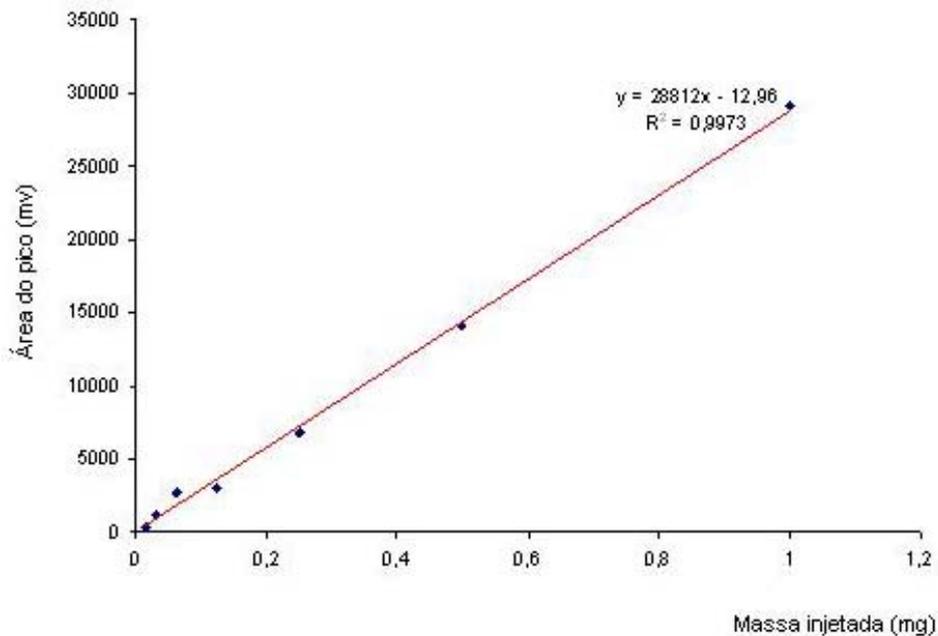


Figura 8: Curva de calibração do ácido úsnico (USN), isolado do líquen *Cladonia substellata*, obtida por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). Calibração direta:  $Y = 2881x - 12,973$ ;  $R^2 = 0,9973$ . Dados resultantes de três replicatas.

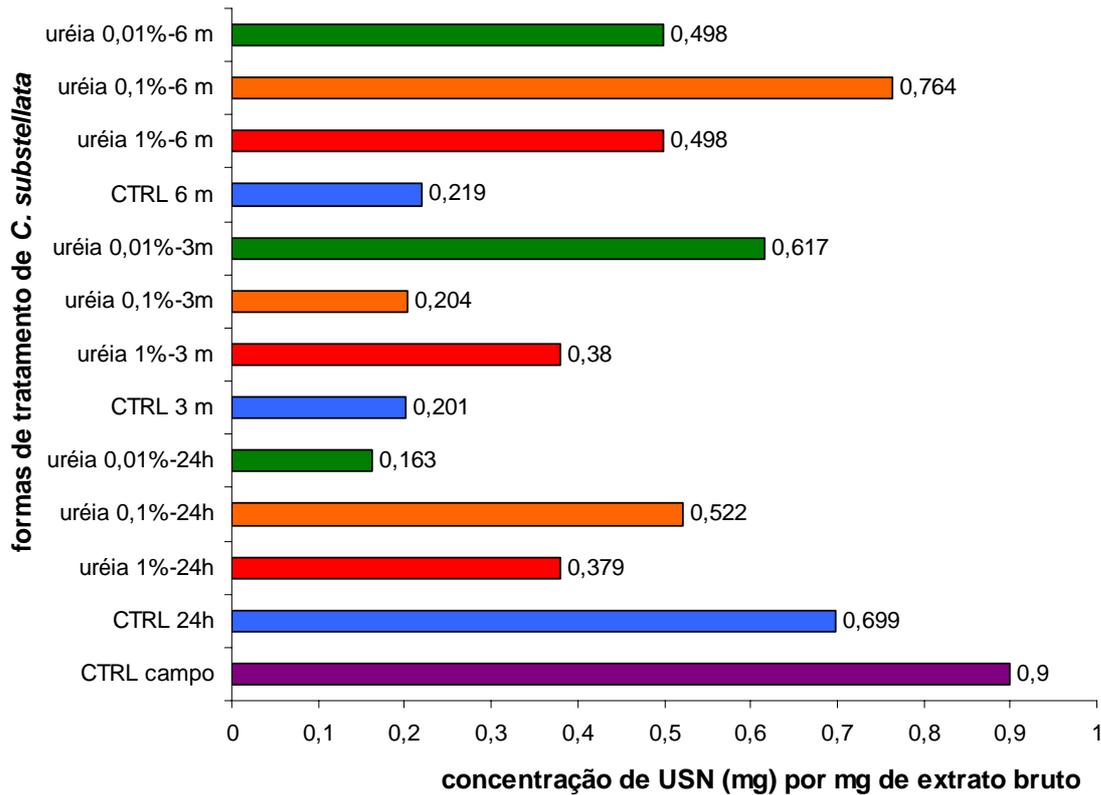


Figura 9: Quantificação do ácido úsnico (USN) em amostras de *Cladonia substellata* submetidas a ensaios laboratoriais com ou sem adição da uréia ao substrato. Legenda: CTRL: controle.

Vicente *et al.* (1984) avaliaram o metabolismo da uréia em *Cladonia sandstedei* e reportam que ela é complexada ao  $^{14}\text{CO}_2$  formando o composto  $^{14}\text{CO}_2$ -uréia, que é captado pela alga e, após a sua utilização, é excretado e, só a partir de então, é absorvido pelo fungo que tem incrementada sua produção de substâncias liquênicas.

Algumas das concentrações de uréia adicionadas podem ter sido, provavelmente, uma fator limitante ou estimulante para *C. substellata*, o que pode ter contribuído para a redução ou recuperação USN produzido. López (2006) afirma que a estabilidade da simbiose liquênica é delicada e depende das condições ambientais. Ahmadjian & Hale (1973) reportam que cada espécie de líquen possui uma quantidade ideal de absorção de uréia como fonte de nitrogênio.

## CONCLUSÃO

1. Relacionando os dados de CCD, com os apresentados com base na CLAE dos extratos orgânicos de *C. substellata* e os dos extratos de milonito, fica ratificada a produção de ácido úsnico pelo líquen mencionado.

2. A uréia, ao sofrer volatilização do substrato, foi utilizada pela *Cladonia substellata* alterando seu metabolismo e influenciando na produção de metabólitos secundários que foram repassados para o milonito.

## AGRADECIMENTOS

À bolsa de produtividade concedida pelo CNPq à Eugênia Cristina Gonçalves Pereira.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AHMADJIAN, V.; HALE, M. E. 1973. **The lichens**. Academic Press. New York London, 697p.
- AHTI, T.; STENROOS, S.; XAVIER FILHO, L. 1993. The lichen family cladoniaceae in Paraíba, Pernambuco and Sergipe, Northeast Brazil. **Tropical Byol.** 50-55.
- AIDAR, M.P.M.; SCHMIDT, S; MOSS, G.; STEWART, G.R.; JOLY, C.A. 2003. **Nitrogen use strategies of neotropical rainforest trees in threatened Atlantic Forest**. Plant, cell and environment 26:389-400.
- BORMANN, F. H; SCHITLLER, F. H. M; BARROS, M. A. L. 2001. **Dicionário de ecologia e ciências ambientais**. 2. ed. – São Paulo: Editora UNESP: Companhia de melhoramentos.
- ASAHINA, Y.; SHIBATA, S. 1954. **Chemistry of lichen substances**. Tokio, Japanese Society for the Promotion of Science, 240p.
- BARI, A.. ROSSO, A., MINCIARDI, M. R., TROIANI, F., PIERVITORI, R. 2001. **Analysis of heavy metals in atmospheric particulates in relation to their bioaccumulation in explanted *Pseudevernia furfuracea* thalli**. Environ. Monit. Assesm. 69: 205-220.
- BOUWMAN, A. F.; LEE, D. S.; WAH, A.; DENTENER, F. J.; VANDERHOEK, K. W.; OLIVIER, J. G. J. 1997. **A global high-resolution emission inventory for ammonia**. Global Biogeochemical Cycles, Washington, v. 11, n. 4, p. 561- 587.
- BROWN, D. H. & BECKETT, R. P. 1985. Uptake and effect of cations on lichen metabolism. **Lichenologist**, 16, 173-184.
- LARA CABEZAS, C. W. A. R.; TRIVELIN, P. C. O.; VICTORIA, R. L.; CAMARGO, P. B.; PICCOLO, M. C. 1987. **Volatilização de amônia da uréia-15N e aquamônia-15N aplicadas na cultura da cana-de-açúcar em condições de campo**. 1987. In: Congresso Nacional da Sociedade dos Técnicos Açucareiros e Alcooleiros do Brasil, 4.; convenção da actalac, 7., Olinda, Anais... Olinda: Stab, p. 50-59.
- CERETTA, C.A. Manejo da adubação nitrogenada na sucessão aveia-milho, no sistema plantio direto. In: FRIES, M. R.; DALMOLIN, R. S. D. 1997. **Atualização em recomendação de adubação e calagem: ênfase em plantio direto**. Santa Maria: Pallotti,. Cap. 5. p.112-124.

- EMBRAPA. 2004. **Zoneamento Agropecuário do Nordeste (ZANE)**. Recife.
- ESTÉVEZ, M. P.; Vicente, C. 1976. **1 Reunión. Soc. Esp. Fisiol. Veg.** Tenerife.
- FOGG, G. E. 1962. **Extracellular Products**. In "Physiology and Biochemistry of Algae" (R. A. Lewin, ed.), p. 475. Academic Press, New York.
- GOYAL R, SEAWARD M. R. D, 1982. **Metal uptake in terricolous lichens II, Effects on the morphology of Peltigera canina and Peltigera rufescens**. New Phytol; 90: 73-844.
- HALE, M. E. 1957. **Lectures notes Lichenology**. West Virginia University. Morgantown.
- HUNECK, S.; YOSHIMURA, I. 1996. **Identification of lichen substances**. Springer Verlag, Berlin. 504p.
- HUOVINEN, K.; AHTI, T. 1986. The composition and contents of aromatic lichen substances in the genus *Cladonia*. **Ann. Bot. Fennici**, v. 23, p. 93-106.
- KERBAUY, G.B. 2004. **Fisiologia vegetal**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan S.A.
- LEGAZ, M.E., BROWN, D.H. 1983. **Factores affecting urease activity in the lichen *Evernia prunastri***. Cryptog. Bryol. Lichénol., I: 407-414.
- LEGAZ, M. E.; VICENTE, C.; GALLO, M.; XAVIER-FILHO, L. 1987. **Lichen phenols from *Cladonia dendroides thalli***. Lichen Physiology and Biochemistry, v. 2, p. 13- 21.
- LEGAZ, M. E.; MILLANES, A. M.; CÓRDOBA, C. V. 2006. Fisiologia dos líquens. In: XAVIER-FILHO, L.; LEGAZ, M. E.; CORDOBA, C.V.; PEREIRA, E. C. G. 2006. **Biologia de Líquens**. Rio de Janeiro: Âmbito Cultural, pp. 163.
- MARCELLI, M.P. FUNGOS LIQUENIZADOS. In: XAVIER-FILHO, L.; LEGAZ, M. E.; CÓRDOBA, C. V.; PEREIRA, E. C. G. 2006. **Biologia de Líquens**. Rio de Janeiro: Âmbito Cultural, pp. 23-74.
- MOAL, J.F.; MARTINEZ, J.; GUIZIOU, F. & COSTE, C.M. 1995. Ammonia volatilization following surface-applied pig and cattle slurry in France. **J. of Agricultural Science**, Madison, 25:245-252.
- NASH III, T. H. 1996. **Lichen Biology**. Cambridge, USA, Cambridge University Press. 1ed., 303p.
- NELSON, K.E.; TURGEON, A.J. & STREET, R.J. 1980. Thatch influence on mobility and transformation of nitrogen carries applied to turf. **Agron. J.**, Madison, 72:487-492.
- NIEBOER, E. & RICHARDSON, D. H. S. & TOMASSINI, F. D. Mineral uptake and release by lichens: an overview. **The Bryologist**, 81, 226-246.
- ODUM, E.P. 1975. **Ecologia**; tradução de Kurt G. Hell. 2. ed. São Paulo, Pioneira; Brasília, INL, 201p. ilust.
- PEREIRA, E. C. 1989. **Influência da sazonalidade na detecção de atividade antimicrobiana de *Cladonia* e *Cladina* (líquen)**. Dissertação do Curso de Mestrado em Criptógamos. Departamento de Micologia, Departamento de Botânica. Universidade Federal de Pernambuco. 193 p.
- SEAWARD, M. R. D. 1997. **Lichen Ecology**, London, Academic Press. 550p.

STEWART, G.R. & SCHIMIDT, S. 1998. **Evolutiuon and ecology of plant mineral nutrition.** In: SCHOLES, J.D. & BARKER, M.G. (Eds.), *Physiological plant ecology*. Blackwell science & British ecological society series, pp. 91-114.

TRIVELIN, P. C. O.; LARA CABEZAS, W. A. R.; BOARETO, A. E. 1994. Dinâmica do nitrogênio de fertilizantes fluidos no sistema solo-planta. In: VITTI, G. C.; BOARETO, A. E. (Ed.). **Fertilizantes fluidos. Piracicaba: Potafos**, p. 253-268.

TRIVELIN, P.C.O.; OLIVEIRA, M.W. VITTI, A.C.; GAVA, G.J.C.; BENDASSOLI, J.A. 2002. **Perdas do nitrogênio da uréia no sistema solo-planta em dois ciclos de cana-de-açúcar.** *Pesq. agropec. bras.*, Brasília, v. 37, n. 2, p. 193-201.

VAN DOBBEN, H.F., WOLTERBEEK, H. TH.; WAMELINK, G. W. W.; TER BRAAK, C. J. F. 2001. **Relationship between epiphytic lichens, trace elements and gaseous atmospheric pollutants.** Elsevier. *Environmental Pollution* 112. 163-169.

VASCONCELOS, T. L. 2007. **Efeito do suprimento exógeno de uréia na produção de substâncias degradadoras do migmatito pelo líquen *Cladonia verticillaris* (Radi) Fr.** Monografia de Graduação, Curso de Bacharelado em Geografia, Universidade Federal de Pernambuco.

VICENTE, C.; XAVIER FILHO, L. 1979. **Phyton**, 37, 137.

VICENTE, C.; PALASÍ, M.; ESTÉVEZ, M. P. 1978. **Rey. Bryol. Lichénol.**, 44, 83.

VICENTE, C.; LEGAZ, M. E. ARRUDA E. C.; XAVIER-FILHO, L. 1984. **The utilization of urea by lichen *Cladonia sandstedei*.** *J. Plant Physiol.* V.115, pp397-404.

XAXIER FILHO, L.; VICENTE, C. 1978. **Bol. Soc. Brot.**, 52, 55.

## 4.2 Interação de *Cladonia substellata* e milonito: influência da uréia na produção de substâncias quelantes

Herika Maria da Silva Barbosa<sup>1\*</sup>; Eugênia Cristina Gonçalves Pereira<sup>2</sup>; Nicácio Henrique da Silva<sup>3</sup>; Emerson Peter Falcão<sup>4</sup>

### RESUMO

A preocupação com a qualidade e manutenção dos solos têm feito parte de discussões atuais, pois cada vez mais a qualidade deste recurso natural tem sido comprometida pela ação humana. Os líquens degradam rochas e minerais através da penetração de suas rizíncias nas microfissuras das rochas e através da liberação de suas substâncias que promovem a quelação de íons minerais da rocha contribuindo para a pedogênese. Este trabalho avaliou a influência de nitrogênio na produção de ácido úsnico de *Cladonia substellata* (líquen) como substância quelante do milonito. Amostras de líquen e de rocha foram coletadas em Mamanguape (PB) e em Pombos (PE), respectivamente. Milonito triturado foi submetido a tufo de *C. substellata* e foram mantidos sob cúpula em laboratório. Sobre o milonito foi adicionada uréia a 1%, 0,1% e 0,01%, e, um experimento controle foi mantido. As cúpulas (tratadas e controle) foram borrifadas a cada 24h, alternando entre uréia e água deionizada, durante 6 meses onde amostras de rocha foram coletadas. Elas foram extraídas com éter, clorofórmio e acetona. Os extratos orgânicos foram analisados por espectroscopia e os resultados indicaram que o ácido úsnico (USN) produzido pela *C. substellata* percolou desde as primeiras 24 horas de experimento e que sob uréia a 0,01% o milonito apresentou crescentes teores de USN. Bandas adicionais detectadas por cromatografias em camada delgada podem ser consideradas como produtos de quelação entre substâncias produzidas pelo líquen e os íons da rocha por ela extraídos.

**PALAVRAS-CHAVE:** ácido úsnico, milonito, uréia, quelação.

### *ABSTRACT – INTERACTION CLADONIA SUBSTELLATA AND MYLONITE: THE INFLUENCE OF UREA IN THE PRODUCTION OF SUBSTANCES CHELATORS.*

Concern about the quality and maintenance of soil have been part of current discussions, because more and more the quality of this natural resource has been compromised by human activity. Lichens break down rock and minerals through the penetration of its rizíncias in the rock microcracks and through the release of their substances that promote chelation of mineral ions from the rock contribute to pedogenesis. This study evaluated the influence of nitrogen in the production of usnic acid in *Cladonia substellata* (lichen) as chelating substance

<sup>1</sup> Universidade Federal de Pernambuco, Programa de Pós-Graduação em Geografia, Departamento de Ciências Geográficas, Centro de Filosofia e Ciências Humanas

<sup>2</sup> Departamento de Ciências Geográficas, Centro de Filosofia e Ciências Humanas, UFPE

<sup>3</sup> Departamento de Bioquímica, Centro de Ciências Biológicas, UFPE

<sup>4</sup> Departamento de Biologia, Centro Acadêmico de Vitória, UFPE

\* Artigo a ser submetido à Revista Brasileira de Geociências

\* Autor para correspondência: herikageo@hotmail.com

of mylonite. Samples of lichen and rock were collected in Mamanguape (PB) and in Pombos (PE), respectively. Crushed mylonite was underwent to tufts of *C. substellata* and were kept under dome in the laboratory. Upon the mylonite was added urea to 1%, 0.1% and 0.01%, and a control experiment was maintained. Domes (treated and control) were sprayed every 24 hours, alternating between urea and deionized, water for 6 months where rock samples were collected. They were extracted with ether, chloroform and acetone. The organic extracts were analyzed by spectroscopy and the results indicated that the usnic acid (USN) produced by *C. substellata* percolated since the first 24 hours of experiment and that in urea 0.01% the mylonite showed increasing levels of USN. Additional bands detected by Thin Layer Chromatography can be considered as products of chelation between substances produced by lichen and the rock's ions extracted by its.

**KEYWORDS:** usnic acid, mylonite, chelation, urea.

## INTRODUÇÃO

A decomposição das rochas que afloram na superfície terrestre propicia a formação dos solos e a sucessão ecológica (HAWKSWORTH & HILL, 1984). Fatores físicos, químicos e biológicos agem em conjunto com a predominância de um ou mais deles, em função da tipologia climática (AHMADJIAN & HALE, 1973).

Os líquens, organismos simbiotes formados de algas e fungos, produzem substâncias únicas deste grupo taxonômico, as substâncias liquênicas, que dentre outras propriedades, são capazes de complexar com íons inorgânicos de substratos rochosos, promovendo sua degradação formando quelatos (VICENTE, 1975).

O papel das substâncias liquênicas na pedogênese enquanto agente complexante de vários elementos dispersos na atmosfera é, portanto de grande importância (SCHATZ, 1963; ISKANDAR & SYERS, 1971; 1972). Esta capacidade faz com que os líquens facilitem o acúmulo de sedimentos, propiciando a sucessão ecológica, por criar novas condições físicas e químicas ao substrato.

Os cátions inorgânicos podem ser provenientes não somente de substrato de crescimento, mas também da contribuição atmosférica e de precipitações (HONDA & VILEGAS, 1998).

Os líquens decompõem rochas e tal habilidade se dá, essencialmente, pela atividade do micobionte atribuída ao CO<sub>2</sub> de sua respiração. Sua relação com as rochas ocorre, inicialmente, a partir do momento que estes organismos se instalam, pois, sua fixação neste tipo de substrato se dá na maioria dos casos, através da penetração de rizinas. Como menciona Marcelli (2006), alguns gêneros apresentam hifas rizoidais que se projetam do córtex e se enroscam em partículas do substrato. Em outros, o que é mais comum, o córtex pode possuir projeções especializadas denominadas rizinas e hápteros. Syers & Iskandar (1973) mencionam a desintegração mecânica da rocha por talos liquênicos saxícolas. Por isso, instalam-se nas rochas consolidadas, pois delas são dependentes para sobrevivência.

Em ambientes já formados os líquens participam dos ciclos biogeoquímicos e têm uma relação próxima com elementos de seu substrato, notadamente os que dele volatilizam. Vasconcelos (2007) ao adicionar uréia como fonte de nitrogênio ao solo de ocorrência de *Cladonia verticillaris*, induziu esta espécie à hiper produção do ácido fumarprotocetrárico (FUM). Este repassado ao solo subjacente, modificou sua composição química, ao longo de 6 meses. Sabe-se que o FUM tem capacidade de formar quelatos (SILVA, 2005), já comprovado na degradação do granito, do migmatito (SILVA, 2005), do quartzo (VASCONCELOS, 2007), entre outras rochas. A adição da uréia ao solo subsidiou a hipótese da captação do NH<sub>4</sub><sup>+</sup> e CO<sub>2</sub> pelo líquen, o que ativaria a urease e, conseqüentemente ativando a síntese do FUM.

Segundo Schatz (1963) quimicamente os líquens exercem importante papel na pedogênese através da liberação de ácidos liquênicos para a rocha. Em contato com os minerais constituintes desta, ocorre a quelação. Em complemento, Pereira (1997) designa quelação, nestas condições, como sendo uma reação química onde a substância liquênica capta íons provenientes da rocha.

Asta *et al.* (2001) mencionam a importância de líquens terrícolas, ratificando através da realização de experimentos com três espécies alpinas cujas análises foram submetidas a técnicas micromorfológicas e ultramicroscopia, que um estreito contato entre a hifa e os minerais do solo, favorece alguns processos físicos como a reorientação de partículas dos minerais.

Os fenóis liquênicos frequentemente contêm grupos polares tais como OH, COOH, e COH que favorecem a complexação de cátions (SYERS, 1973). A complexação de metais por ácidos liquênicos tem significado importante em processos de desgaste de minerais e rochas que atuam como substrato de líquens (HONDA & VILEGAS, 1998).

Silva (2005) ao analisar o comportamento de migmatito sob efeito de ácido fumarprotocetrárico (FUM), verificou através de cromatografia em camada delgada (CCD) que houve interação entre os minerais da rocha e a substância liquênica.

A capacidade dos líquens de absorver e reter nutrientes do ar atmosférico capacita estes seres à fixação em substratos onde os recursos são limitados.

Em termos ecológicos, os líquens são diferenciados por se desenvolverem sobre solos, rochas, árvores, ou ainda, sobre quaisquer outros substratos desde que estes ofereçam as condições necessárias para tal. A maior parte destes organismos geralmente adquire as características do substrato sobre o qual se desenvolvem, embora algumas espécies nem sempre respondam a estas condições.

*Cladonia substellata* produz altos teores do ácido úsnico (USN) que também tem propriedades quelantes. Portanto, questiona-se neste trabalho se a adição de fonte exógena de nitrogênio, na forma de uréia, irá promover uma maior síntese do USN e se esta substância percolará para o substrato composto de milonito, rocha metamórfica de composição muito variada e, se este ácido funcionará como degradador da rocha.

## MATERIAIS E MÉTODOS

Milonito e líquen da espécie *Cladonia substellata* foram coletados para a realização dos ensaios laboratoriais. A rocha foi coletada em Pombos-PE, nas mediações da Serra das Russas. Tufos de *Cladonia substellata* foram coletados sobre tabuleiros arenosos do município de Mamanguape-PB. A área de coleta do líquen situa-se próxima à reserva Biológica Guaribas, às margens da Rodovia-101, no sentido João Pessoa-Natal.

Após a coleta, o líquen foi acondicionado em caixas de papelão e posteriormente os talos foram utilizados para a realização de quatro experimentos. Estes foram montados no Laboratório de Produtos Naturais, Departamento de Bioquímica, Universidade Federal de Pernambuco. Para a realização dos experimentos (figura 1) o material foi acondicionado em cúpulas de plástico transparentes com tampa e sob ela foram depositados 100g da rocha triturada e peneirada a uma granulometria < 20 Mesh.

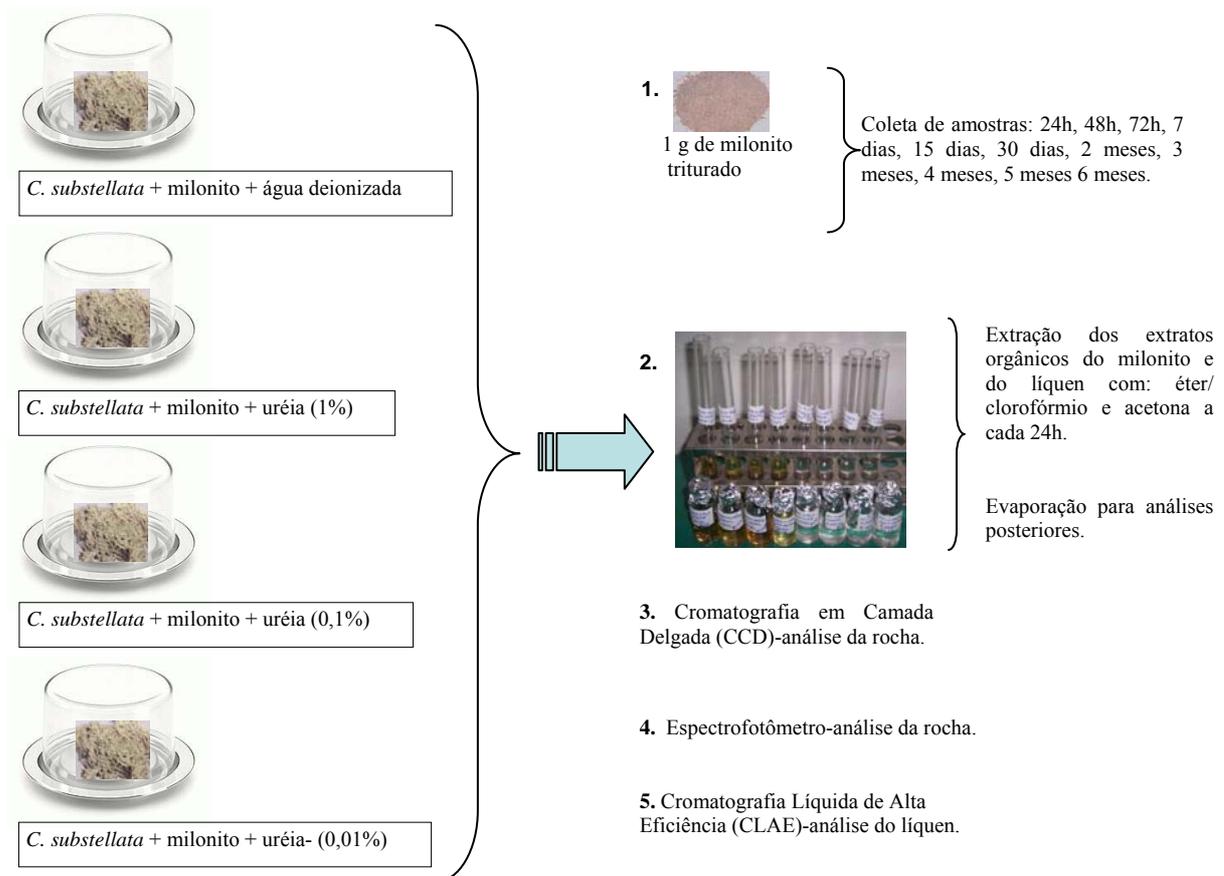


Figura 10: Esquema da montagem dos experimentos.

O milonito foi triturado, peneirado e posteriormente acondicionado sob 50g de material líquênico seco. Durante o procedimento as cúpulas foram mantidas fechadas, exceto nos momentos em que os microsistemas foram borrifados e ficaram localizadas sob condições naturais de luminosidade, próximas à janela de vidro fechada, submetidas, portanto, à luminosidade de 12 horas aproximadas e ao escuro alternadamente. Em todos os experimentos, os líquens foram borrifados com 1,3 mL de água deionizada, em dias alternados.

Cúpulas teste tiveram incremento de uréia nas concentrações 1%, 0,1% e 0,01% sobre o substrato rochoso. Amostras (1g) foram coletadas periodicamente durante seis meses, no período de 24 horas da montagem dos experimentos, às 48h, 72h, 7 dias, 15 dias, 30 dias e a partir deste ponto, de mês em mês até a conclusão dos ensaios laboratoriais, aos 6 meses. O material rochoso foi extraído sucessivamente como éter, clorofórmio e acetona.

Os extratos finais foram submetidos à evaporação à temperatura ambiente ( $28 \pm 3^\circ\text{C}$ ) e avaliados por Cromatografia em Camada Delgada (CCD) e espectrofotometria.

CCD's foram realizadas a partir dos extratos da rocha dissolvidos em éter, aplicados em cromatoplaças de sílica gel Merck F245+366 e desenvolvidas em sistema unidimensional de solventes A: tolueno: dioxano: ácido acético (180:45: 5 v/v), de acordo com metodologia proposta por Culberson (1972).

Após evaporação dos solventes a placa foi revelada sob luz UV curta e longa e, posteriormente pulverizada com ácido sulfúrico ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) a 10% e aquecida a  $50^\circ\text{C}$  por

aproximadamente 30 minutos, para a reação de coloração das bandas. Este parâmetro e os de Rf (rate of flow) serviram para identificação do ácido úsnico, assim como para a constatação da presença de outras substâncias produzidas no decorrer da sua via metabólica, e/ ou substâncias degradadas pela formação de quelatos.

A leitura em espectrofotômetro foi realizada em equipamento Biorad, Smart Spec 3000 Spectrophotometer, série 269 BR 01858, ajustado a um comprimento de onda 290nm (HUNECK & YOSHIMURA, 1996).

O ácido úsnico padrão Merck foi utilizado para construção da curva de calibração e para cálculo desta substância nos extratos do milonito. Através da avaliação do tempo de retenção (TR) na coluna e da área dos picos, foi possível quantificar o ácido úsnico nas amostras da rocha.

Através da leitura de lâminas, foi analisada também a composição mineralógica do milonito (tempo zero) e do material triturado, submetido ou não à uréia, referente ao sexto mês de experimento para identificação dos minerais constituintes, assim como alguma possível alteração morfológica na rocha testada. As amostras foram pulverizadas, selecionadas por granulometria (< 20 Mesh) e em seguida envolvidas por resina poliexetil, com o intuito de colar em uma lâmina de vidro e desbastada até a espessura de 30  $\mu$  para observação sob macroscópio petrográfico.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Por CCD foi possível observar que o USN produzido por *C. substellata* foi repassado ao milonito, visto que nos extratos obtidos da rocha subjacente ao líquen tratado ou controle, foi observada mancha correspondente a esta substância, quando comparada aos padrões utilizados (figura 2).

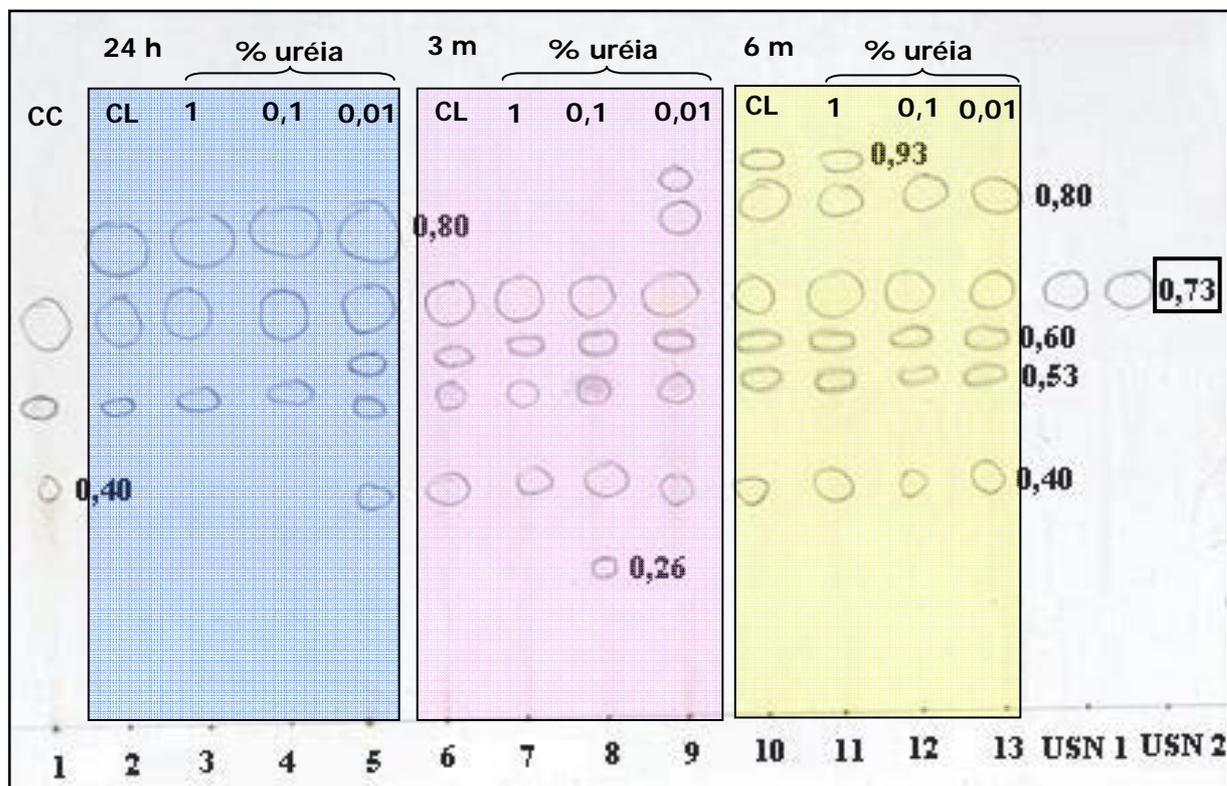


Figura 11: Cromatografia em Camada Delgada (CCD) dos extratos orgânicos de milonito. Legenda: 1- campo (tempo zero); 2- controle/24h; 3-uréia 1%/24h; 4 –uréia 0,1%/24h; 5-uréia 0,01%/24h; 6-controle/3 meses; 7-uréia 1%/3 meses; 8-uréia 0,1%/ 3 meses; 9-uréia 0,01%/3 meses; 10-controle 6 meses; 11-uréia 1%/6 meses; 12-uréia 0,1%/6 meses; 13-uréia 0,01%/6 meses

Na mesma figura observa-se também que o extrato do líquen obtido no momento de sua coleta (ponto 1) evidencia-se com mancha correspondente ao USN, Rf de 0,73, além de duas outras em menor intensidade. Estas podem se tratar dos ácidos norstíctico e istíctico (AHTI *et al.*, 1993). Estas substâncias foram também observadas ao longo do experimento. No entanto, bandas extras acima e abaixo da indicada pelo USN são registradas. As acima podem se tratar deste composto na sua forma reduzida, o que pode ter ocorrido pela adição de uréia, ou de sua interação com os íons do milonito.

Por outro lado, Barbosa *et al.*, (em preparo), ao analisarem o extrato de *C. substellata* submetida a diferentes concentrações de uréia, não detectaram o úsnico na forma reduzida. Isto também foi observado por Costa (2001a) quando submeteu calcário a soluções de USN e à formação de quelatos foi comprovada por quantificação multielementar e difratometria por raios-x.

As análises em espectrofotometria determinaram os valores de absorbância dos extratos obtidos das amostras de milonito que tiveram a concentração do USN determinadas pela progressão das suas absorbâncias, que resultaram numa curva de calibração (figura 3).

Com base nos valores de absorbância usados para curva de calibração do USN foi definida a equação da reta, a partir da qual foram calculados os teores de USN nas amostras de milonito, nos diferentes tratamentos e tempos de experimento. A equação da reta, obtida por regressão linear, apresentou  $R^2$  abaixo de 1 para o USN.

A interação das substâncias de *C. substellata* percoladas para o milonito pode ser ratificada pelas leituras em espectrofotômetro com base nas concentrações de USN presente no substrato.

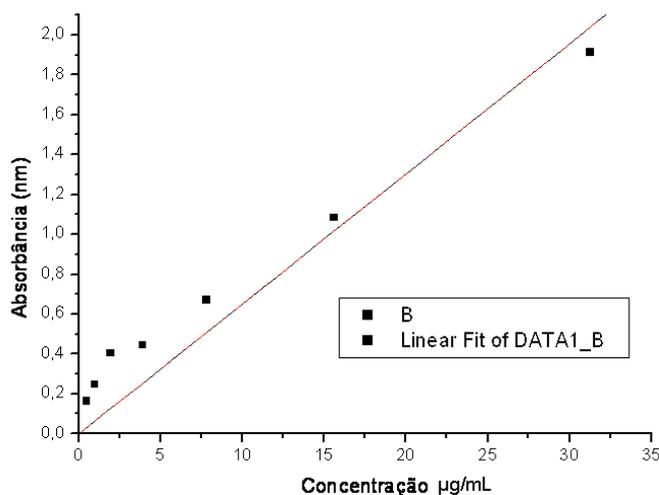


Figura 12: Curva de calibração USN- Erro padrão = 0,18675;  $R = 0,99682$ ; Equação da reta:  $Y = 3,45 \times 10^{-5} \times B$ .

Através das leituras nota-se uma alternância entre substâncias e prováveis quelatos nas amostras, ao longo do experimento. Esta detecção vai também diferir em relação à adição da uréia.

Na figura 4 observa-se que, no material controle, o líquen já é capaz de liberar seus compostos, mediado pela água borrifada. No entanto, as diferentes concentrações de uréia demonstram teores distintos de produtos detectados por espectrofotometria.

É provável que a uréia tenha realmente induzido a um incremento na produção do USN, sobretudo a 0,01%. Sabe-se que as atividades enzimáticas dependem de uma concentração ótima de precursores, dentre outros fatores. Por isso, neste caso, é provável que concentrações mais baixas da uréia otimizem a biossíntese do úsnico.

De acordo com a figura 4, verificou-se que para as amostras controle de laboratório, a maior concentração da substância foi registrada aos 4 meses (0,18 mg/mL). Vale ressaltar que os valores registrados para as amostras controle, são normalmente inferiores àqueles observados nas amostras tratadas com incremento de uréia.

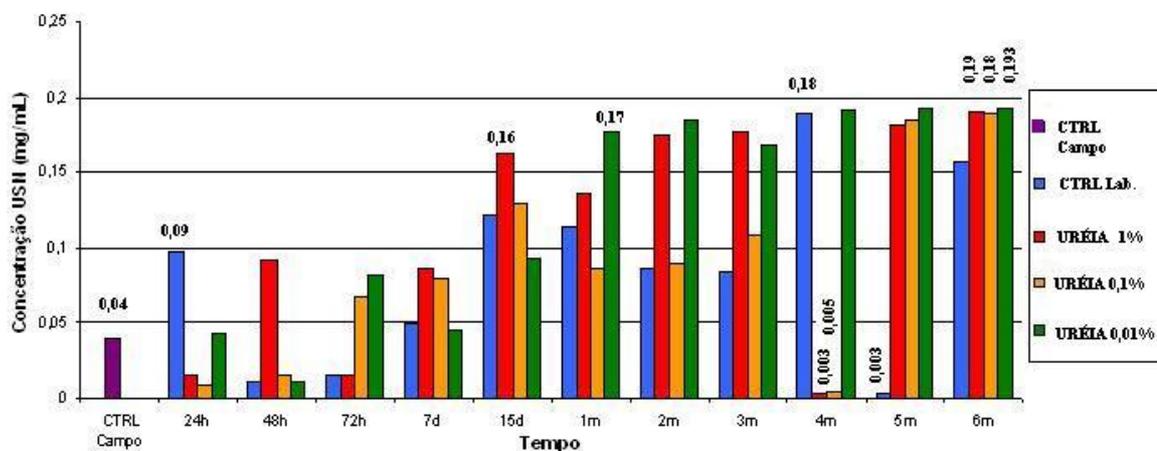


Figura 13: Concentração de ácido úsnico (em mg/mL) nos extratos orgânicos de milonito submetidos ou não à uréia, condicionados sob *Cladonia substellata*.

Os teores de USN repassados para o milonito quando submetido à uréia 1% ocorreram, exceto ao sétimo dia e a um mês de experimento, de forma crescente até os 3 meses. No quarto mês foi registrado um valor próximo de zero para a concentração de USN. Tal comportamento pode ter sido resultado da saturação do talo face à alta concentração de uréia, provavelmente já possuindo quantidades suficientes desta substância, utilizada em seu metabolismo. Nos meses seguintes os teores de USN encontrados na rocha atingiram valores superiores aos anteriores.

Para as amostras submetidas a 0,1% de uréia, durante os 6 meses de experimento, observou-se que estas seguem a mesma tendência daqueles observados à 1%, porém, apresentando teores ainda mais baixos de USN detectado na rocha. Sob ambas as concentrações foi verificada uma queda considerável no teor de USN aos 4 meses, sendo o valor retomado no mês seguinte. Comportamento semelhante foi verificado para as amostras controle de laboratório, apresentando um queda na concentração de úsnico aos 5 meses, a qual foi novamente aumentada no último mês do experimento.

Ainda sobre a figura 4 pode-se afirmar que sob uréia a 0,01%, o USN encontrado no milonito no início dos experimentos até às 48h, foi caracterizado por valores inferiores às das demais condições de laboratório impostas à rocha, para o mesmo período de tempo. Entretanto, foi registrado a partir dos 7 dias de experimento, concentrações de USN em valores crescentes durante maior parte dos experimentos, chegando a ultrapassar, aos seis meses, as concentrações da substância observadas para 1% e 0,1% de uréia, assim como os dados referentes ao material controle.

A curva aponta para uma tendência crescente ainda após os seis meses de experimento. Tal fato pode indicar uma maior produção desse fenol no interior do talo o que, conseqüentemente, ao ser percolado para o milonito, deve ter proporcionado à rocha, uma maior modificação química em sua constituição. Desta forma, os dados de espectrofotometria sugerem que houve interação entre a substância líquênica testada e os minerais constituintes do milonito.

Com base nos resultados obtidos das leituras microscópicas das lâminas pulverizadas, submetidas ou não à uréia (figura 5), observou-se nas seções delgadas a presença de Feldspato

potássico, Plagioclásio cálcico e Quartzo, na composição do milonito. Os cristais são na sua forma quebrados/ fraturados e alongados. Feldspato potássico predomina entre estes os cristais de microclina ( $KAlSi_3O_8$ ). De maneira geral, o uso desta técnica não foi suficiente para identificar possíveis mudanças morfológicas nos cristais do milonito das amostras analisadas. Portanto, para a obtenção de melhores resultados são necessários estudos aprofundados, com a utilização de análises mais rigorosas como leituras em Difractometria de Raio-X.

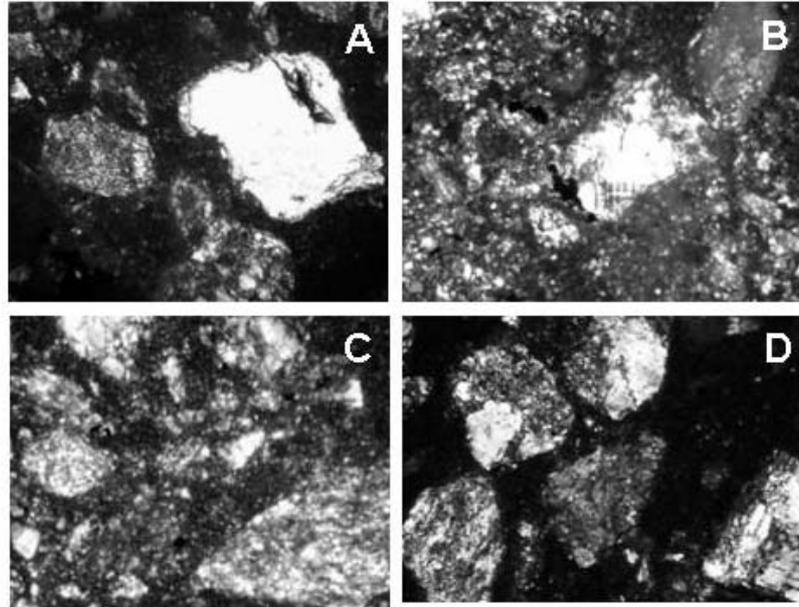


Figura 14: Micrografias do milonito submetido ou não à uréia, sob *Cladonia substellata*. Legenda: A-controle laboratório; B-uréia 1%; C-uréia 0,1%; D-uréia 0,01%.

Foto: Maurílio Moraes, 2009.

## CONCLUSÃO

A uréia quando adicionada sobre o substrato rochoso, propiciou maiores teores de USN, principalmente sob concentração de 0,1%, porém a 0,01% os resultados podem ser considerados mais satisfatórios visto que a produção de USN se deu de forma crescente, sem que houvesse quedas significativas na produção no decorrer do experimento.

Com base nas concentrações encontradas na rocha no decorrer dos experimentos, observou-se que o USN reagiu com os minerais do milonito e que, portanto, a rocha sofreu quelação pela substância liquênica.

O uso de técnicas mais detalhadas em estudos futuros, possivelmente pode vir a constatar alterações morfológicas do milonito.

## AGRADECIMENTOS

Ao Conselho Nacional de Pesquisa pela bolsa de produtividade concedida à Eugênia Cristina Gonçalves Pereira.

## REFERÊNCIAS

- AHMADJIAN, V.; HALE, M. E. 1973. **The lichens**. Academic Press. New York London, 697 p.
- ASTA, J.; ORRY, F.; TOUTAIN, F.; SOUCHIER, B.; VILLEMIN, G. 2001. **Micromorphological and ultrastructural investigations of liche-soil interface**. Soil Biology & Biochemistry 33, p. 323-337. Vandoeuvre Les Nancy Cedex, França.
- HAWKSWORTH, D. L.; HILL, D. J. 1984. **The lichen-forming fungi**. Blackie & Sons. Itd. Glasgow.
- HONDA, N.K. & VILEGAS, W. 1998. A química dos liquens. **Química Nova** 21 (6): 110-125.
- HUNECK, S.; YOSHIMURA, I. 1996. **Identification of lichen substances**. Springer Verlag, Berlin. 504p.
- ISKANDAR, I.K., SYERS, J.K. 1971. **Solubility of lichen compounds in water: pedogenic implications**. The Lichenologist 5, 45±50.
- ISKANDAR, I.K., SYERS, J.K., 1972. **Metal complex formation by lichens compounds**. Journal of Soil Science 23, 255±265.
- MARCELLI, M.P. Fungos Liquenizados. In: XAVIER-FILHO, L.; LEGAZ, M. E.; CÓRDOBA, C. V.; PEREIRA, E. C. G. 2006. **Biologia de Liquens**. Rio de Janeiro: Âmbito Cultural. pp. 23-74.
- SCHATZ, A., 1963. **Chelation and nutrition. Soil microorganisms and soil chelation. The pedogenic action of lichens and lichen acids**. Journal of Agricultural and Food Chemistry 11, 112±118.
- SILVA, B. C. G. , 2005. **Ação do ácido fumarprotocetrárico e talo *in natura* de *Cladonia verticillaris* sobre amostras de migmatito**. Monografia de Bacharelado, Curso de Ciências Geográficas, Universidade Federal de Pernambuco.
- SYERS, J. K.; Iskandar, I. K.; 1998. **Pedogenetic significance of Lichens; In The Lichens; ALMADJIAN, V.; HALE, M. E.; HONDA, N. K.; VILEGAS, W. A química dos liquens**. Química Nova, 21(6), 110-120.
- VASCONCELOS, T. L. 2007. **Efeito do suprimento exógeno de uréia na produção de substâncias degradadoras do migmatito pelo líquen *Cladonia verticillaris* (Raddi) Fr**. Monografia de Graduação, Curso de Bacharelado em Geografia, Universidade Federal de Pernambuco.
- VICENTE, C.; 1975. **Fisiologia das substâncias líquênicas**. 1ª edição. Espanha.

## ANEXOS

## ANEXO A



## INSTRUÇÕES AOS AUTORES

- Objetivo
- Normas gerais para publicação de artigos na Acta Botanica Brasilica

ISSN 0102-3306 *versão impressa*  
 ISSN 1677-941X *versão online*

**Objetivo**

A **Acta Botanica Brasilica** é o periódico científico publicado sob a responsabilidade da Sociedade Botânica do Brasil (SBB), tendo sido criado em 1987. Vem regularmente publicando um volume por ano que, até 1997, contava com dois fascículos. Em 1998, a revista passou a ter periodicidade quadrimestral (três fascículos por ano: abril, agosto e dezembro) e, a partir de 2001, periodicidade trimestral (quatro fascículos por ano: março, junho, setembro e dezembro). A Acta Botanica Brasilica publica artigos originais em todas as áreas da Botânica, básica ou aplicada, em Português, Espanhol ou Inglês. Os trabalhos deverão ser motivados por uma pergunta central que denote a originalidade e o potencial interesse da pesquisa, de acordo com o amplo espectro de leitores nacionais e internacionais da Revista, inserindo-se no debate teórico de sua área. O periódico conta com Corpo Editorial, representado por uma Editora-Chefe, três Editores Assistentes e 17 Editores de Área, distribuídos entre cada um dos grandes segmentos desta Ciência (Taxonomia de Fanerógamos, Taxonomia de Criptógamos, Fisiologia, Ecologia, Botânica Estrutural e Etnobotânica), cada representante com mandato de três anos e eleitos durante a Assembléia Geral Ordinária que acontece nos Congressos Nacionais.

## Normas gerais para publicação de artigos na Acta Botânica Brasilica

1. A **Acta Botanica Brasilica (Acta bot. bras.)** publica artigos originais, comunicações curtas e artigos de revisão, estes últimos apenas a convite do Corpo Editorial. Os artigos são publicados em Português, Espanhol e Inglês e devem ser motivados por uma pergunta central que mostre a originalidade e o potencial interesse dos mesmos aos leitores nacionais e internacionais da Revista. A Revista possui um espectro amplo, abrangendo todas as áreas da Botânica. Os artigos submetidos à Acta bot.bras. devem ser inéditos, sendo vedada a apresentação simultânea em outro periódico.

2. Os textos do manuscrito deverão ser formatados usando a fonte Times New Roman, tamanho 12, com espaçamento entre linhas 1,5 e **numeração contínua de linhas**, desde a primeira página. Todas as margens deverão ser ajustadas para 1,5 cm, com tamanho de página de papel A4. Todas as páginas deverão ser numeradas seqüencialmente.

3. O manuscrito submetido (documento principal, acrescido de documentos suplementares, como figuras e tabelas), poderá conter até 25 páginas (equivalentes a 14 páginas impressas, editadas em programa de editoração eletrônica).

4. Todos os manuscritos submetidos deverão ser subdivididos nas seguintes seções:

1. DOCUMENTO PRINCIPAL

1.1. Primeira página. Deverá conter as seguintes informações:

a) Título do manuscrito, conciso e informativo, com a primeira letra em maiúsculo, sem abreviações. Nomes próprios em maiúsculo. Citar nome científico completo.

b) Nome(s) do(s) autor(es) com iniciais em maiúsculo, com números sobrescritos que indicarão, em rodapé, a afiliação Institucional. Créditos de financiamentos deverão vir em Agradecimentos, assim como vinculações do manuscrito a programas de pesquisa mais amplos (não no rodapé). Autores deverão fornecer os endereços completos, evitando abreviações.

c) Autor para contato e respectivo e-mail. O autor para contato será sempre aquele que submeteu o manuscrito.

1.2. Segunda página. Deverá conter as seguintes informações:

a) RESUMO: em maiúsculas e negrito. O texto deverá ser corrido, sem referências bibliográficas, em um único parágrafo. Deverá ser precedido pelo título do manuscrito em Português, entre parênteses. Ao final do resumo, citar até 5 (cinco) palavras-chave à escolha do(s) autor(es), em ordem alfabética, não repetindo palavras do título.

b) ABSTRACT: em maiúsculas e negrito. O texto deverá ser corrido, sem referências bibliográficas, em um único parágrafo. Deverá ser precedido pelo título do manuscrito em Inglês, entre parênteses. Ao final do abstract, citar até 5 (cinco) palavras-chave à escolha do(s) autor(es), em ordem de alfabética. Resumo e abstract deverão conter cerca de 200 (duzentas) palavras, contendo a abordagem e o contexto da proposta do estudo, resultados e conclusões.

1.3. Terceira página e subseqüentes. Os manuscritos deverão estar estruturados em Introdução, Material e métodos, Resultados e discussão, Agradecimentos e Referências bibliográficas, seguidos de uma lista completa das legendas das figuras e tabelas (se houver), lista das figuras e tabelas (se houver) e descrição dos documentos suplementares (se houver).

1.3.1. Introdução. Título com a primeira letra em maiúsculo, em negrito, alinhado à esquerda. O texto deverá conter:

a) abordagem e contextualização do problema;

b) problemas científicos que levou(aram) o(s) autor(es) a desenvolver o trabalho;

c) conhecimentos atuais no campo específico do assunto tratado;

d) objetivos.

1.3.2. Material e métodos. Título com a primeira letra em maiúsculo, em negrito, alinhado à esquerda. O texto deverá conter descrições breves, suficientes à repetição do trabalho. Técnicas já publicadas deverão ser apenas citadas e não descritas. Indicar o nome da(s) espécie(s) completo, inclusive com o autor. Mapas poderão ser incluídos (como figuras na forma de documentos suplementares) se forem de extrema relevância e deverão apresentar qualidade adequada para impressão (ver recomendações para figuras). Todo e qualquer comentário de um procedimento utilizado para a análise de dados em Resultados deverá, obrigatoriamente, estar descrito no item Material e métodos.

1.3.3. Resultados e discussão. Título com a primeira letra em maiúsculo, em negrito, alinhado à esquerda. Tabelas e figuras (gráficos, fotografias, desenhos, mapas e pranchas), se citados, deverão ser estritamente necessários à compreensão do texto. Não insira figuras ou tabelas no texto. Os mesmos deverão ser enviados como documentos suplementares. Dependendo da estrutura do trabalho, Resultados e discussão poderão

ser apresentados em um mesmo item ou em itens separados.1.3.4. Agradecimentos. Título com a primeira letra em maiúsculo, em negrito, alinhado à esquerda. O texto deverá ser sucinto. Nomes de pessoas e Instituições deverão ser escritos por extenso, explicitando o motivo dos agradecimentos.1.3.5. Referências bibliográficas. Título com primeira letra em maiúsculo, em negrito, alinhado à esquerda. Se a referência bibliográfica for citada ao longo do texto, seguir o esquema autor, ano (entre parênteses). Por exemplo: Silva (1997), Silva & Santos (1997), Silva *et al.* (1997) ou Silva (1993; 1995), Santos (1995; 1997) ou (Silva 1975; Santos 1996; Oliveira 1997). Na seção Referências bibliográficas, seguir a ordem alfabética e cronológica de autor(es).

Nomes dos periódicos e títulos de livros deverão ser grafados por extenso e em negrito.Exemplos:Santos, J.; Silva, A. & Oliveira, B. 1995. Notas palinológicas. Amaranthaceae. Hoehnea 33(2): 38-45.Santos, J. 1995. Estudos anatômicos em Juncaceae. Pp. 5-22. In: Anais do XXVIII Congresso Nacional de Botânica. Aracaju 1992. São Paulo, HUCITEC Ed. v.I.Silva, A. & Santos, J. 1997. Rubiaceae. Pp. 27-55. In: F.C. Hoehne (ed.). Flora Brasílica. São Paulo, Secretaria da Agricultura do Estado de São Paulo.Endress, P.K. 1994. Diversity and evolutionary biology of tropical flowers. Oxford. Pergamon Press.Furness, C.A.; Rudall, P.J. & Sampson, F.B. 2002. Evolution of microsporogenesis in Angiosperms. <http://www.journals.uchicago.edu/IJPS/journal/issues/v163n2/020022/020022.html> (acesso em 03/01/2006).Não serão aceitas referências bibliográficas de monografias de conclusão de curso de graduação, de citações de resumos de Congressos, Simpósios, Workshops e assemelhados. Citações de Dissertações e Teses deverão ser evitadas ao máximo e serão aceitas com justificativas consistentes.1.3.6. Legendas das figuras e tabelas. As legendas deverão estar incluídas no fim do documento principal, imediatamente após as Referências bibliográficas. Para cada figura, deverão ser fornecidas as seguintes informações, em ordem numérica crescente: número da figura, usando algarismos arábicos (Figura 1, por exemplo; não abrevie); legenda detalhada, com até 300 caracteres (incluindo espaços). Legendas das figuras necessitam conter nomes dos táxons com respectivos autores, informações da área de estudo ou do grupo taxonômico.

Itens da tabela, que estejam abreviados, deverão ser escritos por extenso na legenda. Todos os nomes dos gêneros precisam estar por extenso nas legendas das tabelas.

**Normas gerais para todo o texto.** Palavras em latim no título ou no texto, como por exemplo: *in vivo*, *in vitro*, *in loco*, *et al.* deverão estar grafadas em *itálico*. Os nomes científicos, incluindo os gêneros e categorias infragenéricas, deverão estar em *itálico*. Citar nomes das espécies por extenso, na primeira menção do parágrafo, acompanhados de autor, na primeira menção no texto. Se houver uma tabela geral das espécies citadas, o nome dos autores deverá aparecer somente na tabela. Evitar notas de rodapé.

As siglas e abreviaturas, quando utilizadas pela primeira vez, deverão ser precedidas do seu significado por extenso. Ex.: Universidade Federal de Pernambuco (UFPE); Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV). Usar abreviaturas das unidades de medida de acordo com o Sistema Internacional de Medidas (por exemplo 11 cm, 2,4 µm). O número deverá ser separado da unidade, com exceção de porcentagem, graus, minutos e segundos de coordenadas geográficas (90%, 17°46'17" S, por exemplo).

Para unidades compostas, usar o símbolo de cada unidade individualmente, separado por um espaço apenas. Ex.: mg kg<sup>-1</sup>, μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>, mg L<sup>-1</sup>. Litro e suas subunidades deverão ser grafados em maiúsculo. Ex.: L, mL, μL. Quando vários números forem citados em seqüência, grafar a unidade da medida apenas no último (Ex.: 20, 25, 30 e 35 °C). Escrever por extenso os números de zero a nove (não os maiores), a menos que sejam acompanhados de unidade de medida. Exemplo: quatro árvores; 10 árvores; 6,0 mm; 1,0-4,0 mm; 125 exsicatas.

Para normatização do uso de **notações matemáticas**, obtenha o arquivo contendo as instruções específicas em <http://www.botanica.org.br/ojs/public/matematica.pdf>. O Equation, um acessório do Word, está programado para obedecer as demais convenções matemáticas, como espaçamentos entre sinais e elementos das expressões, alinhamento das frações e outros. Assim, o uso desse acessório é recomendado. Em trabalhos taxonômicos, o material botânico examinado deverá ser selecionado de maneira a citarem-se apenas aqueles representativos do táxon em questão, na seguinte ordem e obedecendo o tipo de fonte das letras: **PAÍS. Estado:** Município, data, fenologia, coletor(es) número do(s) coletor(es) (sigla do Herbário).

Exemplo:

**BRASIL. São Paulo:** Santo André, 3/XI/1997, fl. fr., Milanez 435 (SP).

No caso de mais de três coletores, citar o primeiro seguido de *et al.* Ex.: Silva *et al.*

Chaves de identificação deverão ser, preferencialmente, indentadas. Nomes de autores de táxons não deverão aparecer. Os táxons da chave, se tratados no texto, deverão ser numerados seguindo a ordem alfabética.

Exemplo:

- |    |       |   |            |
|----|-------|---|------------|
| 1. | 1.    | Plantas                                 | terrestres |
|    | 2.    | Folhas orbiculares, mais de 10 cm diâm. |            |
|    | ..... | 2. S. orbicularis                       |            |
|    | 2.    | Folhas sagitadas, menos de 8 cm compr.  |            |
|    | ..... | 4. S. sagittalis                        |            |

- |    |                     |                      |
|----|---------------------|----------------------|
| 1. | Plantas             | aquáticas            |
|    | 3. Flores brancas   | ..... 1. S. albicans |
|    | 3. Flores vermelhas | ..... 3. S. purpurea |

1. purpurea

2. O tratamento taxonômico no texto deverá reservar o itálico e o negrito simultâneos apenas para os nomes de táxons

válidos. Basiônimo e sinonímia aparecerão apenas em itálico. Autores de nomes científicos deverão ser citados de forma abreviada, de acordo com o índice taxonômico do grupo em pauta (Brummit & Powell 1992 para Fanerógamas).

Exemplo:

1. *Sepulveda albicans* L., Sp. pl. 2: 25. 1753.

Pertencia albicans Sw., Fl. bras. 4: 37, t. 23, f. 5. 1870.

Fig. 1-12

Subdivisões dentro de Material e métodos ou de Resultados e/ou Discussão deverão ser grafadas com a primeira letra em maiúsculo, seguida de um traço (-) e do texto na mesma linha.

Exemplo: Área de estudo - localiza-se ...

## 2. DOCUMENTOS SUPLEMENTARES

**2.1. Carta de submissão.** Deverá ser enviada como um arquivo separado. Use a carta de submissão para explicitar o motivo da escolha da Acta Botanica Brasilica, a importância do seu trabalho para o contexto de sua área e a relevância científica do mesmo.

**2.2. Figuras.** Todas as figuras apresentadas deverão, obrigatoriamente, ter chamada no texto. Todas as imagens (ilustrações, fotografias, eletromicrografias e gráficos) são consideradas como 'figuras'. **Figuras coloridas poderão ser aceitas, a critério do Corpo Editorial, que deverá ser previamente consultado. O(s) autor(es) deverão ser responsabilizar pelos custos de impressão.**

As figuras deverão ser referidas no texto com a primeira letra em maiúsculo, de forma abreviada e sem plural (Fig.1, por exemplo).

As figuras deverão ser numeradas seqüencialmente, com algarismos arábicos, colocados no canto inferior direito. Na editoração final, a largura máxima das figuras será de: 175 mm, para duas colunas, e de 82 mm, para uma coluna.

Cada figura deverá ser editada para minimizar as áreas com espaços em branco, otimizando o tamanho final da largura máxima de 175 milímetros (duas colunas) e altura máxima de 235 mm (página inteira). No caso de estampa, a letra indicadora de cada figura deverá estar posicionada no canto inferior direito. Inclua "A" e "B" para distingui-las, colocando na legenda, Fig. 1A, Fig. 1B e assim por diante.**2.3. Tabelas.** As tabelas deverão ser referidas no texto com a primeira letra em maiúsculo, de forma abreviada e sem plural (Tab. 1, por exemplo). **Todas as tabelas apresentadas deverão, obrigatoriamente, ter chamada no texto.** As tabelas deverão ser seqüencialmente numeradas, em arábico (Tabela 1, 2, 3, etc; não abrevie), com numeração independente das figuras. O título das tabelas deverá estar acima das mesmas. Dados mais extensos poderão ser enviados como documentos suplementares, os quais estarão disponíveis como links para consulta pelo público. Mais detalhes poderão ser consultados nos últimos números da Revista.

## ANEXO B



Envio de manuscritos

Os trabalhos submetidos à publicação **somente poderão ser enviados por correio eletrônico, acessando o site [www.sbcs.org.br](http://www.sbcs.org.br)** (E-mail: [autores@sbcs.org.br](mailto:autores@sbcs.org.br)), e não mais em papel.

Diretrizes para Autores

### FOCO E ESCOPO

1. A **Revista Brasileira de Geociências (RBG)** destina-se à **divulgação de temas científicos** de interesse amplo e caráter **original** relacionada com as Geociências do Brasil e países circunvizinhos, inclusive processos modernos e novas técnicas de campo e laboratório. São quatro números regulares e dois temáticos anuais.
2. A **RBG** publica *Artigos*, *Discussões*, *Resenhas de Livros* e *Notícias* de cunho geocientífico.
3. Os textos podem ser redigidos em português, francês, espanhol ou, preferencialmente, em inglês.
4. *Artigos* – modo principal de publicação e contém até 8.000 palavras, incluindo referências bibliográficas. Não serão aceitos artigos particionados (Ex. parte 1, parte 2). Os artigos deverão permitir a leitura, independente de um artigo anterior.
5. *Discussões* – seção destinada a divulgar comentários sobre *Artigos* publicados recentemente, seguida da *Réplica* pelo(s) autor(es) do trabalho de origem. Ambos textos devem ser breves, objetivos e concisos.
6. *Resenha de Livros* - As resenhas são publicadas a convite os Editores.
7. *Notícias de cunho Geológico* - Trata-se de notícias que mereçam rápida comunicação.

A não observância da extensão de qualquer das formas de divulgação da **RBG** implicará na devolução aos autores para adaptação.

## 1. PREPARAÇÃO PARA SUBMISSÃO.

a) **Tipo e Tamanho de Arquivo:** O texto do manuscrito deverá ser enviado em **arquivo Word (.doc)**, **em separado**, com os locais de inserção das figuras assinalados, seguido das respectivas legendas. As **ilustrações** deverão ser enviadas em **arquivo .tif**, também **em separado** (uma ilustração por arquivo). O mesmo procedimento deverá ser adotado para as **tabelas**, em arquivo. doc.

O artigo não poderá ultrapassar a **8.000** palavras, incluindo título, autores, instituições e e-mail, resumo e palavras-chave, abstract e keywords, texto, referencias e legendas.

Nenhum **arquivo** poderá ultrapassar a **10Mb** de tamanho.

b) **Forma de envio:** O texto deverá ser enviado no “Passo 3. Transferência de manuscrito” e as **ilustrações** (inclusive tabelas) no “Passo 4. Transferencia de documentos suplementares” no Sistema Eletrônico de submissão (ver passos práticos para envio de manuscritos na página da RBG, no ítem "Instruções para envio de artigos").

### 1.1 Artigos

a) **Organização de artigos:** deverá constar em seqüência, o título, nome completo do(s) autor(es), instituição e e-mail (nome da instituição, cidade, estado, país e e-mail. Para alunos de mestrado ou doutorado, indicar "Programa de Pós-graduação", instituição, e demais informações acima), resumo e palavras-chave, abstract e keywords, texto completo, referências, ilustrações e tabelas. O texto deve conter, preferencialmente: introdução, materiais e métodos, resultados, discussão, conclusões e agradecimentos.

b) **Hierarquização dos títulos e subtítulos:** Deve seguir o padrão: Nível 1 – EM NEGRITO, TODAS AS LETRAS MAIÚSCULAS. Nível 2 – Em **negrito**; a primeira letra da primeira palavra em maiúscula e as demais minúsculas. Nível 3 - *ITÁLICO*, NÃO NEGRITO, TODAS AS LETRAS MAIÚSCULAS. Nível 4 – *Itálico*, não negrito; a primeira letra da primeira palavra em maiúscula e as demais minúsculas. Agradecimentos – *Negrito e itálico* (apenas o subtítulo). **Referências** – **Negrito e minúsculas** (apenas o subtítulo). Manter um espaço simples entre ítems e subitens do texto. Utilizar fonte Times New Roman, tamanho 11.

A indicação da inserção das ilustrações (figuras, tabelas, etc) no texto deverá ser em posição o mais próximo possível de sua primeira citação.

c) **Formato do Resumo e o Abstract:** Não poderão exceder 250 palavras cada, em parágrafo único, fonte Times New Roman, corpo 10, espaço simples (1,0) e serem seguidos de palavras-chaves e keywords (no mínimo 3 e máximo 5), respectivamente. Artigos em português, espanhol ou francês deverão ter o título vertido para o idioma inglês, em *MAIÚSCULO E ITÁLICO*, colocado após a palavra Abstract.

d) **Formato do texto:** Editar o texto em Word, fonte Times New Roman, corpo 11, espaço simples, papel A4, orientação em retrato e editado em apenas uma coluna. As margens deverão ter as seguintes medidas: superior: 2,0; inferior 2,0; esquerda 3,0 e direita 2,0. Digitar as tabelas em documentos word.

e) **Abreviações:** Devem ser evitadas ou mantidas ao mínimo. Se usadas, devem ser definidas na primeira vez que forem mencionadas e não devem ser utilizadas no título, resumo e abstract.

f) **Ilustrações:** A versão impressa da RBG publica ilustrações em preto e branco e tons de cinza.

As ilustrações coloridas poderão ser publicadas, na versão impressa, desde que o autor pague o valor de R\$ 500,00 (quinhentos reais) por página colorida. O autor será informado sobre o número de páginas coloridas após a diagramação do artigo aceito. O pagamento deverá ser feito em conta da SBGeo. Para informações, entrar em contato com a secretaria ([sbgeol@uol.com.br](mailto:sbgeol@uol.com.br)).

As ilustrações gráficas, fotográficas e fotomicrográficas serão numeradas seqüencialmente, na ordem de sua citação no texto e consideradas, mesmo pranchas, indiscriminadamente como Figuras. Deverão ser separadas do texto por uma linha. Não serão aceitos encartes. Fotografias de afloramentos deverão apresentar barra de escala e indicação do norte.

**Letreiros e símbolos das ilustrações** devem ter dimensões adequadas para permitir legibilidade. **As ilustrações** deverão ter **larguras máximas** de **8,5** ou **18** centímetros e **comprimento máximo** de **25,5** centímetros (permitir diagramação em duas colunas). Explicar todos os símbolos. Escalas gráficas, se necessárias, devem ser colocadas dentro da área das ilustrações.

As **Tabelas** devem ser auto-explicativas, com as laterais abertas, concisas e numeradas seqüencialmente. Devem ser elaboradas em Times New Roman, corpo 9. As legendas das ilustrações deverão ser redigidas com a mesma fonte do texto e corpo.

**Formato das Figuras:** Só serão aceitas figuras **.tif**. As figuras coloridas deverão ser em cmyk (não poderão ser rgb) e tons de cinza deverão ser em gray-scale. As figuras (coloridas, preto e branco e tons de cinza) deverão ter **resolução mínima de 300dpi**, podendo ser comprimidas em LZW.

g) **Fórmulas e Equações:** Numerar as fórmulas e equações seqüencialmente à direita, com números arábicos entre parênteses e, no texto, referir como “equação (1)”, etc.

h) **Citações no corpo do texto:** Deve-se seguir os formatos do seguinte exemplo: ..."Cunha (1985) interpreta a feição como uma estrutura de resfriamento magmático precoce, mas outros (Lima 1986, Fonseca *et al.* 1989, Ferreira & Araújo 1994) como uma feição tardia".

i) **Referências: Relatórios internos são serão aceitos** nas referências, com exceção daqueles que são amplamente difundidos na comunidade científica e autorizados pelos consultores *ad hoc*. As referências deverão ser feitas em Times New Roman, corpo 10. Ao final do texto, ordenar as referências em ordem alfabética do sobrenome do primeiro autor, empregando os seguintes formatos:

**Livros:**

Arndt N.T. & Nisbet E.G. (Eds.) 1982. *Komatiites*. George Allen & Unwin, London, 526 pp.

**Capítulos de Livros:**

Pollack H.N. 1997. Thermal characteristics of the Archean. *In: M. de Wit & L.D. Ashwal (eds.) Greenstone belts*. Oxford Monographs on Geology and Geophysics, 25, Oxford University Press, p.: 223-232.

#### **Artigos de Periódicos:**

Resende M.G. & Jost H. 1995. Petrogênese de formações ferríferas e metahidrotermalitos da Formação Aimbé, Grupo Guarinos (Arqueano), Goiás. *Rev.Bras. Geoc.*, **25**:41-50.

Resende M.G., Jost H., Osborne G.A., Mol A. 1998. The stratigraphy of the Goiás and Faina greenstone belts, Central Brazil: a new proposal. *Rev. Bras. Geoc.*, **28**:1-15.

Sabóia L. A. 1979. Os *greenstone belts* de Crixás e Goiás, Go. *In: SBG, Núcleo Centro-Oeste, Boletim Informativo*, **9**:44-72.

#### **Artigos em Publicações Seriadadas:**

Barbosa O., Braun O.P.G., Dyer R.C., Cunha C.A.B.R. 1970. *Geologia da região do Triângulo Mineiro*. Rio de Janeiro, DNPM/DFPM, Boletim 136, 140 p.

#### **Teses e Dissertações:**

Resende L. 1995. Estratigrafia, petrografia e geoquímica da seqüência sedimentar do greenstone Belt de Pilar de Goiás, GO. Dissertação de Mestrado, Instituto de Geociências, Universidade de Brasília, 124 p.

#### **Artigos publicados em eventos:**

Tassinari C.C.G., Siga Jr. O, Teixeira W. 1981. Panorama geocronológico do centro-oeste brasileiro: solução, problemática e sugestões. *In: SBG, Simp. Geol. Centro-Oeste,1, Atas*, p. 175.

#### **Artigos em jornal:**

Coutinho W.O. 1985. O Paço da cidade retorna ao seu brilho barroco. *Jornal do Brasil*, Rio de Janeiro, 6 mar. Caderno B, p.6.

#### **Artigos ainda não publicados:**

Silva R.C. (em preparação). Tectônica na região do Alto Iguaçu-PR.Pereira E.W. (submetido). Evolução geológica da faixa de dobramentos Açungui. *Revista Brasileira de Geociências*.Silva R.C. (no prelo). Tectônica na região do Alto Iguaçu-PR.*Revista Brasileira de Geociências* (Aceito ainda sem data de publicação).

#### **Fotografias aéreas:**

IGC - INSTITUTO GEOGRÁFICO E CARTOGRÁFICO 1986. (São Paulo). Projeto Lins Tupã. Foto aérea. Escala 1:25.000, São Paulo, Fx28, n. 15.

#### **Folhas e mapas impressos:**

INPE - INSTITUTO DE PESQUISAS ESPACIAIS 1987. São José dos Campos (SP): atualização do uso da terra. SF-23-Y-D-II-1 MI-2769/1. São José dos Campos, Mapa Topográfico, escala 1:100.000.  
Silva A.J. 1999. Mapa geológico da Bacia de Campos. Rio de Janeiro, Petrobrás, 1 mapa geológico, escala 1:50.000.

**Programas e conjuntos de softwares:**

MICROSOFT 1995. Project for Windows 95, version 4.1: project planning software. Redmond, Wa, Microsoft Corporation. Conjunto de programas 1 CD-ROM.

**Páginas e documentos consultados via internet:**

Moura G.A.C. de M. 1996. Citação de referencias e documentos eletrônicos. Disponível em: <http://www.elogica.com.br/users/gmoura/refere.html>. Acessado em 9 out 1996.

INPE - INSTITUTO DE PESQUISAS ESPACIAIS 2000. El Ninho. Disponível em <http://www.inpe.dpi/elninho.html>. Acessado em 14 jun 2000.

**j) Agradecimentos.** Devem constar de um parágrafo à parte, colocado antes das referências.

## ***1.2 Discussões***

## ***1.3 Resenha de Livros***

São publicadas a convite dos Editores. Uma resenha deverá conter: título; resumo de, no máximo, 250 palavras, arquivo com até 10MB de tamanho; texto com no máximo 15 páginas, excluídas as referências bibliográficas; e não mais que 60 referências. Deverá conter, ainda, o(s) nome(es) do(s) autor(es), a instituição a que pertencem, endereço, e-mail.

## ***1.4 Notícias de cunho Geológico***

## **2. FORMATO FINAL PARA PUBLICAÇÃO**

Manuscrito final para publicação é aquele com as correções feitas e aceitas pelos consultores e editores. Deverá ser mantida a mesma formatação da versão submetida. Os "tipos e tamanhos de arquivos" serão os aqueles indicados nos procedimentos de submissão (ver itens (a) e (b) em "1. PREPARAÇÃO PARA SUBMISSÃO" no início desta seção.