

INFERÊNCIAS AMBIENTAIS A PARTIR DOS ISÓTOPOS ESTÁVEIS
(^{13}C E ^{18}O) E IDADES DE ÁRVORES NATURAIS DA FLORESTA
AMAZÔNICA

MARCELO ZACHARIAS MOREIRA
QUÍMICO

Orientador: Dr. ANTONIO APARECIDO MOZETO

Dissertação apresentada à Escola Superior de

Agricultura "Luiz de Queiroz", da Universidade de São
Paulo, para obtenção do título de Mestre em
Agronomia, Área de Concentração: Energia Nuclear na
Agricultura.

PIRACICABA
Estado de São Paulo - Brasil
Junho - 1988

M838i Moreira, Marcelo Zacharias
Inferências ambientais a partir dos isótopos estáveis (^{13}C e ^{18}O) e idades de árvores naturais da floresta amazônica. Piracicaba, 1988.

102p. ilustr.

Diss. (Mestre) - ESALQ
Bibliografia.

1. Árvore florestal - Idade - Amazônia 2. Árvore florestal - Parâmetro climático - Amazônia 3. Isótopo estável 4. Paleoclimatologia
I. Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba

CDD 634.909811

A minha companheira

Silvia

e aos meus filhos,

Tiago e Daniel

DEDICO

AGRADECIMENTOS

A todos aqueles que, de uma forma ou de outra, permitiram a realização deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Antonio Aparecido Mozeto, pela amizade e orientação, conselhos e conhecimentos a mim transmitidos.

Ao Dr. Eiichi Matsui, pela abnegada ajuda, críticas nos trabalhos de laboratórios e ensinamentos.

Ao Prof. Dr. Paulo Cesar O. Trivelin, na qualidade de Chefe de setor e aos Doutores Reynaldo L. Victória e Jefferson Mortatti, pelo estímulo e apoio.

Aos colegas "internacionais" Peter Fritz, Ramon Aravena e Robert Drimmie, pelas análises de radiocarbono utilizadas neste trabalho, e ao Eng. Florestal Roland E. Vetter, pela coleta de amostras.

Aos colegas de seção José A. Bonassi, Luiz A. Martinelli, José A. Bendassoli, Geraldo Arruda Jr., M. Isabel Moda, Bento M.M. Neto, Miguel Baldessim, M. Antonia Z. Perez e `a nossa querida secretária Neusa M. Augusti, por toda ajuda e apoio.

Aos colegas da pós-graduação, pela amizade, pelas discussões e idéias trocadas.

Ao Centro de Energia Nuclear na Agricultura, pelas condições oferecidas.

`A Fundação de Amparo `a Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) e Comissão Nacional de Energia Nuclear (CNEN), pelo auxílio financeiro.

SUMÁRIO

	Página
LISTA DAS FIGURAS	<i>vii</i>
LISTA DAS TABELAS	<i>x</i>
RESUMO	<i>xi</i>
SUMMARY	<i>xiii</i>
1. INTRODUÇÃO	01
2. REVISÃO DE LITERATURA	04
2.1. Considerações gerais	04
2.2. A ferramenta isotópica	06
2.2.1. O carbono-13 como paleotermômetro	07
2.2.1.1. Estudos paleoclimáticos	13
2.2.1.2. Reconstrução dos níveis de CO ₂ atmosférico	16
2.2.2. O oxigênio-18 como indicador climático do passado	22
2.2.3. Técnicas de preparo de matéria orgânica para análise de oxigênio-18	34
3. MATERIAL E MÉTODOS	45
3.1. Descrição dos locais de coleta e das amostras	45
3.2. Método do carbono-14 para datação das árvores naturais	49
3.2.1. Método de análise de ¹⁴ C	53
3.3. Análise isotópica de ¹³ C e ¹⁸ O em árvores naturais	53
3.3.1. Isolamento de celulose	53
3.3.2. Método para purificação de CO ₂ para análise de ¹⁸ O em celulose	54
3.3.2.1. Considerações gerais	54

3.3.2.2. Preparo inicial: oxidação a CO ₂	58
3.3.2.3. Purificação de CO ₂ na linha desenvolvida	59
3.3.3. Preparo de CO ₂ para análise de ¹³ C em celulose	61
3.4. Análise e cálculos para determinação de δ ¹³ C e δ ¹⁸ O	61
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	64
4.1. Desempenho da metodologia empregada	64
4.1.1. Análise de carbono-14	64
4.1.2. Análises isotópicas em celulose	65
4.1.2.1. Análise de ¹³ C	65
4.1.2.2. Desempenho da linha de purificação de CO ₂	66
4.2. Registros isotópicos nas árvores Amazônicas	71
4.2.1. Idades pelo carbono-14	71
4.2.2. Inferências paleoclimáticas	72
4.2.2.1. Registros isotópicos nas árvores mais jovens que 200 anos	72
4.2.2.2. Registros isotópicos nas árvores mais idosas que 200 anos	79
4.2.3. Considerações finais	84
5. CONCLUSÕES	87
REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	90
APENDICE: Método do clorito/acético para isolamento de celulose a partir da madeira de folhosas (GREEN, 1963)	100

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1: Esquema simplificado dos ciclos fotossintéticos C_3 e C_4 mostrando onde são assimiladas as espécies isotópicas, adaptado de DEINES (1980) e STERNBERG e DeNIRO (1983b)	09
Figura 2: Linha original de RITTENBERG e FONTICORVO (1956) para análise de ^{18}O em matéria orgânica	36
Figura 3: Linha de purificação de CO e CO_2 , com desproporcionamento entre os óxidos sobre Ni reduzido: a) ampola "breack seal" contendo amostra e $HgCl_2$; b) barra de ferro; c) N_2 líquido; d) benzoquinolina; e) bolas de vidro; f) gelo seco; g) medidor de vácuo; h) "Cajon"; i) carvão de coco; k) Lã de quartzo; l) Ni e m) vácuo (SCHIMMELMANN e DeNIRO, 1985)	38
Figura 4: Vaso reator de níquel para pirólise da matéria orgânica, segundo GRAY et alii (1984)	40
Figura 5: Sistema para "bombas" de Ni, de BRENNINKMEIJER e MOOK (1981)	42
Figura 6: Sistema do método integrado (FERHI et alii, 1983): A) unidade de pirólise; B) sílica-gel; C) unidade de conversão CO- CO_2 ; F) forno; G) medidor de vácuo; J) "ball joint"; T) frasco de CO_2 ; V) vácuo	43
Figura 7: Principais parâmetros climáticos médios mensais para três épocas e $\delta^{18}O$ na precipitação da região de Manaus	47
Figura 8: Curva de atividade de ^{14}C no CO_2 atmosférico de 1820 a 1983. Dados adaptados de LEVIN et alii (1980), LEVIN	

et alii (1985) e STUIVER e QUAY (1981)	51
Figura 9: Curva teórica de atividade integrada de ^{14}C na madeira de árvores cortadas em 1983 em função dos períodos de crescimento (anos/cm) de cada segmento coletado, mostrando dois exemplos de períodos distintos	52
Figura 10: Balão de extração desenvolvido, utilizado no isolamento e filtragem de celulose, a partir de pequenas porções de madeira	55
Figura 11: Banco termostatzado para aquecimento dos balões de extração	56
Figura 12: Linha de purificação de CO_2 proveniente de matéria orgânica, para determinação de $\delta^{18}\text{O}$	57
Figura 13: a) Linha de preparo de ampolas "break seal" sob vácuo para a combustão dos materiais na mufla; b) Linha de purificação de CO_2 para determinação de $\delta^{13}\text{C}$..	62
Figura 14: Variações temporais de $\delta^{13}\text{C}$ (°a direita) e $\delta^{18}\text{O}$ (°a esquerda) na celulose da árvore Angelim Pedra de Manaus (<i>Dinizia excelsa</i> Ducke, nº 5)	73
Figura 15: Variações temporais de $\delta^{13}\text{C}$ (°a direita) e $\delta^{18}\text{O}$ (°a esquerda) na celulose da árvore Jatobá de Porto Velho (<i>Hymenaea</i> sp, nº 10)	75
Figura 16: Variações temporais de $\delta^{13}\text{C}$ (°a direita) e $\delta^{18}\text{O}$ (°a esquerda) na celulose da árvore Jacareuba do Alto Purús (<i>Calophyllum brasiliense</i> Camp, nº 13)	76
Figura 17: Variações temporais de $\delta^{13}\text{C}$ (°a direita) e $\delta^{18}\text{O}$ (°a esquerda) na celulose da árvore Jatobá de Boa Vista (<i>Hymenaea</i> sp, nº 7)	78

Figura 18: Variações temporais de $\delta^{13}\text{C}$ (à direita) e $\delta^{18}\text{O}$ (à esquerda) na celulose da árvore Castanha Sapucaia de Manaus (<i>Lecythis usitata</i> Miers, nº 1)	79
Figura 19: Variações temporais de $\delta^{13}\text{C}$ (à direita) e $\delta^{18}\text{O}$ (à esquerda) na celulose da árvore Faveira Amarela de Manaus (<i>Vatairea</i> sp, nº6)	81
Figura 20: Variações temporais de $\delta^{13}\text{C}$ (à direita) e $\delta^{18}\text{O}$ (à esquerda) na celulose da árvore Jatobá de Manaus (<i>Hymenaea</i> sp, nº 3)	84

LISTA DAS TABELAS

	Página
Tabela 1: Abundância terrestre média dos principais isótopos de elementos usados em estudos ambientais	05
Tabela 2: Localização, principais parâmetros climáticos médios do ponto de coleta, nomes e densidades básicas das árvores amostradas	46
Tabela 3: Resultados dos testes de reprodutibilidade de padrões de trabalho, analisados para $\delta^{18}\text{O}$ em matéria orgânica, por uma adaptação do método de RITTENBERG e PONTICORVO (1956)	70
Tabela 4: Valores de $\delta^{13}\text{C}$ e atividades de ^{14}C nos dois segmentos de igual distância radial amostrados em sete árvores da bacia Amazônica	71
Tabela 5: Períodos de crescimento e idades mínimas extrapoladas da Figura 9, para sete árvores da bacia Amazônica	72

INFERÊNCIAS AMBIENTAIS A PARTIR DOS ISÓTOPOS ESTÁVEIS (^{13}C E ^{18}O) E IDADES DE ÁRVORES NATURAIS DA FLORESTA AMAZÔNICA

Autor : MARCELO ZACHARIAS MOREIRA

Orientador : PROF. DR. ANTONIO APARECIDO MOZETO

RESUMO

Inferências qualitativas do passado climático recente (± 500 anos) da bacia Amazônica, da qual não existem registros instrumentais dos principais parâmetros climáticos mais longos que 70 anos, foram levantadas com base na variação da razão isotópica de ^{13}C e ^{18}O da celulose isolada de árvores naturais. As idades das árvores de terra firme (e uma da várzea) das regiões de Boa Vista (RR), Manaus (AM) e Porto Velho (RO) foram estimadas por um novo método usando radiocarbono (^{14}C), a partir de taxas de crescimento extrapoladas das atividades no CO_2 atmosférico, encontrando árvores de 60 a 600 anos.

A celulose, isolada pelo método de GREEN (1963), foi convertida a CO_2 por reação com HgCl_2 e purificado por uma versão modificada do método de RITTENBERG e PONTICORVO (1956), para análise de ^{18}O por espectrometria de massa, com uma precisão melhor que $\pm 0,4$ ‰ V-SMOW. Para análise de ^{13}C , a matéria orgânica foi oxidada a CO_2 por

combustão com CuO , com precisão melhor que $\pm 0,2$ ‰ PDB.

Uma tendência de diluição isotópica do ^{13}C do CO_2 atmosférico, observada pela correspondente diluição no teor isotópico da celulose, detectada nos estudos similares do hemisfério norte, foi também encontrada nas árvores mais antigas e nas mais jovens que cresceram livres dos efeitos de tamponamento climático da floresta. Efeitos de juventude foram detectados em árvores que se desenvolveram sob a copa da floresta e um efeito associado de menor temperatura foi sugerido para explicar teores muito negativos na madeira.

Três períodos de maior umidade relativa do ar foram sugeridos pela análise da variação natural da razão isotópica de ^{18}O na celulose com base nos atuais modelos interligando estas variáveis. Em 1700, 1800-50 e nas últimas décadas, a umidade relativa do ar teria sido até 9,4 ‰ maior que os outros períodos cobertos por estas árvores.

Análises mais sistemáticas deverão ser implantadas para o refino destas inferências, de modo a complementar informações paleoclimáticas daquela região e confirmar evidências de outras áreas como a palinologia e estudos em sedimentos.

ENVIRONMENTAL INFERENCES BY STABLE ISOTOPES (^{13}C AND ^{18}O)
AND AGES OF AMAZONIAN NATURAL FOREST TREES

Author: MARCELO ZACHARIAS MOREIRA

Adviser: PROF. DR. ANTONIO APARECIDO MOZETO

SUMMARY

Qualitative interpretations of recent past climate (± 500 years) in the Amazon Basin - a region where no instrumental records for the main climate parameters exist over the last 70 years - were surveyed based on the isotopic variation of the ^{13}C and ^{18}O contents in cellulose isolated from natural trees. Trees from terra firme and from várzea environments collected in the regions of Boa Vista (RR), Manaus (AM) and Porto Velho (RO) had their ages estimated by the radiocarbon method extrapolated from growth rates obtained from atmospheric CO_2 activities. Tree ages from 60 to 600 years were found.

Analysis of the ^{18}O content by mass spectrometry was done on cellulose material isolated through the method described by GREEN (1963). In this procedure the cellulose was converted to CO_2 by a reaction with HgCl_2 and purified by using a method originally developed by RITTENBERG and PONTICORVO (1956). The overall precision was better than ± 0.4 ‰ V-SMOW. The ^{13}C analysis on the organic matter was done on CO_2

collected from an oxidation reaction by using CuO as a reagent. The analytical precision was better than ± 0.2 ‰ PDB.

A trend, in terms of isotopic dilution of ^{13}C , similar to that observed in the Northern Hemisphere trees was also documented in the older trees in this study. For the younger individuals it was possible to show that they have grown without being influenced by the so-called "climatic buffer effect" in forests. Juvenile effect was detected in trees growing under the forest canopy and a temperature effect was postulated to explain isotopic depleted values observed in the wood. From the ^{18}O , three periods of elevated relative humidity (near 1700; 1600-1650; recent decades) could be postulated.

A more systematic study has been planned for the near future in association with research in the area of palinology and lake sediments, with the aim to corroborate these findings.

1. INTRODUÇÃO

Com a inexistência de registros instrumentais dos principais parâmetros climáticos anteriores a meio século, e, pelos existentes serem restritos ao velho mundo, cresce a importância de métodos que se relacionem tão diretamente quanto possível às variáveis paleoclimáticas procuradas.

Nos últimos anos, o método isotópico tem assumido papel crescente em estudos dos ciclos biogeoquímicos e biológicos de elementos tais como o carbono, nitrogênio, oxigênio, etc. Nestes, o uso de isótopos estáveis em materiais traçadores naturais, em detrimento dos radiativos, nos processos como a fotossíntese e fenômenos de transporte entre os vários reservatórios globais, vem sendo intensificado pela qualidade das informações alcançadas. Qualquer redistribuição destes entre dois compartimentos cria a possibilidade de rastreamento dessa transferência pela análise da variação da razão isotópica. Assim, quando um mineral se precipita em equilíbrio isotópico e térmico de sua solução de origem, sofre um fracionamento e traz consigo um reflexo da composição isotópica da solução, permitindo que se conheça esta última pela análise do mineral formado. A composição isotópica da água da chuva também reflete o conteúdo isotópico de sua fonte em equilíbrio, ou seja, do vapor d'água do qual originou esta chuva. Portanto, também na biosfera, é possível

relacionar a composição isotópica de um material biológico com a de sua fonte. Então, pela fotossíntese, o carbono orgânico das plantas reflete a composição isotópica do gás carbônico atmosférico (CO_2). Além destes, outros elementos no compartimento biológico estarão refletindo o teor isotópico de suas fontes. O desenvolvimento de estudos baseados na determinação da razão dos isótopos estáveis e suas aplicações, está relacionado ao avanço e aperfeiçoamento das técnicas analíticas.

A recomposição do clima passado tem sido uma das principais finalidades do método isotópico, em estudos que necessitam quase sempre de evidências indiretas para atingir um modelo matemático tão completo quanto possível, para avaliar a interferência antrópica sobre as variações naturais e esclarecer as causas dessas mudanças. Nos três casos acima citados, é possível entender que o tempo retrocedido dependerá do tipo de amostra tomada. Perfís de solos distribuídos por todo o globo recuperariam os mais antigos tempos geológicos dependendo de sua profundidade; por outro lado, uma árvore viva nos trópicos não conteria mais de mil anos de registros, devido ao clima oxidante que não preserva a matéria orgânica, mas poderia ser sensível para gerar informações desde meses atrás, podendo chegar até dez mil anos no caso de fósseis de regiões temperadas, onde se concentra a maioria destes estudos. A veracidade com que seus anéis anuais de crescimento podem ser datados, tem permitido cumprir um pré-requisito essencial para a reconstrução do passado climático em uma escala de tempo, das evidências paleoclimáticas geradas, pela análise da variação de suas razões isotópicas de $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ e $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$. Pela sua onipresença sobre o globo, esta tem sido a principal fonte de evidências recentes para estudos climáticos.

Com o objetivo de auxiliar no entendimento das condições de formação e transformações de um dos últimos redutos florestais do planeta - a floresta Amazônica, tentar-se-á inferir parâmetros ambientais do passado como temperatura, precipitação e umidade relativa do ar, pelo conhecimento e análise da variação da razão isotópica de carbono-13 ($\delta^{13}\text{C}$) e oxigênio-18 ($\delta^{18}\text{O}$), na matéria orgânica das árvores da região Amazônica. Para tanto, as árvores da floresta deverão ser datadas por um método alternativo. O método do radiocarbono parece ser o mais indicado, já que a maioria delas não apresenta anéis anuais de crescimento. Será necessário também implantar no Centro de Energia Nuclear na Agricultura (CENA/USP) uma técnica analítica para a razão oxigênio-18/oxigênio-16 em matéria orgânica, onde já existe a técnica para a razão carbono-13/carbono-12.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Considerações gerais

Isótopos são átomos do mesmo elemento químico que possuem massas atômicas diferentes, por possuírem diferente número de neutrons em seus núcleos. Eles podem ser estáveis ou radiativos dependendo da razão entre o número de neutrons e prótons. Diferenças nas propriedades físico-químicas de uma substância contendo diferentes isótopos do mesmo elemento são causadas por essa diferença de massa isotópica. Isto provoca uma partição, ou fracionamento isotópico, quando duas substâncias com diferentes razões isotópicas interagem entre si. A extensão desse fracionamento é inversamente dependente da temperatura, sendo que essa dependência desaparece quando esta tende ao infinito. Variações isotópicas de abundâncias naturais geralmente são expressas por desvios em partes por mil (‰) da razão isotópica de um padrão, pela notação δ (delta):

$$\delta_x = [(R_x / R_p) - 1] \dots\dots\dots (1),$$

onde o índice "x" refere-se à amostra, o índice "p" ao padrão e "R" é a razão do conteúdo do isótopo estável menos abundante para o mais abundante.

Desde que as variações naturais observadas não são maiores que alguns por cento para todos os isótopos, o delta (δ) é geralmente multiplicado por 100 ou por 1000, a partir do que se expressa o enriquecimento relativo em δ ‰, ou ‰. Uma amostra com um $\delta = -10$ ‰ implica que esta é depreciada naquele isótopo em 10 ‰, ou 1 ‰, com relação ao padrão. A Tabela 1 mostra os principais isótopos leves atualmente usados em estudos ambientais. Estes são também os mais importantes elementos no ciclo biológico e que participam da maioria dos sistemas hidrogeoquímicos.

Tabela 1: Abundância terrestre média dos principais isótopos de elementos usados em estudos ambientais.

Elemento	Isótopos	Abundância (‰)
Hidrogênio	^1H	99,984
	^2H ou D	0,015
	^3H ou T*	traços
Carbono	^{12}C	98,89
	^{13}C	1,11
	^{14}C *	traços
Oxigênio	^{16}O	99,76
	^{17}O	0,037
	^{18}O	0,2
Nitrogênio	^{14}N	99,34
	^{15}N	0,366
Enxofre	^{32}S	95,02
	^{33}S	0,75
	^{34}S	4,21
	^{36}S	0,02

*Radiativos

Fonte: FRITZ e FONTES, 1980

Organismos internacionais como a "International Atomic

Energy Agency" (IAEA), em Vienna e o "National Bureau of Standard", U.S.A., distribuem alguns padrões "internacionais" para uma uniformização de resultados, de modo que diferentes laboratórios no mundo possam expressar seus resultados em uma escala comum. Assim, os $\delta^{13}\text{C}$ serão sempre comparados ao padrão PDB, um carbonato derivado da casca do crustáceo fóssil *Belimnitella americana* da formação Pee-Dee, no sul da Califórnia, U.S.A. Contra ele outros padrões secundários foram analisados e distribuídos mundialmente, tais como o NBS-20 e o NBS-21. Para o ^{18}O , o padrão internacional é a água que reproduz uma média de amostras marinhas chamada SMOW ("Standard Mean Ocean Water") produzida por CRAIG (1961) e que acabou. Esta água, distribuída pela IAEA, é hoje chamada de Vienna-SMOW (V-SMOW), a que se referem os $\delta^{18}\text{O}$ de águas e matérias orgânicas associadas.

Os padrões descritos acima foram primariamente preparados para análise de águas e carbonatos; entretanto, os resultados de material orgânico também são comparados a eles pois, ainda não existe um padrão para análise isotópica em matéria orgânica.

2.2. A ferramenta isotópica

Depois da constatação de que o fracionamento isotópico entre uma solução saturada em equilíbrio e o carbonato correspondente que precipita é uma função de temperatura, UREY (1947) sugeriu o uso da variação da razão isotópica de elementos leves para inferências de flutuações de paleotemperaturas. As suposições básicas para sustentar o uso de isótopos em estudos sobre a recomposição climática do passado são:

a) Se a composição isotópica de uma substância fonte de um elemento depende da temperatura, esta dependência estaria refletida na amostras que usou essa fonte, e;

b) Em qualquer incorporação de um elemento ocorrerá um processo de fracionamento contra um determinado isótopo deste elemento, processo este que é dependente da temperatura.

Assim, EMILIANI (1955), STUIVER (1970), DANSGAARD et alii (1971) entre outros, utilizaram o oxigênio-16 em carbonatos marinhos, lacustres e em gelos polares, respectivamente, para estudar paleotemperaturas desde o Pleistoceno.

Das fontes de evidências paleoclimáticas mais recentes destacam-se dentro da biosfera carbonatos (conchas de moluscos) e matéria orgânica (anéis de crescimento de árvores), pela confiabilidade dos registros quanto à origem geográfica das amostras e à relativa facilidade em se determinar a idade exata das "camadas de crescimento", anuais ou não, destas fontes.

2.2.1. O carbono-13 como paleotermômetro

Os primeiros trabalhos isotópicos em plantas superiores mostram uma distribuição de $\delta^{13}\text{C}$ em três grupos, que mais tarde atribuiu-se à via fotossintética utilizada pela planta na fixação do carbono do CO_2 atmosférico (CRAIG, 1953 e DEINES, 1980).

A via do Ciclo de Calvin ou C_3 , fixa o carbono primeiramente em um composto orgânico de três carbonos, chamado ácido fosfoglicérico,

através da enzima ribulose 1,5 difosfato carboxilase (RuDP-ase) e o $\delta^{13}\text{C}$ destas plantas situa-se em uma faixa em torno de -27‰ PDB. Um segundo meio de fixação ocorre pela via do Ciclo de Hatch-Slack ou C_4 , onde a enzima fosfoenolpiruvato carboxilase (PEP-ase) introduz o carbono primariamente nos ácidos málico e aspártico, compostos orgânicos de quatro carbonos, que só então, são transportados ao mesófilo foliar onde ocorre uma descarboxilação de um CO_2 e sua fixação pela via C_3 (Figura 1). A eficiência deste ciclo é maior que a do primeiro e a discriminação de ^{13}C neste é menor, gerando valores médios de -12‰ PDB. Entre os dois extremos, encontram-se as plantas suculentas, geralmente de regiões desérticas, que diante das condições adversas fixam carbono pelas duas vias acima, porém separadas por um fase temporal. São as conhecidas plantas de metabolismo do ácido crassuláceo (CAM), que, durante a noite se utilizam do ciclo C_4 para assimilar, e o ciclo C_3 à luz do dia para fixar.

Com um tratamento bastante refinado dos estágios de absorção e fixação do CO_2 em intermediários da fotossíntese, IVLEV (1984) atribuiu o fracionamento ocorrido na fixação do carbono à formação do complexo CO_2 -enzima RuDP-ase, com participação de um cofator metálico, independentemente da via fotossintética (Figura 1).

A diferenciação isotópica entre os ciclos torna-se clara quando se considerar que as plantas C_3 possuem fotorrespiração não desprezível, a qual carrega para fora da célula, excedentes de CO_2 enriquecidos em ^{13}C . Já nas plantas C_4 e CAM isto é minimizado ou inexistente, aumentando o grau de assimilação do CO_2 evoluído, permitindo a

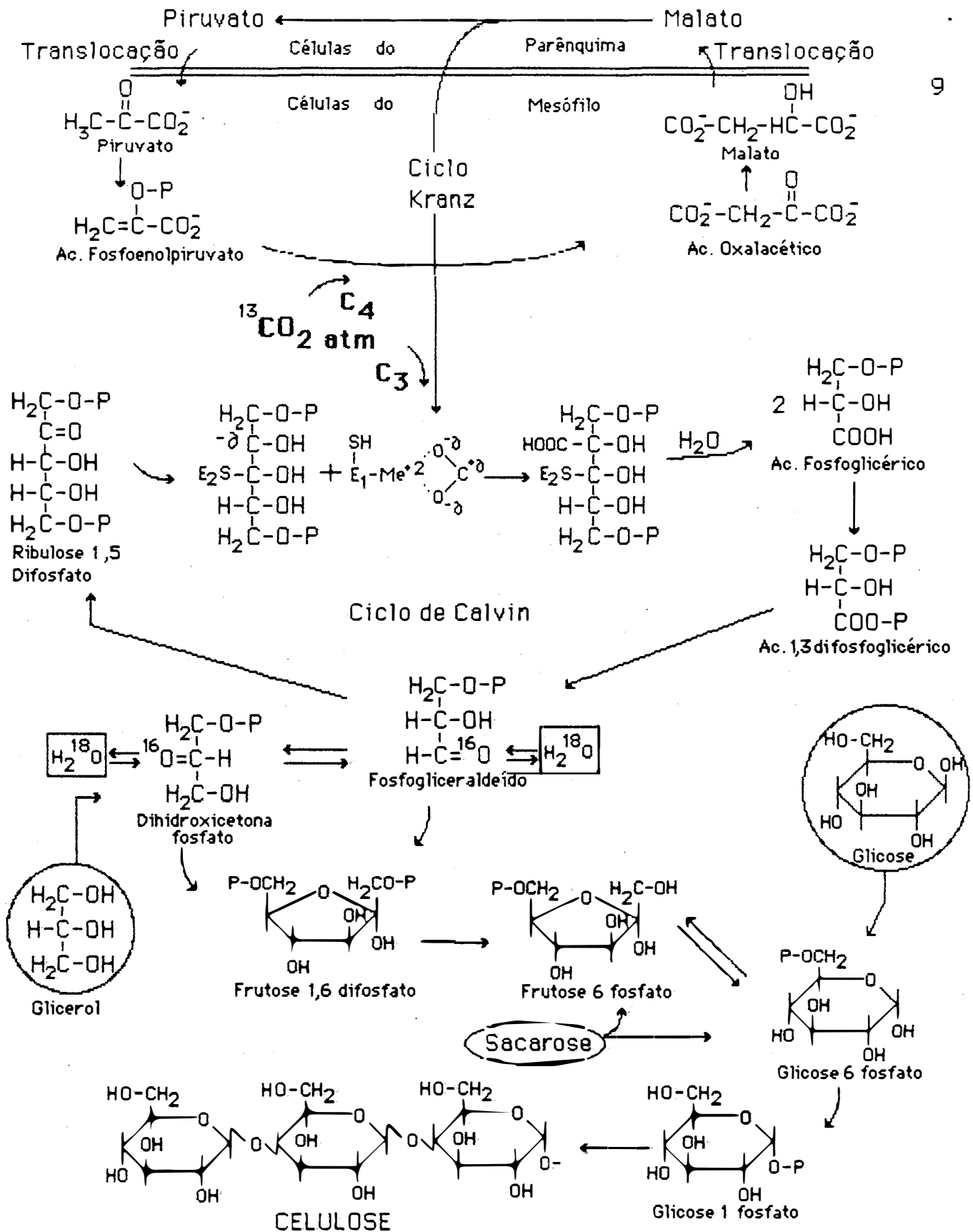


Figura 1: Esquema simplificado dos ciclos fotossintéticos C₃ e C₄, mostrando onde são assimiladas as espécies isotópicas, adaptado de DEINES (1980) e STERNBERG e DeNIRO (1983b).

fixação de um CO_2 mais rico naquele isótopo.

Como nas transformações físico-químicas entre fases e em reações de compostos inorgânicos, também nas reações de fixação orgânica ocorrerá um fracionamento isotópico dependente de temperatura. Nos estudos que procuram relacionar esses dois parâmetros observou-se que somente a temperatura não seria responsável pelas variações encontradas na matéria orgânica das árvores. Muitos mecanismos podem contribuir para a relação entre o $\delta^{13}\text{C}$ das árvores e o clima. Entre eles destacam-se:

a) Variações radiais

Os trabalhos de MAZANY et alii (1980), TANS e MOOK (1980) e de FRANCEY (1981a) mostram que tendências isotópicas observadas em um eixo radial de uma secção transversal de um tronco da árvore ("disco") são paralelas a outros eixos, mesmo que a análise isotópica seja feita nos diferentes componentes químicos da madeira (FREYER e WEISBERG, 1974; WILSON e GRINSTED, 1977; ARAVENA, 1982).

Apesar disso, TANS e MOOK (1980) encontraram discrepâncias de valores em um mesmo anel que superam 4‰ . As causas propostas para isso podem ser originadas por diferentes níveis de fornecimento de luz, água e nutrientes para os vários ramos em diversas direções da árvore. Além disso, os fotossintetizados do ápice da planta seriam quase que exclusivos para o crescimento primário enquanto que, a produção fotossintética das partes inferiores da copa destinar-se-iam ao crescimento secundário, que dá origem aos anéis de crescimento. Desse modo, um "braço" da planta privado de luz poderia ter uma produção isotopicamente diferente de outros que tivessem atingido seu ponto ótimo

de luminosidade.

b) Variações na composição química

A madeira das árvores contém além de celulose e lignina, açúcares (hemiceluloses) e resinas extraíveis, com diferentes teores isotópicos (DEINES, 1980). O componente que está presente em maior quantidade em todas as partes da planta e em especial na madeira (cerne, albarno, lenhos iniciais e tardios) é a celulose (40-50 %). Devido à heterogeneidade química, os reflexos das variações climáticas na composição isotópica da matéria orgânica total ficam diluídas com respeito a um polímero de grande peso molecular, como é a celulose. Além disso, a lignina, segundo componente da parede celular vegetal, não é completamente depositada na época de formação da parede (FRITTS, 1976). Pode portanto, registrar a composição isotópica da época em que a célula passou do albarno para o cerne, constituindo-se madeira morta propriamente dita. Assim, depois de WILSON e GRINSTED (1977), a celulose vem sendo tomada como matéria orgânica padrão para análise isotópica.

c) Efeito "juvenil"

Em regiões limitadas com microclima próprio, ocorrem perturbações naturais do teor isotópico de ^{13}C do CO_2 atmosférico. Uma extratificação surge com o acúmulo de CO_2 proveniente da respiração das plantas e do solo nas camadas mais baixas, reduzindo-se o $\delta^{13}\text{C}$. Confinado sob a copa das outras árvores, variações diárias ocorrem com o CO_2 pois, à noite, quando predomina o processo de respiração que libera CO_2 biogênico empobrecido em ^{13}C , o $\delta^{13}\text{C}$ da matéria orgânica se reduz. Durante o dia, com a predominância da fotossíntese, valores menos diluídos tornam-se

representativos da atmosfera livre. Esta é uma das causas de tendências crescentes de $\delta^{13}\text{C}$ encontradas na fase juvenil de árvores já analisadas (STUIVER, 1976 e FREYER, 1979a).

d) Efeito de poluição:

FREYER (1979b) relatou que o fracionamento isotópico de carbono pode ser afetado nas plantas pelo ar altamente poluído. Na atmosfera normal ocorre um excedente de CO_2 que torna a reação de carboxilação predominante frente à de oxigenação, uma reação competitiva no processo de fotossíntese, que produz o ácido fosfoglicólico como substrato da fotorrespiração. Em uma atmosfera poluída com altos teores de SO_2 , NH_4^+ , N_2O , pode ocorrer uma inibição da fotossíntese, com uma conseqüente redução do fracionamento isotópico e a planta mostrará maiores teores de ^{13}C .

e) Efeitos climáticos e/ou ambientais

FRANCEY e FARQUHAR (1982) e IVLEV (1984) discutiram também como os fatores ambientais influenciam no $\delta^{13}\text{C}$ da matéria orgânica. Um aumento da concentração de CO_2 provoca um efeito paralelo no fracionamento isotópico de ^{13}C , levando a deltas mais negativos. Em plantas aquáticas, a difusividade do CO_2 tem importante papel na limitação do fornecimento deste para as células; aqui, também o aumento da temperatura pode diminuir a solubilidade do gás na água, impedindo o acesso à planta. O pH da água irá determinar a espécie química dissolvida disponível para assimilação (CO_2 , HCO_3^- , CO_3^{-2}); certas plantas fixam prioritariamente o CO_2 molecular dissolvido, que é mais rico em ^{13}C .

(CRAIG, 1953). Em ambientes terrestres, o aumento da temperatura diminui a abertura estomática, do mesmo modo que um abaixamento da umidade do ar, dificultando a troca gasosa com a atmosfera. De um modo geral, os fatores ambientais que impedem o fornecimento de CO_2 à célula mas que garantem uma total participação do gás nos processos intracelulares de biofixação, levam a um enriquecimento isotópico de ^{13}C da planta.

2.2.1.1. Estudos paleoclimáticos

Vários autores investigaram a relação entre o $\delta^{13}\text{C}$ nas plantas e a temperatura. A idéia de poder gerar dados precisos pelos anéis de crescimento das árvores nas regiões de alta latitude, abre a possibilidade do método isotópico complementar as informações paleoclimáticas, subtraídas das características morfológicas dos anéis pela dendroclimatologia, anteriores aos primeiros registros instrumentais.

Nos trabalhos de LIBBY (1972) calculava-se um coeficiente térmico teórico para o $\delta^{13}\text{C}$ da celulose de $+0,36 \text{ ‰} \cdot ^\circ\text{C}^{-1}$. Valores maiores foram obtidos pela comparação dos registros de temperatura existentes na Europa e os $\delta^{13}\text{C}$ da madeira total, chegando a $+2,4 \pm 0,4 \text{ ‰} \cdot ^\circ\text{C}^{-1}$. No mesmo tipo de material, PEARMAN et alii (1976) observaram um coeficiente mais compatível com o teórico, de $+0,46 \pm 0,2$ e $+0,2 \pm 0,1 \text{ ‰} \cdot ^\circ\text{C}^{-1}$, correlacionando a média de temperatura máxima de fevereiro para um período de 75 anos com o $\delta^{13}\text{C}$. Um coeficiente de $+0,2 \text{ ‰} \cdot ^\circ\text{C}^{-1}$ também foi encontrado na Nova Zelândia por WILSON e GRINSTED (1977), sobre os $\delta^{13}\text{C}$ de celulose e lignina da mesma árvore. Coeficientes próximos a estes foram

obtidos por TANS (1976) para a média de temperatura de verão ($+0,39 \text{ ‰} \cdot ^\circ\text{C}^{-1}$) e para a média anual ($+0,27 \text{ ‰} \cdot ^\circ\text{C}^{-1}$).

Valores negativos foram porém encontrados por YAPP e EPSTEIN (1977) em madeira fóssil que mostrou uma diferença no $\delta^{13}\text{C}$ de $1,4 \text{ ‰}$ entre a última glaciação e o período pós-glacial com um coeficiente de $-0,3 \text{ ‰} \cdot ^\circ\text{C}^{-1}$. A celulose das madeiras de FREYER (1980) mostraram valores variáveis ($-0,14$ a $-0,28 \text{ ‰} \cdot ^\circ\text{C}^{-1}$), em função da espécie e região para médias anuais entre 6 e 18°C . FARMER (1979) analisando a madeira total de um olmeiro americano, encontrou também um coeficiente negativo ($-0,7 \text{ ‰} \cdot ^\circ\text{C}^{-1}$), além de LEAVITT e LONG (1982), que analisaram celulose de folhas durante uma estação de crescimento ($-0,27 \text{ ‰} \cdot ^\circ\text{C}^{-1}$). Com todos esses resultados contraditórios, fica claro que a relação entre as variações de $\delta^{13}\text{C}$ registradas na madeira e os parâmetros climáticos não é tão simples que possa ser utilizada sem um conhecimento mais profundo do fracionamento isotópico que ocorre na fixação, dos fatores climáticos e ambientais que interferem neste fracionamento. MAZANY et alii (1980), entretanto, mostraram que o $\delta^{13}\text{C}$ reflete o índice de padronização de largura de anel (STRI), o qual filtra efeitos de crescimento de árvores individuais enquanto preserva as variações climaticamente induzidas. Além disso, a análise de $\delta^{13}\text{C}$ em várias direções radiais do tronco mostrou que uma única árvore pode conter informações climáticas equivalentes às da dendroclimatologia convencional, que relaciona nas regiões de clima temperado, média de largura de anéis de várias árvores e condições propícias para o crescimento (LEAVITT e LONG, 1984).

Muitos fatores são evocados para explicar diferentes novas

tendências de $\delta^{13}\text{C}$ das árvores todas as vezes que estas surgem. Diferenças na composição química dos lenhos analisados (tardio e inicial), como de material (celulose ou madeira total), serviram de base para justificar as discrepâncias entre coeficientes, como também variações no fracionamento isotópico na assimilação fotossintética. Apesar disso, alguns estudos mostraram que fatores ambientais também influem no $\delta^{13}\text{C}$ final da celulose, além da temperatura. FRANCEY e FARQUHAR (1982) desenvolveram um modelo quantitativo para explicar a interferência das variáveis climáticas sobre o $\delta^{13}\text{C}$ segundo as equações:

$$\delta^{13}\text{C}_{\text{folha}} \approx \delta^{13}\text{C}_{\text{atmosférico}} - 4,4 - 25,6 C_i/C_a \dots\dots\dots (2)$$

e

$$A = g (C_a - C_i) \dots\dots\dots (3),$$

onde C_i e C_a representam as concentrações (ou pressões parciais) do CO_2 nos espaços intercelulares e na atmosfera, respectivamente; g é a condutância da camada de ar circundante à folha e dos estômatos para a difusão do CO_2 e, A é a taxa de assimilação do CO_2 . Fatores que reduzem a taxa de assimilação, afetando a capacidade de fotossíntese do mesófilo, aumentam a razão C_i/C_a e reduzem o $\delta^{13}\text{C}$ (diminuição de nutrientes e intensidade de luz); outros, que reduzem a taxa de assimilação através da diminuição do suprimento de CO_2 pela menor abertura estomática, diminuem C_i e aumentam o $\delta^{13}\text{C}$, tal como o aumento de temperatura e "stress" d'água (IVLEV, 1984).

STUIVER e BRAZIUNAS (1987) reconheceram a influência de fatores climáticos como a umidade relativa e a temperatura do ar, na determinação do $\delta^{13}\text{C}$ da celulose pré-1850, considerando uma resposta retardada da árvore às variações no $\delta^{13}\text{C}$ do CO_2 atmosférico, induzida por mudanças no clima, em 70-90 anos. Índices de temperatura para o hemisfério norte e a acidêz do gelo da Groelândia determinados por HAMMER et alii (1980), correlacionam-se bem ($r = 0,8$) com os registros normalizados de dezenove coníferas norte-americanas, considerando estes lapsos.

Portanto, só qualitativamente é possível atualmente prever as variações induzidas do $\delta^{13}\text{C}$ da celulose das árvores pelo clima.

2.2.1.2. Reconstrução dos níveis de CO_2 atmosférico

Um dos mais claros e estudados efeitos que mascaram as influências climáticas sobre os registros isotópicos nas árvores é o aumento da pressão parcial de CO_2 na atmosfera, decorrente da expansão agro-industrial ocorrida depois da metade do século passado. Este aumento é decorrente da grande quantidade de CO_2 liberada, ora da queima de combustíveis fósseis pela indústria, ora pela conquista e devastação de novas áreas para agricultura, como a derrubada de florestas naturais.

Uma característica do último século de registros isotópicos na madeira é a forte tendência de diminuição do $\delta^{13}\text{C}$ na celulose, e em menor grau, em outros componentes da madeira. Isto vem ocorrendo porque

o CO_2 liberado, tanto na queima de combustíveis fósseis (petróleo, gás natural e carvão), como na expansão agrícola (queima e manejo de material vegetal), apresenta um $\delta^{13}\text{C}$ da ordem de 18 ‰ mais leve que o da atmosfera atual. Essa diluição do CO_2 atmosférico pelo CO_2 biogênico tem levado o $\delta^{13}\text{C}$ do CO_2 da atmosfera de -7 ‰ em média, para $-8,5 \text{ ‰}$ PDB. Com isso, ocorre também uma diluição nos registros isotópicos na madeira decorrente da diluição isotópica da fonte deste isótopo.

O assunto ganhou importância por detectar e quantificar a transferência de carbono da biosfera para a atmosfera, permitindo avaliar melhor o conhecido "efeito estufa". O CO_2 retendo a radiação infra-vermelha reemitida da Terra causa um aumento da temperatura global.

FREYER e WEISBERG (1974) avaliaram o tempo de residência do CO_2 na atmosfera e concluíram que este permanece 3,4 anos neste compartimento. FARMER e BAXTER (1974) estimaram que as perdas de CO_2 biogênico para a atmosfera teriam contribuído para reduzir em $1,5 \text{ ‰}$ o $\delta^{13}\text{C}$ do CO_2 entre 1900 e 1920, somado à transferência do CO_2 da queima de combustíveis.

STUIVER (1978) estimou em $1,6 \text{ GT de C.ano}^{-1}$ (10^{15} g de C), a transferência de CO_2 para a atmosfera entre 1850 e 1950, corrigindo curvas de $\delta^{13}\text{C}$ de árvores para o nível natural através da diluição do ^{14}C no CO_2 atmosférico. Uma inversão no padrão de transferência de CO_2 para aquele compartimento teria ocorrido depois de 1930, com a diminuição da perda do biogênico e aumento do proveniente da queima de combustíveis.

FREYER (1979a) desenvolveu um amplo trabalho de medida das tendências de $\delta^{13}\text{C}$ na madeira, amostrando árvores de várias regiões do hemisfério norte (USA, França, Alemanha, Açores e Espanha), que cobriram um intervalo de 150 anos desde 1798. O decréscimo estimado para o $\delta^{13}\text{C}$ do CO_2 atmosférico da ordem de 2 ‰ foi atribuído ao aumento da queima de combustíveis fósseis, embora outros fatores tenham sido evocados para explicar o grande decréscimo de 1860 a 1920, pois mesmo se todo o CO_2 liberado ficasse retido na atmosfera, esse decréscimo seria menor que o observado. A este, os trabalhos de FARMER e BAXTER (1974), REBELLO e WAGENER (1976), PEARMAN et alii (1976) e WILSON (1976) foram comparados para diferentes intervalos entre 1850 e 1975, mostrando boa concordância dos resultados, através dos quais, a diluição global foi estimada em 1,18 ‰ entre 1850 e 1920 e, de 0,86 ‰ entre 1920 e 1975, apesar da discrepância de tendências no intervalo de 1920-1940. Novamente o aumento do desmatamento contribuiria para a diluição do CO_2 atmosférico em ^{13}C .

MULHOLLAND (1979) enfatizou que os modelos até então utilizados para justificar essa diluição poderiam ser melhorados, levando-se em consideração a mudança no $\delta^{13}\text{C}$ do CO_2 do combustível pelo maior uso do gás natural ($\delta^{13}\text{C} \sim -41$ ‰ PDB), que levaria o valor desse componente para $-29,5$ ‰ na década de 70.

TANS e MOOK (1980) salientaram a importância da obtenção de registros isotópicos integrados sobre um anel total, que permitissem aumentar a precisão das medidas e registros tão longos, reduzindo as

incertezas sobre as condições iniciais de análise das curvas isotópicas, para a reconstrução dos níveis de CO_2 na atmosfera e avaliação de seu comportamento atual, pelos teores de ^{13}C da madeira. Estudando as possíveis variações isotópicas dentro da árvore, as maiores discrepâncias entre dois pontos adjacentes e entre diferentes raios foram encontradas em suas árvores, chegando a 5 ‰.

A discordância mais importante em termos de tendência surgiu com a publicação de FRANCEY (1981a). O autor analisou árvores de uma floresta da Tasmânia (hemisfério sul) e encontrou valores constantes para o último século. Questionou então a suposição de FREYER (1979a) de que a tendência de diluição nas árvores do hemisfério norte representaria uma situação global.

FREYER (1981) sugeriu que as árvores de florestas não representam os teores isotópicos de ^{13}C do CO_2 da atmosfera livre mas, situações locais e efeitos de "cobertura" pela copa da floresta sobre o CO_2 assimilado. FREYER e BELACY (1981) mostraram que somente árvores isoladas, livres de padrões regionais e micro-climas próprios apresentam variações sistemáticas decrescentes nos registros de ^{13}C . FRANCEY (1981b) respondeu que seus resultados mostram que outros fatores podem ser responsáveis pelas atuais tendências, além do CO_2 fóssil, mas que a interpretação de Freyer não seria invalidada. Concluiu-se desta discussão que é necessário um grande número de árvores isoladas de qualquer padrão ambiental para produzir informações sobre o comportamento do ^{13}C no CO_2 atmosférico global.

Discutindo como os outros fatores que interferem no

fracionamento isotópico de carbono nas árvores, FRANCEY e FARQUHAR (1982) criaram um novo modelo pelo qual o $\delta^{13}\text{C}$ da planta reflete o $\delta^{13}\text{C}$ do CO_2 atmosférico, considerando as concentrações de CO_2 intercelular e extra-foliar, a taxa de assimilação e a condutância estomatal (veja página 15). Estes autores sugerem que, as variações sazonais da concentração de CO_2 dentro da folha (C_i) causariam uma mudança na razão de fotossíntese para foto-respiração, provocando variações na planta dez vezes maior (2-5 ‰) que as atribuídas às variações sazonais de concentração de CO_2 atmosférico. O efeito juvenil observado nas árvores já analisadas ($\delta^{13}\text{C}$ até 2 ‰ menor que na fase adulta), seria explicado pela baixa intensidade de luz, que reduz a taxa de assimilação A e aumenta C_i , diminuindo o $\delta^{13}\text{C}$. Outros fatores como a precipitação, temperatura e largura de anel de crescimento afetariam o $\delta^{13}\text{C}$ da planta, pela variação da abertura estomática, reduzindo a condutância g e aumentando C_i , tanto que sob alta temperatura e baixa precipitação seriam esperados anéis estreitos, com maiores $\delta^{13}\text{C}$. O auto sombreamento produziria as variações observadas dentro de uma mesma árvore, com mudanças na taxa de assimilação A . Os autores explicaram a inexistência da diluição de ^{13}C nas árvores da Tasmânia argumentando que o aumento de C_g pela perda de CO_2 biogênico elevaria o $\delta^{13}\text{C}$ da planta, compensando a possível diluição isotópica na madeira. Os únicos resultados do hemisfério sul são contraditórios (REBELLO e WAGENER, 1976), não permitindo ainda uma generalização de tendências isotópicas neste hemisfério para confirmar uma situação global.

LEAVITT e LONG (1983) removeram a influência da temperatura na curva de $\delta^{13}\text{C}$ e concluíram que, em contraste com um nivelamento da liberação biogênica encontrada por STUIVER (1976), ocorreu um aumento significativo da atividade biosférica pós-1930, com uma perda líquida de CO_2 biogênico que variou entre 1/4 e 3 vezes a perda total de CO_2 de combustível fóssil. Uma reversão da condição de fonte para reservatório consumidor de carbono foi então sugerida para a atmosfera, baseando-se na suposição de BROECKER et alii (1979) de que o acelerado desmatamento seria compensado parcialmente pelo reflorestamento artificial e natural.

STUIVER et alii (1984) observaram, em suas árvores mais antigas que 200 anos (normalizadas para a área do anel de crescimento, de modo a reduzir a variabilidade induzida pelo ambiente no $\delta^{13}\text{C}$, e para a média de $\delta^{13}\text{C}$ anterior a 1850), uma perda integrada de CO_2 biogênico desde 1600 (150 ± 100 GT), comparável à perda por queima de combustível fóssil entre 1860 e 1975 (135 GT). Um nível de concentração de CO_2 pré-industrial foi calculado dos registros isotópicos desde 235 A.D., que oscilou entre 260 e 290 ppm.

BOLIN (1985) discutiu exaustivamente as transferências de carbono dentro dos vários compartimentos na natureza e a modelagem, ainda pobre, dos fluxos de CO_2 entre origens e sumidouros deste gás, que até então foram calculados considerando-se o armazenamento estimado de carbono em cada reservatório. Esses modelos raramente foram confirmados pelas informações fornecidas dos registros isotópicos da matéria orgânica das árvores, talvez pela existência de poucos dados realistas sobre a situação global, o que foi enfatizado pelo autor. O pouco conhecimento das

transferências entre os sistemas somente permitiu uma estimativa grosseira, de quanto CO_2 permanece na atmosfera e, para quando é esperado dobrar a atual concentração atmosférica. Fazendo uso dos modelos vigentes, um total de 183 ± 10 GT de C foram emitidos pela queima de combustível fóssil, 160 ± 40 GT por desmatamento e mudança no padrão de uso do solo, com taxas anuais atuais respectivas de 5 e 1,6 GT de C. Desse modo, é improvável que a concentração de CO_2 atmosférico dobre o nível pré-industrial antes de meados do próximo século, isto é, 560 ppm.

2.2.2. O oxigênio-18 como indicador climático do passado

Desde a proposta de UREY (1947), um grande número de estudos isotópicos com o ^{18}O foram desenvolvidos para obter informações paleoclimáticas em diferentes ambientes. A composição isotópica da água pode estar ligada às variações de temperatura do meio ambiente, em função da dependência térmica do fator de fracionamento entre as fases líquida e vapor em equilíbrio e, por isso, materiais que armazenam essa informação sem futuras alterações, tem grande importância para estudos paleoclimáticos.

Similar ao carbono, o ^{18}O é incorporado no metabolismo por processos biossintéticos fracionantes a partir de sua fonte. A fonte química de oxigênio para a formação da matéria orgânica (celulose) é o CO_2 atmosférico (STEMLER e RADMER, 1975), mas a fonte isotópica é, como será visto adiante, o oxigênio da água utilizada pela planta, que sofre troca isotópica com o CO_2 ao nível da folha, sendo este assimilado com o reflexo

do teor isotópico da água. Por isso, uma relação quase que direta seria esperada entre a composição isotópica na matéria orgânica e a temperatura, uma vez que a água do ambiente já possui esse tipo de relação térmica.

GRAY e THOMPSON (1976) sugeriram que a composição isotópica da precipitação do inverno, armazenada no solo, poderia ser importante durante a produção de celulose na estação de crescimento, uma vez que encontraram um alto coeficiente de correlação ($r = 0,97$) entre o $\delta^{18}\text{O}$ da celulose de uma árvore canadense e a média anual de temperatura, de setembro a agosto do ano subsequente. Um coeficiente térmico foi obtido ($1,3 \pm 0,1 \text{ ‰} \cdot ^\circ\text{C}^{-1}$) e a precisão das medidas corresponderam a uma incerteza de $\pm 0,15 \text{ }^\circ\text{C}$ na média anual de temperatura. Os autores admitiram uma troca isotópica entre o CO_2 e a água antes da fotossíntese ou que, o crescimento daquela árvore seria dependente da produção de açúcares durante o inverno, o que parece improvável. PERRY (1977) constatou esta última suposição sugerindo uma troca isotópica da glicose derivada do amido com ácidos orgânicos celulares para produzir a correlação com a temperatura do inverno observada por GRAY e THOMPSON (1976).

EPSTEIN e YAPP (1977) questionaram em vários aspectos o trabalho de LIBBY et alii (1976), os quais sugeriram o armazenamento de águas antigas na árvore e o equilíbrio isotópico entre o CO_2 e a água, uma vez que a relação obtida entre $\delta^{18}\text{O}$ e δD (deutério, ^2H) da madeira foi semelhante à média global para águas ($\delta\text{D} \approx 8 \delta^{18}\text{O}$). Entre outras coisas, a análise isotópica naquele trabalho se deu sobre madeira total, que contém lignina depositada depois da época de formação da parede celular.

GRAY e THOMPSON (1977) analisaram a madeira e a lignina correspondente à celulose de 1976 e mostraram uma correlação ainda significativa ($r=0,55$) para madeira total mas, nenhuma correlação da temperatura média com os teores isotópicos na lignina ($r=-0,03$). A lignina, sendo depositada em períodos distintos ao da formação da celulose, não conteria os mesmos sinais climatológicos da holocelulose (hemiceluloses + α -celulose), que portanto seria a fração mais impura de celulose permitida para análise isotópica.

EPSTEIN et alii (1977) fizeram uso do $\delta^{18}O$ e do δD em celulose e nitro-celulose, respectivamente, para inferir os teores isotópicos da água utilizada pela planta durante o crescimento e assim chegar até as temperaturas passadas. Eles mostraram que a curva de δD versus $\delta^{18}O$ da água das plantas terrestres não tem o comportamento paralelo ao da reta meteórica, como acontece com as plantas aquáticas, mas apresentam uma inclinação aproximada de 2,5. Isto reflete um processo de evapo-transpiração pela folha sem um equilíbrio isotópico de D e ^{18}O . Quanto mais próxima da fonte de água uma folha estiver transpirando, maior será a inclinação, tendendo a 0 para plantas submersas. Através da equação da reta meteórica,

$$\delta D = 8 \cdot \delta^{18}O + 10 \text{ ‰ V-SMOW} \dots\dots\dots (4)$$

e da relação genérica entre δD da nitro-celulose e do δD da fonte de água,

$$\delta D_{AGUA} = \delta D_{NITRO-CELULOSE} + 22 \text{ ‰ V-SMOW} \dots\dots\dots (5),$$

foram estimados os valores de $\delta^{18}O$ da fonte de água e o fator de fracionamento ($\alpha_{CELULOSE/AGUA}$) para plantas aquáticas, encontrando valores

de 1,027-1,028. Dois modelos também foram desenvolvidos para entender quais fatores determinam esse fracionamento isotópico de oxigênio na síntese de celulose. No modelo A, o oxigênio da água ambiental e do CO₂ dissolvido, equilibrado isotopicamente ($\delta^{18}\text{O}_{\text{CO}_2} = 1,042 \delta^{18}\text{O}_{\text{água}} + 42 \text{ ‰}$ a 25 °C) com ela, seriam incorporados na celulose sem qualquer fracionamento na proporção de 1/3 para 2/3, respectivamente. Neste modelo, os $\delta^{18}\text{O}$ das plantas terrestres seriam explicados por efeitos de evapo-transpiração da água na folha da planta, e seriam dados por:

$$\delta^{18}\text{O}_{\text{CELULOSE}} = [(1/3) \cdot (3,084 \delta^{18}\text{O}_{\text{AGUA}} + 84)] \text{ ‰} \dots\dots\dots (6).$$

No modelo B, a mesma proporção entre os precursores seria mantida, mas o CO₂ utilizado agora seria o atmosférico, não equilibrado isotopicamente com a água, com um $\delta^{18}\text{O}$ constante de +41 ‰. Assim, o $\delta^{18}\text{O}$ da celulose seria previsto por:

$$\delta^{18}\text{O}_{\text{CELULOSE}} = [(1/3) \cdot \delta^{18}\text{O}_{\text{AGUA}} + 27,3] \text{ ‰} \dots\dots\dots (7).$$

Embora contradizendo o atual conhecimento sobre a fotossíntese, os modelos foram testados para determinar qual melhor preveria os $\delta^{18}\text{O}$ e δD da água utilizada pela planta, a partir dos teores isotópicos na celulose. Os dados mostraram que o modelo B produziu resultados mais compatíveis com as medidas nas plantas terrestres. Este modelo não excluiu, ao contrário, reforçou a existência de algum grau de

equilíbrio isotópico entre o CO_2 atmosférico e a água da planta, antes da fixação. EPSTEIN et alii (1977) sugeriram então que, δD e $\delta^{18}\text{O}$ juntos poderiam ser utilizados para avaliar a temperatura e efeito da umidade relativa do ar na época de crescimento.

Quase que simultaneamente, WIGLEY et alii (1978) sugeriam fatores de correção dos teores isotópicos em função da largura dos lenhos inicial ("early-wood") e tardio ("late-wood") dentro de um anel de crescimento individual. Parte da relação clima- $\delta^{18}\text{O}$ (ou δD) seria atribuída às variações na largura dos anéis. Surgia então, a idéia de uma padronização quanto à largura ou mesmo a área total do anel de crescimento, antes da construção de uma correlação δ -clima.

DeNIRO e EPSTEIN (1979) investigaram a relação entre $\delta^{18}\text{O}$ da celulose de plantas terrestres, CO_2 e água utilizados na fotossíntese em condições de laboratório. A única condição diferente entre as plantas teste e as testemunhas foi a razão isotópica de oxigênio do CO_2 , que diferiam de 127 a 500 ‰ entre as plantas. A diferença observada no $\delta^{18}\text{O}$ na água da planta foi similar à encontrada entre as celuloses dos dois grupos (~ 8,5 ‰), mostrando que o oxigênio do CO_2 troca isotopicamente com o oxigênio da água da planta durante a síntese da celulose. O oxigênio do CO_2 , reconhecido agora como a única fonte de oxigênio para a celulose estaria refletindo o $\delta^{18}\text{O}$ da água na planta, como fator primário na determinação do $\delta^{18}\text{O}$ da celulose em plantas terrestres. A proporção de 2:1 entre os precursores de oxigênio para a matéria orgânica, tornou-se uma relação empírica.

Outro estudo sob condições controladas mostrou que, fatores ambientais como a umidade relativa e o $\delta^{18}\text{O}$ da água disponível às plantas terrestres são os principais fatores que determinam o $\delta^{18}\text{O}$ da celulose (FERHI e LETOLLE, 1979). Essencialmente, o modelo proposto descreve a mesma proporção (2:1) entre os precursores do oxigênio orgânico dos modelos de EPSTEIN et alii (1977), mas não leva em consideração nenhuma troca isotópica entre as fontes. Os autores propuseram também que, uma pequena porcentagem do oxigênio da celulose viria da reassimilação do O_2 evoluído da fotorrespiração, não desprezível nas plantas C_3 . A equação que descreve o $\delta^{18}\text{O}$ da celulose por esse modelo considera apenas o equilíbrio isotópico durante a evaporação da água na folha, como segue:

$$\delta^{18}\text{O}_{\text{CEL.}} = 0,38 [(1-h) \delta^{18}\text{O}_s + \epsilon_{\text{eq.}} + \epsilon_k + h (\delta^{18}\text{O}_v - \epsilon_k)] + \\ + 0,56 \delta^{18}\text{O}_{\text{CO}_2} + 0,06 \delta^{18}\text{O}_{\text{O}_2} \text{ ‰} \dots\dots\dots (8),$$

onde: h = umidade relativa do ar;

s = água do solo;

v = vapor d'água do ar;

ϵ_k e $\epsilon_{\text{eq.}}$ são os enriquecimentos relativos cinético e no equilíbrio, respectivamente.

Em um levantamento do $\delta^{18}\text{O}$ da celulose de plantas terrestres crescendo em diferentes climas, do norte da Suécia ao sul da Costa de Ivory, foi encontrado um padrão definido de variação em função da

latitude, a partir do qual FERHI e LETOLLE (1979) descreveram quatro diferentes condições climáticas, para reproduzir os resultados observados:

a) umidade relativa alta e $\delta^{18}\text{O}$ da precipitação baixo, em regiões polares, onde a celulose apresenta os mais baixos valores de $\delta^{18}\text{O}$ na matéria orgânica ($19 < \delta^{18}\text{O} < 21$ ‰);

b) umidade relativa baixa e $\delta^{18}\text{O}$ da precipitação alto, em regiões de clima seco e desértico, com os maiores $\delta^{18}\text{O}$ na matéria orgânica ($\delta^{18}\text{O} > 30$ ‰);

c) umidade relativa e $\delta^{18}\text{O}$ da precipitação assumem valores intermediários aos anteriores, características de clima temperado onde os $\delta^{18}\text{O}$ variam pouco da ordem de 25-26 ‰; e

d) regiões tropicais úmidas, nas quais tanto a umidade relativa como o $\delta^{18}\text{O}$ são relativamente altos, mas influenciando em sentidos opostos, produzem $\delta^{18}\text{O}$ na matéria orgânica semelhantes aos de região de clima temperado.

Outro levantamento latitudinal semelhante, foi realizado por BURK e STUIVER (1981) na costa oeste dos Estados Unidos e em diferentes altitudes. Os autores encontraram uma boa correlação entre o $\delta^{18}\text{O}$ da celulose e o da precipitação e, desde que este último está correlacionado com a média anual de temperatura, o $\delta^{18}\text{O}$ da celulose também apresenta relação com a temperatura.

O modelo de FERHI e LETOLLE (1979) considera o total equilíbrio isotópico entre a água da planta e o CO_2 atmosférico sob condições de "steady-state". Neste, o $\delta^{18}\text{O}$ da celulose expressa-se por :

$$\delta^{18}\text{O}_{\text{CEL.}} = \alpha_{\text{CO}_2/\text{H}_2\text{O}} \cdot [10^3 + \delta^{18}\text{O}_s (1-h) + \epsilon_k + \epsilon_{\text{eq.}} + h (\delta^{18}\text{O}_v - \epsilon_k)] - 10^3 + K \text{ ‰} \dots\dots\dots (9),$$

onde K, é uma constante devida ao fracionamento isotópico nas reações bioquímicas de síntese da celulose, e os demais símbolos são semelhantes aos da eq. (8). Assim, o modelo permite conhecer a temperatura indiretamente, pela dependência térmica do $\delta^{18}\text{O}$ da precipitação, com a análise dos teores de ^{18}O da celulose. Uma estimativa das mudanças nas variáveis ambientais mostra que as variações unitárias na composição isotópica da água tomada pela folha, produziriam um similar reflexo no teor isotópico da celulose.

Os coeficientes de variação térmica ($\sim 0,2 \text{ ‰} \cdot ^\circ\text{C}^{-1}$) e umidade relativa ($\sim 0,3 \text{ ‰} \cdot (\text{‰ UR})^{-1}$) foram mais baixos. Entretanto, estudos que, procuram estabelecer os precursores isotópicos para a matéria orgânica e, principalmente, a correlação dos teores isotópicos com a temperatura e umidade relativa em diferentes locais, mostram apenas um lado do problema que é a reconstrução do passado climático, uma vez que não se pode quantificar variações climáticas para uma região, sem extensos registros das variáveis climáticas envolvidas, caso o fracionamento isotópico bioquímico (K, na eq. (9)) não for considerado constante. Portanto, com o conhecimento da influência destes fatores climáticos sobre o $\delta^{18}\text{O}$ da matéria orgânica, inferências poderiam ser feitas, ao menos qualitativas, de mudanças ocorridas no ambiente, detectando-se variações nos registros

isotópicos tão longos quanto possível, na matéria orgânica.

Somente em 1983, com o trabalho de STERNBERG e DeNIRO (1983a) sobre a composição isotópica de plantas de diferentes ciclos fotossintéticos (C_3 , C_4 ou CAM), que cresceram juntas, foi possível avaliar a distribuição de ^{18}O nas plantas. Uma distinção entre plantas CAM e C_3/C_4 foi observada por diferentes teores isotópicos de deutério (δ^2H ou δD), mas nenhuma definição clara foi obtida entre o $\delta^{18}O$ nos três ciclos, que mostram teores variando de 24 a 47 ‰ V-SMOW. Isto sugere que o enriquecimento em deutério resulta do fracionamento isotópico que ocorre durante as reações bioquímicas, mais do que quando a água evapo-transpira da planta.

Em um trabalho anterior, DeNIRO e EPSTEIN (1981) admitiram que um ou mais fatores que determinam a razão isotópica para um elemento, operam independentemente daqueles que definem a razão isotópica de outro elemento. Dois tipos de troca isotópica foram reconhecidos na determinação do fracionamento entre a água utilizada pela planta e a celulose durante a síntese, ou seja: a troca isotópica durante o equilíbrio entre o CO_2 e a H_2O antes da fixação do CO_2 e a hidratação dos grupos carbonílicos de intermediários da síntese da celulose. As semelhanças entre os fatores de fracionamento em plantas e tunicados (animais que produzem celulose por via não fotossintética), variações de 0,5 ‰ no $\delta^{18}O$ da celulose, frente a diferenças na temperatura maiores que dez graus e, a troca isotópica nas reações de hidratação entre átomos de intermediários no ciclo fotossintético, praticamente excluem a troca entre

o CO_2 e a H_2O anterior à fixação, como fator determinante da relação isotópica entre o ^{18}O da celulose e a água. O trabalho de STERNBERG e DeNIRO (1983b) confirma a segunda troca isotópica como a provável causa das variações de $\delta^{18}\text{O}$ na celulose. O fracionamento isotópico entre um composto orgânico contendo uma carbonila (acetona), que foi colocado em equilíbrio com CO_2 e água, foi semelhante aos anteriormente obtidos para plantas (1,026-1,027).

Recentes avanços nesta área tem trazido mais alguns agravantes para a interpretação dos resultados, como a descoberta de plantas que fixam por vias alternativas, como algumas C_3 que podem alterar seu ciclo para CAM, por déficit d'água (KLUGE e TING, 1978) ou, aquelas que mostram o fenômeno referido como ciclantes-CAM, uma planta C_3 com características de C_4 (TING e RAYDER, 1982). Em experimentos de casa de vegetação, STERNBERG et alii (1984a) conseguiram identificar cinco grupos de diferentes vias fotossintéticas utilizando o cruzamento de δD em nitro-celulose e $\delta^{13}\text{C}$ em celulose das plantas, enquanto que uma completa sobreposição isotópica ocorreu quando $\delta^{18}\text{O}$ foi cruzado com δD e $\delta^{13}\text{C}$ (STERNBERG e DeNIRO, 1983a). STERNBERG et alii (1984b) entretanto, mostraram que em condições de campo, houve uma diferenciação isotópica de ^{18}O entre C_3 e C_4 presentes no mesmo local. Os autores concluíram que, quando as condições climáticas tornam-se mais secas, as plantas C_4 continuam a sintetizar celulose, enquanto que as C_3 são inibidas.

STERNBERG et alii (1986a) desenvolveram o modelo da

hidratação da carbonila em um experimento de laboratório, onde celulose foi produzida heterotroficamente a partir de diferentes substratos de carbono em cultura de cenoura, de sementes de mamona germinadas no escuro e por uma bactéria produtora de celulose (*Acetabacter xylinum*), todos na presença de água com $\delta^{18}\text{O}$ conhecido. A porcentagem do oxigênio de cada substrato que trocou isotopicamente com a água e a dimensão do fracionamento ocorrido na troca (27,3 ‰ para o glicerol) foram determinados, mostrando que todo o oxigênio vindo do ciclo de Krebs passaria pela carbonila e experimentaria rápida troca isotópica com a água antes da formação da celulose (Figura 1). Dessa forma, substratos como a glicose e sacarose, cujos oxigênios entram para síntese sem passar pela posição da carbonila, não trocam com a água a tempo de constituir celulose com seu sinal isotópico.

Medindo $\delta^{18}\text{O}$ e δD na água dos tecidos fotossintéticos de plantas C_3 e CAM, que cresceram juntas no campo, STERNBERG et alii (1986b) mostram, que não são efeitos de evapo-transpiração que concorrem para o enriquecimento de deutério na nitro-celulose das plantas CAM, uma vez que os teores isotópicos diurnos destas apresentaram valores abaixo daqueles das plantas C_3 . Assim, novamente fracionamentos nas reações bioquímicas foram apontados como causadores da diferenciação isotópica entre estes ciclos.

Estes estudos têm demonstrado quanto o desconhecimento das etapas fracionantes nas reações orgânicas influenciam a interpretação dos registros isotópicos na matéria orgânica. Apesar desse avanço na área, cabe lembrar que a estratégia de coleta de amostras para encontrar

evidências paleoclimáticas dificilmente necessitará de informações complementares de plantas de tão diferentes ciclos fotossintéticos.

Como já foi citado, o ambiente redutor dos climas temperados, que preservam materiais orgânicos fósseis por milhares de anos (> 20.000 anos), e a facilidade em determinar a idade de anéis de crescimento em árvores, têm permitido avançar na direção da reconstrução das condições ambientais daquelas regiões, pelo grande número de estudos isotópicos desenvolvidos. Esses estudos têm gerado muitas vezes, evidências ainda não observadas por outras fontes de informação paleo-ambiental e climática. A expansão desse tipo de estudo para regiões de ambiente oxidante dos trópicos, preencheria lacunas geográficas e talvez cronológicas, permitindo uma modelagem da evolução climática global frente à agressão do homem ao meio ambiente.

Tratando-se da maior extensão de floresta natural sobre o globo e, pela possibilidade da existência de árvores vivas milénares (?), como um dos poucos bancos de dados isotópicos correlacionados ao meio ambiente, um programa de análises isotópicas na matéria orgânica (celulose) das árvores da região Amazônica seria de inestimável valor para interpretação das respostas da floresta ao atual desenvolvimento regional, apoiando políticas de preservação de ambientes naturais. A ferramenta isotópica estaria confirmando e complementando informações colhidas da palinologia, sensoriamento por satélite, biogeoquímica de sedimentos e estudos em carvão.

Este trabalho quer pretenciosamente iniciar este vasto programa, implantando no Centro de Energia Nuclear na Agricultura (CENA), uma metodologia apropriada para análise de ^{18}O em matéria orgânica.

2.2.3. Técnicas de preparo de matéria orgânica para análise de oxigênio-18

Nos últimos anos, os métodos isotópicos têm assumido papel crescente nos estudos de ciclos geoquímicos e biológicos de elementos tais como o carbono, oxigênio, nitrogênio, etc. O oxigênio-18 é um importante traçador para estudos das vias do oxigênio na natureza. O processo envolvido na incorporação deste elemento na matéria orgânica pode ser investigado pela medida da concentração de ^{18}O através da razão isotópica de oxigênio ($^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$), e suas variações em diferentes sistemas, dos compostos orgânicos e inorgânicos. Para determinar essa razão isotópica, o oxigênio deve ser quantitativamente extraído e finalmente convertido em dióxido de carbono (CO_2), um gás conveniente para análise isotópica por espectrometria de massa. Enquanto procedimentos de rotina existem para medida das concentrações de D e ^{13}C em matéria orgânica, a análise de ^{18}O é relativamente complexa e demorada; não quantitativa e dependente da escolha do reagente oxidante. Especialmente com vistas à aplicação potencial das medidas isotópicas em celulose ou detritos de plantas como uma ferramenta paleoclimática, a falta de um método rápido e preciso tem desencorajado o progresso dessas investigações. Uma incompleta satisfação por uma determinada técnica justifica o grande número de métodos desenvolvidos, dos quais, os principais serão abaixo discutidos.

a) Método do cloreto de mercúrio (II)

No método de RITTENBERG e PONTICORVO (1956) a amostra é

colocada em contato com HgCl_2 em um tubo de vidro Pyrex selado *in vacuo*. A reação de oxidação ocorre entre 360 e 530 °C, quando o cloreto se decompõe parcialmente em gás cloro, que reage com a amostra (CuCl_2 e Cl_2 diretamente também atuam dessa maneira). O tubo é então quebrado em uma linha de alto vácuo para purificação dos produtos da reação (CO_2 , CO, HCl e talvez H_2O), onde uma base orgânica fraca (quinolina ou benzo-quinolina) retém o HCl, que não pode ser destilado criogenicamente, separando-o do CO_2 pelo similar ponto de ebulição (-82 °C), que portanto, reage com a base por dois minutos. Inicialmente, todos os gases não condensáveis em nitrogênio líquido, incluindo o monóxido de carbono, são descartados e o CO_2 produzido, recuperado para análise no espectrômetro de massa. A relativa simplicidade e rapidez desse método, cujo esquema da linha de purificação original é mostrado na Figura 2, explica seu parcial sucesso frente a outros. Lotes de amostras podem ser preparados, "queimados" em forno mufla de uma só vez e cerca de 20 purificações podem ser realizadas por dia. EPSTEIN et alii (1977) abaixaram a temperatura de reação para 400°C para minimizar a troca isotópica entre o CO_2 e a sílica do tubo Pyrex, detectada quando a reação se dava a 525°C. Os autores observaram que, embora 5 a 20 % do oxigênio orgânico podia não ser recuperado como óxidos de carbono, esta perda não afetava a reprodutibilidade ($\pm 0,3$ ‰), ou a concordância de valores $\delta^{18}\text{O}$, quando o monóxido de carbono era recuperado por oxidação a dióxido, em uma unidade de conversão por descarga elétrica (AGGETT et alii, 1965). BURK (1979) diminuiu o tempo gasto na purificação do CO_2 e minimizou a exposição da quinolina ao ambiente, duplicando a linha de

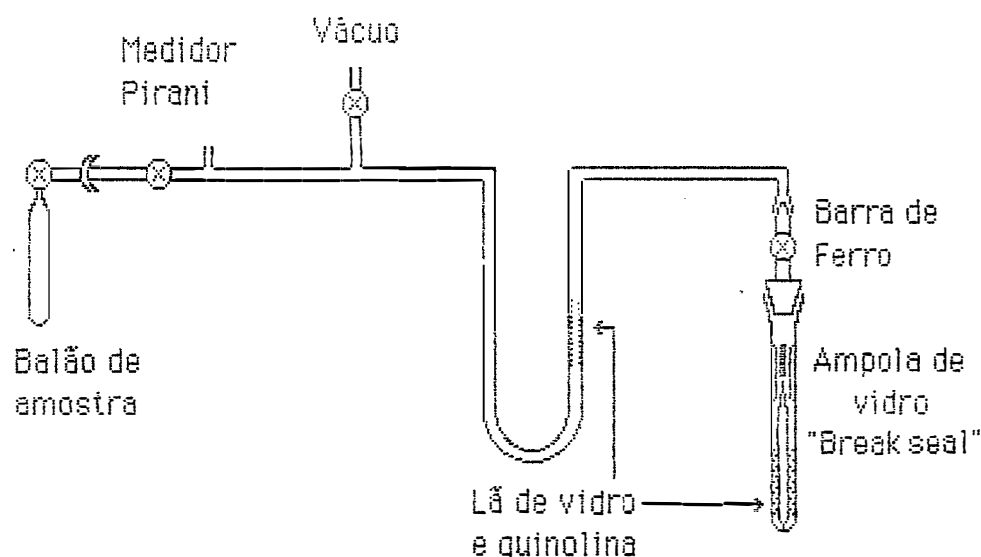
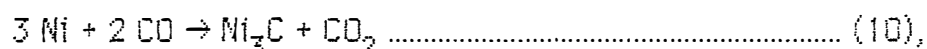


Figura 2: Linha original de RITTENBERG e PONTICORVO (1956) para análise de ^{18}O em matéria orgânica.

purificação em um mesmo sistema. DUNBAR e WILSON (1983) reavaliaram o método diante da maior precisão dos atuais espectrômetros de massa, retendo o monóxido de carbono em sílica-gel à temperatura do nitrogênio líquido e produzindo vácuo na linha antes da descarga elétrica na unidade de conversão. Influência das variáveis como a temperatura e o tempo de combustão, quantidade de reagente, troca isotópica com a sílica em análises repetitivas e análise isotópica dos produtos individuais, foram avaliadas em diferentes experimentos para testar a reprodutibilidade e a precisão em poucos miligramas de matéria orgânica.

Um avanço na direção de substituir a unidade de conversão por descarga foi obtido recentemente por SCHIMMELMANN e DeNIRO (1985),

que desenvolveram uma reação de desproporção sobre níquel metálico, de acordo com:



para a oxidação do monóxido de carbono em presença de N_2 , evitando-se assim, a produção de óxidos de nitrogênio de massa 44 ($^{14}\text{N}_2^{16}\text{O}$) e 46 ($^{14}\text{N}^{16}\text{O}_2$) como ocorre em um tubo de descarga elétrica. Essa modificação expandiu o método de RITTENBERG e PONTICORVO (1956) para amostras que contenham nitrogênio, mas ainda limita-o quando a amostra contiver enxofre. Eliminados HCl e traços orgânicos voláteis, CO_2 , CO e N_2 são recolhidos a um novo tubo contendo carvão e níquel reduzido em pó, por nitrogênio líquido. O tubo assim selado é equilibrado a 275°C por quatro dias, depois dos quais o CO_2 desproporcionado é separado do N_2 criogenicamente (Figura 3). Os valores medidos de $\delta^{18}\text{O}$ de uma celulose pura produzidos deste modo e pelo tubo de descarga mostraram-se compatíveis:

$$\text{via níquel: } \delta^{18}\text{O} = + 25,5 \pm 0,1 \text{ ‰}$$

$$\text{via descarga: } \delta^{18}\text{O} = + 25,8 \pm 0,1 \text{ ‰}$$

A precisão para dez determinações em três séries foram de $\pm 0,1$ a $\pm 0,2 \text{ ‰}$, indicando que o uso do catalizador não foi uma fonte de variação isotópica, como tem ocorrido com o tubo de descarga.

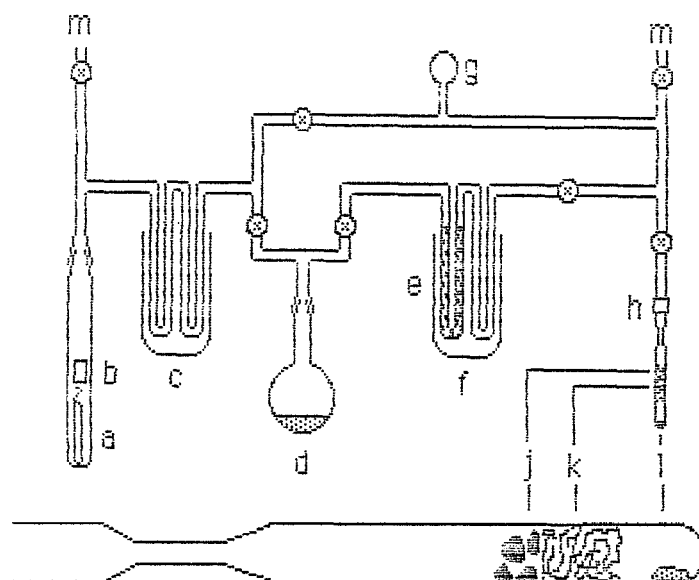


Figura 3: Linha de purificação de CO e CO₂, com desproporcionamento entre os óxidos sobre Ni: a) ampola de vidro contendo amostra e HgCl₂; b) barra de ferro; c) N₂ líquido; d) benzoquinolina; e) bolas de vidro; f) gelo seco; g) medidor de vácuo; h) "Cajon"; j) carvão de coco; k) lã de quartzo; l) Ni e m) vácuo.

(SCHIMMELMANN e DeNIRO, 1985)

A principal desvantagem do método é a perda de parte do oxigênio orgânico ($\delta^{18}\text{O}_{\text{CO}}$ pode ser até 3 ‰ $>$ $\delta^{18}\text{O}_{\text{CO}_2}$), mesmo se uma unidade de conversão for utilizada. THOMPSON e GRAY (1977) e ARAVENA (1982), entretanto, encontraram valores discrepantes entre o $\delta^{18}\text{O}$ do CO₂ total e os citados em literatura, quando utilizaram a unidade de conversão, não a recomendando. O uso de drogas químicas voláteis e nocivas (HgCl₂ e

quinolina), é outra desvantagem, além da possibilidade de um fracionamento isotópico dependente da pressão nos tubos para diferentes quantidades de amostras (FERHI et alii, 1983).

b) Método da pirólise em vaso de níquel

Por problemas associados à troca isotópica com a sílica do vidro e contaminações por CO formado da reação entre a sílica e diamantes a 1250°C (HARDCASTLE e FRIEDMAN, 1974), THOMPSON e GRAY (1977) desenvolveram um novo sistema para a reação de pirólise da matéria orgânica, onde a câmara de reação consiste de um vaso reator de níquel. O reator sob vácuo contendo a amostra é selado e aquecido a 1125°C, quando CO₂, CO e H₂ são formados como produtos da combustão. O H₂ se difunde através da parede de níquel para um vaso de quartzo que envolve o reator, mantendo-o no vácuo, e é continuamente retirado do sistema. O CO pode ser recuperado após a abertura do vaso, pela passagem por sílica-gel à temperatura de nitrogênio líquido, para posterior oxidação em uma unidade de conversão (Figura 4). A remoção total do H₂ força que a reação se complete, além de permitir a análise da razão D/H neste gás simultaneamente (GRAY et alii, 1984). O vaso de níquel evita troca isotópica dos óxidos de carbono com a sílica dos vasos de vidro e ao mesmo tempo cataliza a conversão de CO a CO₂ a temperaturas em torno de 400°C. O uso contínuo do vaso de níquel a altas temperaturas ativa-o, justificando maiores produções de CO₂ (98-100 %), quanto mais usado estiver o vaso (TØTTRUP, 1976).

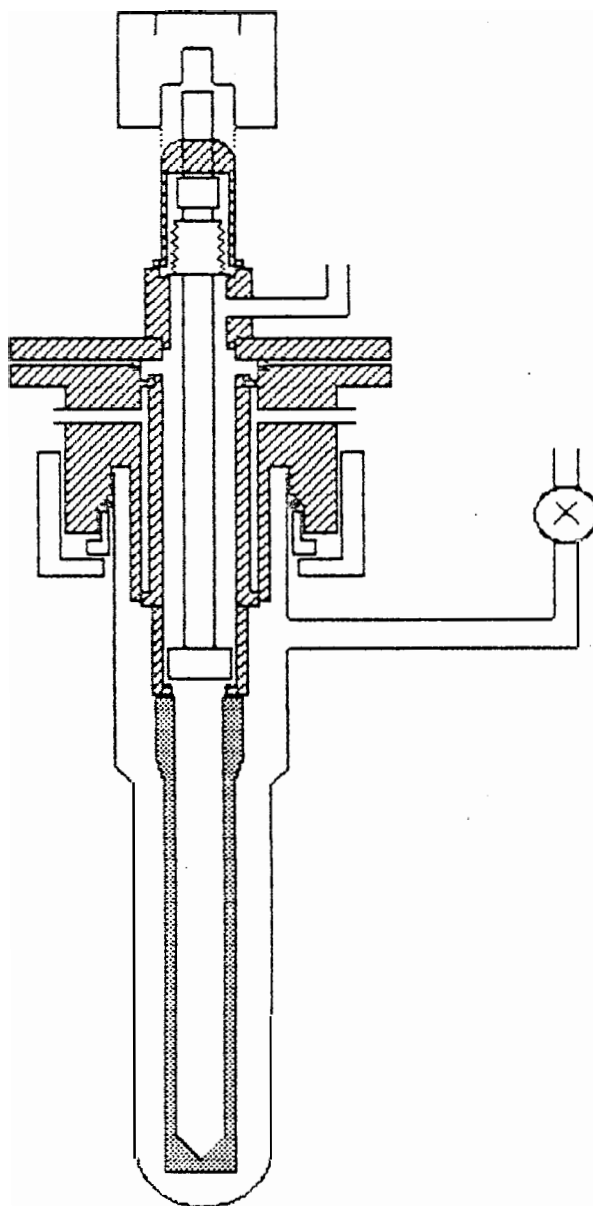


Figura 4: Vaso reator de níquel para pirólise da matéria orgânica, segundo GRAY et alii (1984).

O longo tempo de preparo da amostra (4 horas) e a formação de hidrocarbonetos voláteis ("tars"), que condensam nas partes mais frias do vaso de reação, sofrendo combustão incompleta, além do custo do equipamento, são algumas das desvantagens do método apontadas por GRAY et alii (1984). A precisão das medidas obtidas para as razões $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ e D/H foram $\pm 0,2-0,4$ e ± 1 ‰ V-SMOW, respectivamente.

c) Método das "bombas" de níquel

Uma fusão dos dois métodos mencionados surgiu com o trabalho de BRENNINKMEIJER e MOOK (1981), quando tubos ("bombas") de níquel foram selados por solda elétrica, contendo a amostra e pó de níquel sob uma atmosfera de hélio. O pó de níquel cataliza a conversão do CO a CO_2 acima de 300°C e, em um tempo máximo de 15 minutos a 950°C , todo o H_2 terá sido perdido pelas paredes do tubo. Como a exposição do tubo quente ao CO_2 é rápida, não ocorre um envenenamento significativo do catalizador. A temperatura de um lote de "bombas" é então abaixada para 350°C por mais 45 minutos e os gases liberados delas passam por um tubo de vidro aquecido a 300°C , para decompor possíveis traços de $\text{Ni}(\text{CO})_4$ (Figura 5). A precisão do método para celulose comercial foi de $\pm 0,16$ ‰ V-SMOW e de $\pm 0,2$ ‰ para amostras de água com parafina como fonte de carbono. Estas modificações aumentam a precisão dos resultados, contornam os problemas esperados com o reator de THOMPSON e GRAY (1977), eliminam a reação de HCl com a quinolina do método de RITTENBERG e PONTICORVO (1956), porém,

requerem equipamentos especiais para soldar as "bombas" de níquel com substancial elevação dos custos.

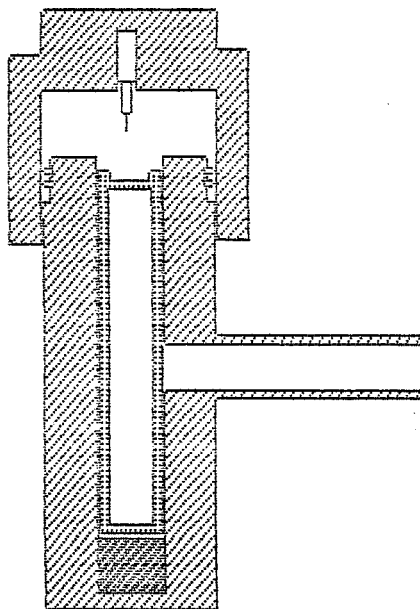


Figura 5: Sistema para "bombas" de Ni, de BRENNINKMEIJER e MOOK (1961).

d) Método integrado

Como a composição isotópica de oxigênio da celulose está ligada à da água da folha, que é controlada pela da água do solo e do vapor d'água do ar, FERHI et alii (1983) desenvolveram um sistema integrado desenhado para análise de todos esses materiais, baseado no de HARDCASTLE e FRIEDMAN (1974). O sistema é duplo, como o de BURK (1979), permitindo o preparo de duas amostras simultaneamente. A diferença básica está no forno de quartzo, com dois compartimentos de diferentes temperaturas. O superior, que contém Iã de platina como catalizador da

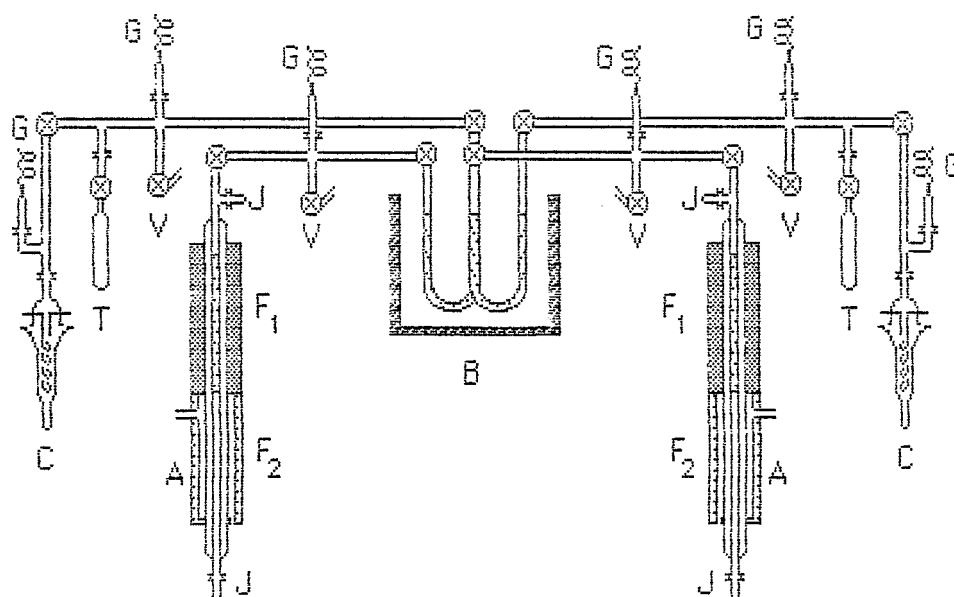


Figura 6: Sistema do método integrado (FERHI et alii,1983): A) unidade de pirólise; B) sílica-gel; C) unidade de conversão CO-CO₂; F) forno; G) medidor de vácuo; J) "ball joint"; T) frasco de CO₂; V) vácuo.

combustão, está a 950°C e, o inferior, que contém a amostra, aquecido a temperaturas variáveis de 50 a 650°C, controlada por fluxo de ar dentro de uma jaqueta refrigerante. Na ausência de uma fonte de carbono, pó de diamante é incorporado à lâ de platina no compartimento superior. A reação ocorre em dez minutos, depois dos quais os gases produzidos são purificados em sílica-gel imersa em nitrogênio líquido; uma unidade de conversão também é necessária. Recuperado todo o CO, o carbono depositado nas paredes internas do forno e nos eletrodos deve ser removido por fluxo de ar a 600°C e por descarga elétrica. A reprodutibilidade dos resultados de

vários compostos orgânicos foi substancialmente melhor que $\pm 0,2$ ‰. A produção de CO contaminante da reação entre a sílica e o diamante mostrou-se negligenciável abaixo de 1000°C, porém não foi eliminada, bem como a possibilidade de troca isotópica entre o CO₂ e a sílica nas condições de operação do sistema.

Dos avanços obtidos com as recentes modificações do método do cloreto de mercúrio (II) depois de RITTENBERG e PONTICORVO (1956), e pelas atuais dificuldades encontradas na operação de sistemas mais sofisticados, além de seus custos, este método vem sendo utilizado em diversos experimentos onde maior precisão não é o principal objetivo, mas sim, análises simples e ágeis de diferentes compostos (STERNBERG e DeNIRO, 1983b; SCHIMMELMANN e DeNIRO, 1985 e STERNBERG et alii, 1986a).

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Descrição dos locais de coleta e das amostras

Doze árvores foram amostradas na região Amazônica dentro de um eixo latitudinal, com a intenção de analisar inicialmente, a parte central da floresta, embora onde provavelmente não seriam encontradas as melhores árvores para estudos paleoclimáticos, em função de um efeito tampão que a mesma pode produzir sobre as variações climáticas.

Desse modo, o eixo imaginário norte-sul ligando Boa Vista (RR) a Porto Velho (RO) poderia conter, além das árvores centrais da região de Manaus, também árvores limítrofes da floresta que, tendo crescido isoladas, estariam sujeitas às variações climáticas da região.

A Tabela 2 contém a localização aproximada dos pontos de coleta e as médias dos parâmetros climáticos da estação meteorológica mais próxima. Um exemplar, obtido de uma serraria em Manaus, oriundo da várzea do Alto Purús, próximo ao Estado do Acre, também foi incluído por apresentar características morfológicas diferentes das árvores de terra firme das outras regiões. As características climatológicas dos pontos de coleta, são raras ou inexistentes, exceto para Manaus (AM), que apresenta dados médios para os últimos anos. A Figura 7 ilustra como variam durante o ano, as médias dos principais parâmetros climáticos de Manaus segundo

Tabela 2: Localização, principais parâmetros climáticos médios do ponto de coleta, nomes e densidades básicas das árvores amostradas.

Localização altitude	T* (°C)	P* (mm)	UR* (%)	local de coleta	Nome Científico	Nome Vulgar	Dens. básica	
Manaus (AM) 3°S 60°W 48 m	26,7 (1931-60)	2.100	84	Reserva Biológica Cuieiras (terra firme)	1. <i>Lecythis</i>	Castanha	0,87	
					<i>usitata</i> Miers	Sapucaia		
					2. <i>Andira</i>	Sucupira		
					<i>parviflora</i>	Vermelha		
					3. <i>Hymenaea</i> sp	Jatobá		0,90
					4. <i>Swartzia</i> sp	Coração de Negro		1,12
B. Vista (RR) 0° 67°W 85 m**	25,2 (1931-60)	2.900	88	(terra firme)	7. <i>Hymenaea</i> sp	Jatobá	n.d.	
					8. <i>Hymenolabium</i>	Angelim	n.d.	
					<i>pulckerrimum</i>	Pedra		
P. Velho (RO) 9°S 64°W 105 m	25,9 (1961-73)	2.160	84	(terra firme)	9. <i>Parkia</i> sp	Faveira Amarela	n.d.	
					10. <i>Hymenaea</i> sp	Jatobá	n.d.	
					11. <i>Hymenolabium</i>	Angelim	n.d.	
R. Branco (AC) 10°S 67°W 136 m	24,7 (1969-73)	1.770	85	(várzea)	<i>pulckerrimum</i>	Pedra		
					12. <i>Dinizia</i> sp	Faveira Ferro	n.d.	
					13. <i>Calophyllum</i>	Jacareuba	0,54	
					<i>brasiliense</i>			
					Camp			

* Dados climatológicos médios segundo VILLA NOVA et alii(1976).

** Dados de Uaupês, pela inexistência dos de B. Vista por longos períodos.

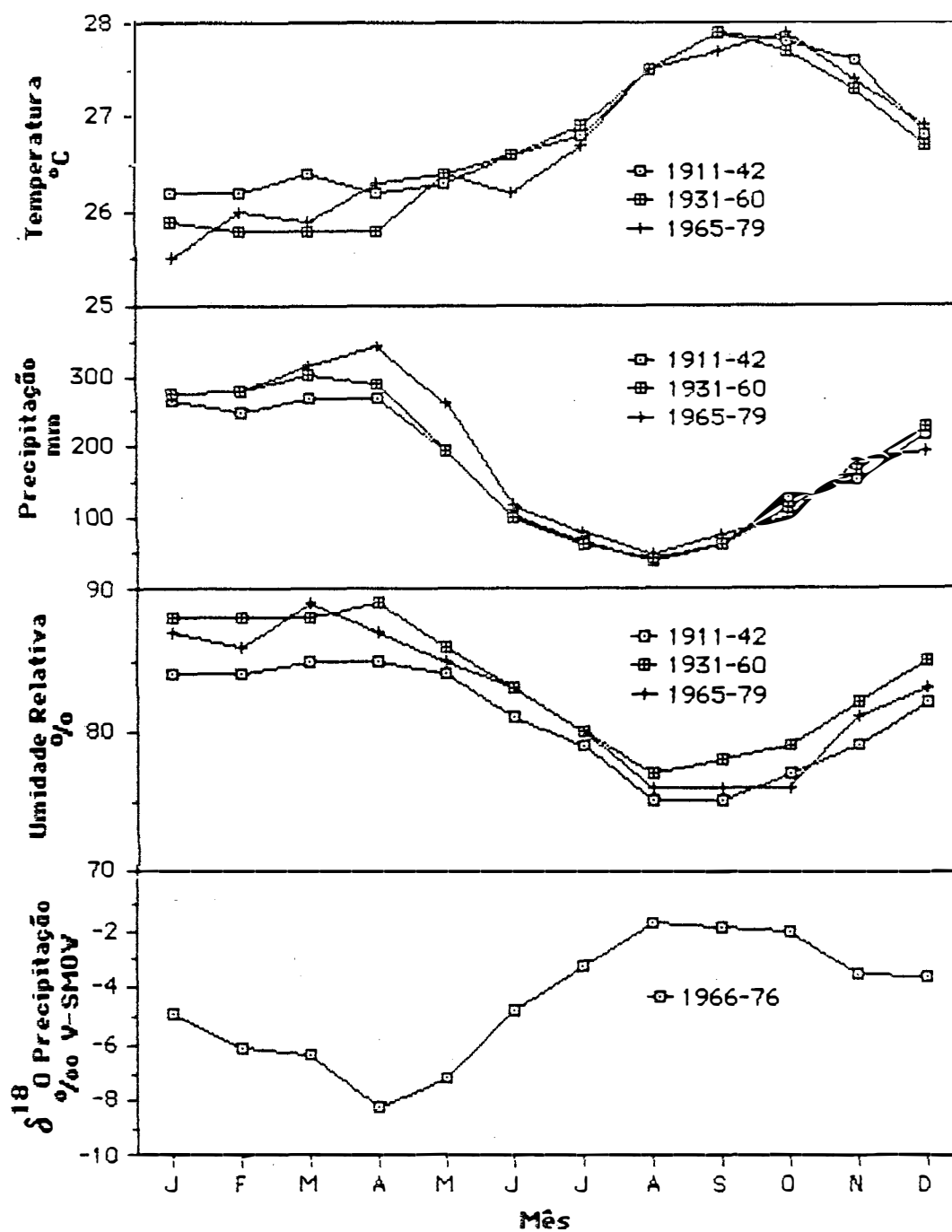


Figura 7: Principais parâmetros climáticos médios mensais para três épocas e $\delta^{18}O$ na precipitação da região de Manaus.

os dados da Agência Internacional de Energia Atômica (IAEA), VILLA NOVA et alii (1976) e Ministério da Agricultura.

De modo a minimizar a variabilidade das respostas fisiológicas às mudanças climáticas e, pela inexistência dos principais parâmetros climáticos nas regiões limítrofes, foram selecionadas árvores do mesmo gênero dentre as coletadas, reduzindo o número de árvores analisadas para um exemplar de um gênero de terra firme comum aos três locais de coleta (3), três outros de terra firme da reserva biológica do Cuieiras, Manaus (3), e um da várzea do rio Purús (1).

Tomou-se o cuidado de escolher dentro da mata aquelas árvores que, se não se destacavam dentre as outras, ao menos aparentemente há mais tempo faziam parte da cobertura da floresta, tentando-se com isso minimizar os possíveis efeitos desta mesma cobertura. Pelo desconhecimento de suas idades, as mais altas, de maiores diâmetros de tronco e densidade básica (peso seco/peso saturado em água) deveriam ser as mais antigas e portanto, conterem registros isotópicos mais longos.

Secções transversais ou "discos" dos troncos das árvores foram retiradas e por dificuldades de transporte, foram subdivididas obtendo-se uma fatia central, contendo dois raios opostos (0 e 180°) de orientação. Várias técnicas foram tentadas para identificar e visualizar os possíveis anéis (ou camadas) de crescimento nas secções tais como: o polimento e inspeção visual, o jato de areia para as espécies de menor densidade (SCHULZ, 1982) e mesmo a atenuação de radiação gama de baixa energia (FERRAZ, 1976 e FERRAZ e MORTATTI, 1982). Como já discutido, uma determinação das idades das secções analisadas tão precisa quanto

possível é desejável para uma situação cronológica dos prováveis eventos de variação isotópica e ambiental disponíveis nos registros da matéria orgânica. Devido a alta densidade das madeiras, as técnicas mencionadas não surtiram efeito algum no sentido de datar as árvores. O método do radiocarbono (^{14}C) parece ser a proposta mais adequada para isto.

3.2. Método do carbono-14 para datação das árvores naturais

O problema da datação das árvores pode ser contornado pelo uso do carbono-14 como traçador natural, assimilado do mesmo modo que o carbono-13 do CO_2 atmosférico. STUIVER et alii (1980) propuseram que, com o grande aumento do teor de ^{14}C no CO_2 atmosférico, proveniente das explosões nucleares de 1952/1963, o ponto máximo de ^{14}C do CO_2 atmosférico identificado na matéria orgânica, poderia fornecer taxas de crescimento das árvores crescidas entre 1963 e hoje (KIKATA et alii, 1986 e WORBES e LEUSCHNER, 1987). Esta sugestão foi aplicada de uma nova forma para estimar idades das árvores tropicais vivas da floresta Amazônica (MOZETO et alii, 1988). Diante das pequenas variações dos parâmetros climáticos observadas para as últimas décadas (veja Figura 7), pode-se supor que as taxas de crescimento das árvores da floresta tropical variam pouco (menor que 20%) e podem ser assumidas como constantes. Tomados dois segmentos adjacentes de mesmo comprimento na direção radial, e integrados a partir do câmbio sobre o mesmo raio, além de representar praticamente o mesmo período de tempo, eles conteriam o correspondente teor de ^{14}C do CO_2 assimilado da atmosfera (Figura 6), dos quais seriam

determinados os períodos de crescimento (anos/cm) de cada segmento amostrado. A média das atividades de ^{14}C dos anos compreendidos nos segmentos amostrados, seria encontrada na madeira da planta da qual foram eliminados os componentes modernos. Para corrigir estas atividades aos valores atmosféricos é necessário descontar o fracionamento isotópico na assimilação de carbono ($\delta^{14}\text{C} = 2,3 \text{ e } ^{13}\text{C}$; SALIÈGE e FONTES, 1984), normalizá-las a um $\delta^{13}\text{C}$ médio de -25 ‰ , considerando o $\delta^{13}\text{C}$ do CO_2 atmosférico atual igual a $-8,5 \text{ ‰}$ PDB (LEVIN et alii, 1980), .

Duas curvas podem ser construídas, a partir das atividades de radiocarbono corrigidas para as plantas, dos teores dos dois segmentos de acordo com o número de anos que eles contém, denominados O-X e X-2X, mais externo e mais interno, respectivamente. Desta forma, períodos de crescimento seriam identificados na Figura 9 e, desde que as taxas de crescimento sejam consideradas constantes, idades estimadas podem ser alcançadas.

Para algumas árvores, foi possível observar que a largura das bandas (ou anéis) de crescimento, quando visíveis, seguiram um padrão crescente do centro para o câmbio, indicando taxas crescentes de crescimento e que as idades estimadas seriam mínimas. Quando entretanto, o padrão de crescimento é oposto ao mencionado, ou seja, a largura das bandas decresce do centro para o câmbio, idades máximas seriam estimadas. Isto fica claro para as árvores da várzea, nas quais estão visíveis anéis de crescimento anuais (WORBES, 1985), onde um padrão de crescimento crescente foi observado. Assim, seria possível estimar as idades, ao menos mínimas, das árvores vivas da floresta Amazônica, de

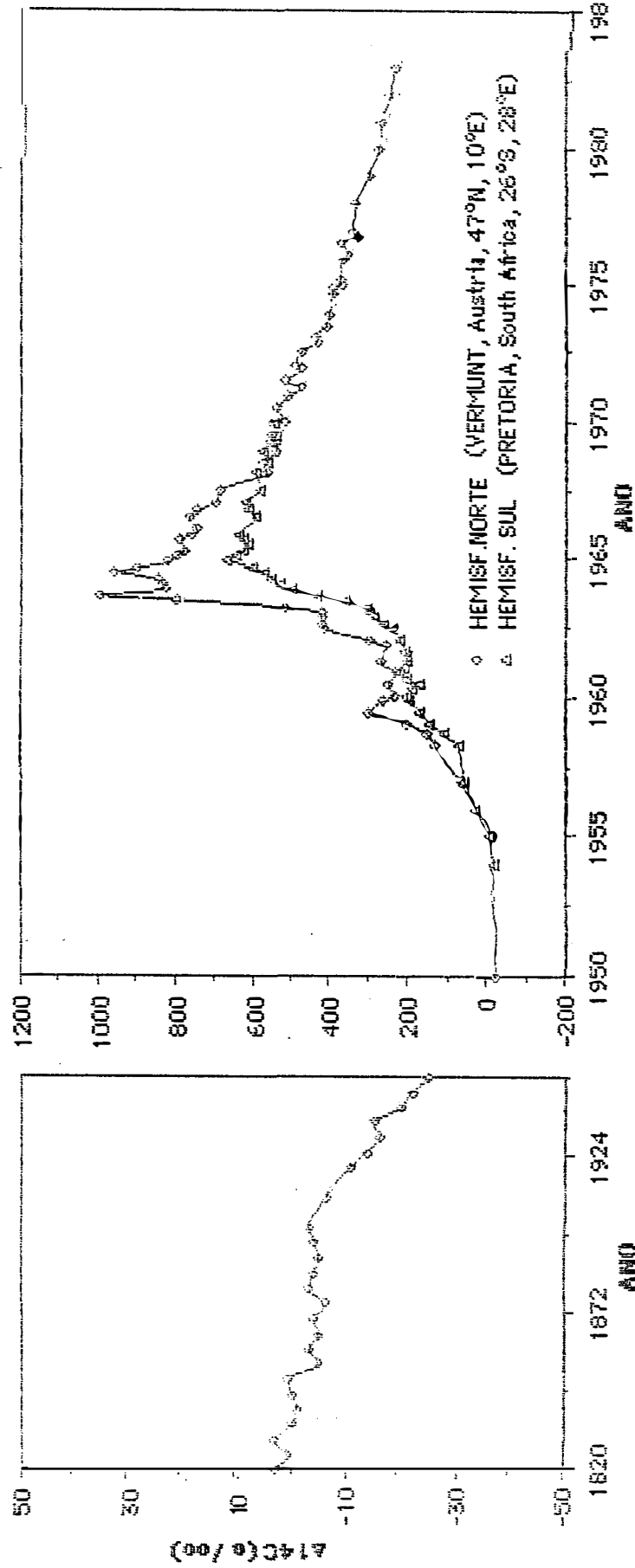


Figura 8: Curva de atividade de ^{14}C no CO_2 atmosférico de 1820 a 1983. Dados adaptados de LEVIN et alii (1980), LEVIN et alii (1985) e STUIVER e QUAY (1981).

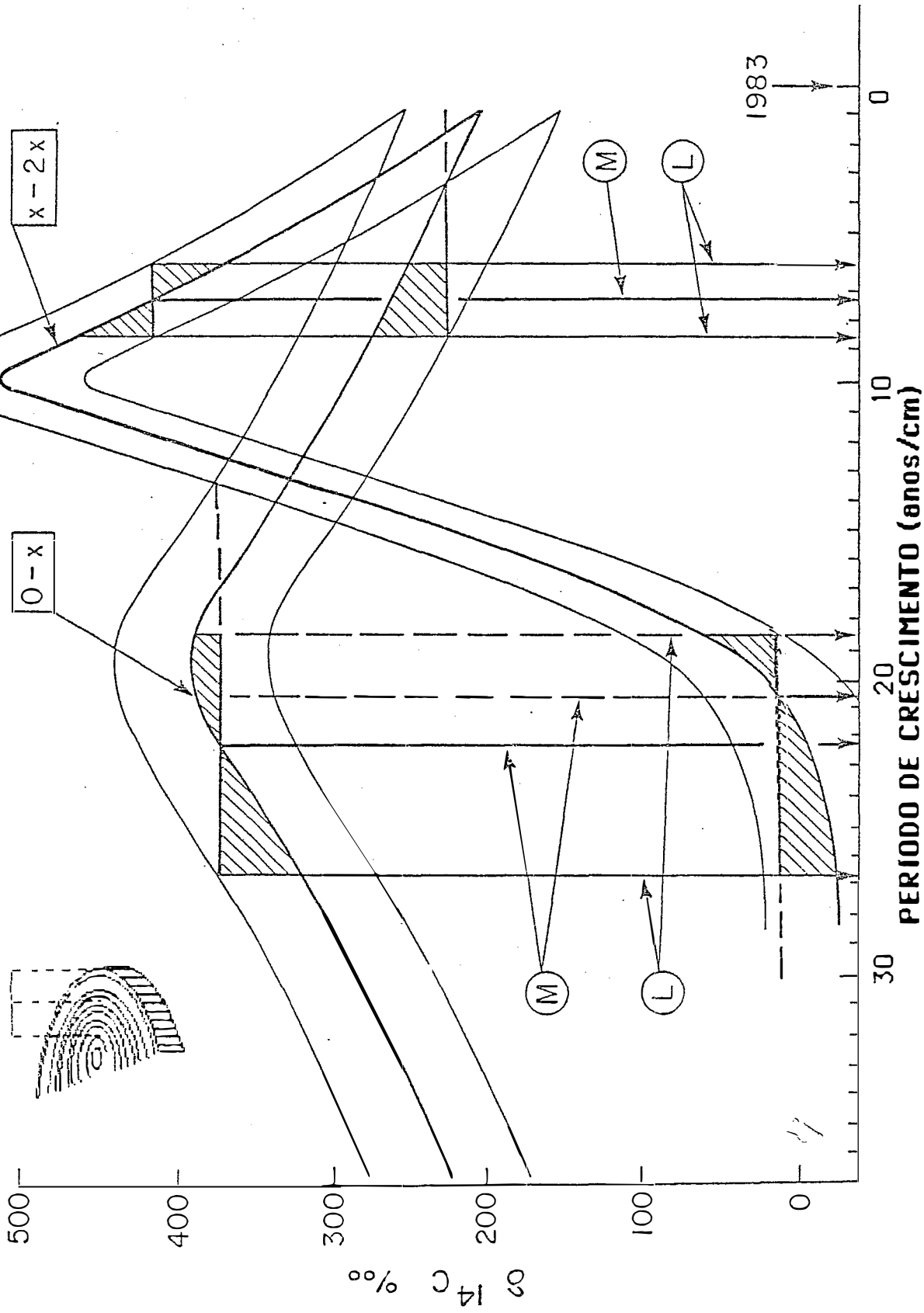


Figura 9: Curva teórica de atividade de ^{14}C na madeira de árvores cortadas em 1983, em função dos períodos de crescimento (anos/cm) de cada segmento coletado, mostrando dois exemplos de períodos distintos: Taxa de cresc. baixa (22anos/cm) e alta (7anos/cm).

modo a plotar em uma escala de tempo, os teores isotópicos de ^{13}C e ^{18}O da celulose, de acordo com o seu ano de formação.

3.2.1. Método de análise de ^{14}C

As atividades de ^{14}C foram medidas em madeira pré-tratada com soluções alternadas de ácido clorídrico 2 % (80°C, 4 Hs) e hidróxido de sódio 2 % (80°C, 12 Hs), para extrair as resinas e óleos depositados depois da formação da parede celular (TANS et alii, 1978). A madeira foi oxidada a gás CO_2 sob fluxo de oxigênio em uma linha de vácuo própria, do qual foi retirada uma alíquota para análise por espectrometria de massa, do $\delta^{13}\text{C}$, para futuras correções do fracionamento isotópico. O CO_2 reagiu em um forno com lítio metálico, formando carbeto de lítio que foi hidrolizado a acetileno (C_2H_2). Depois de polimerizado a benzeno, a amostra terá sua atividade determinada em um espectrômetro de cintilação líquida, sendo o resultado expresso em partes por mil, em relação à atividade do ácido oxálico padrão internacional NBS.

3.3. Análise isotópica de ^{13}C e ^{18}O em árvores naturais

3.3.1. Isolamento de celulose

Um único raio das árvores foi dividido em segmentos de dois centímetros cada e a serragem integrada da madeira foi padronizada entre 40 e 60 mesh. A celulose de cada subamostra foi isolada pelo método do

clorito de sódio/ácido acético, descrito no Apêndice, por uma versão adaptada para pequenas quantidades de madeira do método de GREEN (1963).

A serragem foi inicialmente extraída com solventes orgânicos para remoção de resinas, lipídios e taninos. A madeira extraída foi deslignificada por clorito de sódio em meio a ácido acético, da qual resultou holocelulose, que consiste de hemiceluloses (açúcares semelhantes à celulose) e α -celulose (polímero de glicose). As hemiceluloses foram então extraídas com hidróxido de sódio para isolar a α -celulose, a qual representa cerca de 45 % em peso da madeira bruta.

Para a extração alcalina sobre a holocelulose, um balão de extração foi desenvolvido de modo a evitar o contato do CO_2 atmosférico com as soluções de NaOH, permitindo utilizar uma pressão positiva de gás N_2 para facilitar a filtragem, injetado por seringas em septos de borracha. A Figura 10 mostra a filtragem de uma celulose no próprio balão de extração, evitando o contato com o ar atmosférico. Esse mesmo balão permite o aquecimento, em banho termostaticado, das soluções alcalinas na posição horizontal, com N_2 como gás de arraste (Figura 11).

3.3.2. Método para purificação de CO_2 para análise de ^{18}O em celulose

3.3.2.1. Considerações gerais

O método escolhido no presente trabalho foi uma versão

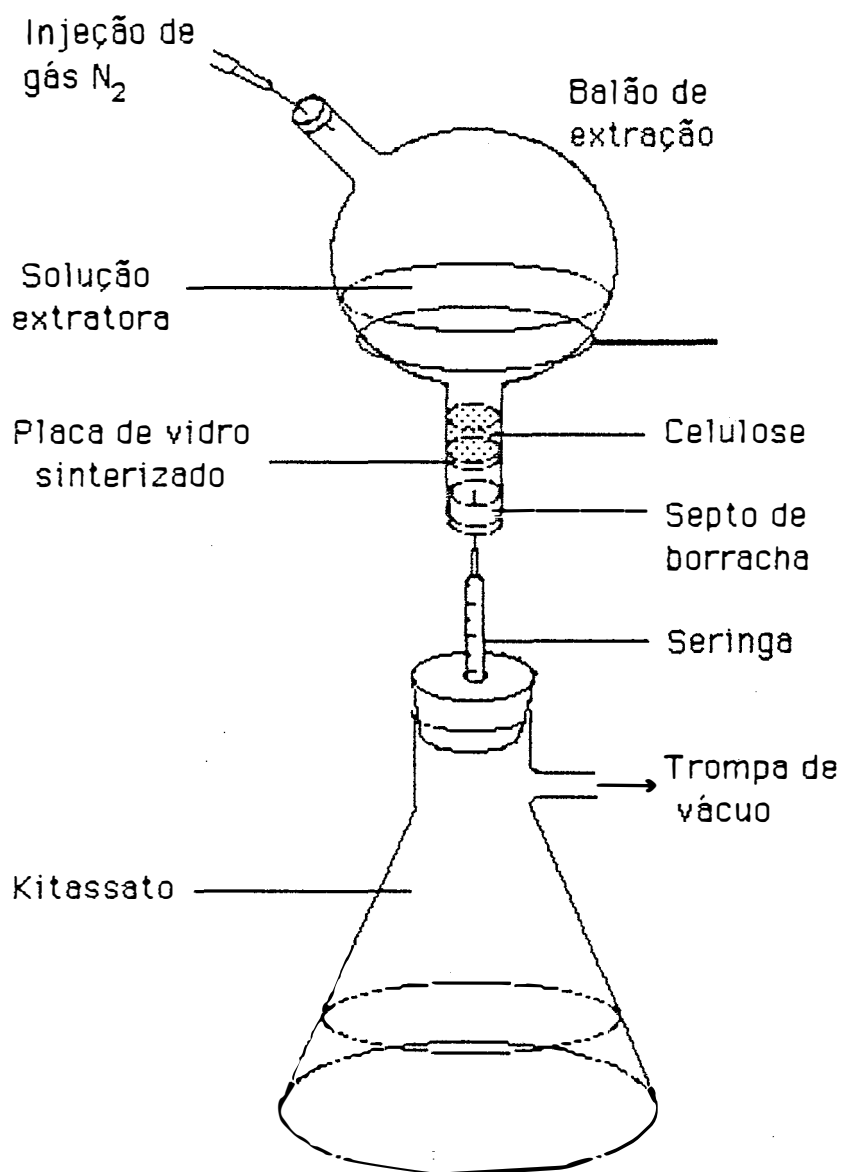


Figura 10: Balão de extração desenvolvido, utilizado no isolamento e filtragem de celulose, a partir de pequenas porções de madeira.

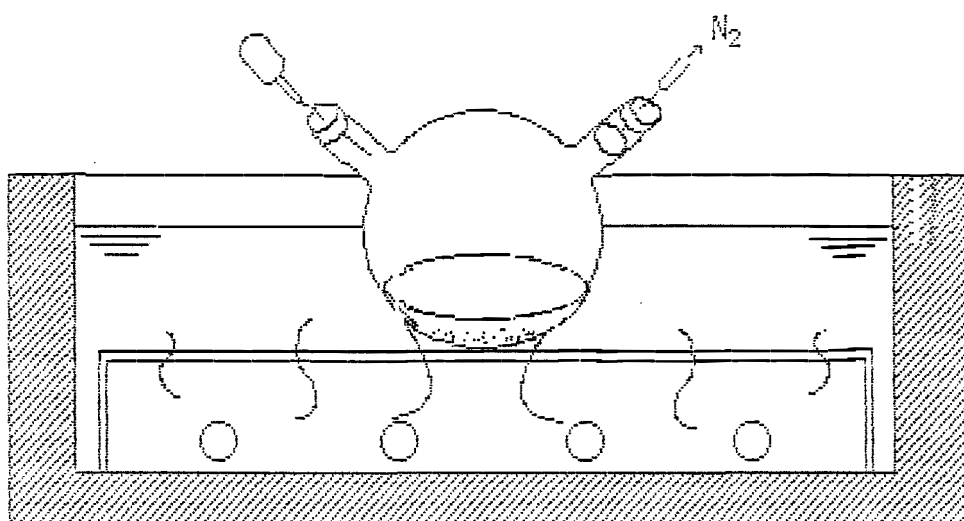


Figura 11: Banho termostático para aquecimento dos balões de extração.

modificada do proposto por RITTENBERG e PONTICORVO, 1956. A linha de purificação original foi testada mas, mostrou-se de operação difícil e perigosa pela constante manipulação e exposição da quinolina embebida em lã de vidro, que ocorria a cada nova amostra. O resíduo orgânico aderido à parada destes tubos contamina o ambiente e com a imersão em nitrogênio líquido ou gelo seco, a quinolina congela na lã, obstruindo a passagem dos gases.

O esquema adotado na Figura 12, ilustra os dois principais compartimentos da linha desenvolvida: uma câmara de reação de HCl e quinolina (B) e um conversor de CO a CO₂ por descarga elétrica (D). Além destes, existe um sistema (A) próprio para liberação dos gases produzidos na combustão de amostras nos tubos de reação (veja próxima seção), uma "trap" para destilar o CO₂ purificado (C) e um balão de amostras (E), no qual o gás é recolhido para posterior dosagem e análise isotópica.

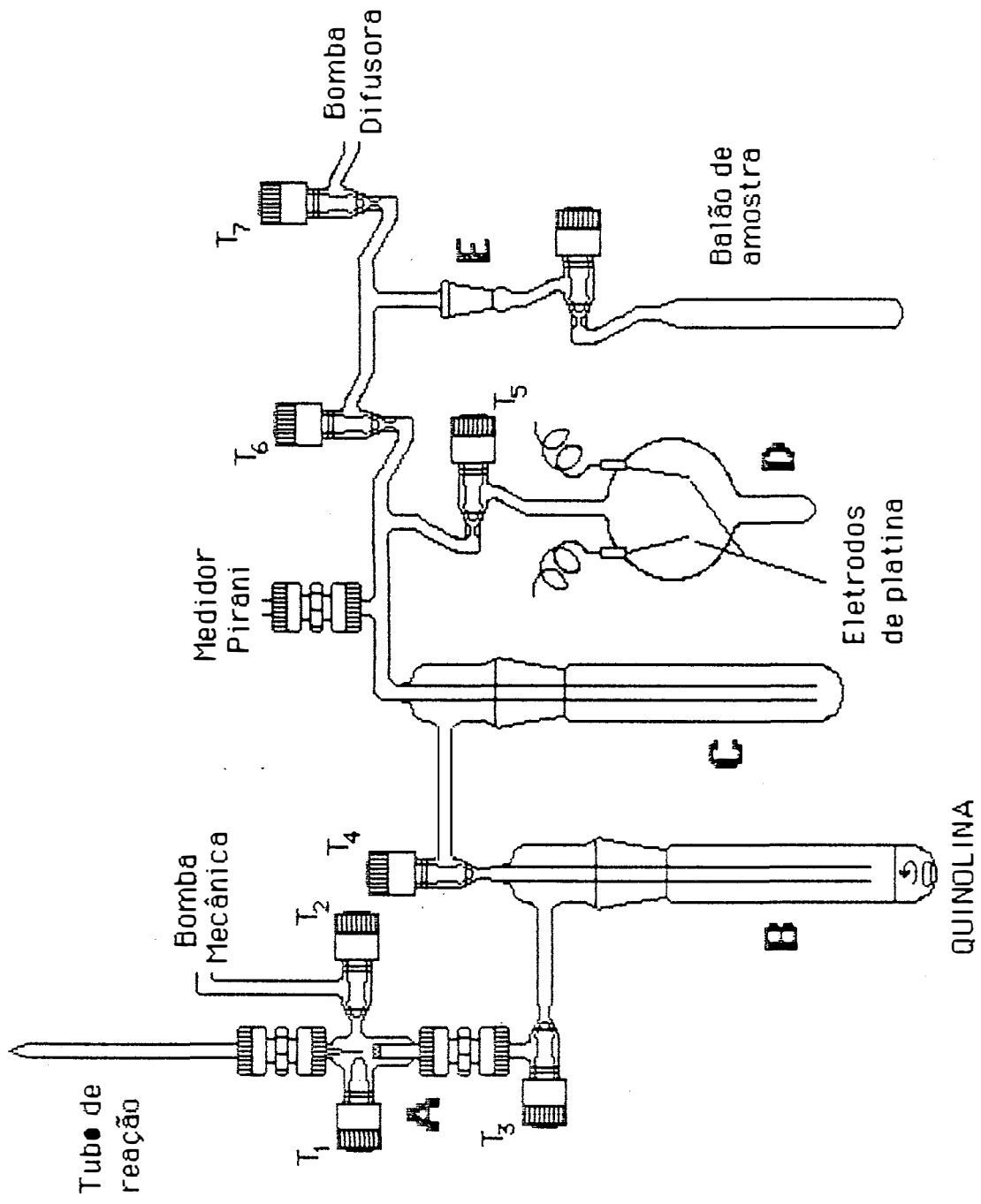


Figura 12: Linha de purificação de CO₂ proveniente de matéria orgânica, para determinação de δ¹⁸O.

A modificação introduzida levou em conta os inconvenientes citados, recolhendo uma quantidade da base orgânica volátil no compartimento B da linha, que permitisse a purificação de várias amostras sem necessidade de expô-la ao ambiente mais de uma vez ao dia. Através de um agitador magnético, a camada superficial de cloridrato de quinolina formada pode ser removida e ao mesmo tempo, maximiza o contato do cloreto de hidrogênio formado na combustão, com a superfície do reagente.

Cada compartimento foi testado e várias vezes modificado para chegar a essa configuração, que facilitou a operação da linha de vácuo. Por medida de segurança, a linha foi finalmente montada em uma capela própria. Por tratar-se de uma planta piloto, somente uma amostra pode ser purificada por vez, permitindo o preparo de vinte amostras por dia.

3.3.2.2. Preparo inicial: oxidação a CO_2

Para análise de oxigênio, as amostras foram seladas nos tubos de vidro Pyrex com cloreto de mercúrio (II) (HgCl_2 , um oxidante que não introduz qualquer oxigênio estranho à amostra), na proporção de 15 mg de amostra para 350 mg de HgCl_2 . As amostras reagiram a 450°C por seis horas, sendo os reagentes secos previamente a 60°C por 24 horas. Os tubos utilizados na análise dos dois elementos foram calcinados a 500°C antes do uso e fechados em vácuo melhor que $5 \cdot 10^{-2}$ torr, depois de 20 minutos.

CO_2 , CO e HCl são os produtos da reação de combustão da celulose, dos quais, em análises de rotina, o CO foi descartado e o HCl retido como cloridrato de quinolina.

3.3.2.3. Purificação de CO_2 na linha desenvolvida

Uma descrição detalhada do procedimento de purificação na linha é dada abaixo, depois da prévia purificação do reagente orgânica, que é volátil e higroscópico, além de sofrer foto-oxidação quando armazenado em frascos claros. A maior quantidade da água pode ser retirada por adição de sulfato de magnésio p.a., que se agrega ao ser adicionado. Quando este não mais se agregar, a quinolina será filtrada e bi-destilada à pressão reduzida sobre zinco metálico (60°C , 10^{-1} torr). Por ser higroscópica e foto-degradável, o seu armazenamento em frasco escuro, pequeno e em presença de KOH é recomendado. Seguem as etapas de operação:

1) Com as torneiras T_2 , T_3 e T_5 fechadas, cerca de três mililitros de quinolina são introduzidos no "trap" B da linha (Figura 12) e a pressão é reduzida com bomba mecânica a 10^{-1} torr;

2) a quinolina é então congelada em gelo seco e a pressão reduzida a 10^{-3} torr com uma bomba difusora, enquanto um tubo de amostra é colocado no sistema A, quando é feito vácuo por T_2 com bomba mecânica;

3) fechando-se T_2 e abrindo-se T_3 , o alto vácuo é estendido até o tubo de amostra; o gelo seco é substituído por nitrogênio líquido e T_4 fechada, liberando-se a seguir os gases do tubo de amostra, quebrando-se a ponta afinada do tubo de reação, por meio de T_1 do sistema A;

4) depois que o CO_2 e o HCl condensarem, um largo anel branco se forma no "trap" B e T_4 é aberta para descartar o CO; T_3 é então fechada para permitir a colocação de um novo tubo de amostra;

5) T_4 é fechada e a quinolina fundida, aquecida e agitada magneticamente por dois minutos, e então recongelada com gelo seco;

6) o CO_2 é destilado para o "trap" C com nitrogênio líquido, mantendo-se a T_5 fechada para evitar a perda de CO_2 por um eventual arraste violento do gás;

7) T_6 é aberta para bombear todo o CO da linha; todo o CO_2 estará então, em C, fechando-se a seguir, a T_4 ; a T_7 é fechada e o CO_2 destilado do "trap" C para o balão de amostras, pela substituição do nitrogênio líquido por gelo seco; o medidor Pirani denuncia o fim desta transferência;

8) cobrindo-se o CO_2 destilado no balão de amostras com nitrogênio líquido, a T_7 é momentaneamente aberta para limpeza de gases residuais incondensáveis, depois do que o CO_2 é quantificado em um dosador de gás e analisado no espectrômetro de massas.

Em testes para a recuperação do monóxido de carbono, uma longa etapa adicional é incluída retendo-se o CO_2 , durante a reação com a quinolina, em nitrogênio líquido no "trap" B e admitindo-se pequenas alíquotas do CO no tubo de descarga elétrica através da T_5 . Alta tensão é aplicada entre os eletrodos de platina quando uma descarga azul característica torna-se visível. O CO_2 formado é condensado no "dedo frio" do tubo de descarga elétrica, com nitrogênio líquido cobrindo parcialmente os eletrodos. Quando a luz azul desaparece, o nitrogênio líquido é abaixado

para o dedo frio e o CO aderido às paredes e eletrodos é finalmente oxidado, repetindo-se a descarga elétrica. Só então o CO₂ retido no "trap" B é destilado para C e ambos (CO₂ do CO e o da combustão) são destilados para o balão de amostras.

Ao fim de um dia, o cloridrato de quinolina é dissolvido em álcool, descartado e o "trap" B lavado com solventes orgânicos. Cuidados especiais são necessários para evitar inalação dos vapores da quinolina e dos resíduos de HgCl₂ dos tubos Pirex abertos, bem como dos solventes.

3.3.3. Preparo de CO₂ para análise de ¹³C em celulose

As amostras para determinação de $\delta^{13}\text{C}$ foram preparadas em tubos de vidro Pirex selados a vácuo, contendo 10 mg da celulose e cerca de 1g de óxido de cobre (II)(CuO) como reagente oxidante. Uma vez selados em linha própria (Figura 13a), os tubos foram queimados em mufla a 550°C por 12 horas, depois das quais as amostras de CO₂ foram purificadas em outra linha, separando-se o CO₂ dos outros produtos da reação, que são principalmente, H₂O e N₂, na linha da Figura 13b.

3.4. Análise e cálculos para determinação de $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{18}\text{O}$

A razão isotópica de oxigênio do CO₂ das amostras de celulose, foi medida no espectrômetro de massa DELTA E da Finnigan Mat, com coletor triplo, e comparada à razão do padrão de trabalho CENA STD,

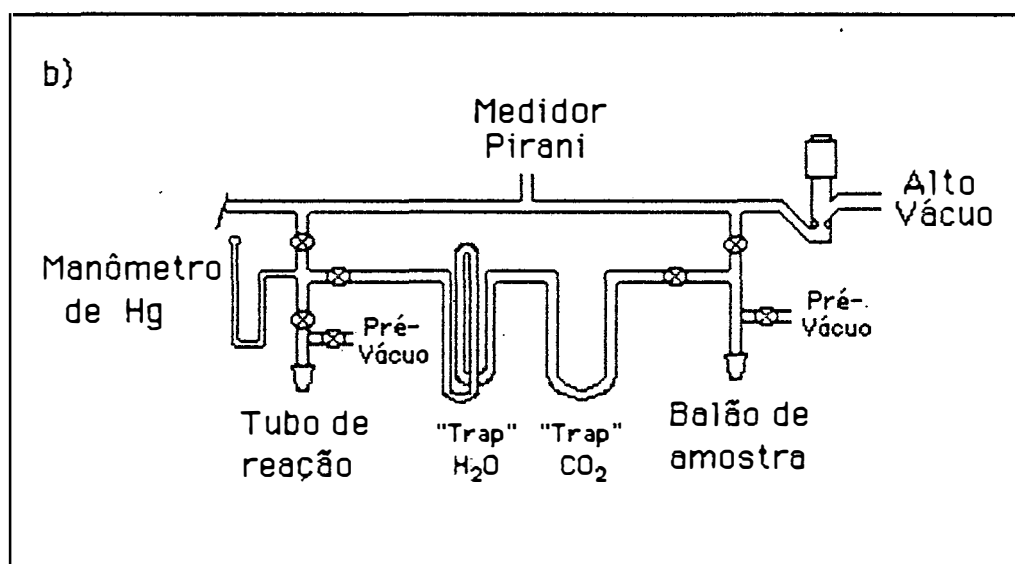
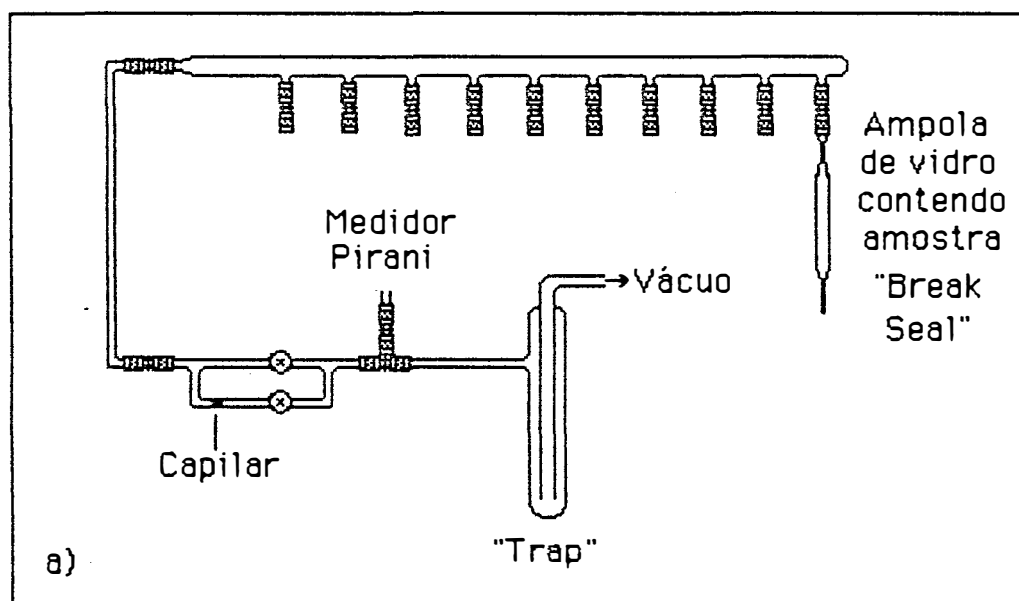


Figura 13: a) Linha de preparo de ampolas "break seal" sob vácuo para combustão dos materiais na mufla.

b) Linha de purificação do CO_2 para determinação de $\delta^{13}\text{C}$.

um CO_2 produzido pela reação do carbonato padrão de trabalho CENA STD com ácido fosfórico (H_3PO_4) 100 %. O resultado da máquina ($\delta^{18}\text{O}$), automaticamente corrigido para o padrão internacional PDB, foi ainda convertido para o padrão internacional de água V-SMOW, por estar o ^{18}O da matéria orgânica associado à água do ambiente. A equação utilizada para conversão entre estes padrões foi, segundo GONFIANTINI (1984):

$$\delta^{18}\text{O}_{\text{V-SMOW}} = 1,04143 \cdot \delta^{18}\text{O}_{\text{PDB}} + 41,43 \text{ ‰} \dots\dots\dots (11).$$

A razão isotópica de carbono foi comparada à do padrão CENA STD no CO_2 preparado pela reação com óxido de cobre, purificado em sistema próprio (Figura 13b), e corrigida diretamente pela máquina ao padrão internacional PDB.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Desempenho da metodologia empregada

4.1.1. Análise de carbono-14

A atividade de ^{14}C na planta deve ser corrigida para o fracionamento isotópico na assimilação do carbono, assumindo-se o dobro do fracionamento do ^{13}C entre o CO_2 atmosférico e a planta, porque a diferença de massa entre o ^{14}C e o ^{12}C é duas vezes a diferença entre o ^{13}C e o ^{12}C . A partir das atividades do CO_2 atmosférico (Figura 8), as árvores cortadas em 1983 conteriam as atividades integradas segundo as curvas teóricas O-X e X-2X da Figura 9, definidas, a partir do último ano de crescimento, por:

$$\text{Atividade O-X} = \left(\sum_{82-i}^{82} \text{Ativ.}_n \right) / i+1 \dots\dots\dots (12),$$

(81-i)

$$\text{Atividade X-2X} = \left(\sum_{(81-i)-i}^{81-i} \text{Ativ.}_n \right) / i+1 \dots\dots\dots (13)$$

e com

$i = 1, 2, 3, \dots\dots\dots, n$ anos compreendidos em cada segmento.

Os períodos de crescimento (anos/cm), ou seja, o tempo necessário para o crescimento dos centímetros amostrados na madeira, extrapolados da Figura 9, permitem calcular, conhecidos os raios dos "discos", a idade das árvores que para algumas serão mínimas, se o padrão de variação da largura dos anéis de algumas delas é crescente do centro para o câmbio. Se padrões de crescimento decrescentes neste sentido fossem encontrados, as idades determinadas pelo ^{14}C seriam máximas. Desta forma, uma primeira estimativa da idade de árvores da floresta, permitirá a localização aproximada em uma escala de tempo, de quaisquer eventos de variação isotópica de ^{13}C e ^{18}O observados na celulose das árvores.

Entre as fontes de erro deste método, destaca-se a falta de uma curva característica de "fallout" de ^{14}C para a região, que assume-se ser igual à do hemisfério sul, mas que deveria representar a região. Outras fontes são a precisão analítica das medidas de ^{14}C , da ordem de $\pm 10 \text{ ‰}$, sendo que neste trabalho considerou-se um limite máximo ("L", na Figura 9), de 50 ‰ , e, a extrapolação dos períodos de crescimento ("M"), que pode gerar um erro de ± 2 a ± 5 anos, se estes períodos forem menores que dez anos/centímetro e maiores que vinte anos/centímetro, respectivamente.

4.1.2. Análises isotópicas em celulose

4.1.2.1. Análise de ^{13}C

As análises de ^{13}C foram realizadas na seção de Isótopos Estáveis e Hidrologia do CENA, usando técnica convencional de amplo

conhecimento, que não será discutida neste trabalho. Cabe lembrar que ela é simples, rápida e totalmente satisfatória para o propósito deste trabalho, uma vez que o erro máximo é da ordem de $\pm 0,3$ ‰.

4.1.2.2. Desempenho da linha de purificação de CO₂

Na Figura 12 pode ser visto o esquema adotado para minimizar a exposição e manipulação da quinolina, quando um volume da base orgânica introduzido no início do dia, reage durante todo o período, purificando cerca de 20 amostras de gás. Com isso, a purificação além de mais segura, ficou mais rápida, característica principal do método escolhido. Um sistema de pequeno volume (A), especialmente construído para liberar os produtos da combustão da amostra, permitiu a admissão rápida dos gases e a redução da pressão por bomba mecânica sobre um novo tubo de combustão durante a purificação da amostra anterior. Um dosador de gás foi calibrado para determinar o rendimento de recuperação de CO₂ a partir de uma massa conhecida de celulose, considerando o monômero C₆H₁₀O₅ + 1/2 H₂O, de peso molecular PM=171g.

O rendimento da reação de combustão foi inversamente proporcional à massa da amostra, chegando a 81 ‰ para amostras de 5,0 mg e 71 ‰ para 15,0 mg. Para amostras menores que 10 mg, um fracionamento isotópico entre os óxidos de carbono foi observado. Segundo as previsões teóricas o CO₂ da oxidação do CO seria, em média, 2 ‰ mais rico em ¹⁸O que o CO₂ produzido na combustão (FERHI et alii, 1983; SANTROCK e HAYES, 1985 e SCHIMMELMANN e DeNIRO, 1985). Coeficientes de

correlação de 0,96 e 0,86 foram obtidos na regressão linear entre os $\delta^{18}\text{O}$ e a porcentagem de rendimento (% R) para 5,0 mg dos padrões CP-II e CP-III, cujas equações são, respectivamente:

$$\delta^{18}\text{O}_{\text{CP-II}} = 0,051 (\% \text{ R}) + 20,02 \text{ ‰} \dots\dots\dots (14) \text{ e}$$

$$\delta^{18}\text{O}_{\text{CP-III}} = 0,022 (\% \text{ R}) + 21,27 \text{ ‰} \dots\dots\dots (15).$$

Uma unidade de conversão de monóxido a dióxido de carbono foi então testada, aplicando-se alta tensão entre dois eletrodos de platina (fios), numa tentativa de aumentar o rendimento de recuperação do oxigênio orgânico na forma de CO_2 . Alíquotas foram introduzidas na unidade pela torneira T_5 e descarregadas até desaparecer a luz azul característica; em geral mais de duas horas foram necessárias para oxidar todo o CO de uma amostra. Por causa de uma parcial perda de CO no "trap" B e no tubo de expansão do sistema A, o CO passou a ser adsorvido em sílica-gel à temperatura do nitrogênio líquido, no "trap" C, para separá-lo dos outros gases e retê-lo entre as torneiras T_4 , T_5 e T_6 da linha de purificação, antes de iniciar a oxidação. Tanto a adsorção quanto a desorção foram lentas, sugerindo uma perda de CO. A oxidação aparentemente introduziu novos erros, como a possibilidade de formação de óxidos de nitrogênio (N_2O e NO_2), quando foi observada uma mudança de cor azul para rosa no final da oxidação e, por um desvio padrão de $\pm 0,4 \text{ ‰}$ na oxidação de um CO puro.

Na oxidação do monóxido, em cinco repetições de 5 mg do padrão CP-II, a porcentagem de rendimento variou entre 48 e 89 % e os

respectivos $\delta^{18}\text{O}$, entre 18,9 e 21,6 ‰ V-SMOW ($r=-0,49$), entretanto o valor esperado pela eq. (14) seria de 25,1 ‰. Da mesma forma, o valor esperado para o padrão CP-III de 23,5 ‰ V-SMOW pela eq. (15) (e medido¹) só foi alcançado uma vez, com 95 ‰ de rendimento em 17 repetições, usando a unidade de conversão. Rendimentos maiores foram obtidos mas, como citado em literatura (EPSTEIN et alii, 1977 e ARAVENA, 1982), os valores $\delta^{18}\text{O}$ foram inferiores em até 2,5 ‰, quando comparados ao CO_2 da combustão.

A massa de amostra tomada para análise influenciou positivamente o $\delta^{18}\text{O}$, sem a recuperação do CO na combustão do padrão CP-II, conforme a regressão linear da eq. (16), cujo coeficiente de correlação foi de 0,96. Desta forma, valores constantes podem ser obtidos para massas rigorosamente iguais.

$$\delta^{18}\text{O}_{\text{CP-II}} = 0,18 \text{ massa (mg)} + 23,66 \text{ ‰} \dots\dots\dots (16).$$

A despeito desses problemas, um aumento na recuperação de oxigênio orgânico superior a 20 ‰ foi obtido para esse padrão com a recuperação do CO. Embora possa existir um fracionamento pela perda do CO, sua recuperação diminuiu em vez de aumentar o $\delta^{18}\text{O}$ do CO_2 final. Portanto, optou-se por descartar o monóxido, analisando somente o CO_2 da combustão purificado, com uma maior uniformidade da massa das amostras, para visualização de possíveis variações isotópicas.

¹ ARAVENA, R. Univ. de Waterloo, Canadá. Comunicação pessoal, 1986.

Em análises de rotina, o tubo de vidro Pirex foi substituído por vidro neutro, cuja troca isotópica entre o CO_2 e o oxigênio da parede foi igual à do vidro Pirex, quando o CO_2 padrão CENA STD foi aquecido em ambos a 400°C por cinco horas. Já a 550°C , esse fracionamento isotópico foi 70 % maior com o vidro neutro, sugerindo que a combustão se processasse à temperaturas mais baixas ($360\text{--}450^\circ\text{C}$).

A reprodutibilidade após estas modificações foi analisada inicialmente com papel de filtro WHATMAN nº 42 (CP-II), cuja análise mostrou um $\delta^{18}\text{O}$ de $+ 25,7 \pm 0,2 \text{ ‰ V-SMOW}$ (Tabela 3). Durante a análise das amostras das árvores, dezoito outras determinações foram feitas e obteve-se um $\delta^{18}\text{O}$ de $+ 25,8 \pm 0,2 \text{ ‰ V-SMOW}$. Além deste, uma celulose comercial (CP-III), distribuída na Conferência de Mohonk sobre Isótopos Estáveis em Anéis de Árvores (1979), e a celulose de uma espécie Amazônica preparada para padronização (CP-I), foram repetidamente analisadas durante este trabalho, chegando a uma precisão de $\pm 0,08 \text{ ‰}$ (CP-III) e $\pm 0,4 \text{ ‰ V-SMOW}$ (CP-I). GRAY et alii (1984) relataram para a celulose comercial um $\delta^{18}\text{O}$ de $+ 25,2 \pm 0,2 \text{ ‰ V-SMOW}$, pelo método da pirólise em vaso de níquel, o qual concorda com o valor obtido de $+ 25,1 \text{ ‰ V-SMOW}$, pelo presente método.

O método mostrou-se ainda pouco eficiente para análise de variações naturais da razão isotópica de ^{18}O em matéria orgânica, onde se espera observar diferenças da ordem de $\pm 0,2 \text{ ‰}$. Entretanto, a maior parte das repetições das amostras mostrou um desvio padrão menor que $\pm 0,3 \text{ ‰}$, suficiente para uma análise preliminar.

Tabela 3: Resultados dos testes de reprodutibilidade de padrões de trabalho, analisados para $\delta^{18}\text{O}$ em matéria orgânica, por uma adaptação do método de RITTENBERG e PONTICORVO (1956).

Material	Papel de filtro Whatman nº42 (CP-II)	Celulose com. Mohonk (CP-III) $\delta^{18}\text{O}$ ‰/‰ V-SMOW	Celulose da <i>Vatairea</i> sp (CP-I)
	25,57	25,08	24,27
	25,93	25,20	23,82
	25,77	25,07	23,83
	25,55	25,13	24,18
	25,86	25,26	23,93
	25,48		24,04
	25,69		24,66
	25,58		23,49
	25,91		23,40
	25,90		23,74
	25,76		23,48
	25,70		23,88
	25,98		24,52
	25,77		24,05
	25,71		24,42
	25,99		24,15
	25,77		
	25,90		
	25,70		
	26,00		
	26,07		
	26,01		
	25,86		
	25,89		
	25,32		
	26,10		
δ médios	25,79	25,15	24,00
$\pm 1\sigma$	0,21	0,08	0,40

4.2. Registros isotópicos nas árvores da região Amazônica

4.2.1. Idades pelo carbono-14

A Tabela 4 mostra os resultados isotópicos de carbono obtidos das árvores da Amazônia. Ela contém além dos teores radiativos, valores de $\delta^{13}\text{C}$ do CO_2 produzido pela oxidação da matéria orgânica para síntese do benzeno, cuja atividade foi determinada no espectrômetro de cintilação líquida. Embora produzido por outra via que não a oxidação por óxido de cobre (II), o que pode causar uma diferença sistemática entre os resultados dos dois métodos, uma sutil diluição de ^{13}C foi observada na madeira pré-tratada do segmento mais recente coletado (O-X) da maioria das árvores, quando comparado ao mais antigo (X-2X). Este declínio reflete o aumento da absorção de CO_2 atmosférico mais pobre isotopicamente em ^{13}C , durante a fotossíntese, como será discutido na seção 4.2.2.

Tabela 4: Valores de $\delta^{13}\text{C}$ e atividades de ^{14}C nos dois segmentos de igual distância radial amostrados em sete árvores da bacia Amazônica.

Árvore (segundo Tabela 2)	$\delta^{13}\text{C}$ (‰ PDB)		$\Delta^{14}\text{C} \pm 1\sigma$ (‰)	
	O-X	X-2X	O-X	X-2X
1. <i>Lecythis usitata</i> Miers	-27,5	-26,5	216,0 \pm 9,9	4,6 \pm 8,3
3. <i>Hymenaea</i> sp	-26,7	-26,1	107,9 \pm 8,5	-25,5 \pm 6,9
5. <i>Dinisia excelsa</i> Ducke	-27,4	-27,2	438,2 \pm 11,9	285,6 \pm 10,8
6. <i>Vatairea</i> sp	-26,1	-26,4	144,2 \pm 7,4	2,8 \pm 4,2
7. <i>Hymenaea</i> sp	-27,4	-27,2	277,0 \pm 11,4	449,3 \pm 12,6
10. <i>Hymenaea</i> sp	-28,6	-27,9	378,4 \pm 11,6	408,4 \pm 11,8
13. <i>Calophyllum brasiliense</i> Camp	-27,0	-26,4	217,3 \pm 11,4	417,4 \pm 12,4

Utilizando-se as atividades de ^{14}C encontradas nos segmentos amostrados, as primeiras estimativas de idades de árvores naturais da floresta Amazônica foram alcançadas, sendo citadas como "idades mínimas" para englobar aquelas com padrão de crescimento crescente do centro para o câmbio, por extrapolação dos períodos de crescimento daqueles segmentos, conforme a Tabela 5.

Tabela 5: Períodos de crescimento e idades mínimas extrapoladas da Figura 9, para sete árvores da bacia Amazônica.

Árvore (segundo Tabela 2)	Raio tronco (cm)	Período de crescimento (anos/cm)	Idade (anos)
1. <i>Lecythis usitata</i> Miers	32	30-40/3	370
3. <i>Hymenaea</i> sp	32	>40/3	480
5. <i>Dinizia excelsa</i> Ducke	20	20/3	133
6. <i>Vatairea</i> sp	30	>40/3	>400
7. <i>Hymenaea</i> sp	30	8-9/4	64
10. <i>Hymenaea</i> sp	36	9/4	85
13. <i>Calophyllum brasiliense</i> Camp	36	7/3	84*

* idade mínima

4.2.2. Inferências paleoclimáticas

4.2.2.1. Registros isotópicos nas árvores mais jovens que 200 anos

5. *Dinizia excelsa* Ducke (133 anos, Figura 14). Cada segmento analisado na Angelim Pedra corresponde, pela idade estimada, a treze anos de registros integrados. O efeito juvenil no registro isotópico de

carbono foi portanto, representado por um único ponto na Figura 14 com valor bastante negativo ($\delta^{13}\text{C} = -28,4\text{‰ PDB}$), depois do qual, somente se observou uma variação sistemática até 1982. Aparentemente, esta árvore se desenvolveu sob a cobertura da floresta, pela tendência crescente de seus valores $\delta^{13}\text{C}$, tanto que não atingiu um valor limite. A absorção de CO_2 reciclado da respiração de outras árvores e do proveniente do solo justifica este tipo de tendência na árvore, enquanto ela se encontra sob a copa de outras (KEELING, 1958).

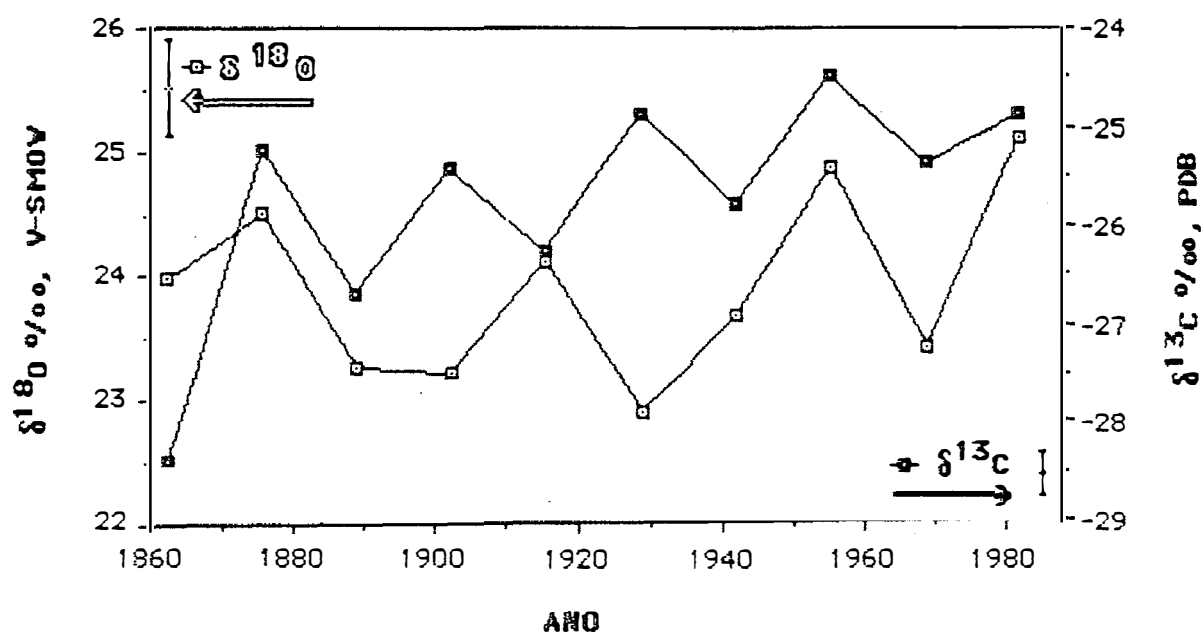


Figura 14: Variações temporais de $\delta^{13}\text{C}$ (à direita) e $\delta^{18}\text{O}$ (à esquerda) na celulose da árvore Angelim Pedra de Manaus (*Dinizia excelsa* Ducke, nº 5).

LERMAN e LONG (1980) encontraram uma diluição acima de 8 ‰ no $\delta^{13}\text{C}$ do CO_2 no interior de uma floresta considerada "aberta", em função da pressão parcial durante um dia. Esta árvore estaria portanto, sob o efeito tampão da floresta, não permitindo com isso qualquer avaliação dos fatores que determinam a razão $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ de sua celulose.

A curva de $\delta^{18}\text{O}$ na celulose desta árvore mostra diferenças sistemáticas ao longo do tempo, mas também não define qualquer tendência, com desvios de 0,7 ‰ em torno de 23,9 ‰ V-SMOW, estando seu limite inferior em 1929 ($\delta^{18}\text{O} = 22,9$ ‰ V-SMOW). Este mínimo, embora não significativo, poderia representar uma época mais úmida.

10. *Hymenaea sp* (85 anos, Figura 15). O Jatobá de Porto Velho apresentou uma seção decrescente em $\delta^{13}\text{C}$ nos primeiros 20 anos (-0,5 ‰) e uma segunda seção semelhante à da Angelim Pedra de Manaus, com uma ligeira tendência crescente. Sua principal diluição de $\delta^{13}\text{C}$ aparece entre os anos de 1970 e 1980, quando se observa um decréscimo de 1,2 ‰ PDB. Esse decréscimo é excessivo, pois considera dois pontos extremos de uma variação sistemática, que iniciou em 1920 e se amplificou até 1982.

Um decréscimo também ocorre na curva de $\delta^{18}\text{O}$ de 1930 a 1980, da ordem de 1,3 ‰, considerando os valores de 1930. Essa variação segundo BURK e STUIVER (1981), que encontraram uma correlação entre o $\delta^{18}\text{O}$ da celulose de árvores ao longo da costa oeste da América do Norte e a umidade relativa do ar, e RAMESH et alii (1986), representaria uma mudança na média de umidade relativa de aproximadamente 4,3 ‰. Embora não pareça significativa, essa diminuição do $\delta^{18}\text{O}$ mostra que,

possivelmente, a região experimentou recentemente um período mais úmido que o início do século. Cada ponto da Figura 15 representa nesta árvore seis anos em média, de modo que a curva de $\delta^{18}\text{O}$ torna-se sensível para observar flutuações dos parâmetros climáticos, como a umidade relativa.

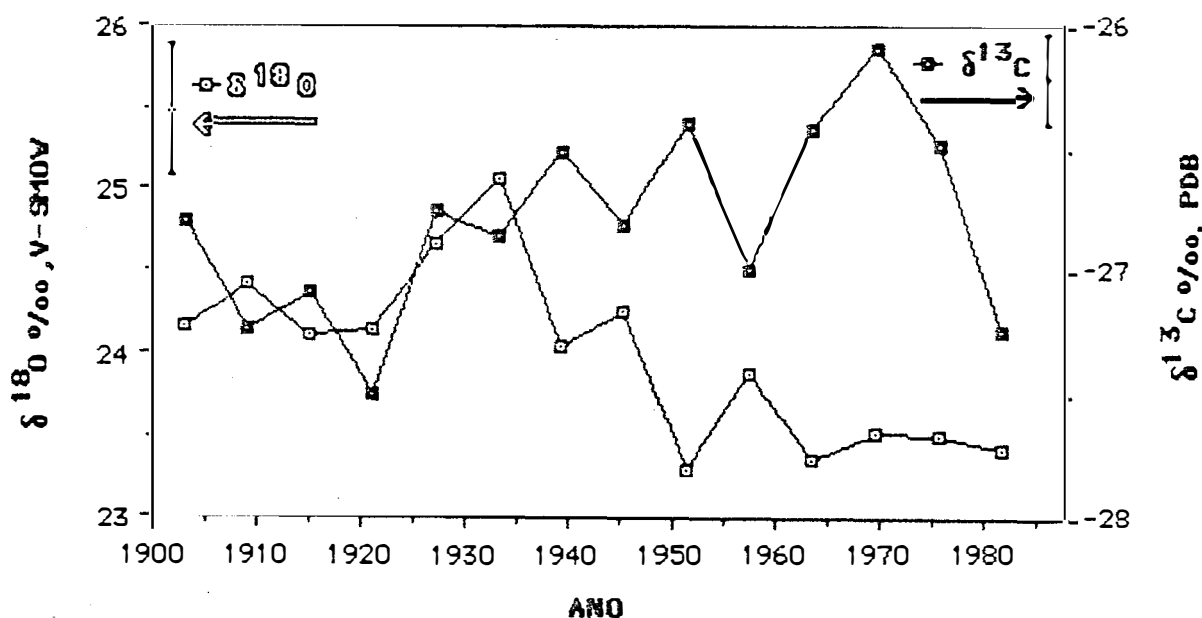


Figura 15: Variações temporais de $\delta^{13}\text{C}$ (à direita) e $\delta^{18}\text{O}$ (à esquerda) na celulose da árvore Jatobá de Porto Velho (*Hymenaea* sp, nº 10).

13. *Calophyllum brasiliense* Camp (84 anos, Figura 16). A Jacareuba da várzea do Alto Furús apresentou variações sistemáticas no $\delta^{13}\text{C}$ desde sua germinação, cujo valor inicial seria de $-29,5$ ‰, passando por um máximo de $-23,0$ e tenderia a um valor atual de $-25,5$ ‰ PDB. As maiores variações foram observadas nesta árvore, provavelmente pela sua origem ser a várzea, que inclusive permitiu visualização de anéis anuais pela mudança da taxa de crescimento, em função do ciclo de inundação. A

mudança das condições fisiológicas entre a atividade e um estágio de dormência pode ser responsável pela grande dispersão dos dados, pois além da mudança na razão celulose/lignina que evidencia o anel anual, mudanças na taxa de absorção do CO_2 pela planta alterariam o $\delta^{13}\text{C}$ da celulose, a ponto de observar diferenças superiores a 4‰ entre pontos adjacentes (TANS e MOOK, 1980). Apesar de sua pouca idade, um ponto da Figura 16

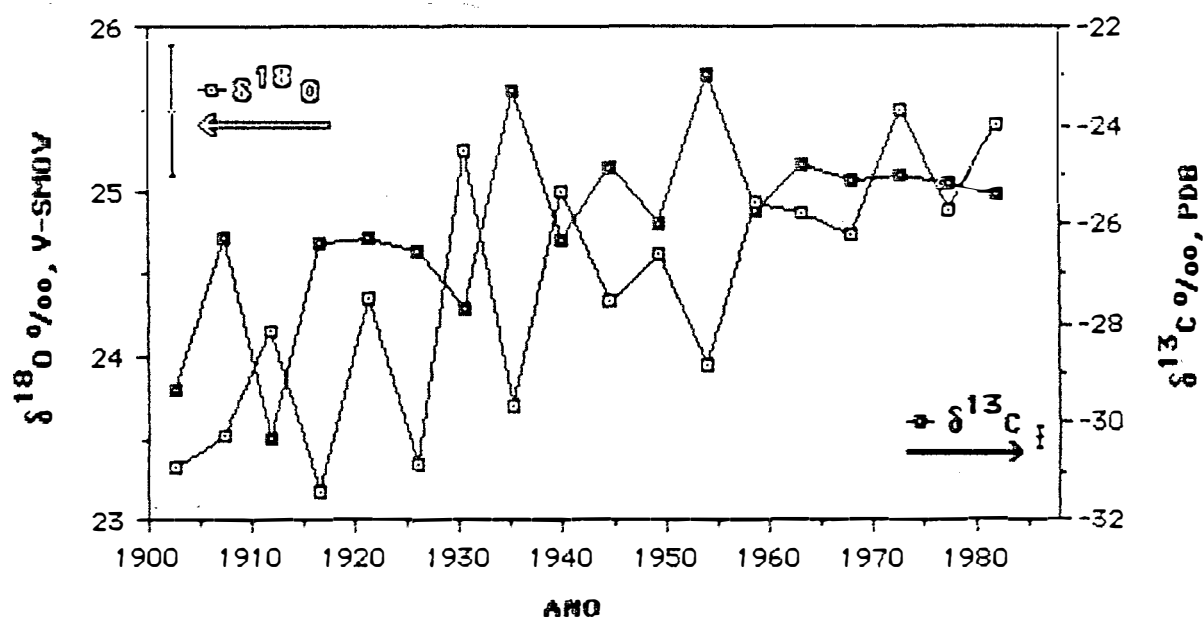


Figura 16: Variações temporais de $\delta^{13}\text{C}$ (à direita) e $\delta^{18}\text{O}$ (à esquerda) na celulose da árvore Jacareuba do Alto Purús (*Calophyllum brasiliense* Camp, nº 13).

representa em média 4,7 anos. Uma tendência de diluição do ^{13}C na celulose pode ser observada no período de 1955 até 1982, da ordem de 1,5‰. Essa tem sido a tendência de diluição encontrada na maioria das árvores do hemisfério norte e semelhante a algumas do hemisfério sul. A

injeção de CO_2 biogênico proveniente de queima de combustível fóssil e modificação no uso do solo na atmosfera, têm sido as causas comumente atribuídas para tal diluição a nível global do ^{13}C no CO_2 atmosférico (WILSON, 1978a; FREYER, 1979a,b; BOLIN, 1985).

As variações observadas no $\delta^{18}\text{O}$ da celulose desta árvore refletiram também as variações na taxa de crescimento, excetuando-se o período de 1940 a 1955, quando houve uma tendência a valores menores, indicando uma época recente de umidade relativa do ar mais alta. Além deste detalhe, uma leve tendência a valores mais altos nas últimas décadas, pode ser observada. O valor para o início do século situava-se em torno de $23,5\text{‰}$ V-SMOW e subiu para $25,3\text{‰}$ na última década.

7. *Hymenaea sp* (64 anos, Figura 17). O Jatobá de Boa Vista é a árvore mais jovem analisada e cada ponto na Figura 17 representa 4,2 anos em média, permitindo comparar seus registros isotópicos com os obtidos de árvores analisadas no hemisfério norte, onde em geral blocos de cinco anéis anuais são analisados. Sua curva de $\delta^{13}\text{C}$ é bem caracterizada por decréscimos entre 1926 e 1940, entre 1960 e 1975 e, uma fase crescente entre 1940 e 1960. A ausência de um efeito juvenil nesta árvore denuncia sua posição privilegiada dentro da floresta, assimilando CO_2 livre desde sua germinação. O decréscimo total entre 1920 e 1960 foi de $0,7\text{‰}$ PDB, indicando que esta árvore também refletiria a tendência global de diluição do ^{13}C no CO_2 atmosférico, por CO_2 biogênico. Assim, em regiões ainda predominantemente selvagens da floresta Amazônica, as fontes antrópicas de ^{13}C poderiam ser detectadas em árvores cuidadosamente

selecionadas.

Sua curva de $\delta^{18}\text{O}$ mostra variações não sistemáticas, com decréscimos no teor isotópico da ordem de 1 ‰ V-SMOW nos períodos de 1926 a 1931 e 1961 a 1965. Condições ambientais mais secas antecederiam estas épocas e supostamente, o período de 1965 a 1980 foi de umidade relativa maior e constante, passando após por uma fase mais seca, a julgar pelo último ponto analisado (1982). Os dados reunidos pela IAEA (1969-1983), de 1966 a 1979, mostram que na média, houve uma diferença de 1,5 ‰ na umidade relativa nesse período em Manaus (Figura 7), que talvez também tenha ocorrido em Boa Vista.

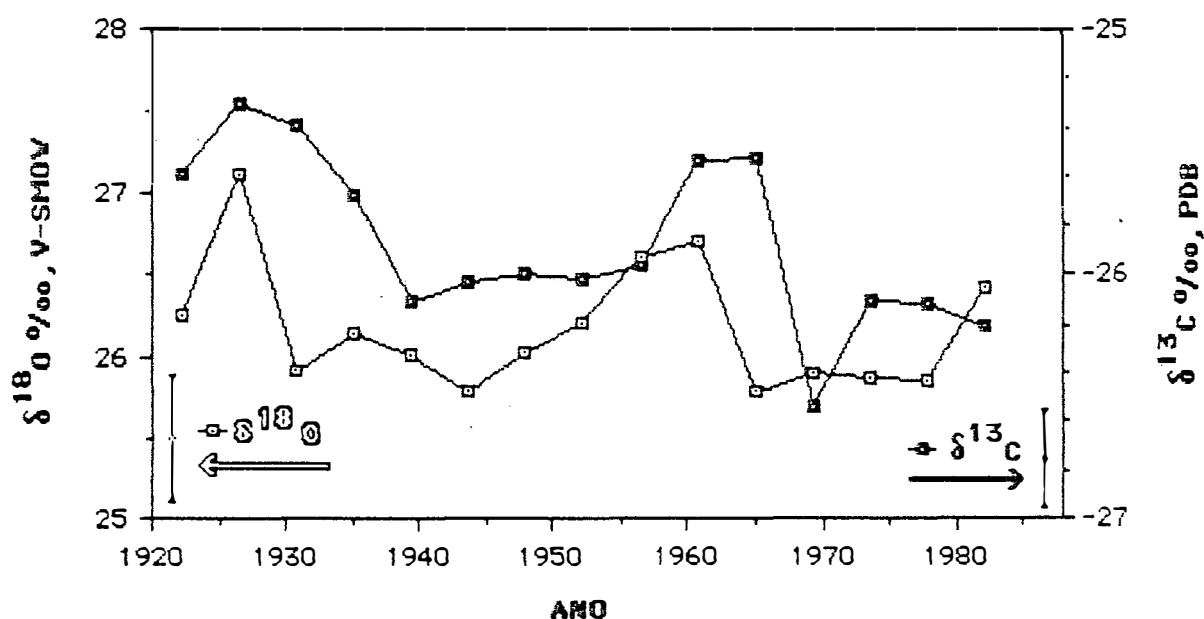


Figura 17: Variações temporais de $\delta^{13}\text{C}$ (à direita) e $\delta^{18}\text{O}$ (à esquerda) na celulose da árvore Jatobá de Boa Vista (*Hymenaea* sp, nº 7).

4.2.2.2. Registros isotópicos em árvores mais idosas que 200 anos

1. *Lecythis usitata* Miers (370 anos, Figura 18). A idade estimada da Castanha Sapucaia foi de 370 anos o que corresponde a 23 anos de registros isotópicos integrados em cada ponto da Figura 18. Embora não seja a árvore mais antiga analisada, parece ser a mais coerente, por esboçar um claro efeito de juventude nos primeiros cem anos da curva de $\delta^{13}\text{C}$, por assimilar CO_2 atmosférico durante 100-150 anos anteriores à expansão da agricultura e indústria mundiais (1860), com valores

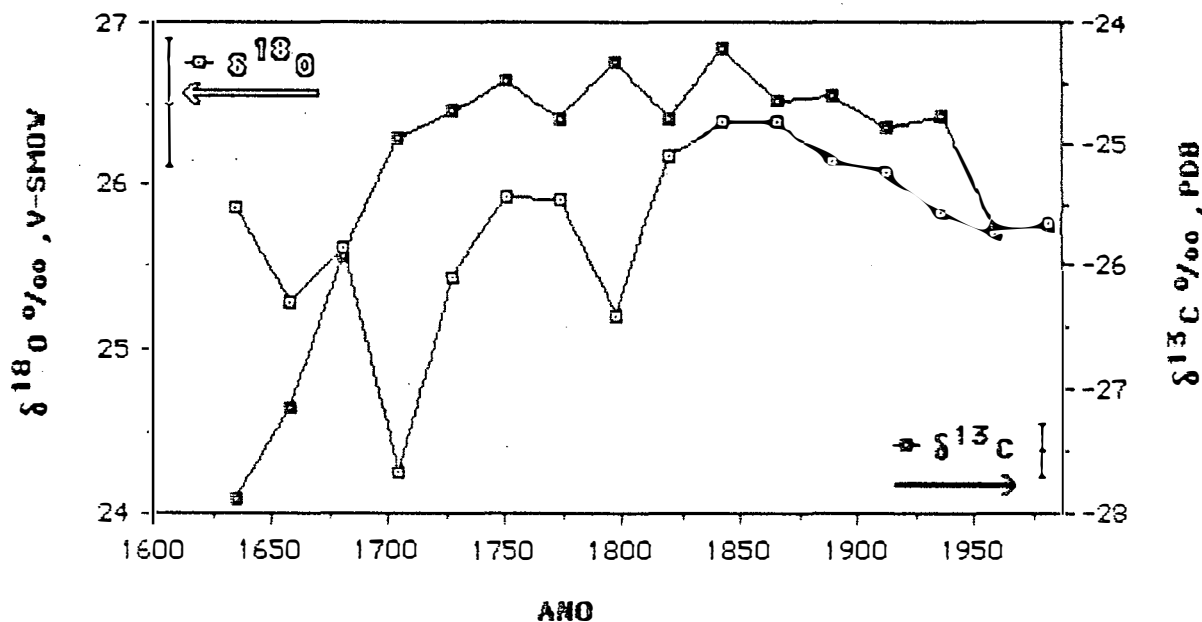


Figura 18: Variações temporais de $\delta^{13}\text{C}$ (à direita) e $\delta^{18}\text{O}$ (à esquerda) na celulose da árvore Castanha Sapucaia de Manaus (*Lecythis usitata* Miers, nº 1).

praticamente constantes e depois, por mostrar uma terceira fase com valores decrescentes até 1982, refletindo a diluição do ^{13}C do CO_2 atmosférico por fontes biogênicas. Através da análise de regressão linear entre 1727 e 1843, o valor médio de $\delta^{13}\text{C}$ para 1850 seria de $-24,4\text{‰}$, enquanto que o $\delta^{13}\text{C}$ estimado para 1982 seria $1,2\text{‰}$ menor. Esse decréscimo equivale ao observado por FREYER (1979a) e outros em amostras no hemisfério norte. Esta observação mostra que mesmo no interior da região Amazônica, é possível detectar-se diluições do ^{13}C atmosférico e utilizar os registros isotópicos para a inferência de efeitos de desmatamento e aumento do consumo de combustíveis fósseis de regiões selvagens em industrialização.

Na curva de $\delta^{18}\text{O}$, três épocas se distinguem por possuírem teores isotópicos mais baixos, podendo indicar períodos de maior umidade relativa em torno de 1700, 1800 e atualmente. Em 1700, o decréscimo foi de 1‰ no $\delta^{18}\text{O}$, enquanto que em 1800 foi de aproximadamente $0,7\text{‰}$. Se somente a mudança na umidade relativa do ar for a responsável por essa variação, estes períodos seriam $2,4$ e $3,4\%$ mais úmidos que, por exemplo, 1750 e 1850, respectivamente. Pelos dados climatológicos médios de Manaus (Figura 7), as primeiras décadas deste século também foram mais secas e quentes que as últimas, sugerindo um novo período mais úmido com menores valores de $\delta^{18}\text{O}$ na celulose atual das árvores. Assim, justifica-se um novo decréscimo na curva de $\delta^{18}\text{O}$ nos recentes anos como pode ser visto na Figura 18.

6. *Vatairea* sp (> 400 anos, Figura 19). Esta árvore pode

atingir a idade de 540 anos segundo os teores de ^{14}C , cobrindo este último meio milênio. Infelizmente, seus registros isotópicos não são tão claros quanto aos das outras árvores e parecem trazer pouca informação paleoclimática, especialmente sobre os $\delta^{13}\text{C}$. A curva mostra um efeito de juventude da Faveira Amarela identificado por apenas um ponto com um $\delta^{13}\text{C}$ bastante negativo, $5,3\text{‰}$ menor que o valor médio para 70 anos após a germinação, que poderia ser explicado também como um reflexo de uma época mais fria, conhecida na Europa como "Little Ice Age", entre 1400 e 1600 (FRITZ² e DICKINSON et alii, 1985).

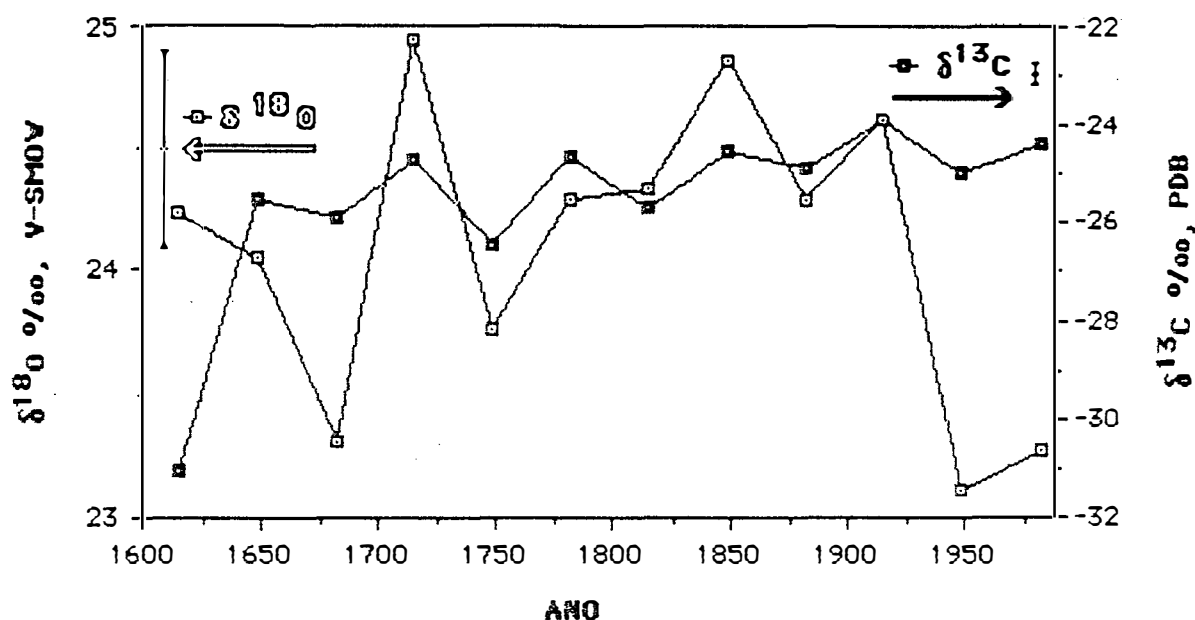


Figura 19: Variações temporais de $\delta^{13}\text{C}$ (à direita) e $\delta^{18}\text{O}$ (à esquerda) na celulose da árvore Faveira Amarela de Manaus (*Vatairea sp.* nº6).

² FRITZ, P. Relatório de visita ao Brasil. (Univ. of Waterloo, Canada) 1983.

Uma subsequente tendência sistematicamente crescente indica que esta árvore não esteve exposta à atmosfera livre. Nenhuma outra inferência pode ser feita com base nos dados de $\delta^{13}\text{C}$ desta árvore.

Os teores de ^{18}O ao contrário, demonstraram um bom grau de similaridade com os de outras árvores, identificando mínimos de $\delta^{18}\text{O}$ em torno de 1700, 1750 e 1950. A taxa de crescimento nesta árvore foi mais variável ao longo de um anel, provavelmente introduzindo erros de datação dos pontos da figura. A falta de uma concentricidade dos anéis de crescimento, dificulta a avaliação temporal das flutuações dos teores isotópicos na madeira. A variação total no $\delta^{18}\text{O}$ foi também menor que nas outras árvores da mesma região e de idade semelhante, confirmando um fator atenuador das variações isotópicas nas fontes isotópicas de carbono e oxigênio, como a sobreposição por outras árvores.

3. *Hymenaea sp* (> 480 anos, Figura 20). Tratando-se da árvore mais antiga analisada, cada ponto na Figura 20 é representativo de, no mínimo, 30 anos de registros isotópicos. As curvas foram construídas com a idade mínima encontrada (480 anos), proposta no trabalho de MOZETO et alii (1988), para comparação com os resultados de outras árvores, mas a melhor estimativa da idade desta árvore estaria em torno de 730 anos, uma vez que a atividade de seu segmento O-X poderia determinar um período de crescimento de 70 anos/cm, e, não existe nenhum indício visual de que a taxa de crescimento tenha mudado significativamente desde sua germinação.

Os teores de $\delta^{13}\text{C}$ foram semelhantes ao da Castanha

Sapucaia, indicando novamente uma diluição do ^{13}C do CO_2 absorvido da ordem de $1,2 \text{ ‰}$, posterior a um período de teores constantes que seria representativo do CO_2 da atmosfera livre. Nesta árvore também aqui existiu uma fase juvenil com $\delta^{13}\text{C}$ ascendentes nos primeiros 150 anos da árvore. A aparente constância dos teores de ^{13}C na fase juvenil poderiam também indicar um período mais frio, com $\delta^{13}\text{C}$ substancialmente menores que em 1700. Este comportamento mostra-se comparável ao obtido por STUIVER e BRAZILUNAS (1987, figura 3), os quais construíram uma curva de $\delta^{13}\text{C}$ médio a partir de 19 árvores para os últimos dois milênios.

A curva da Figura 20 mostra um ponto mínimo de $\delta^{18}\text{O}$ nas últimas décadas e sugere um período úmido precedente a este (± 1850), não bem localizado na escala temporal, pois variou mais ou menos cem anos entre as três árvores mais antigas; já o terceiro e mais antigo mínimo, foi coincidente em 1700. A profundidade dos vales de 1700 nas curvas de $\delta^{18}\text{O}$ para as três árvores mais antigas, permitiu estimar que, o Jatobá de Minas teria sofrido mais influência desta maior umidade que a Castanha Sapucaia, que por sua vez, teria sido mais influenciada que a Faveira Amarela. A intensidade desses mínimos coincidentes em 1700 (2,82; 1,36 e 0,74 ‰, respectivamente para as três árvores) refletiria um grau empírico de exposição das árvores à atmosfera livre, mostrando que aquelas mais protegidas sob a cobertura da floresta estariam sujeitas a menor influência das variações ambientais. Isto pode ser confirmado pela ascendente tendência de $\delta^{13}\text{C}$ na *Vatairea sp* (Faveira Amarela), que não mostrou qualquer efeito de diluição de ^{13}C do CO_2 atmosférico nos recentes

anos. A variação estimada da umidade relativa para o período de 1700, usando a diferença no valor $\delta^{18}\text{O}$ encontrada no Jatobá, corresponderia, pelo modelo de BURK e STUIVER (1981), a 9,4 % em média para 30 anos, tomando-se como base o valor dos 30 anos precedentes.

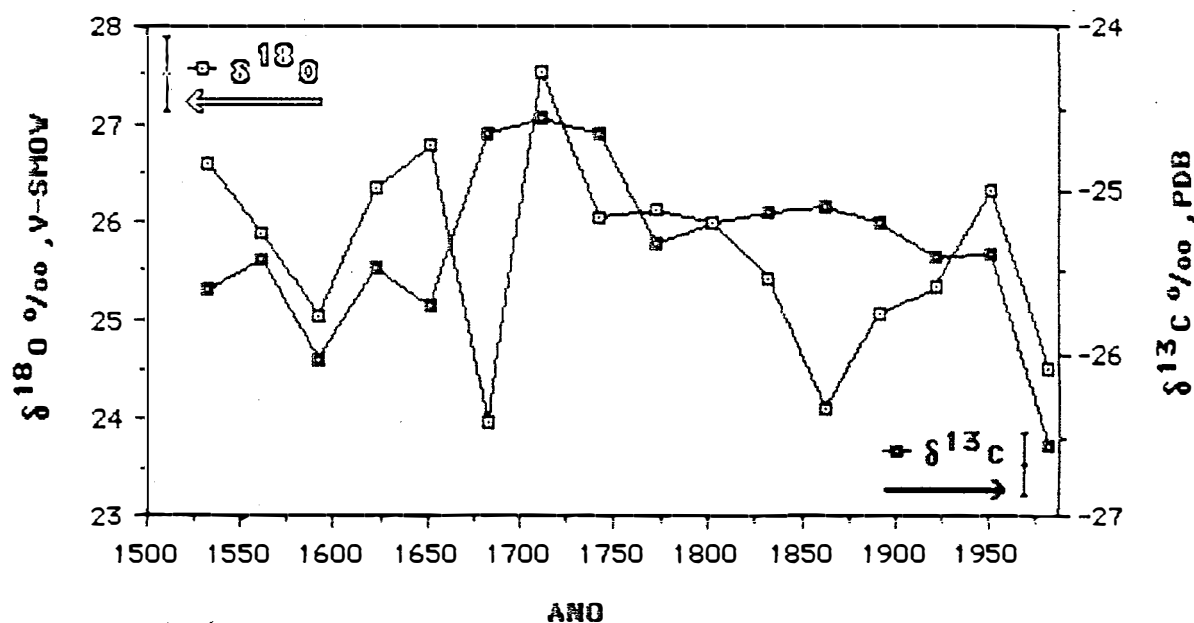


Figura 20: Variações temporais de $\delta^{13}\text{C}$ (à direita) e $\delta^{18}\text{O}$ (à esquerda) na celulose da árvore Jatobá de Manaus (*Hymenaea* sp, nº 3).

4.2.3. Considerações finais

Algumas árvores da Amazônia, nesta primeira experiência de medida da variação natural das razões isotópicas de carbono e oxigênio, mostraram-se pouco sensíveis às variações ambientais, pois muitas das subamostras analisadas integram mais de 10 anos de celulose, homogeneizando possíveis mudanças isotópicas na matéria orgânica.

Salienta-se entretanto, que um único raio de cada árvore foi analisado, dividido quando possível em 15-16 amostras.

Uma correlação quantitativa com variações dos fatores ambientais que determinam o teor isotópico na celulose, não pode ser observada pela inexistência de registros climáticos e isotópicos tão antigos quanto aos das árvores. A variação dos principais parâmetros climáticos de Manaus (Figura 7), entretanto, demonstra que as condições ambientais não têm mudado significativamente desde o início do século na região. Desse modo, uma relação ao menos qualitativa foi atingida.

Para uma melhor avaliação dos registros isotópicos na celulose de árvores da região Amazônica, seria necessário um programa de estudos mais sistemático, com coletas de árvores de regiões distintas dentro da floresta (onde fosse possível ao menos, estimar as condições ambientais da época de crescimento da árvore, antes de amostrá-las), onde seriam encontradas regiões com águas de teores isotópicos marcadamente distintos, como as regiões da Ilha de Marajó e sub-Andina, e, análises da água do solo e do vapor do ar, que permitiriam desenvolver modelos próprios para estimar os $\delta^{18}\text{O}$ da celulose pelos teores isotópicos das águas do ambiente.

As árvores das regiões limítrofes da floresta poderiam refletir o avanço do desmatamento e a industrialização das regiões próximas em desenvolvimento como o noroeste Brasileiro. Para uma estimativa mais precisa das idades das árvores através do método do ^{14}C , uma curva característica de "fallout" do CO_2 atmosférico para aquela região específica, deveria ser levantada com a determinação das atividades de ^{14}C na madeira de árvores com anéis de crescimento distintos e

dendrocronologicamente datáveis para o que, as árvores de várzea parecem ser as mais indicadas.

5. CONCLUSÕES

O método de RITTENBERG e PONTICORVO (1956) foi modificado para permitir a purificação mais segura e rápida do CO_2 da combustão da matéria orgânica (celulose de árvores da Amazônia) e atingir uma reprodutibilidade na análise isotópica de oxigênio melhor que $0,4 \text{ ‰}$, chegando a $0,2 \text{ ‰}$ V-SMOW. Embora ainda não satisfatória, esta reprodutibilidade permite avaliar a variação no conteúdo isotópico de ^{18}O como um provável indicador da flutuação da umidade relativa média da atmosfera, ao longo da vida da árvore.

O método, utilizando ^{14}C , desenvolvido neste estudo para estimar a idade de árvores naturais da floresta Amazônica, permitiu selecionar árvores de 60 a quase 600 anos, recuperando importantes registros isotópicos das fontes ambientais de carbono (CO_2 atmosférico) e oxigênio (água da folha) para as plantas naquela região.

Para árvores mais antigas que 200 anos, foi possível observar, através dos teores de ^{13}C , três fases distintas durante a vida da planta: a primeira, uma fase juvenil, onde os teores da celulose são geralmente crescentes à medida que aumenta a absorção de CO_2 da atmosfera livre; uma fase adulta, quando a árvore atinge a atmosfera livre e registra valores constantes (anteriores à expansão agro-industrial) do

meio do século XIX), seguindo-se uma terceira, quando sua celulose reflete a diluição do ^{13}C do CO_2 atmosférico por CO_2 biogênico, mais pobre em ^{13}C , liberado pelo manejo do solo para plantio e pela queima de combustíveis fósseis (pós-1860). Essa diluição, de aproximadamente 1,2 ‰ PDB, foi detectada visivelmente em quatro das sete árvores analisadas, sendo duas da região de Manaus, uma da região de Boa Vista e outra do extremo oeste da bacia (AC), da várzea do rio Purús, diluição esta que foi similar à medida nos países do hemisfério norte.

A variação dos teores de ^{18}O , embora pequena para a maioria das árvores analisadas, sugeriu a existência de períodos de umidade relativa maior, como o que ocorre atualmente, com valores de $\delta^{18}\text{O}$ da celulose menores que em períodos mais secos. Considerando a possibilidade de variação na taxa de crescimento das árvores induzir erros na distribuição temporal dos valores isotópicos, uma coincidência de períodos mais úmidos entre as árvores mais antigas foi observada. Segundo o atual modelo (BURK e STUIVER, 1981), estimou-se uma variação máxima de 9,4 ‰ na umidade relativa média entre épocas secas e úmidas, condizente com a pequena variação das condições climáticas observadas desde o início do século na região. Levando-se em consideração os pontos acima delineados, as principais conclusões atingidas neste estudo são:

1. O método de RITTENBERG e PONTICORVO (1956) pode ser modificado para permitir medidas de rotina do $\delta^{18}\text{O}$ na matéria orgânica com maior segurança, agilidade e uma precisão mínima de 0,4 ‰ V-SMOW;
2. Houve uma dependência do $\delta^{18}\text{O}$ da celulose com a massa

de amostra tomada para análise e também, do $\delta^{18}\text{O}$ com a porcentagem de rendimento da conversão direta da matéria orgânica para CO_2 , para uma mesma massa (5mg). A porcentagem de rendimento foi inversamente proporcional à massa da amostra;

3. O método desenvolvido para datar as espécies selecionadas permitiu estimar a idade mínima das árvores naturais da bacia Amazônica, das quais não se conheciam as idades, nem as taxas de crescimento. Este método determinou idade de árvores entre 60 e quase 600 anos;

4. A atual diluição de ^{13}C no CO_2 atmosférico foi observada pela seção descendente no registro de $\delta^{13}\text{C}$ na celulose das árvores mais antigas e mais expostas a essa atmosfera;

5. As árvores mais antigas mostraram um efeito juvenil, ou seja, apresentam uma tendência crescente de $\delta^{13}\text{C}$ desde sua germinação, anterior a 1600-1700, devido à absorção de CO_2 diluído em ^{13}C quando estão superpostas por outras árvores na floresta, ou que pode também estar refletindo épocas mais frias ("Little Ice Age"), ou ainda uma combinação dos dois efeitos, uma vez que observou-se um excessivo aumento de até 5 ‰ PDB, no $\delta^{13}\text{C}$ entre as fases juvenil e adulta; e,

6. Os menores teores de ^{18}O na celulose das árvores sugerem períodos de umidade relativa maior. Através da variação observada no $\delta^{18}\text{O}$, a umidade poderia ter aumentado em até 9,4 ‰, em 1700. Outros mínimos de $\delta^{18}\text{O}$ também sugerem que, no intervalo de 1800 a 1850, e atualmente, nas últimas três décadas, a umidade relativa média do ar poderia ter sido 2,5 ‰ maior.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGGETT, J.; BUNTON, C.A.; LEWIS, T.A.; LLEWELLYN, D.R.; O'CONNOR, C.; ODELL, A.L. The isotopic analysis of oxygen in organic compounds and in co-ordination compounds containing organic ligands. *International Journal of Applied Radiation and Isotopes*, **16**: 165-70, 1965.
- ARAVENA, R.C. ^{18}O , ^2H and ^{13}C in tree rings and their relation to the environment. Waterloo, 1982. 142p. (M.Sc. - University of Waterloo).
- BOLIN, B.R. How much CO_2 will remain in the atmosphere. In: *The WMO/ICSU/UNEP International Assessment of The Impact of an Increased Atmospheric Concentration of Carbon Dioxide on the Environment*. 1985, cap. 3, 41p. (in press).
- BRENNINKMEIJER, C.A.M. e MOOK, W.G. A batch process for direct conversion of organic oxygen and water to CO_2 for $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ analysis. *International Journal of Applied Radiation and Isotopes*, **32**: 137-41, 1981.
- BROECKER, W.S. Status of $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ research on tree rings. In: INTERNATIONAL MEETING ON STABLE ISOTOPES IN TREE-RING RESEARCH. N.York, 1979. *Proceedings*. N.York, Gordon C. Jacoby, 1980. p.6-9.
- BURK, R.L. Factors affecting $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ ratios in cellulose. Seattle, 1979. 126p. (Ph.D. - University of Washington).
- BURK, R.L. e STUIVER, M. Oxygen isotope ratios in tree reflect mean annual temperature and humidity. *Science*, **211**(4489): 1417-9, mar.1981.
- CRAIG, H. The geochemistry of stable carbon isotopes. *Geochimica Cosmochimica Acta*, **3**: 52-92, 1953.

- CRAIG, H. Standard for reporting concentration of deuterium and oxygen-18 in natural waters. *Science*, **133**: 1833-4, 1961.
- DANSGAARD, W.; JOHNSEN, S.J.; CLAUSEN, H.B.; LANGWAY, C.C. Climatic records revealed by the Camp Century ice core in the Late Cenozoic Glacial Ages. In: TUREKIAN, K.K. N. Haven, Yale Univ. Press, 1971. p.37-56.
- DEINES, P. The isotopic composition of reduced organic carbon. In: FRITZ, P. e FONTES, J.C. *Handbook of Environmental Isotope Geochemistry*. N.York, Elsevier Scientific Publis. Co., 1980. Vol. 1, cap. 9, p.329-406.
- DeNIRO, M.J. e EPSTEIN, S. Relationship between the oxygen isotope ratios of terrestrial plant cellulose, carbon dioxide and water. *Science*, **204**(4388): 51-3, apr.1979.
- DeNIRO, M.J. e EPSTEIN, S. Isotopic composition of cellulose from aquatic organisms. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, **45**(10): 1885-94, oct. 1981.
- DICKINSON, R.E.; WIGLEY, T.M.L.; JONES, P.D.; KELLY, P.M. How will climate change - and when? In: *The WMO/ICSU/UNEP International Assessment of The Impact of an Increased Atmospheric Concentration of Carbon Dioxide on the Environment*. 1985, cap. 5, 80p. (in press).
- DUNBAR, J. e WILSON, A.T. Re-evaluation of the HgCl₂ pyrolysis technique for oxygen isotope analysis. *International Journal of Applied Radiation and Isotopes*, **34**(6): 932-4, 1983.
- EMILIANI, C. Pleistocene temperatures. *Journal of Geology*, **63**: 538-78, 1955.
- EPSTEIN, S. e YAPP, C.J. Isotope tree thermometers. *Nature*, **266**(5601): 477-8, mar. 1977.
- EPSTEIN, S.; THOMPSON, P.; YAPP, C.J. Oxygen and hydrogen isotopic ratios in plant cellulose. *Science*, **198**(4323): 1209-15, dec.1977.

- FARMER, J.G. Problems in interpreting tree-ring $\delta^{13}\text{C}$ records. *Nature*, **279**(5710): 229-31, may.1979.
- FARMER, J.G. e BAXTER, M.S. Atmospheric carbon dioxide levels as indicated by the stable isotope record in wood. *Nature*, **247**(5439): 273-5, feb.1974.
- FERHI, A.; BARIAC, T.; JUSSERAND, C.; LETOLLE, R. An integrated method for isotopic analysis of oxygen from organic compounds, air water vapor and leaf water. *International Journal of Applied Radiation and Isotopes*, **34**(10): 1451-7, 1983.
- FERHI, A. e LETOLLE, R. Relation entre le milieu climatique et les teneurs en oxygene-18 de la cellulose des plantes terrestres. *Physiologie Végétale*, **17**(1): 107-17, 1979.
- FERRAZ, E.S.B. Determinação da densidade de madeira por atenuação de radiação de baixa energia. *IPEF*, Piracicaba, **12**: 61-8, 1976.
- FERRAZ, E.S.B. e MORTATTI, J. Determining density of wood by gamma-ray attenuation method - Growth ring identification. *Wood Microdensitometry Bulletin*, **2**(2): 26-33, 1982.
- FRANCEY, R.J. Tasmanian tree rings belie suggested anthropogenic $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ trends. *Nature*, **290**(5803): 232-5, mar. 1981a.
- FRANCEY, R.J. Réplica. *Nature*, **293**(4223): 680, oct.1981b.
- FRANCEY, R.J. e FARQUHAR, G.D. An explanation of $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ variations in tree rings. *Nature*, **297**(5861): 28-31, may. 1982.
- FREYER, H.D. On the ^{13}C record in tree rings. Part I: ^{13}C variations in northern hemispheric trees during the last 150 years. *Tellus*, **31**: 124-37, 1979a.
- FREYER, H.D. On the ^{13}C record in tree rings. Part II: Registration of microenvironmental CO_2 and anomalous pollution effect. *Tellus*, **31**:

306-12, 1979b.

FREYER, H.D. Record of environmental variables ^{13}C measurements in tree rings. In: INTERNATIONAL MEETING ON STABLE ISOTOPES IN TREE-RING RESEARCH. N.York, 1979. *Proceedings*. N.York, Gordon C. Jacoby, 1980. p.13-21.

FREYER, H.D. Recent $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ trends in atmospheric CO_2 and tree rings. *Nature*, **293**(4223): 679-80, oct.1981.

FREYER, H.D. e BELACY, N. Analysis and interpretation of atmospheric CO_2 data. In: WMO/ICSU/UNEP SCIENTIFIC CONFERENCE. Bern, 14-18 Set.1981.

FREYER, H.D. e WEISBERG, L. Anthropogenic ^{13}C decrease in atmospheric CO_2 as recorded in wood. In: SYMPOSIUM OF ISOTOPE RATIOS AS POLLUTANT SOURCE AND BEHAVIOUR INDICATORS, Vienna. *Proceedings of FAO/IAEA Symposium*. Vienna, IAEA, 1974. p.49-62.

FRITTS, H.C. *Tree rings and climate*. London, Academic Press, 1976. 567p.

FRITZ, P. e FONTES, J.C. *Handbook of Environmental Geochemistry. The Terrestrial Environment, A Vol. 1*, Elsevier, N. York, 1980

GONFIANTINI, R. *Report of Advisory Group Meeting on Stable Isotope Reference Samples for Geochemical and Hydrological Investigations*. Vienna, IAEA, 1984. 77p.

GRAY, J. e THOMPSON, P. Climatic information from $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ ratios of cellulose in tree rings. *Nature*, **262**(5568): 461-2, aug. 1976.

GRAY, J. e THOMPSON, P. Climatic information from $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ ratios of cellulose, lignin and whole wood from tree rings. *Nature*, **270**(5639): 708-9, dec. 1977.

GRAY, J.; YONGE, C.; THOMPSON, P. Simultaneous determination of $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ and D/H in compounds containing C,H and O. *International Journal of Applied Radiation and Isotopes*, **35**(6): 525-30, 1984.

- GREEN, J.W. Wood cellulose. In: WHISTLER, R.L. *Methods in Carbohydrate Chemistry*. N.York, Academic Press, 1963. Vol. III, cap. 3, p.9-21.
- HAMMER, C.U.; CLAUSEN, H.B.; DANSGAARD, W. Greenland ice sheet evidence of past-glacial volcanism and its climatic impact. *Nature*, 288(5788): 230-5, nov.1980.
- HARDCASTLE, K.G. e FRIEDMAN, I. A method for oxygen isotope analysis on organic material. *Geophysical Research Letters*, 1: 165-7, 1974.
- IAEA. *World Survey of Isotope Concentration in precipitation; Environmental Isotope Data n° 1-7*. Vienna, IAEA, 1969-1983. Technical Reports Series n° 96, 117, 129, 147, 165, 192, 226.
- IVLEV, A.A. Mechanism governing the appearance of carbon isotope effects during photosynthetic assimilation of CO₂. *Soviet Plant Physiology*, 31(4): 605-13, 1984.
- KEELING, C.D. The concentration and isotope abundance of atmospheric carbon dioxide in rural areas. *Geochimica Cosmochimica Acta*, 13: 322-34, 1958.
- KIKATA, Y.; HATTORI, Y.; NAKAI, N.; NAKAMURA, T. Determination of growth rate in the tropical tree trunk. In: IUFRO WORLD CONGRESS, XVIII, LJUBLJANA, 1986. *Proceedings*: in press.
- KLUGE, M. e TING, I.P. *Crassulacean Acid Metabolism: Analysis of an Ecological Adaptation*. Berlin, Springer-Verlag, 1978.
- LEAVITT, S.W. e LONG, A. Evidence for ¹³C/¹²C fractionation between tree leaves and wood. *Nature*, 298(5876): 742-4, aug.1982.
- LEAVITT, S.W. e LONG, A. An atmospheric ¹³C/¹²C reconstruction generated through removal of climate effects from tree-ring ¹³C/¹²C measurements. *Tellus*, 35B: 92-102, 1983.
- LEAVITT, S.W. e LONG, A. Sampling strategy for stable carbon isotope

- analysis of tree rings in pine. *Nature*, 311(5982): 145-7, 1984.
- LERMAN, J.C. e LONG, A. Carbon-13 in tree rings: local or canopy effect? In: INTERNATIONAL MEETING ON STABLE ISOTOPES IN TREE-RING RESEARCH. N.York, 1979. *Proceedings*. N.York, Gordon C. Jacoby, 1980. p.22-32.
- LEVIN, I.; KROMER, B.; SCHOCH-FISCHER, H.; BRUNS, M.; MÜNNICH, M.; BERDAU, D.; VOGEL, J.C.; MÜNNICH, K.O. 25 years of tropospheric ^{14}C observations in central Europe. *Radiocarbon*, 27(1): 1-19, 1985.
- LEVIN, I.; MÜNNICH, K.O.; WEISS, W. The effect of anthropogenic CO_2 and ^{14}C sources on the distribution of ^{14}C in the atmosphere. *Radiocarbon*, 22: 379-91, 1980.
- LIBBY, L.M. Multiply thermometer in paleoclimate and historic climate. *Journal of Geophysical Research*, 77: 4310-17, 1972.
- LIBBY, L.M.; PANDOLFI, J.L.; PAYTON, P.H.; MARSCHALL, J.; BECKER, B.; GIERTZ-SIENBENLIST, V. Isotopic tree thermometers. *Nature*, 261(5558): 284-90, may. 1976.
- MAZANY, T.; LERMAN, J.C.; LONG, A. Carbon-13 in tree-ring cellulose as an indicator of past climates. *Nature*, 287(5781): 432-5, oct. 1980.
- MOZETO, A.A.; FRITZ, P.; MOREIRA, M.Z.; VETTER, R.E.; ARAVENA, R.C.; SALATI, E.; DRIMMIE, R.J. Growth rates of natural Amazonian forest trees based on radiocarbon measurements. *Radiocarbon*, 30(1): 1-6, 1988.
- MULHOLLAND, R.J. The interpretation of tree-rings $\delta^{13}\text{C}$ records. *Nature*, 282(5740): 757, dec. 1979.
- PEARMAN, G.I.; FRANCEY, R.J.; FRASER, P.J.B. Climatic implications of stable carbon isotopes in tree rings. *Nature*, 260(5554): 771-3, apr. 1976.
- PERRY, D.A. Oxygen isotope ratios in spruce cellulose. *Nature*, 266(5601): 476-7, mar. 1977.

- RAMESH, R.; BHATTACHARYA, S.K.; GOPALAN, K. Climatic correlations in the isotope records of silver fir (*Abies pindrow*) trees from Kashmir, India. *Earth and Planetary Science Letters*, **79**: 66-74, 1986.
- REBELLO, A. e WAGENER, K. Evaluation of ^{12}C and ^{13}C data on atmospheric CO_2 on basis of a diffusion model for oceanic mixing. In: NRIAGU, J.O. *Environmental Biogeochemistry*. Ann Arbor, Ann Arbor Publis. Inc., 1976. Vol.1, p.13-23.
- RITTENBERG, D. e PONTICORVO, L. A method for the determination of the ^{18}O concentration of the oxygen of organic compounds. *International Journal of Applied Radiation and Isotopes*, **1**: 208-14, 1956.
- SALI'EGE, J.F. e FONTES, J.C. Essai de détermination expérimentale du fractionnement des isotopes ^{13}C et ^{14}C du carbone au cours de processus naturels. *International Journal of Applied Radiation and Isotopes*, **35**: 55-62, 1984.
- SANTROCK, J. e HAYES, J.M. Protolytic decarboxylation of aromatic acids as a means of isotopic analyses. *Analytical Chemistry*, **57**(7): 1441-3, jun.1985.
- SCHIMMELMANN, A. e DeNIRO, M.J. Determination of oxygen stable isotope ratios in organic matter containing carbon, hydrogen, oxygen and nitrogen. *Analytical chemistry*, **57**(13): 2644-6, nov. 1985.
- SCHULZ, H. Über die nützlichkeit des sandstrahlens für die analyse von holz und holzprodukten. *Holz als Rohund Werkstoff*, **40**: 449-53, 1982.
- STEMLER, A. e RADMER, R. Source of photosynthetic oxigen in bicarbonate-stimulated Hill reation. *Science*, **190**(4213): 457, oct.1975.
- STERNBERG, L.S.L. e DeNIRO, M.J. Biogeochemical implications of the equilibrium fractionation factor between the oxygen atms of acetone and water. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, **47**(12): 2271-4, dec. 1983a.

- STERNBERG, L.S.L. e DeNIRO, M.J. Isotope composition of cellulose from C₃, C₄ and CAM plants growing near one another. *Science*, 220(4600): 947-9, may 1983b.
- STERNBERG, L.S.L.; DeNIRO, M.J.; TING, I.P. Carbon, hydrogen and oxygen isotope ratios of cellulose from plants having intermediary photosynthetic modes. *Plant Physiology*, 74(1): 104-7, jan.1984a.
- STERNBERG, L.S.L.; DeNIRO, M.J.; JOHNSON, H.B. Isotope ratios of cellulose from plants having different photosynthetic pathways. *Plant Physiology*, 74(3): 557-61, mar.1984b.
- STERNBERG, L.S.L.; DeNIRO, M.J.; JOHNSON, H.B. Oxygen and hydrogen isotope ratios of water from photosynthetic tissues of CAM and C₃ plants. *Plant Physiology*, 82(2): 428-31, oct.1986a.
- STERNBERG, L.S.L.; DeNIRO, M.J.; SAVIDGE, R.A. Oxygen isotope exchange between metabolites and water during biochemical reactions leading to cellulose synthesis. *Plant Physiology*, 82(2): 423-7, oct.1986b.
- STUIVER, M. Oxygen and carbon isotope ratios of fresh water carbonates as climatic indicators. *Journal Geophysical Research*, 75: 5247-57, 1970.
- STUIVER, M. Atmospheric carbon dioxide and carbon reservoir changes. *Science*, 199(4326): 253-8, jan.1978.
- STUIVER, M. e BRAZIUNAS, T.F. Tree cellulose ¹³C/¹²C isotope ratios and climatic change. *Nature*, 328: 58-60, jul.1987.
- STUIVER, M.; BURK, R.L.; QUAY, P.D. ¹³C/¹²C ratios in tree rings and the transfer of biospheric carbon to the atmosphere. *Journal of Geophysical Research*, 89(D7): 11731-48, dec.1984.
- STUIVER, M. e QUAY, P.D. Atmospheric ¹⁴C changes resulting from fossil fuel CO₂ release and cosmic ray flux variability. *Earth Planetary Science Letters*, 53: 349-62, 1981.
- STUIVER, M.; REBELLO, A.L.; WHITE, J.C.; BROECKER, W. Isotopic indicators of

age/growth in tropical trees. In: BORMAN, F.H. e BERLYN, G.(eds.). *Age and Growth Rates of Tropical Trees: New directions for research*. N. Haven, Yale Univ. Press, 1980. p.75-82.

TANS, P.P. Carbon-13 and carbon-14 in trees and the atmospheric CO₂ increase. 1978. 99p. (Ph.D. - State University of Groningen).

TANS, P.P.; JONG, A.F.M. MOOK, W.G. Chemical pretreatment and radial flow of ¹⁴C in tree rings. *Nature*, **271**(5642): 234-5, jan.1978.

TANS, P.P. e MOOK, W.G. Past atmospheric CO₂ levels and the ¹³C/¹²C ratios in tree rings. *Tellus*, **32**: 268-83, 1980.

TING, I.P. e RAYDER, L. Regulation of C₃ to CAM shifts. In: TING, I.P. e GIBBS, M. (eds.). *Crassulacean Acid Metabolism*. Rockville, American Society of Plant Physiologists, 1982. p.193-207.

THOMPSON, P. e GRAY, J. Determination of ¹⁸O/¹⁶O ratios in compounds containing C, H and O. *International Journal of Applied Radiation and Isotopes*, **28**: 411-5, 1977.

TØTTRUP, P.B. Kinetics of decomposition of carbon monoxide on a supported nickel catalyst. *Journal of Catalysis*, **42**: 29-36, 1976.

UREY, H.C. The thermodynamic properties of isotopic substances. *Journal of Chemical Society*:562-81, 1947.

VILLA NOVA, N.A; SALATI, E.; MATSUI, E. Estimativa da evapotranspiração na bacia Amazônica. *Acta Amazônica*, **6**: 215-28, 1976.

VOGEL, J.C. Radiocarbon in nature. *South African Journal of Science*. 32-42, feb.1971.

WIGLEY, T.M.L.; GRAY, B.M.; KELLY, P.M. Climatic interpretation of δ¹⁸O and δD in tree rings. *Nature*, **271**(5640): 92-3, jan.1978.

WILSON, A.T. Pioneer agricultural explosion and CO₂ levels in the

atmosphere. *Nature*, 273(5657): 40-1, may.1978a.

WILSON, A.T. Réplica. *Nature*, 271(5640): 93, jan.1978b.

WILSON, A.T. e GRINSTED, M.J. $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ in cellulose and lignin as palaeothermometers. *Nature*, 265(5590): 133-5, jan. 1977.

WORBES, M. Strutural and other adaptations to long-term flooding by trees in central Amazonia. *Amazonians*, 9(3): 459-84, dec.1985.

WORBES, M. e LEUSCHNER, H.H. Annual rings of trees from central Amazonian inundation forests. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON ECOLOGICAL ASPECTS OF TREE RING ANALYSIS, N.York,1986. *Proceedings*. N.York, JACOBY, G.C. e HORNBECK, J.W. (eds.), 1987. p.272-80.

YAPP, C.J. e EPSTEIN, S. Climatic implications of D/H ratios of meteoric water over North America (9500-22000 BP) as inferred from ancient wood cellulose C-H hydrogen. *Earth Planetary Science Letters*, 34: 333-50,1977.

APÉNDICE

MÉTODO DO CLORITO/ACÉTICO PARA ISOLAMENTO DE CELULOSE A PARTIR DA MADEIRA DE FOLHOSAS (GREEN, 1963)

O método descrito por GREEN (1963) foi modificado para o isolamento de celulose a partir de um grama de madeira bruta. Para tanto, a serragem obtida da perfuração da secção transversal do tronco, foi peneirada entre 40 e 60 mesh para padronização do material.

a) Extração orgânica

A serragem foi inicialmente extraída em um frasco hermético com 50 ml de uma mistura 2:1 de benzeno e etanol por 48 horas, filtrada *à* vácuo, novamente extraída com 30 ml de acetona por 24 horas e filtrada, sempre em funil de vidro sinterizado. Este procedimento retira os principais componentes acidentais da madeira como resinas, lipídios e taninos.

b) Deslignificação

A madeira extraída foi suspensa em 35 ml de H₂O deionizada em um becker coberto com vidro de relógio, ao qual foram adicionadas 3-4 gotas de ácido acético glacial, suficientes para garantir um pH inferior a 3 ao meio, 300 mg de clorito de sódio (NaClO₂, 1 ml de solução 300 g/L

estabilizada com NaOH), e então aquecido em banho-maria a 70°C. Esta etapa foi repetida três vezes em intervalos de uma hora, quando um alveamento satisfatório foi atingido. Todas as etapas da deslignificação devem ser realizadas em ambientes ventilados devido a alta toxidez do ClO_2 desprendido da reação. O resíduo final, depois de lavado com H_2O deionizada fria, deve ser branco e reter a estrutura original da madeira.

c) Extração alcalina

Esta etapa extrai polissacarídeos semelhantes à celulose (hemiceluloses), isolando finalmente a α -celulose da madeira. A holocelulose resultante da etapa anterior foi fervida em H_2O por uma hora, extraída em um balão apropriado (Figura 10) sob fluxo contínuo de N_2 por 4 horas, com 35 ml de solução 4% em NaOH. Depois desta e de todas as próximas etapas de extração, uma filtragem seguida de lavagem com H_2O no próprio balão foi intercalada. O primeiro extrato terá cor marrom escura devido à lignina ainda presente. Duas etapas se seguiram com extração em 35 ml de solução 10 e 18% de NaOH, sendo a primeira a 95°C e a segunda à temperatura ambiente, ambas por 4 horas, depois das quais, o material foi extraído por 2 horas em solução 24% em KOH. Todas as etapas aquecidas foram realizadas em banho-maria conforme a Figura 11, sob fluxo de N_2 , para evitar a absorção de CO_2 por parte das soluções alcalinas. Depois de lavada várias vezes com H_2O , seguiu-se uma neutralização da α -celulose residual, com ácido acético 10%. Extensivamente lavada com H_2O deionizada, o resíduo final foi seco sob vácuo e estocado para análise.