

UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO  
CENTRO DE CIÊNCIAS HUMANAS E NATURAIS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA VEGETAL



Basílio Cerri Neto

**CARACTERIZAÇÃO DOS MECANISMOS MORFOFISIOLÓGICOS E  
TEOR DE ÓLEO ESSENCIAL DE ESPÉCIES DE *Piper* EM  
RESPOSTA A INTENSIDADES DE RADIAÇÃO**

VITÓRIA - ES

2020

Basílio Cerri Neto

**CARACTERIZAÇÃO DOS MECANISMOS MORFOFISIOLÓGICOS E  
TEOR DE ÓLEO ESSENCIAL DE ESPÉCIES DE *Piper* EM  
RESPOSTA A INTENSIDADES DE RADIAÇÃO**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal do Centro de Ciências Humanas e Naturais da Universidade Federal do Espírito Santo como parte dos requisitos exigidos para a obtenção do título de Mestre em Biologia Vegetal.

Área de concentração: Fisiologia Vegetal.

Orientador(a): Prof. Dr. Antelmo Ralph Falqueto

Coorientador(a): Prof. Dra. Sara Dousseau Arantes

VITÓRIA - ES

2020

Ficha catalográfica disponibilizada pelo Sistema Integrado de Bibliotecas - SIBI/UFES e elaborada pelo autor

---

C417c Cerri Neto, Basílio, 1994-  
Caracterização Dos Mecanismos Morfofisiológicos e Teor De Óleo Essencial De Espécies De Piper Em Resposta a Intensidades De Radiação / Basílio Cerri Neto. - 2020.  
101 f. : il.

Orientador: Antelmo Ralph Falqueto.

Coorientadora: Sara Dousseau Arantes.

Dissertação (Mestrado em Biologia Vegetal) - Universidade Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências Humanas e Naturais.

1. Piper. 2. Luz. 3. Fotossíntese. 4. Plasticidade fenotípica. 5. Fluorescência d clorofila a. 6. Anatomia. I. Ralph Falqueto, Antelmo. II. Dousseau Arantes, Sara. III. Universidade Federal do Espírito Santo. Centro de Ciências Humanas e Naturais. IV. Título.

CDU: 57

---

Basílio Cerri Neto

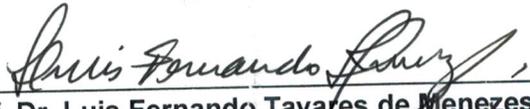
**“CARACTERIZAÇÃO DOS MECANISMOS MORFOFISIOLÓGICOS E TEOR DE ÓLEO ESSENCIAL DE ESPÉCIES DE Piper EM RESPOSTA A INTENSIDADES DE RADIAÇÃO”.**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal do Centro de Ciências Humanas e Naturais, da Universidade Federal do Espírito Santo, como requisito parcial para obtenção do Grau de Mestre em Biologia Vegetal.

Aprovada em 27 de fevereiro de 2020.

Comissão Examinadora:

  
**Profa. Dra. Sara Dousseau Arantes (UFES)**  
Coorientadora e Presidente da Comissão Examinadora

  
**Prof. Dr. Luis Fernando Tavares de Menezes (UFES)**  
Examinador Titular Interno

  
**Prof. Dr. José Altino Machado Filho (Incaper)**  
Examinador Titular Externo

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço a Deus por ter guiado o meu caminho até aqui e por ser a direção da minha vida.

À Universidade Federal do Espírito Santo e ao programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal (PPGBV) pela oportunidade de realização do curso de mestrado.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de estudos.

À toda minha família por terem se doado ao máximo para que eu pudesse concluir mais esse ciclo da minha vida, por toda compreensão quando precisei ficar ausente e por sempre estarem ao meu lado e valorizarem meus esforços perante os estudos.

Ao meu Orientador, Professor Dr. Antelmo Ralph Falqueto por toda confiança, apoio, compreensão, por seus preciosos ensinamentos transmitidos ao longo desses dois anos e por me ensinar a enxergar oportunidades em qualquer dificuldade.

À minha Coorientadora, Professora Dra. Sara Dousseau Arantes, pelas orientações, sugestões, pela preciosa contribuição na execução do trabalho e pelos puxões de orelha que, com certeza, me fizeram crescer muito como pesquisador.

Ao querido colaborador, Dr. José Altino Machado Filho, por sempre estar disposto a ajudar em todas as etapas deste trabalho, assim como pelas valiosas colaborações e orientações.

Aos componentes da banca, Dr. Luis Fernando Tavares de Menezes e Dr. José Altino Machado Filho, por toda contribuição.

Ao mestre Lúcio de Oliveira Arantes, por sempre estar disposto a ensinar, pela paciência e por todos os auxílios durante o desenvolvimento do projeto, em especial, o auxílio nas análises estatísticas.

À toda equipe dos laboratórios de Fisiologia Vegetal e Pós-Colheita do Instituto Capixaba de Pesquisa, Assistência Técnica e Extensão Rural (INCAPER), Rizia Joyce, Jasmini, Thayanne, Fernanda, Laísa, Guilherme, Juliana, Clarisa, Jeane,

Maria Luiza, Pietra, Kayo, e em especial, às técnicas de laboratório Daniele Calixto e Ana Paula Scalzer.

Aos queridos amigos, Rizia Joyce, Thayanne, Jasmine, Laísa, Fernanda e Guilherme, por toda troca de experiências, pelos bons momentos de conversas e aprendizados, além de todo o incentivo e apoio — principalmente pelo cuidado que tiveram com minhas plantas no período em que estava cumprindo os créditos.

Ao INCAPER pela disponibilização da área experimental, bem como o uso do laboratório de Fisiologia Vegetal e Pós-Colheita e por sempre disponibilizar servidores para auxiliar no experimento.

Aos queridos Conceição e José Maria, pela preciosa contribuição e ajuda no cuidado das plantas e, na finalização do experimento.

À Katherine Fraga Ruas, por todo auxílio nas análises de trocas gasosas e curva de saturação de luz, além do excelente treinamento que me deu para operar o Irga.

À minha grande amiga, Daniele Freisleben Lavanhole, que sempre me ajudou nos momentos de dificuldade, além de sempre estar disposta a escutar meus desabafos hahaha, obrigado pelos sábios conselhos.

A todos os professores e funcionários da secretaria do PPGBV, pelo apoio e atenção no esclarecimento das dúvidas apresentadas.

À Rosiane, Nair, Juliana, Laiza, Angelica, Kalia e Vinicius, grandes amigos que fiz no programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal, pelos bons momentos de estudo e conversas durante o curso.

Enfim, agradeço a todos que, de alguma forma, contribuíram direta e indiretamente para a realização deste trabalho.

Muito obrigado!

## RESUMO

Espécies do gênero *Piper* possuem importância econômica, sendo utilizadas nas indústrias alimentícia, farmacêutica e na agricultura. Como destaque neste gênero está a pimenteira-do-reino (*Piper nigrum* L.), que produz o condimento mais consumido em todo o mundo. Dentre os fatores do ambiente que influenciam no desenvolvimento e na produção das plantas, destaca-se a radiação solar, por induzir respostas adaptativas altamente plásticas, proporcionando ajuste no crescimento, no aparato fotossintético e no metabolismo de óleos essenciais. Assim, visando compreender a plasticidade das espécies do gênero *Piper* em função de diferentes ambientes de radiação solar incidente, objetivou-se com este estudo, avaliar as alterações no crescimento, teor de óleo essencial, pigmentos fotossintéticos, anatomia, na fluorescência transiente da clorofila “a” e nas trocas gasosas em espécies selvagens de importância medicinal, encontradas em ambientes distintos na condição natural (*Piper tuberculatum* Jacq. e *Piper arboreum*) e a cultivar de pimenteira do reino mais conhecida em todo o mundo, ‘Bragantina’ (‘Panniyur 1’). O experimento foi conduzido com duas espécies nativas (*Piper tuberculatum* Jacq. e *Piper arboreum* Aubl.) e a pimenteira-do-reino. As mudas das espécies nativas foram obtidas via seminal e a da pimenteira-do-reino, por estaquia, sendo transplantadas para vasos de 5 litros e aclimadas por 30 dias em viveiro com 50% de radiação solar incidente. Após este período, as plantas foram expostas aos diferentes ambientes de luz (100% de radiação solar ou pleno sol, 50% e 20% de radiação, utilizando-se tela de sombreamento Sombrit® preta). Após seis meses, foram avaliados o crescimento, alocação de biomassa, teor de óleo essencial, fluorescência da clorofila “a” utilizando-se o fluorômetro Handy PEA, quantificação dos pigmentos fotossintéticos, trocas gasosas pontuais com 1200  $\mu\text{mol}$  fótons, e as curvas de resposta à luz, além da anatomia foliar, caulinar e radicular. Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias agrupadas pelo teste de Scott Knott ( $p \leq 0,05$ ). Foi realizada análise de componentes principais (PCA) e para o cálculo de similaridade foi obtida uma matriz, utilizando-se a distância euclidiana e o agrupamento realizado com base no método de UPGMA (unweighted pair-group method with arithmetic means). As três espécies, quando cultivadas a 100% de radiação solar incidente, apresentaram maior investimento no sistema radicular, aumentando o comprimento, volume, número de raízes e massa seca. Entretanto, as que foram crescidas com baixa radiação solar incidente investiram em parte aérea, aumentando a área foliar, o comprimento do caule e o número de folhas. O maior teor de óleo essencial foi obtido nas raízes de *P. nigrum* cultivadas a 50% de radiação (1.59 g g<sup>-1</sup> MS). O cultivo das espécies com 100% de radiação solar incidente causou uma redução na quantidade de centros de redução abertos, resultando, assim, em um aumento em  $F_0$ , sendo esse aumento mais evidente em *P. nigrum*. O complexo de evolução do oxigênio e a conectividade energética dos componentes do fotossistema II foram afetados quando *P. arboreum* e *P. nigrum* cresceram sob alta incidência de radiação solar. *P. tuberculatum* apresentou maior *A/E*, *Amax*, *LSP*, *LCP*, espessura do colênquima e número de vasos xilemáticos nas folhas quando cultivada com 100% de radiação solar. Os ambientes de 20% e 50% influenciaram o rendimento

quântico ( $\Phi_i$ ), o comprimento do xilema e  $g_s$ . *P. nigrum* apresentou incremento em  $\phi(l_0) A_{max}$  no ambiente de 20% de radiação solar incidente. Contudo,  $g_s$ ,  $E$ , RD, espessura da epiderme do caule, o comprimento do xilema radicular e o potencial hídrico foliar ( $\Psi_w$ ) apresentaram melhor desempenho quando as plantas foram mantidas a 100% de radiação. Os resultados deste experimento comprovam a perda da plasticidade da espécie cultivada, sendo recomendado estudos de melhoramento para desenvolver genótipos mais tolerantes para o cultivo sombreado e estabelecem que a *P. tuberculatum* pode ser utilizada como modelo de plasticidade.

**Palavras-chave:** Plasticidade fenotípica, plasticidade fotossintética, fluorescência da clorofila “a”, fotossíntese, eficiência do uso da água, xilema, *Piper nigrum* L., *Piper tuberculatum* Jacq. *Piper arboreum* Aub.

## ABSTRACT

Species of the genus *Piper* have economic importance, being used in the food, pharmaceutical and agriculture industries. As a highlight in this genus the black pepper (*Piper nigrum* L.), which produces the most consumed condiment in the world. Among the environmental factors that influence the development and production of plants, solar radiation stands out, as it induces highly plastic adaptive responses providing adjustment in the growth and in the photosynthetic apparatus and in the metabolism of essential oils. Thus, in order to understand the plasticity of the species of the genus *Piper* due to different environments of incident solar radiation, the objective of this study was to evaluate changes in growth, essential oil content, photosynthetic pigments, anatomy, in the transient fluorescence of chlorophyll "a" and gas exchange in wild species of medicinal importance, found in different environments in the natural condition (*Piper tuberculatum* Jacq. and *Piper arboreum*) and the best known pepper cultivar in the world, 'Bragantina' ('Panniyur 1'). The experiment was carried out with two native species (*Piper tuberculatum* Jacq. And *Piper arboreum* Aubl.) And black pepper. Seedlings of native species were obtained via seminal and black pepper, by cutting, being transplanted into 5-liter pots and acclimatized for 30 days in a nursery with 50% of incident solar radiation. After this period, the plants were exposed to different light environments (100% solar radiation or full sun, 50% and 20% radiation, using a black Sombrit® shade screen). After six months, growth, biomass allocation, essential oil content, chlorophyll fluorescence were evaluated using the Handy PEA fluorometer, quantification of photosynthetic pigments, point gas exchange with 1200  $\mu\text{mol}$  photons, and light response curves, in addition to leaf, stem and root anatomy. The data were submitted to analysis of variance and the means grouped by the Scott Knott test ( $p < 0.05$ ). Principal component analysis (PCA) was performed and for the similarity calculation a matrix was obtained using the Euclidean distance and the grouping performed based on the UPGMA method (unweighted pair-group method with arithmetic means). The three species when grown at 100% of incident solar radiation showed greater investment in the root system, increasing the length, volume, number of roots and dry mass. However, those that were grown with low incident solar radiation invested in aerial parts, increasing the leaf area, the length of the stem and the number of leaves. The highest content of essential oil was obtained in the roots of *P. nigrum* grown at 50% radiation (1.59 g g<sup>-1</sup> MS). The cultivation of species with 100% of incident solar radiation caused a reduction in the number of open reduction centers, thus causing an increase in F<sub>0</sub>, this increase being more evident in *P. nigrum*. The oxygen evolution complex and the energy connectivity of the components of photosystem II were affected when *P. arboreum* and *P. nigrum* grew under high incidence of solar radiation. *P. tuberculatum* showed higher A / E, Amax, LSP, LCP, collenchyma thickness, number of xylemic vessels in the leaves when cultivated with 100% solar radiation. The 20% and 50% environments influenced the quantum yield (i), xylem length, gs. *P. nigrum* showed an increase in  $\phi$  (I<sub>0</sub>) Amax, in the environment of 20% of incident solar radiation. However, gs, E, RD, stem epidermis thickness and root xylem length and leaf water

potential ( $\Psi_w$ ), showed better performance when the plants were kept at 100% radiation. The results of this experiment prove the loss of plasticity of the cultivated species, and improvement studies are recommended to develop more tolerant genotypes for shaded cultivation and establishes that *P. tuberculatum* can be used as a model of plasticity.

**Keywords:** Phenotypic plasticity, photosynthetic plasticity, chlorophyll a fluorescence, photosynthesis, water use efficiency, xylem, *Piper nigrum* L., *Piper tuberculatum* Jacq. *Piper arboreum* Aub.

## LISTA DE FIGURAS

### Figuras do artigo 1

Figura 1: Análise de componentes principais (PCA) de variáveis relacionadas ao crescimento de plantas de *P. arboreum*, *P. tuberculatum* e *P. nigrum* em função de diferentes ambientes de radiação solar incidente. A análise em conjunto explica 81,31 da variação. A PC1 61,41% corresponde a massa seca radicular (MSR), massa seca caulinar (MSC), massa seca total (MST), massa seca da parte aérea (MSPA), diâmetro do caule (DC), número de folhas (NF), área foliar (AF), razão de massa radicular (RMR), razão raiz/parte aérea (RPA), área foliar unitária (AFU), razão de área foliar (RFA), razão de massa foliar (RMF), índice de qualidade de Dickson (IQD). A PC2 19,90% corresponde ao índice de ramificações radiculares (IRR), número de raízes (NR) e comprimento da raiz (CR).....49

Figura 2: Dendrograma representativo da dissimilaridade genética entre três espécies de *Piper* cultivadas em três ambientes de radiação solar incidente, obtidos pelo método UPGMA, utilizando-se a distância generalizada de Mahalanobis  $D^2$ . No dendrograma para o ponto de corte foi utilizado o critério de Mojena com  $K1 = 5$ . ..... **Error! Bookmark not defined.**50

Figura 1: Efeitos de diferentes níveis de sombreamento (0%, 50% e 80%) sobre: (A, B e C) a curva polifásica de emissão da fluorescência da clorofila "a" em *Piper tuberculatum*, *Piper arboreum* e *Piper nigrum*; (D,E e F) fluorescência relativa entre os pontos 0,02 e 300 ms ou  $Vop = (Ft - F0) / (FM - F0)$  e (G,H,I) variação da banda K estabelecida a partir da normalização K band:  $V0J300 = (F300\mu s - F0)/(FJ - F0)$  e variação da banda L estabelecidas a partir da normalização L band:  $V0K100 = (F100\mu s - F0)/(F300 - F0)$ .....71

Figura 2: Fluorescência inicial (F0) e fluorescência máxima (Fm) em plantas de *Piper tuberculatum* (A), *Piper arboreum* (B) e *Piper nigrum* (C) cultivadas sobre diferentes níveis de sombreamento (0%, 50% e 80%).**Error! Bookmark not defined.**71

Figura 3: Efeitos de diferentes níveis de sombreamento (0%, 50% e 80%) sobre: (A, B e C) normalização entre a fase O e I (30 ms) como  $VOI = (F_t - FO) / (FI - FO)$  e (D, E e F) normalização entre FI e FP onde  $VIP = (F_t - FI) / (FM - FI)$  no intervalo de 30 a 300 ms, em plantas de *Piper tuberculatum*, *Piper arboreum* e *Piper nigrum* respectivamente. .... **Error! Bookmark not defined.**72

Figura 4: Parâmetros fotoquímicos derivados da análise do teste JIP em plantas de *Piper tuberculatum* (A), *Piper arboreum* (B) e *Piper nigrum* (C) cultivadas sobre diferentes níveis de sombreamento (0%, 50% e 80%). Rendimento quântico da transferência de elétrons a partir da QA- para a cadeia de transporte de elétrons além QA- ( $\phi E_o$ ), rendimento quântico fotoquímico para dissipação de calor ( $\phi D_o$ ), fluxo de transporte de energia por centro de reação ( $ET_0/RC$ ), fluxo de energia dissipada por centro de reação ( $DI_0/RC$ ) e quantidade de centros de reação do FSII ativos por seções cruzadas ( $RC/CS_0$ ).....73

Figura 5: Parâmetros fotoquímicos derivados da análise do teste JIP em plantas de *Piper tuberculatum* (A), *Piper arboreum* (B) e *Piper nigrum* (C) cultivadas sobre diferentes níveis de sombreamento (0%, 50% e 80%). Rendimento quântico fotoquímico máximo ( $\phi P_o$ ), fração média de centros de reação abertos no período de 0 a  $TF_{max}$  (tempo de produção da fluorescência máxima) ( $S_m/TF_{max}$ ), fluxo de absorção de energia por centro de reação ( $ABS/RC$ ) e fluxo de energia capturada por centro de reação ( $TR_0/RC$ ). .... **Error! Bookmark not defined.**73

Figura 6: Índice de desempenho para conservação de energia desde éxcitons capturados até a redução dos aceptores de elétrons do intersistema ( $PI_{abs}$ ) e índice de desempenho para conservação de energia de um éxciton capturado para redução dos aceptores finais do FSI ( $PI_{total}$ ), em plantas de *Piper tuberculatum* (A, D), *Piper arboreum* (B, E) e *Piper nigrum* (C, F) cultivadas sobre diferentes níveis de sombreamento (0%, 50% e 80%)..... **Error! Bookmark not defined.**74

Figura 7: O gráfico para os dois componentes principais (explica em conjunto 75,81% da variação) de todos os tratamentos. As linhas verdes indicam a variação

que as variáveis tiveram em cada componente, onde A=Fo, B=Fm, C=PHI(Po), D=PHI(Eo), E=PHI(Do), F=Sm/T(fmax), G=ABS/RC, H=TRo/RC, I=ETo/RC, J=Dlo/RC, K=RC/CSO, L=PI(abs), M=PI total, N=Cl a, O=Cl b, P=Cl total, Q=β-Caroteno, R=Licopeno, S=Zeaxantina, T=α-Caroteno, U=β-Criptoxantina, V=Carotenoides Total. Os círculos indicam que as respostas das espécies cultivadas nos diferentes ambientes de sombreamento foram semelhantes. 75

### Figuras do artigo 3

Figura 1: Análise de componentes principais (PCA) de variáveis anatômicas e ecofisiológicas de *P. arboreum*, em função de diferentes ambientes de radiação solar incidente. Amax: photosynthetic capacity,  $\phi$ : quantum yield, RD: dark respiration, LCP: Light compensation point, LSP: Light saturation point, A1200: Photosynthesis,  $gs_{1200}$ : stomatal conductance, E1200: transpiration,  $Ci/Ca_{1200}$ : The ratio of intercellular to ambient CO<sub>2</sub>, A/E1200: water use efficiency, A/PAR1200 light use efficiency,  $\Psi_w$ : leaf water potential. Sd: Stomatic density, AdEpL: Adaxial surface epidermis leaf, PptL: Palisade parenchyma thickness leaf, SptL: Spongy parenchyma thickness leaf, Lbt: Leaf blade thickness leaf, NvbL: Number of vascular bundles leaf, LxyL: length Xylem leaf, LPhL: length Phloem leaf, WveL: Horizontal thickness of the vascular bundle leaf, LveL: Vertical thickness of vascular bundle leaf, NxyvL, Number of xylem vessels leaf, CvtL: Central vein thickness leaf. EpS: Epidermis stem, CoS: collenchyma stem, LXyS: length Xylem stem, LPhS: length Phloem stem, WveS: Width of vase element stem, LveS: Length of vase element stem, HtvS: Horizontal thickness of the vascular bundle stem, VtvS: Vertical thickness of vascular bundle stem, NxyvS: Number of xylem vessels stem, XydS: xylem vessel diameter stem. LxyR: Length Xylem root, LphR: Length Phloem root, NxyvR: Number of xylem vessels root, XydR: Xylem vessel diameter root, CtR: Cortex thickness root, VctR: Vascular cylinder thickness root, PtR: Periderm thickness root, VcaR: Vascular cylinder area root..... **Error! Bookmark not defined.**100

Figura 2: Análise de componentes principais (PCA) de variáveis anatômicas e ecofisiológicas de *P. tuberculatum* em função de diferentes ambientes de radiação

solar incidente. Amax: photosynthetic capacity,  $\phi$ : quantum yield, RD: dark respiration, LCP: Light compensation point, LSP: Light saturation point, A1200: Photosynthesis,  $gs_{1200}$ : stomatal conductance, E1200: transpiration,  $C_i/C_a_{1200}$ : The ratio of intercellular to ambient CO<sub>2</sub>, A/E1200: water use efficiency, A/PAR1200 light use efficiency,  $\Psi_w$ : leaf water potential. Sd: Stomatic density, AdEpL: Adaxial surface epidermis leaf, PptL: Palisade parenchyma thickness leaf, SptL: Spongy parenchyma thickness leaf, Lbt: Leaf blade thickness leaf, NvbL: Number of vascular bundles leaf, LxyL: length Xylem leaf, LPhL: length Phloem leaf, WveL: Horizontal thickness of the vascular bundle leaf, LveL: Vertical thickness of vascular bundle leaf, NxyvL, Number of xylem vessels leaf, CvtL: Central vein thickness leaf. EpS: Epidermis stem, CoS: collenchyma stem, LXyS: length Xylem stem, LPhS: length Phloem stem, WveS: Width of vase element stem, LveS: Length of vase element stem, HtvS: Horizontal thickness of the vascular bundle stem, VtvS: Vertical thickness of vascular bundle stem, NxyvS: Number of xylem vessels stem, XydS: xylem vessel diameter stem. LxyR: Length Xylem root, LphR: Length Phloem root, NxyvR: Number of xylem vessels root, XydR: Xylem vessel diameter root, CtR: Cortex thickness root, VctR: Vascular cylinder thickness root, PtR: Periderm thickness root, VcaR: Vascular cylinder area root..... 101

Figura 3: Análise de componentes principais (PCA) de variáveis anatômicas e ecofisiológicas de *P. nigrum* em função de diferentes ambientes de radiação solar incidente. Amax: photosynthetic capacity,  $\phi$ : quantum yield, RD: dark respiration, LCP: Light compensation point, LSP: Light saturation point, A1200: Photosynthesis,  $gs_{1200}$ : stomatal conductance, E1200: transpiration,  $C_i/C_a_{1200}$ : The ratio of intercellular to ambient CO<sub>2</sub>, A/E1200: water use efficiency, A/PAR1200 light use efficiency,  $\Psi_w$ : leaf water potential. Sd: Stomatic density, AdEpL: Adaxial surface epidermis leaf, PptL: Palisade parenchyma thickness leaf, SptL: Spongy parenchyma thickness leaf, Lbt: Leaf blade thickness leaf, NvbL: Number of vascular bundles leaf, LxyL: length Xylem leaf, LPhL: length Phloem leaf, WveL: Horizontal thickness of the vascular bundle leaf, LveL: Vertical thickness of vascular bundle leaf, NxyvL, Number of xylem vessels leaf, CvtL: Central vein thickness leaf. EpS: Epidermis stem, CoS: collenchyma stem, LXyS: length Xylem stem, LPhS: length Phloem stem, WveS: Width of vase element

stem, LveS: Length of vase element stem, HtvS: Horizontal thickness of the vascular bundle stem, VtvS: Vertical thickness of vascular bundle stem, NxyvS: Number of xylem vessels stem, XydS: xylem vessel diameter stem. LxyR: Length Xylem root, LphR: Length Phloem root, NxyvR : Number of xylem vessels root, XydR: Xylem vessel diameter root, CtR: Cortex thickness root, VctR: Vascular cylinder thickness root, PtR: Periderm thickness root, VcaR: Vascular cylinder area root..... 102

## LISTA DE TABELAS

### Tabelas do artigo 1

Tabela 1: Caracterização dos parâmetros de crescimento de das plantas de *P. arboreum*, *P. tuberculatum* e *P. nigrum*, cultivadas durante seis meses em diferentes intensidades de radiação incidente. Volume de raiz (VR), área foliar (AF), massa seca da folha (MSF), massa seca do caule (MSC), massa seca da raiz (MSR), massa seca da parte aérea (MSPA), massa seca total (MST), área foliar específica (AFE), massa foliar específica (MFE), razão de massa foliar (RMF), razão de massa radicular (RMR), comprimento específico da raiz (CER), razão raiz/parte aérea (RPA), razão de área foliar (RAF), índice de qualidade de dicksom (IQD)..... **Error! Bookmark not defined.** 46

Tabela 2: Caracterização dos parâmetros de crescimento de das plantas de *P. arboreum*, *P. tuberculatum* e *P. nigrum*, cultivadas durante seis meses em diferentes intensidades de radiação incidente. Comprimento do caule (CC), diâmetro do caule (DC), comprimento da raiz (CR), número de raízes (NR), número de folhas (NF), área foliar unitária (AFU), razão de massa caulinar (RMC), densidade do tecido radicular (DTR), índice de ramificações radiculares (IRR) e índice de robustez (SQ).....47

Tabela 3: Teores de óleo essencial (g de óleo por g de MS) de folhas, caule e raiz de *P. arboreum*, *P. tuberculatum* e *P. nigrum*, cultivadas durante seis meses em diferentes intensidades de radiação incidente.....48

### Tabelas do artigo 2

Tabela 1: Efeito de diferentes níveis de sombreamento (0%, 50% e 80%) sobre o conteúdo de pigmentos fotossintéticos de plantas de *Piper tuberculatum*, *Piper arboreum* e *Piper nigrum*.....76

### Tabelas do artigo 3

Tabela 1: Variáveis anatômicas foliares de *Piper arboreum*, *Piper tuberculatum* e *Piper nigrum* submetidos a diferentes níveis de radiação solar incidente. Sd: Stomatic density, AdEp: Adaxial surface epidermis, Ppt: Palisade parenchyma thickness, Spt: Spongy parenchyma thickness, Lbt: Leaf blade thickness, Nvb: Number of vascular bundles, Lxy: length Xylem, LPh: length Phloem, Wve: Horizontal thickness of the vascular bundle, Lve: Vertical thickness of vascular bundle, Nxyv: Number of xylem vessels, Cvt: Central vein thickness. ....97

Tabela 2: Variáveis anatômicas caulinares de *Piper arboreum*, *Piper tuberculatum* e *Piper nigrum* submetidos a diferentes níveis de radiação solar incidente. Ep: Epidermis, Co: collenchyma, LXy: length Xylem, LPh: length Phloem, Wve: Width of vase element, Lve: Length of vase element, Htv: Horizontal thickness of the vascular bundle, Vtv: Vertical thickness of vascular bundle, Nxyv: Number of xylem vessels, Xyd: xylem vessel diameter. ....98

Tabela 3: Variáveis anatômicas radiculares de *Piper arboreum*, *Piper tuberculatum* e *Piper nigrum* submetidos a diferentes níveis de radiação solar incidente. Lxy: Length Xylem, Lph: Length Phloem, Nxyv: Number of xylem vessels, Xyd: Xylem vessel diameter, Ct: Cortex thickness, Vct: Vascular cylinder thickness, Pt: Periderm thickness, Vca: Vascular cylinder area..... 99

## SUMARIO

1. INTRODUÇÃO GERAL.....	20
2. OBJETIVO GERAL .....	23
3. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	23
4. REFERÊNCIAS.....	25
CAPITULO 1 – COMO ESPÉCIES SELVAGENS E CULTIVADAS DO GÊNERO <i>Piper</i> RESPONDEM A DIFERENTES NÍVEIS DE RADIAÇÃO SOLAR INCIDENTE?.....	
RESUMO .....	28
1. INTRODUÇÃO.....	29
2. METODOLOGIA .....	30
2.1 Material vegetal e condições de cultivo.....	32
2.2 Análises de crescimento e alocação de biomassa.....	33
2.3 Teor de óleo essencial .....	34
2.4 Análise de dados .....	34
3. RESULTADOS.....	35
3.1 Crescimento e alocação de biomassa .....	35
3.2 Teor de óleo essencial .....	37
3.3 Análise multivariada dos dados de crescimento (PCA).....	37
4. DISCUSSÃO.....	38
REFERÊNCIAS.....	42
CAPITULO 2 – EFICIÊNCIA DO APARATO FOTOSSINTÉTICO DE ESPÉCIES DO GÊNERO <i>Piper</i> EM FUNÇÃO DE NÍVEIS DE RADIAÇÃO SOLAR INCIDENTE.....	
RESUMO .....	51
1. INTRODUÇÃO.....	52
2. METODOLOGIA .....	53
2.1 Material vegetal e condições de cultivo.....	55
2.2 Análise da fluorescência da clorofila “a”.....	56
2.3 Pigmentos fotossintéticos .....	57
2.4 Análise de dados .....	57
3. RESULTADOS.....	57
3.1 Fluorescência da clorofila “a”.....	57

3.2 Pigmentos fotossintéticos .....	60
4. DISCUSSÃO.....	61
5. CONCLUSÃO .....	65
REFERÊNCIAS.....	66
CAPITULO 3 – PAPEL DAS ALTERAÇÕES ANATÔMICAS NO DESEMPENHO FISIOLÓGICO EM ESPÉCIES DE <i>Piper</i> CULTIVADAS SOB DIFERENTES INTENSIDADES DE RADIAÇÃO SOLAR INCIDENTE.....	
RESUMO .....	77
1. INTRODUÇÃO.....	78
2. METODOLOGIA .....	79
2.1 Material vegetal e condições de cultivo.....	82
2.2 Trocas gasosas foliares .....	83
2.2.1 Curvas de resposta a luz .....	83
2.3 Potencial hídrico foliar ( $\Psi_w$ ).....	83
2.4 Análises anatômicas .....	83
2.5 Análise de dados .....	85
3. RESULTADOS.....	85
3.1 Anatomia.....	85
3.2 Análise das componentes principais (PCA) dos dados ecofisiológicos e anatômicos.....	89
4. DISCUSSÃO.....	90
5. CONCLUSÃO .....	92
REFERÊNCIAS.....	93

## 1. INTRODUÇÃO GERAL

A família *Piperaceae* é um clado basal entre as angiospermas, são encontradas em regiões tropicais e subtropicais (ARAÚJO *et al.*, 2018). No Brasil são encontrados quatro gêneros com cerca de 464 espécies (GUIMARÃES *et al.*, 2015). A família é caracterizada pelo hábito herbáceo, arbustivo ou arvoretas possuindo folhas com filotaxia, forma e consistência variadas (GUIMARÃES *et al.*, 2006). Essas plantas se desenvolvem preferencialmente em matas úmidas, principalmente em locais sombreados e habitando diversos estratos da floresta, particularmente na Mata Atlântica (ARAÚJO, 2011).

Dentro da família o gênero *Piper* L. se destaca por possuir o maior número de espécies, com cerca de 2000 espécies registradas em todo o mundo (ARAÚJO, *et al.*, 2018). No Brasil ocorrem cerca de 294 espécies de *Piper* distribuídas por todo país, e a maior riqueza de representantes são encontradas na Mata Atlântica e Amazônia (GUIMARÃES *et al.*, 2017).

*Piper* é reconhecido por produzir metabólitos secundários Ríos–Ríos *et al.* (2019), por isso é utilizado numa infinidade de aplicações nas indústrias farmacêuticas, cosméticas e na agroindustrialização (RODRIGUES *et al.*, 2017). Os compostos dessas plantas atuam em atividades biológicas, como anticâncer, anti-inflamatório, antimicrobianos, antioxidantes e inseticidas (ARAÚJO *et al.*, 2018; RÍOS–RÍOS *et al.*, 2019).

As espécies *Piper tuberculatum* Jacq. e *Piper arboreum* Aubl., tem suas folhas comercializadas como fitoterápicos. *P. tuberculatum* apresenta comprovada ação bactericida (GONÇALVES *et al.*, 2016), inseticida (CELESTINO *et al.*, 2016), citotóxica, antitumoral, sedativa, analgésica e ansiolítica (BARROS *et al.*, 2018). *P. arboreum* apresenta atividades antileishmaniose, trypanocida e antifúngica, fungicida (SOUZA *et al.*, 2019), moluscida, citotóxica, inseticida, fungicida e antimicrobiana (SILVA *et al.*, 2014). Além da sua aplicação na medicina, ambas as espécies apresentam resistência à patógenos que acometem o sistema radicular da pimenteira do reino (*Piper nigrum* L.) (ALBUQUERQUE *et al.* 2001), sendo recomendadas como porta enxertos.

Além disso, *Piper nigrum* L., conhecida internacionalmente como *black pepper* (pimenta preta), se destaca dentro do gênero por ser a mais importante especiaria comercializada mundialmente, sendo usada em larga escala como condimento (GEORGE *et al.*, 2017).

A cultivar Panniyur 1, no Brasil registrada como 'Bragantina', é o principal genótipo da pimenteira-do-reino cultivado em todo o mundo e desde que foi introduzida no Brasil em 1966, foi melhorada para ser cultivada a pleno sol, sendo esperado que apresente pouca plasticidade em função da radiação incidente. Contudo, as espécies selvagens de *Piper* ocorrem naturalmente em matas úmidas, principalmente em locais sombreados particularmente na Mata Atlântica e Amazônia (Araújo *et al.*, 2011), no entanto, também são encontradas em restingas, áreas degradadas e até mesmo no cerrado, ambientes, indicando haver plasticidade fenotípica no gênero. As duas espécies selvagens de importância medicinal (*P. tuberculatum* e *P. arboreum*), são encontradas em ambientes distintos na condição natural, podendo ser avaliadas como modelos de plasticidade.

Na maior parte dos plantios, *P. nigrum* é cultivada a pleno sol, onde apresenta maior produtividade (RODRIGUES *et al.*, 2017). No entanto, sistemas de cultivo como o uso de tutores vivos e consórcios (MENEZES *et al.*, 2013), proporcionam um certo grau de sombreamento, que deve ser manejado, para não reduzir a produtividade. Por outro lado, as espécies nativas do gênero *Piper* são encontradas em diversos ambientes, desde áreas antropizadas ao interior de matas. Sarnaglia Junior *et al.* (2014) relata a presença de *P. tuberculatum* e *P. arboreum* em áreas degradadas, clareiras, em sub-bosque e preferencialmente em florestas com muita umidade.

A luz é fonte primária de energia ligada ao processo de fotossíntese junto com fenômenos genéticos influenciam o crescimento e o desenvolvimento dos vegetais. Contudo, a resposta gênica pode variar muito entre as espécies dependendo da sua capacidade de aclimação e a dependência da quantidade ou qualidade da luz (LIMA *et al.*, 2008). O desempenho fisiológico de várias espécies de plantas está diretamente ligado a quantidade de luz recebida. A luz tem extrema importância para o crescimento e desenvolvimento das plantas, não apenas por fornecer energia para a fotossíntese, mas por gerar alguns sinais que regulam seu desenvolvimento. Com isso, mudanças nos níveis de luz, aos quais a planta está

adaptada, podem acarretar diferentes respostas fisiológicas nas suas funções e características bioquímicas, de crescimento e anatômicas.

As plantas usam sinalizadores para promover alguns padrões de crescimento e desenvolvimento, esses sinalizadores respondem à qualidade e intensidade de luz recebida pela planta (TAIZ; ZEIGER, 2013), se desenvolvendo sob uma região limitada no espectro de luz visível e exibindo morfologia e fisiologia estimuladas pelas variações decorrentes neste espectro (ESKINS; BEREMAND, 1990).

A luz, assim como outros fatores que influenciam o desenvolvimento e o crescimento de uma planta, afeta a expansão foliar e a estrutura anatômica interna e externa das folhas, podendo causar danos a seu crescimento ou até mesmo danos a produção de metabólicos, como por exemplo, a produção de óleos essenciais. As modificações que as plantas apresentam quando sofrem variação da disponibilidade e qualidade de luz costuma envolver modificações nas características foliares relacionadas à fotossíntese e seus pigmentos fotossintéticos clorofila “a/b”, espessura da folha, teor de nitrogênio, densidade estomática, e modificações nas proporções de tecidos fotossintetizantes quando comparados aos não fotossintetizantes, isso ocasiona mudanças na distribuição de biomassa (NAKAZONO *et al.*, 2001). A presença ou ausência da luz causa alto grau de plasticidade morfológica e fisiológica.

A plasticidade fenotípica é a habilidade de uma espécie se modificar, adquirindo fenótipos sob condições ambientais variáveis e distintas (PERERA-CASTRO *et al.*, 2017). Ter plasticidade é de extrema importância para a espécie, pois elas se ajustam à disponibilidade de recursos e a variação espacial em que estão localizadas. Plantas que crescem em ambientes sombreados investem em biomassa da parte aérea e também possuem folhas finas para otimizar a captura de luz. Já as plantas crescidas sob alta incidência solar alocam menos biomassa na parte aérea e mais nas raízes, isso para captar água e nutrientes para suprir as altas taxas de transpiração (YUAN *et al.*, 2016).

A dependência à luz das plantas é um processo que envolve de modo combinado os fotorreceptores que controlam estágios variados no desenvolvimento

(OREN SHAMIR *et al.*, 2001). São conhecidos três tipos de fotorreceptores: criptocromos e fototropinas, absorvem a luz em regiões de azul e ultravioleta. Já os fitocromos, absorvem a luz nas regiões do vermelho e do vermelho distante. Os mecanismos exercidos pelos fotorreceptores que regulam as respostas emitidas pelas plantas ainda são pouco estudados (TAIZ; ZEIGER, 2013).

A exposição à alguns fatores ambientes como a presença e a qualidade da luz podem causar mudanças nas plantas e selecionar características essenciais para a sobrevivência da mesma. Mudanças essas que ocorrem principalmente no tamanho da lâmina foliar, que ocasiona uma menor produção de massa fresca e seca. Alterando o número e a espessuras das camadas da epiderme e modificando a distribuição dos estômatos. Além das mudanças causadas na anatomia foliar, a presença ou falta de luz também pode causar mudanças na anatomia do caule, aumentando ou diminuindo o número de feixes vasculares, espessura e número de camadas do córtex, colênquima e esclerênquima (GOULART; MARCATI., 2008). Tais alterações anatômicas influenciam diretamente o comportamento fisiológico das plantas, principalmente fotossíntese, condutância estomática, transpiração, eficiência do uso da água e potencial hídrico foliar.

## **2. OBJETIVO GERAL**

Assim, visando compreender a plasticidade das espécies do gênero *Piper* em função de diferentes ambientes de radiação solar incidente, objetivou-se com este estudo, avaliar as alterações no crescimento, teor de óleo essencial, pigmentos fotossintéticos, anatomia, na fluorescência transiente da clorofila “a” e nas trocas gasosas em espécies selvagens de importância medicinal, encontradas em ambientes distintos na condição natural (*Piper tuberculatum* Jacq. e *Piper arboreum*) e a cultivar de pimenteira do reino mais conhecida em todo o mundo, ‘Bragantina’ (‘Panniyur 1’).

## **3. OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Avaliar o crescimento e a alocação de biomassa das plantas.
- Caracterizar a fluorescência da clorofila “a” e as trocas gasosas.

- Quantificar o teor de óleo essencial das folhas, caule e raiz.
- Avaliar os teores de clorofila “a”, “b” e total e de carotenóides, bem como o índice SPAD.
- Caracterizar a anatomia foliar, caulinar e radicular das espécies de *Piper* cultivadas em diferentes níveis de radiação solar incidente.

#### 4. REFERÊNCIAS

AIBUQUERQUE, F.C; DUARTE, M.L.R; BENCHIMOL, R.L; ENDO, T. Resistência de piperáceas nativas da Amazônia à infecção causada por *Nectria haematococca* f. sp. *piperis*. *Acta Amazonica*, Manaus, v. 31, p. 341-348, 2001. Disponível em: [http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0044-59672001000300341&script=sci\\_abstract&tlng=pt](http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0044-59672001000300341&script=sci_abstract&tlng=pt) Acessado em: 14/11/2019

ARAUJO, C. A; CAMARA, C. A. G; MORAES, M. M; VASCONCELOS, G. José N; PEREIRA, M. R. S; ZARTMAN, C. E. Primeiro registro da composição química do óleo essencial de *Piper bellidifolium*, *Piper durilignum*, *Piper acutilimum* e *Piper consanguineum* da floresta amazônica brasileira. *Acta Amazonica*, Manaus, v. 48, n. 4, p. 330-337, 2018. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/1809-4392201800771> Acessado em: 20/11/2019

ARAÚJO, M.S; MIGUEL, J. R; JASCONE, C.E.S. O gênero *Piper* L. (Piperaceae) no Parque Natural Municipal da Taquara, Duque de Caxias, RJ, Brasil. *Saúde & Ambiente em Revista*, v. 6, n. 2, p. 1-21, 2011. Disponível em: <http://publicacoes.unigranrio.edu.br/index.php/sare/article/view/1564> Acessado em: 17/11/2019

BARROS, A. C. V., ALMEIDA, K. P. C., CAVALCANTE, F. S. A., LIMA, R. A., & de ARAÚJO PANTOJA, T. M. Prospecção fitoquímica do extrato vegetal de *Piper tuberculatum* JACQ. (PIPERACEAE) e seu potencial antimicrobiano. *Ciência & Desenvolvimento*, v. 11, n. 2, p. 316-334, 2018. Disponível em: <http://srv02.fainor.com.br/revista/index.php/memorias/article/view/752/416> Acessado em: 20/12/2019

CELESTINO, C. O; RIBEIRO VARÃO, C. A; VELUDO, H. H; BRAGA, A. G; LIMA, R. A. Ação inseticida do extrato de *Piper tuberculatum* (Jacq.). *South American Journal of Basic Education, Technical and Technological*, v. 3, n. 2, 2016. Disponível em: <https://periodicos.ufac.br/index.php/SAJEBTT/article/view/615> Acessado em: 15/11/2019

ESKINS, K; BEREMAND, P. Light-quality irradiance-level control of lightharvesting complex of photosystem 2 in maize mesophyll cells. Evidence for a low fluence rate threshold in blue -light reduction of mRNA and protein. *Physiologia Plantarum*, Copenhagen, v. 78, n. 3, p. 435-440, 1990. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1399-3054.1990.tb09060.x> Acessado em: 17/12/2019

GEORGE, K. J; MALIK, N; KUMAR, V; KRISHNAMURTH, K.S. Gene expression analysis in drought tolerant and susceptible black pepper (*Piper nigrum* L.) in response to water deficit stress. *Acta physiologiae plantarum*, v.39, n.4, p. 39-104, 2017. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s11738-017-2398-5> Acessado em: 10/01/2020

GONÇALVES, A. P. S; LIMA, R. A. Identificação das classes de metabólitos secundários do extrato etanólico de *Piper tuberculatum* Jacq. *South American Journal of Basic Education, Technical and Technological*. v. 3, n. 2, 12-21 2016.

Disponível em: <https://periodicos.ufac.br/index.php/SAJEBTT/article/view/467>  
Acessado em:13/11/2019

GOULART, S. L. M; CARMEN, R. Anatomia comparada do lenho em raiz e caule de *Lippia salviifolia* Cham. (Verbenaceae). Revista brasileira de botânica, São Paulo, v.31, n.2, p.263-275, 2008. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-84042008000200009> Acessado em: 15/11/2019

GUIMARÃES, E. F & MONTEIRO, D. Piperaceae na reserva biológica de poço das antas, Rio de Janeiro, Brasil. Rodriguésia, v. 57 n.3, p. 569-589. 2006. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/2175-7860200657312> Acessado em: 14/10/2019

GUIMARÃES, E. F; CARVALHO-SILVA, M; MONTEIRO, D; MEDEIROS, E. S.; QUEIROZ, G.A. Piperaceae in Lista de Espécies da Flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. 2015. Disponível em: <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB12748> Acessado em: 22/10/2019

GUIMARÃES, E.F; CARVALHO-SILVA, M; MONTEIRO, D; MEDEIROS, E. “Lista de espécies da flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro”. 2017. Disponível em: <http://floradobrasil.jbrj.gov.br> Acessado em: 20/10/2019

LIMA, J. D.; SILVA, B. M. S; MORAES, Wilson S; DANTAS, V. A. VALENTE; ALMEIDA, C. C. Efeitos da luminosidade no crescimento de mudas de *Caesalpinia férrea* Mart. ex Tul. (Leguminosae, Caesalpinoideae). Acta Amazônica, Manaus. v. 38 n. 1, p.5-10, 2008. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/S0044-59672008000100002> Acessado em: 09/10/2019

MENEZES, A. J. E. A.; HOMMA, A. K. O.; ISHISUKA, Y.; KODAMA, N. R.; KODAMA, E. E. Gliricídia como tutor vivo para pimenteira-do-reino. Belém: Embrapa Amazônia Oriental, v. 8, n. 16, 33p, 2013. Disponível em: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/979493/1/DOC393.pdf>  
Acessado em:11/11/2019

MICHAL, O.S; EUGENE, G; ELIEZER, S; ADA, N.L; KIRA, R; RINAT, O; YURI, G; YOSEPHA, S. Coloured shade nets can improve the yield and quality of green decorative branches of *Pittosporum variegatum*. The Journal of Horticultural Science and Biotechnology, Ashford, v. 76, p.353–361. 2001. Disponível em: [https://www.researchgate.net/publication/239766150\\_Colored\\_shade\\_nets\\_can\\_improve\\_the\\_yield\\_and\\_quality\\_of\\_green\\_decorative\\_branches\\_of\\_Pittosporum\\_variegatum](https://www.researchgate.net/publication/239766150_Colored_shade_nets_can_improve_the_yield_and_quality_of_green_decorative_branches_of_Pittosporum_variegatum) Acessado em: 20/12/2019

NAKAZONO, E. M; COSTA, M. C; FUTATSUGI, K; PAULILO, Maria Terezinha Silveira. Crescimento inicial de *Euterpe edulis* Mart. em diferentes regimes de luz. Revista Brasileira de Botânica, São Paulo, v.24, n. 2, p.173-179. 2001. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/rbb/v24n2/a07v24n2.pdf> Acessado em: 05/01/2020

OREN-SHAMIR, M; GUSSAKOVSKY, E.E; SHPIEGEL, E; NISSIM-LEVI, A; RATNER, K; OVADIA, R; GILLER, Y.E; SHAHAK, Y. Coloured shade nets can improve the yield and quality of green decorative branches of *Pittosporum variegatum*. J. Hort. Sci. Biotech. v. 76, p. 353-361. 2001. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/14620316.2001.11511377> Acessado em: 18/12/2019

PERERA, C. A. V; BRITO, P; GONZÁLEZ, R. A. M. Light response in alpine species: different patterns of physiological plasticity. *Flora*, v. 234, p. 165–172. 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.flora.2017.07.007> Acessado em: 17/12/2019

RÍOS, A. M; S; SIQUEIRA, J. V; FERNANDES, J. V. M; BATISTA, D. S; SILVA, T. D; CHAGAS, K; PINHEIRO, M. V; FARIA, D. V; TONI, W. C; FERNANDES, S. A. Micropropagation of *Piper crassinervium*: an improved protocol for faster growth and augmented production of phenolic compounds. *Célula Vegetal, Tecidos e Cultura de Orgãos (PCTOC)*, v. 137, p. 495–509. 2019. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s11240-019-01585-8> Acessado em: 23/10/2019

RODRIGUES, S. M; POLTRONIERI, M. C; LEMOS, O. F. Comportamento de genótipos de pimenteira-do-reino cultivados em dois tipos de tutores. Embrapa Amazônia Oriental-Artigo em periódico indexado (ALICE), 2017. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/169349/1/EnciclopediaBiosfera-pimenta-do-reino-2017.pdf> Acessado em: 15/10/2019

SARNAGLIA JUNIOR, V.B; BERMUDEZ, G.M.M; GUIMARÃES, E.F. Diversidade de Piperaceae em um remanescente de Floresta Atlântica na região serrana do Espírito Santo, Brasil. *Biotemas*, v. 27, p. 49-57. 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.5007/2175-7925.2014v27n1p49> Acessado em: 14/10/2019

SILVA, J. A; OLIVEIRA, F. F; GUEDES, E. S; BITTENCOURT, M.A. L; OLIVEIRA, R.A. Atividade antioxidante de *Piper arboreum*, *Piper dilatatum* e *Piper divaricam*. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, v. 16, p. 700–706. 2014. Disponível em: [http://dx.doi.org/10.1590/1983-084x/13\\_097](http://dx.doi.org/10.1590/1983-084x/13_097) Acessado em: 15/10/2019

SOUZA, J. A.; SILVA R. J. E; FARIAS R. J. P; SOUSA, W. H; ARAÚJO, J. S; LIMA, G. F. C; DIAS, J. A. Rendimento quântico e eficiência de uso da água de genótipos de palma forrageira no Semiárido brasileiro. *Archivos de zootecnia*, v. 68 n. 262, p. 268-273. 2019. Disponível em: [https://www.researchgate.net/publication/332717626\\_Rendimento\\_quantico\\_e\\_eficiencia\\_de\\_uso\\_da\\_agua\\_de\\_genotipos\\_de\\_palma\\_forrageira\\_no\\_Semiarido\\_brasileiro](https://www.researchgate.net/publication/332717626_Rendimento_quantico_e_eficiencia_de_uso_da_agua_de_genotipos_de_palma_forrageira_no_Semiarido_brasileiro) Acessado em: 10/10/2019

TAIZ, Lincoln; ZEIGER, Eduardo. *Fisiologia Vegetal*. Porto Alegre, RS: Artmed, 5. Ed. 2013. 719p.

YUAN, C.M; WU, T; GENG, Y.F; CHAI, Y; HAO, J.B. Phenotypic plasticity of lianas in response to altered light environment. *Ecological Research*, v. 31, n. 3, p. 375–384. 2016. Disponível em: [https://www.researchgate.net/publication/301568029\\_Phenotypic\\_plasticity\\_of\\_lianas\\_in\\_response\\_to\\_altered\\_light\\_environment](https://www.researchgate.net/publication/301568029_Phenotypic_plasticity_of_lianas_in_response_to_altered_light_environment) Acessado em: 07/11/2019

CAPITULO 1 – Como espécies selvagens e cultivadas do gênero *Piper* respondem a diferentes níveis de radiação solar incidente?

**Apresentado nas normas da revista: Environmental and Experimental Botany.**

The image shows the homepage of the journal 'Environmental and Experimental Botany'. The header is green with the journal title in white. Below the title, it says 'Supports open access'. The main content is divided into four columns:

- Journal Cover and Metrics:** Features the journal cover on the left. To its right, the CiteScore is 4.45 and the Impact Factor is 3.712.
- Explore journal content:** A list of navigation options: Latest issue, Articles in press, Article collections, and All issues, each with a right-pointing arrow icon.
- Latest issues:** A list of recent issues: Volume 172 (In progress (April 2020)), Volume 171 (March 2020), Volume 170 (February 2020), and Volume 169 (January 2020).
- Find out more:** A list of links: Submit your article (highlighted in a blue button), Guide for authors, and About the journal, each with a right-pointing arrow icon.

## Como espécies selvagens e cultivadas do gênero *Piper* respondem a diferentes níveis de radiação solar incidente?

Basílio Cerri Neto<sup>a</sup>, Antelmo Ralph Falqueto<sup>a</sup>, Sara Dousseau Arantes<sup>b,c</sup>, Rizia Joyce costa<sup>c</sup>, Thayanne Rangel Ferreira<sup>b</sup>, Lucio de Oliveira Arantes<sup>c</sup>, José Altino Machado Filho<sup>c</sup>

<sup>a</sup> Departamento de Ciências Biológicas, Centro de Ciências Humanas e Naturais, Universidade Federal do Espírito Santo, Avenida Fernando Ferrari, 514, Goiabeiras, CEP 29075-910, Vitória, Espírito Santo, Brazil.

<sup>b</sup> Departamento de Ciências Agrárias e Biológicas, Centro Universitário Norte do Espírito Santo, Universidade Federal do Espírito Santo, BR101 Norte, Km. 60, Bairro Litorâneo, CEP 29932-540, São Mateus, Espírito Santo, Brazil.

<sup>c</sup> Instituto Capixaba de Pesquisa, Assistência Técnica e Extensão Rural, BR 101N, km 151, Linhares, Caixa postal 62, Espírito Santo, Brazil.

### Resumo

O gênero *Piper* possui grande importância econômica, tendo em vista que engloba a pimenteira-do-reino, que produz o condimento mais consumido em todo o mundo, além das espécies selvagens, que produzem óleo essencial com potencial medicinal, tendo ação inseticida, antimicrobiana, antioxidante e antineoplásica. O ambiente no qual as plantas se desenvolvem são determinantes no desenvolvimento, influenciando diretamente na produção de óleos essenciais. Com o objetivo de avaliar os níveis de plasticidade e o teor de óleos essenciais de espécies selvagens e cultivadas do gênero *Piper* em função da radiação solar incidente, foi utilizada como modelo duas espécies selvagens de importância medicinal, encontradas em ambientes distintos na condição natural (*Piper tuberculatum* Jacq. e *Piper arboreum* Aub.) e a cultivar de pimenteira do reino (*Piper nigrum* L.) mais conhecida em todo o mundo, 'Bragantina' ('Panniyur 1'). As mudas das espécies selvagens foram obtidas via seminal e da pimenteira-do-reino, por estaquia, sendo transplantadas para vasos de 5 litros e aclimadas por 30 dias em viveiro com 50% de radiação solar incidente. Após este período, as plantas foram expostas aos diferentes ambientes de luz (100%, 50% e 20% de radiação). Após seis meses foi avaliado o crescimento, alocação de biomassa e teor de óleo essencial. Os dados foram submetidos à análise de variância e as medias agrupadas pelo teste de Scott Knott ( $p \leq 0,05$ ). Foi realizada análise de componentes principais (PCA) e para o cálculo de similaridade foi obtida uma matriz utilizando-se a distância euclidiana e o agrupamento realizado com base no método de UPGMA. As três espécies, quando cultivadas a 100% de radiação solar incidente apresentaram maior investimento no sistema radicular, aumentando o comprimento, volume, número de raízes e massa seca. Entretanto as que foram crescidas com baixa radiação solar incidente investiram em parte aérea, aumentando a área foliar, o comprimento do caule e o número de folhas. O maior teor de óleo essencial foi obtido nas raízes de *P. nigrum* cultivadas a 50% de radiação ( $1.59 \text{ g g}^{-1}$  MS). O teor de óleo essencial das folhas de *P. tuberculatum* foi aumentado no em 20% de radiação solar incidente, reduzido em *P. nigrum* e não influenciado na *P. arboreum*. Os caracteres que mais contribuíram para a formação dos grupos em resposta à radiação foram a densidade do tecido radicular e a intensidade de ramificações radiculares. Enquanto 50%

e 20% foram as foliares. *P. tuberculatum* foi a espécie que apresentou maior plasticidade, tendo a capacidade de modificar o crescimento e a alocação de massa quando cultivada nos diferentes ambientes. *P. nigrum* foi a espécie com menor plasticidade. Os resultados deste experimento comprovam a perda da plasticidade da espécie cultivada, sendo recomendado estudos de melhoramento para desenvolver genótipos mais tolerantes para o cultivo sombreado e estabelece que a *P. tuberculatum* pode ser utilizada como modelo de plasticidade.

**Palavras-chave:** Plasticidade fenotípica, óleo essencial, *Piper nigrum* L., *Piper tuberculatum* Jacq. *Piper arboreum* Aub.

## 1. Introdução

As espécies selvagens do gênero *Piper* têm sido mundialmente utilizadas na medicina popular devido a suas propriedades biológicas e farmacológicas (Araujo et al., 2019). Parte das espécies são aromáticas, produzindo elevados teores de óleos essenciais, que são utilizados para a produção de fármacos pela indústria farmacêutica (Cysne et al., 2005). Os óleos essenciais de *Piper tuberculatum* Jacq. e *Piper arboreum* Aub. apresentam grandes teores de fenilpropanóide dilapiol (Facundo et al. 2008), esse composto confere ao óleo efeito inseticida (Celestino et al., 2016). Possui também ação fungicida e antibacteriana (Souza et al., 2019; Gonçalves et al., 2016) e antioxidantes (Silva et al. 2014).

O gênero *Piper* também engloba a pimenteira-do-reino (*Piper nigrum* L.), condimento mais consumido em todo o mundo. O Brasil é o terceiro maior produtor de pimenta do reino, ficando em 2017 atrás apenas do Vietnã e da Indonésia e superando a produção da Índia (FAO, 2019). Além da sua importância para a agricultura, a pimenta do reino tem também papel fundamental na produção de fármacos, sendo utilizadas contra agentes patogênicos como bactérias, vírus e fungos (Ahmad et al., 2012). Os óleos essenciais de *P. nigrum* apresentam compostos antioxidantes naturais, que tem potencial para a prevenção de inflamações e ao câncer (Ahmad et al., 2012).

A luz está ligada diretamente à fotossíntese e sua intensidade pode alterar o metabolismo e crescimento das plantas (Lenhard et al., 2013). Variações na qualidade e na intensidade de radiação incidente influenciam muito o crescimento e desenvolvimento da planta (Dalmolin et al., 2015). Vários mecanismos permitem que as plantas mantenham um balanço entre a energia absorvida pela luz e a sua utilização através da fixação de carbono durante a fotossíntese (Santos et al., 2014). Tanto o excesso quanto a falta de luz afetam severamente o crescimento. Em determinadas condições ambientais, a luz absorvida é superior à

capacidade que a planta tem para utilizá-la, causando um desequilíbrio que pode levar à fotoinibição (Souza et al., 2016). Por outro lado, em condições de pouca luz incidente, a deficiência de luz pode levar a escassez energética e a repressão da fotomorfogênese (Carvalho et al. 2011).

Espécies que toleram a sombra, germinam, crescem e sobrevivem com pouca luz, já espécies que demandam de mais luz precisam de altos níveis de radiação solar para se estabelecer (Yuan et al.,2016). Esses dois grupos se mostram diferentes quando há uma alteração no ambiente luminoso, onde as espécies que necessitam de mais luz apresentam uma maior plasticidade, no crescimento, fisiologia e morfologia do que as plantas que toleram o sombreamento, isso ocorre devido a elas estarem adaptadas ao crescimento em ambiente mais variáveis em termos de radiação incidente (Yuan et al.,2016).

A plasticidade fenotípica é a habilidade de uma espécie se modificar, adquirindo fenótipos sob condições ambientais variáveis e distintas (Perera- Castro et al., 2017). Ter plasticidade é de extrema importância para a espécie, pois elas se ajustam à disponibilidade de recursos e a variação espacial em que estão localizadas. Plantas que crescem em ambientes sombreados investem em biomassa da parte aérea e também possuem folhas finas para otimizar a captura de luz. Já as plantas crescidas sob alta incidência solar alocam menos biomassa na parte aérea e mais nas raízes, isso para captar água e nutrientes para suprir as altas taxas de transpiração (Yuan et al.,2016).

Espécies selvagens mostram uma diversidade muito grande de respostas à luz incidente, principalmente em seu desenvolvimento vegetativo (Dalmolin et al., 2015). Por outro lado, as espécies cultivadas, como a pimenteira-do-reino, são condicionadas pelo processo de melhoramento genético a crescerem melhor em um determinado ambiente, nesse caso a pleno sol (Rodrigues et al., 2017), isso ocorre, pois o processo de melhoramento acaba retirando das plantas sua plasticidade uma vez que seleciona plantas com maior estabilidade fenotípica (Long et al., 2015).

Com o aumento na produção mundial de pimenta-do-reino, outros sistemas de cultivo vêm sendo utilizados para otimizar a produção e aumentar a sustentabilidade das lavouras. Dentre as práticas sustentáveis crescentes no Brasil, destaca-se o uso de tutores vivos, como a gliricídia, pois dispensa o uso de estações de madeira, reduzindo os custos da implantação da lavoura, diminuindo os impactos ambientais e aumentando a longevidade dos plantios (Menezes et al., 2013). No entanto, o uso de tutor vivo condiciona as plantas à condições

de sombreamento, sendo desconhecidos as respostas da pimenteira-do-reino perante o sombreamento.

Além disso, como crescimento vegetativo pode ser altamente influenciado pela luz incidente, isso acaba influenciando no teor de óleo essencial, pois a produção destes metabólitos está diretamente relacionada com a presença de estruturas secretoras, como os idioblastos oleíferos e tricomas e, a densidade dessas estruturas está ligada a alocação de biomassa da planta (Jacinto et al., 2018).

A cultivar Panniyur 1, no Brail registrada como ‘Bragantina’, é o principal genótipo da pimenteira-do-reino cultivado em todo o mundo e desde que foi introduzida no Brasil em 1966, foi melhorada para ser cultivada a pleno sol, sendo esperado que apresente pouca plasticidade em função da radiação incidente. As espécies selvagens de *Piper* ocorrem naturalmente em matas úmidas, principalmente em locais sombreados particularmente na Mata Atlântica e Amazônia (Araújo, 2011), contudo, também são encontradas em restingas, áreas degradadas e até mesmo no cerrado, ambientes, indicando haver plasticidade fenotípica no gênero. As duas espécies selvagens de importância medicinal (*Piper tuberculatum* Jacq. e *Piper arboreum*), são encontradas em ambientes distintos na condição natural, podendo ser avaliadas como modelos de plasticidade. Principalmente *P. tuberculatum* que se mostra mais vigorosa do que *P. arboreum*, por ser encontrada em locais distintos, além de apresentar alto vigor germinativo, reprodutivo e vegetativo.

Com o objetivo de avaliar os níveis de plasticidade e o teor de óleos essenciais de espécies selvagens e cultivadas em função da radiação solar incidente, foram utilizadas como modelos, duas espécies selvagens de importância medicinal, encontradas em ambientes distintos na condição natural (*Piper tuberculatum* Jacq. e *Piper arboreum*) e a cultivar de pimenteira-do-reino mais conhecida em todo o mundo, ‘Bragantina’ (‘Panniyur 1’).

## **2. Metodologia**

### **2.1 Material vegetal e condições de cultivo**

O experimento foi conduzido entre julho de 2018 e janeiro de 2019, na Fazenda Experimental de Linhares, do Instituto Capixaba de Pesquisa, Assistência Técnica e Extensão Rural (Incaper), localizada a 19°25'00,1" S e 40°04'35,3" W, no município de Linhares, região Norte do estado do Espírito Santo. Durante o período da condução do

experimento foram obtidos os dados climáticos da estação meteorológica automática do Incaper, sendo os valores médios de temperatura máxima, mínima e média, precipitação e umidade relativa, 30.17°, 20.36°, 23.84°, 2.63 mm, 76.26 % respectivamente.

Foram utilizadas no experimento, duas espécies selvagens (*Piper tuberculatum* Jacq. e *Piper arboreum* Aubl.) e a *Piper nigrum* L cultivar Bragantina ('Panniyur 1'). Foram utilizados propágulos de plantas matrizes do Banco Ativo de Germoplasma (BAG) do Incaper. As mudas das espécies nativas foram obtidas via seminal, utilizando o protocolo proposto por Dousseau et al. (2011). Após 30 dias, as plântulas foram plantadas em bandeja de isopor com 200 células, contendo substrato Bioplant®, e mantidas em sala de crescimento por mais 60 dias. As mudas de *Piper nigrum* foram obtidas através da estaquia pelo método descrito por (George et al., 2017), utilizando tubete com capacidade para 280 cm<sup>3</sup> que foram preenchidos com substrato Bioplant® e três gramas de osmocote 5-6 meses por tubete.

Após a formação das mudas (90 dias da sementeira para espécies nativas e 60 dias após a estaquia para a pimenteira-do-reino), foi efetuado o transplantio para vasos de 5 litros, contendo substrato Bioplant® e 54 gramas de osmocote 5-6 meses por vaso. Foi adotado um padrão para a seleção das mudas, onde as nativas foram selecionadas com cinco pares de folha e a pimenteira do reino com comprimento médio de 30 cm de parte aérea. Essas foram mantidas para aclimação por 30 dias em viveiro com 50% de radiação solar incidente. Após este período, as plantas foram transferidas para os três ambientes (100% de radiação solar incidente ou pleno sol, 50% e 20% de radiação, utilizando-se tela de sombreamento Sombrit® preta) e mantidas por 6 meses.

O experimento foi instalado em delineamento inteiramente casualizado (DIC), em esquema fatorial (Ramalho et al., 2000) 3x3, sendo três espécies e três ambientes de luz, com a parcela constituída de uma única planta, totalizando dez plantas por ambiente, para cada espécie avaliada. As plantas foram irrigadas utilizando aspersores quatro vezes ao dia, 07:30, 11:30, 14:45 e 17:00, por 15 minutos.

## **2.2 Análises de crescimento e alocação de biomassa**

Ao final dos 6 meses de experimento as plantas foram avaliadas quanto ao comprimento do caule (CC) e comprimento da raiz (CR), determinados utilizando uma fita métrica e expresso em cm, diâmetro do caule (DC) em mm, medido com auxílio de um paquímetro digital, o número de folhas (NF) e número de raízes (NR) foram contados manualmente, área foliar (AF) foi determinada utilizando-se um medidor LI - COR 3100 e expresso em cm<sup>2</sup>, volume

de raiz (VR) feito a partir do deslocamento de água em proveta e expresso em  $\text{cm}^3$ , massa seca das folhas (MSF), caule (MSC), raiz (MSR), parte aérea (MSPA) e total (MST) foram secas em estufa de circulação forçada de ar a  $72^\circ\text{C}$ , para atingirem peso constante, após isso o material seco foi pesado em balança analítica, sendo os valores expresso em g.

A partir desses dados foram calculados: área foliar específica (AFE), área foliar unitária (AFU), massa foliar específica (MFE), razão de massa foliar (RMF), razão de massa caulinar (RMC), razão de massa radicular (RMR), comprimento específico da raiz (CER), densidade do tecido radicular (DTR), intensidade de ramificações radiculares (IRR), razão raiz/parte aérea (RPA), razão área foliar (RFA), de acordo com Hunt (1982), ao passo que o índice de robustez (SQ), índice de qualidade de Dickson (IQD) foram feitos de acordo com Dickson et al (1960).

### **2.3 Teor de óleo essencial**

Para a determinação do teor de óleo essencial, a planta foi dividida em folhas, caule e raiz, todos secos em estufa de circulação forçada de ar a  $40^\circ\text{C}$ , até atingirem peso constante. As amostras foram pulverizadas utilizando moinho de facas tipo Willye, modelo STAR FT-50. Foram utilizadas três repetições por tratamento, cada uma composta de três plantas. A extração foi feita utilizando hidrodestilação com aparelho Clevenger, com tempo de 2 horas. Para cada repetição foram utilizadas amostras de 100g de folha e caule e 70g de raiz, as referidas amostras foram colocadas para a extração junto a 1 litro de água destilada. Após o período de hidrodestilação, foi seguida a metodologia proposta por Pacheco et al. (2016), para a coleta e determinação do teor de óleo essencial, expresso em g de óleo por g de MS.

### **2.4 Análise de dados**

Os dados foram submetidos à análise de variância pelo programa estatístico Sisvar, versão 5.6, e as médias foram agrupadas pelo teste Scott Knott a 5% de probabilidade. Os dados também foram submetidos à análise de componentes principais (PCA) usando o software GENES. Foi realizada análise de componentes principais (PCA) e para o cálculo de similaridade foi obtida uma matriz utilizando-se a distância euclidiana e o agrupamento realizado com base no método de UPGMA (unweighted pair-group method with arithmetic means).

### 3. Resultados

#### 3.1 Crescimento e alocação de biomassa

Ocorreu interação significativa entre as espécies (*P. tuberculatum*, *P. arboreum* e *P. nigrum*) com os diferentes ambientes de radiação incidente (0%, 50% e 80%), (Tabela 1). Quando cultivadas com 0% de sombreamento, as massas secas de caule (MSC), raiz (MSR), parte aérea (MSPA), total (MST), razão de massa radicular (RMR), razão raiz/parte aérea (RPA) e o volume de raiz (VR) foram superiores em *P. tuberculatum*, seguida de *P. arboreum* e *P. nigrum*. A massa foliar específica (MFE) e razão de massa foliar (RMF) foram maiores em *P. nigrum* e *P. arboreum*, que não se diferiram. O comprimento específico da raiz (CER) se mostrou superior em *P. nigrum* nos três ambientes e não foi observada diferença significativa entre *P. arboreum* e *P. tuberculatum*. Não foi observada diferença para área foliar (AF), contudo, a massa seca das folhas (MSF) foi maior para *P. arboreum*, seguida pelas demais espécies (Tabela 1).

A MSC, MSR, MSPA, MST, AFE, MFE, CER, RPA, RMR e VR foram superiores em *P. tuberculatum* e não se diferiram em *P. arboreum* e *P. nigrum* quando cultivadas nos ambientes com menor radiação solar incidente (50% e 20%). Quando cultivadas com baixa radiação solar incidente (50% e 20%) *P. tuberculatum* apresentou a maior AF, ao contrário de *P. nigrum*, que mostrou valores reduzidos (Tabela 1).

Quanto à massa seca das folhas *P. tuberculatum* e *P. arboreum* apresentaram os maiores valores quando cultivadas a 50% de radiação, contudo, quando as plantas foram mantidas com 20% de radiação *P. tuberculatum* apresentou os maiores valores, seguida pelas demais espécies (Tabela 1). O índice de qualidade de dicksom (IQD) foi superior em *P. nigrum* independente do seu ambiente de cultivo, porém, a mesma não se diferiu de *P. arboreum* quando mantidas a 20% de radiação solar incidente.

Foi observada interação significativa entre os diferentes ambientes de radiação solar incidente (0%, 50% e 80%) com as espécies estudadas (*P. tuberculatum*, *P. arboreum* e *P. nigrum*) (Tabela 1). O cultivo de *P. arboreum* a pleno sol (100%) influenciou no incremento da MSF, MSC, MSR, MSPA e MST, também influenciou a AF, MFE, VR, RMR e RPA, seguida pelas plantas cultivadas a 50% e 20% de radiação incidente. Maiores valores de AFE, RMF, razão de área foliar (RAF), CER e IQD foram observados nas plantas mantidas

a 20% de radiação incidente e sofreram uma diminuição quando a luz incidente aumentava (50% e 100%).

Diferentes ambientes de radiação solar incidente promoveram alterações em *P. tuberculatum*, onde o VR, MSR, RMR, MFE e RPA foram superiores nas plantas mantidas a pleno sol (100%), seguida pelas mantidas a 50% e 20%. Já a massa seca do caule, parte aérea e a massa seca total foram superiores nos ambientes com maior radiação solar incidente (100% e 50%), não se diferenciando estatisticamente, apresentando menores valores quando cultivadas a 20% de radiação. A área foliar específica (AFE), RMF e RAF apresentaram maior incremento quando a espécie foi cultivada a 20% de radiação solar incidente, seguida pelas cultivadas a 50% e a 100%. A AF foi superior nos ambientes de 20% e 50% não havendo diferença significativa. A espécie não sofreu influência do ambiente na massa seca das folhas, CER e no IQD, esses não apresentaram diferenças significativas.

A massa seca total e a MFE foram superiores em *P. nigrum* quando cultivada a pleno sol (100%) e a 50% de radiação incidente, não havendo diferença significativa. A AFE, CER e RAF foram superiores no ambiente de 20% de radiação solar, seguido pelas mantidas a 50% e 100%. *P. nigrum* mostrou ser menos plástica do que as demais espécies, pois, a mesma não apresentou diferença significativa para as seguintes variáveis: VR, AF, massa seca do caule, raiz, parte aérea, total, RMF, RMR, RPA e IQD.

Para as variáveis que não apresentaram interação, o comprimento do caule (CC), diâmetro do caule (DC), número de folhas (NF), razão de massa caulinar (RMC), densidade do tecido radicular (DTR) apresentaram os maiores valores em *P. tuberculatum* (Tabela 2). O NR e o intensidade de ramificações radiculares (IRR) foram superiores em *P. arboreum*, seguida de *P. tuberculatum* e *P. nigrum* que não apresentaram diferenças significativas. *P. tuberculatum* e *P. nigrum* apresentaram o maior valor de comprimento da raiz (CR), não se diferenciando. A área foliar unitária (AFU) foi superior em *P. arboreum* e *P. nigrum*, que também não apresentaram diferença significativa (Tabela 2). *P. nigrum* apresentou o maior índice de robustez (SQ), seguida por *P. tuberculatum* e *P. arboreum*, que não se diferiram.

O CC foi superior no ambiente de 20% de radiação solar incidente e houve uma diminuição de acordo com o aumento da incidência de luz (50% e 100%), (Tabela 2). Os ambientes com incidência 100% e 50% de radiação solar provocaram um aumento considerável no DC, RMC e DTR. O CR e o IRR foram superiores em no ambiente de 100% de incidência luminosa. A AFU e o SQ foram superiores nos ambientes com menos incidência luminosa

(50% e 20%), não havendo diferença significativa entre eles (Tabela 2). Os ambientes não influenciaram o NF e o NR, não havendo diferenças significativas entre eles.

### 3.2 Teor de óleo essencial

Foi observada interação significativa para o teor de óleo essencial (Tabela 3). Não houve diferença significativa no teor de óleo entre as espécies e dos órgãos das plantas cultivadas a 100% de radiação incidente. O teor de óleo das folhas crescidas a 50% foi superior em *P. tuberculatum* e *P. nigrum*, não havendo diferença significativa entre elas (Tabela 3). Já para o caule o maior teor foi observado em *P. arboreum*, seguido pelas demais espécies que não apresentaram diferenças significativas. *P. nigrum* apresentou o maior teor de óleo nas raízes, as demais espécies não apresentaram diferenças significativas. Para as plantas que foram cultivadas sob 20% de radiação solar incidente, o teor de óleo das folhas foi superior em *P. tuberculatum*, *P. arboreum* e *P. nigrum* não mostraram diferenças significativas. O teor de óleo do caule e das raízes não se diferiu entre as espécies.

*P. arboreum* apresentou o maior teor de óleo essencial no caule quando cultivada com 50% de incidência de luz, folhas e raízes não se diferiram independentemente do ambiente de cultivo (Tabela 3). As folhas de *P. tuberculatum* apresentaram maior teor de óleo essencial quando cultivadas a 20% de radiação incidente, seguida pelas cultivadas a 50% e 100%. Não houve diferença significativa no teor de óleo do caule e raiz nos diferentes ambientes de cultivo. *P. nigrum* apresentou o maior teor de óleo nas folhas quando crescida sob 100% e 50% de radiação solar incidente, seguida pelas crescidas sob 20%. O maior teor de óleo das raízes foi observado nas plantas crescidas sob 50% de radiação, seguida pelas crescidas sob 100% e 20% de radiação solar. Não houve diferença significativa para o teor de óleo do caule nos diferentes ambientes de radiação solar incidente.

### 3.3 Análise multivariada dos dados de crescimento (PCA)

Para as variáveis analisadas, duas componentes principais (PC) explicaram 81,31% da variância dos dados, sendo 61,41% para a PC1 e 19,90% para a PC2 (Figura 1). A componente 1 (61,41%) foi responsável pela variação de MSR, MSC, MST, MSPA, DC, NF, AF, RMR, R:PA sendo DTR a variável com maior contribuição na variação da PC1.

Inversamente proporcional a essas, a PC1 também influenciou AFU, RFA, RMF e IQD. A componente 2 (19,90%) foi responsável pela variação do IRR, NR e CR.

Por meio da análise de agrupamento UPGMA, com base em 25 características de crescimento, pode-se observar a formação de cinco grupos, tornando por base o ponto de corte o critério utilizado foi o de Mojema com  $K1 = 5$  (Figura 2). Quanto aos grupos, foram eles: *P. tuberculatum* cultivada em 50% e 20%, *P. tuberculatum* cultivada a 100%, *P. arboreum* cultivada a 50% e 20%, *P. arboreum* cultivada a 100%. *P. nigrum* constituiu apenas um grupo, sendo ele formado pelos três ambientes de radiação solar incidente. Os caracteres que mais contribuíram para a formação dos grupos foram DTR e IRR.

#### 4. Discussão

Grande parte das plantas consegue se adaptar a diferentes intensidades de radiação solar, sendo a plasticidade fenotípica ligada à luz de extrema importância para a sobrevivência, estabelecimento e crescimento das plantas em ambientes heterogêneos e dinâmicos (Lima et al., 2010). De modo geral, o corpo da planta é codificado com base na sua composição genética, porém, algumas espécies conseguem modificar sua arquitetura para se ajustar ao ambiente em que estão inseridas. Com base nisso, a luz tem efeito profundo no crescimento e desenvolvimento das plantas, podendo afetar sua produção e a resistência à doenças (Krahmer et al., 2018).

O aumento da AF, AFE, AFU, RAF, RMF e CC nas plantas crescidas sob baixa intensidade de radiação incidente se dá devido a necessidade de maximizar e otimizar a captura de luz (Nakazono et al., 2001). O aumento na AF por unidade de massa, possibilita maior interceptação de fótons (Poorter & Ryser, 2015), conseqüentemente, resulta uma maior área de captura de luz por biomassa investida nas folhas, isto é aumento na AFE (Poorter et al., 2012), assim foi observado em *P. tuberculatum*. Este mecanismo aprimora a captura de luz e diminui a resistência à dessecação (Freschet et al., 2018). Plantas que apresentam uma maior AFE são mais tolerantes a ambientes com menor incidência de luz (Liu et al. 2016). Por outro lado, a RMR é inversamente proporcional ao aumento da AFE (Poorter et al., 2012) essa alteração também foi observada em *P. tuberculatum*.

A RAF cai conforme a radiação solar incidente aumenta, pois quanto maior a radiação incidente, menor será a área necessária para produzir massa seca (Benincasa, 2003). Segundo Magalhães (1979), a RAF representa a área foliar útil para a fotossíntese e a área foliar necessária para produzir 1g de massa seca.

A incidência de luz natural sofre variações durante o dia, com isso o CC e arquitetura da planta são relevantes para a captura de luz, pois esses alteram a distribuição da área foliar além das ramificações do caule, essas estratégias contribuem para aumentar a área de captura de luz em ambientes com restrição luminosa (Freschet et al., 2018).

Kwak et al., (2011), ambientes com maior incidência de radiação solar requer que a planta capture mais água e nutrientes para a conservação do processo fotossintético, com isso, aumentam a alocação de biomassa para as raízes, o CR e VR, e conseqüentemente, maiores razões de IRR, DTR, RMR e RPA. Além das plantas terem que capturar mais água, precisam investir em mecanismos para evitar a perda de água, reduzir a transpiração e aumentar a eficiência do uso da água, para isso aumentam as espessuras dos seus tecidos foliares e caulinares. Por isso o aumento da massa seca das folhas, caule, total, parte aérea, DC, RMC e MFE nas plantas cultivadas sob maior incidência solar (Poorter et al., 2011). Contudo, a menor CER observada nas plantas com menor intensidade de luz está associado a maior proporção de raízes finas, pois, as plantas menores dependem de menos raízes de transporte (Freschet et al., 2018).

Contudo, as plantas crescidas com pouca luz incidente, normalmente fixam menos carbono, transpiram menos, com isso apresentam maior reserva de biomassa para a parte aérea (caule e folhas) (Poorter et al., 2011). Esse aumento aliado à redução da massa de raiz afetou diretamente o incremento do IQD e o SQ das plantas cultivadas com menor radiação solar incidente, principalmente em *P. nigrum* (Melo et al., 2018).

O crescimento e a alocação de biomassa são controlados por meio do investimento em órgãos, buscando minimizar efeitos de um fator limitante (Poorter et al., 2011). A alocação de biomassa é uma medida de desempenho das plantas, por ser produto direto e final do crescimento. Portanto, a alteração na biomassa em diferentes condições de radiação solar incidente sugere se a espécie tem capacidade para tolerar o ambiente em que está (Liu et al. 2016).

Plantas que crescem em ambientes com menor incidência de luz, investem em biomassa da parte aérea e também possuem folhas finas para otimizar a captura de luz e para otimizar a difusão de CO<sub>2</sub>. Com isso há um aumento na eficiência do uso da água (A/E), pois a demanda respiratória da planta é menor (Ahemd et al., 2016). Entretanto plantas mantidas em ambiente com alta incidência solar investem menos no tamanho do limbo, aumentam a

espessura da folha e alocam mais biomassa nas raízes, isso para captar água e nutrientes para suprir as altas taxas de transpiração (Yuan et al., 2016).

As espécies nativas apresentam crescimento e ecologia diferente nos seus diversos estádios de desenvolvimento, e espécies que passaram por melhoramento genético perdem suas características ancestrais, por isso, além das alterações causadas pelos diferentes ambientes de radiação solar incidente, deve se levar em consideração a carga genética de cada espécie, que muitas vezes fala mais alto que as características ambientais (Golle et al. 2009). Dessa forma, o conhecimento da ecologia das mesmas é de extrema importância para entender os comportamentos de crescimento (Biz, et al., 2012).

A luz é um fator que influencia o teor de óleos essenciais, pois o desenvolvimento dos tricomas glandulares são processos dependentes de luz (Morais, 2009). A luz influencia de forma significativa a síntese e o teor de óleo essencial, tendo em vista que afeta diretamente a biossíntese de metabólitos secundários. Promovendo a síntese de compostos secundários que são antioxidantes, propiciando uma maior proteção em situações desfavoráveis (Nascimento et al., 2013).

O maior teor de óleo nas folhas de *P. tuberculatum* cultivada em 20% de radiação solar incidente podem estar relacionados à estratégia adaptativa de sobrevivência a um ambiente com baixa radiação solar (Pacheco et al., 2016). Pois o óleo pode ajudar a aumentar a área de contato da folha com luz, agindo como um prisma e dissipando a luz para todo o mesófilo. Isso pode ser consequência do aumento da área foliar e da massa (Martins et al., 2009).

O óleo essencial pode estar associado à defesa das plantas, seu aumento nas plantas sombreadas pode estar associado à diminuição da síntese de lignina em ambientes com pouca radiação solar incidente. Já as plantas crescidas sob alta intensidade de radiação solar, apresentam mais lignina na parede da célula, o que as confere proteção, sendo assim, um teor de óleo reduzido nesse ambiente (Guerra et al., 2015). Além disso, o aumento do teor de óleo nas plantas sombreadas pode estar associado à defesa contra patógenos, já que fungos crescem e se instalam com maior facilidade em locais com maior sombreamento, que consequentemente são mais úmidos. Isso pode explicar o aumento no teor de óleo nas raízes de *P. nigrum* cultivada em ambiente sombreado, podendo ser um mecanismo de defesa da espécie para evitar a contaminação pelo patógeno.

A formação dos cinco grupos foi influenciada pelos ambientes de cultivo, tendo em vista que os grupos são constituídos sempre pela mesma espécie cultivada em diferentes

ambientes. As variáveis que mais influenciaram para a formação dos grupos foram DTR, IRR, CR, MST e MSR. Essas variáveis influenciaram no isolamento de *P. tuberculatum* e *P. arboreum* mantida a 100%, tendo em vista que o cultivo com maior incidência de radiação solar induz o crescimento e acúmulo de biomassa no sistema radicular. Contudo, a formação dos grupos compostos por *P. tuberculatum* 50% e 20% e o grupo *P. arboreum* 50% e 20% foi influenciado por AFU, RAF, RMF, onde tais parâmetros foliares foram influenciados pela baixa radiação solar incidente. O agrupamento de *P. nigrum* cultivada nos três ambientes reforça que a mesma apresenta pouca plasticidade quando comparada com as espécies nativas. Isso confirma que o processo de melhoramento genético retira da planta sua capacidade de se ajustar a diferentes condições (Long et al. 2015).

## 5. Conclusão

As espécies *P. tuberculatum* e *P. arboreum* exibem respostas de crescimento, alocação de biomassa e teor de óleo essencial que garantem sua plasticidade quando cultivadas em diferentes ambientes de radiação solar incidente. Sob alta radiação incidente, as espécies selvagens investem em sistema radicular e sob baixa radiação solar incidente, investiram em folhas.

*P. nigrum* foi a espécie que menos apresentou alterações no crescimento e alocação de biomassa, mostrando ter pouca plasticidade. Contudo, apresentou o maior teor de óleo essencial nas raízes.

*P. tuberculatum* foi a espécie que apresentou maior plasticidade quando cultivada nos diferentes ambientes de radiação solar. Essas alterações foram no aumento de biomassa, aumentando o sistema radicular nas plantas crescidas em 100% e investindo em parte aérea quando crescida nos ambientes com menor intensidade de radiação.

Com base nos grupos formados no dendrograma, os resultados deste experimento comprovam a perda da plasticidade da espécie cultivada, sendo recomendado estudos de melhoramento para desenvolver genótipos mais tolerantes para o cultivo sombreado. Por fim, conclui-se que a *P. tuberculatum* pode ser utilizada como modelo de plasticidade.

## Referências

- Ahemd, H.A., Al-Faraj, A.A., Abdel-Ghany, A.M. Shading greenhouses to improve the microclimate, energy and water saving in hot regions: A review. *Sci. Hort.* v. 201, p. 36-45. 2016.
- Ahmad, N., Fazal, H., Abbasi, B. H., Farooq, S., Ali, M., Khan, M. A. Biological role of *Piper nigrum* L. (Black pepper): A review. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, v. 2, n. 3, p. 1945-1953, 2012.
- Araujo, C. A., da Camara, C. A., de Moraes, M. M., de Vasconcelos, G. J. N., Pereira, M. R., & Zartman, C. E. Chemical Compositions of Essential Oil of Piper Species from Atlantic Forest of Amazonia, Brazil. *Records of Natural Products*, v. 13, n. 4. p. 1-9, 2019.
- Araújo, M.S., MIGUEL, J. R., JASCONE, C.E.S. O gênero *Piper* L. (Piperaceae) no Parque Natural Municipal da Taquara, Duque de Caxias, RJ, Brasil. *Saúde & Ambiente em Revista*, v. 6, n. 2, p. 1-21, 2011.
- Benincasa, M. M. P. Análise de crescimento de plantas, noções básicas. FUNEP, Jaboticabal. 2 ed. 2003.
- Biz, S., Brito, N. M., Rego, G. M. S., AmaraL, I. M. G., Brun, E. J. Crescimento inicial em diâmetro de colo de espécies florestais nativas madeireiras plantadas em Dois Vizinhos-PR. In: CONGRESSO FLORESTAL PARANAENSE, 4., 2012, Curitiba. p.1-8. 2012.
- Carvalho, R.F., Campos M.L., Azevedo R.A. The role of phytochrome in stress tolerance. *Journal of Integrative Plant Biology*. v. 53 n. 12, p. 920-929. 2011.
- Celestino, C. O., Ribeiro Varão, C. A., Veludo, H. H., Braga, A. G., Lima, R. A. Ação inseticida do extrato de *piper tuberculatum* (jacq.). *South American Journal of Basic Education, Technical and Technological*, v. 3, n. 2, p. 3-9. 2016.
- Cysne, J. B., Canuto, K. M., Pessoa, O. D. L., Nunes, E. P., Silveira, E. R. Leaf essential oils of four *Piper* species from the State of Ceará – northeast of Brazil. *Journal of the Brazilian Chemical Society*. v. 16, p. 1378–1381. 2005.
- Dalmolin, A.C., Oliveira T.S.E., Almeida, B.C., Ortiz, C.E.R. Alterações morfofisiológicas de plantas jovens de *Curatella americana* L. submetidas ao sombreamento. *Revista Brasileira de Biociências*, v.13, p, 41-48, 2015.
- Dickson, A., Leaf, A. L., Hosner, J. F. Quality appraisal of white spruce and white pine seedling stock in nurseries. *Forestry Chronicle*, v.36, p.10-13, 1960.
- Dousseau, S., Alvarenga, A.A.D., Alves, E., Chaves, I.D.S., Souza, E.D.S., Alves, J.D.S. Physiological, morphological and biochemical characteristics of the sexual propagation of *Piper aduncum* (Piperaceae). *Rev Bras Bot* v. 34, p. 297–305. 2011.
- Facundo, V.A., Polli, A.R., Rodrigues, R.V., Militão, J.S.L.T., Stabelli, R.G., Cardoso, C.T. Constituintes químicos fixos e voláteis dos talos e frutos de *Piper tuberculatum* Jacq e das raízes de *Piper hispidum*. *Acta Amaz* v. 38, p. 743–748. 2008.
- FAO (United Nations Food and Agriculture Organization), 2019. The water–energy–food nexus a new approach in support of food security and sustainable agriculture, [http://www.fao.org/nr/water/docs/FAO\\_nexus\\_concept.pdf](http://www.fao.org/nr/water/docs/FAO_nexus_concept.pdf), (accessed on 20.04.19.).

- Freschet, G.T., Violle, C., Bourget, M.Y., Scherer-Lorenzen, M., Fort, F. Allocation, morphology, physiology, architecture: the multiple facets of plant above- and below-ground response to resource stress. *New Phytologist*. v. 219, p. 1338–1352. 2018.
- George, K.J., Malik, N., Kumar, I., V., Krishnamurthy, K., Gene expression analysis in drought tolerant and susceptible black pepper (*Piper nigrum* L.) in response to water deficit stress. *Acta Physiol Plant*. v. 39, p. 104. 2017.
- Golle, D.P., L.R.S Reiniger, A.R. Curti, CB Bevilacqua. Melhoria florestal: ênfase na aplicação da biotecnologia. *Ciência Rural* 39: 1607-1614. 2009.
- Gonçalves, A. P. S., Lima, R. A. Identificação das classes de metabólitos secundários do extrato etanólico de *Piper tuberculatum* JACQ. *South American Journal of Basic Education, Technical and Technological*, v. 3, n. 2, 21 dez. 2016.
- Guerra, A., Santos, L. S., Gonçalves, L. G., Medri, C. Morfoanatomia de folhas de sol e de sombra de *Handroanthus chrysotrichus* (Mart. ex DC.) Mattos (Bignoniaceae). *Revista de Saúde e Biologia*, v.10, n.1, p.59-71. 2015.
- Hunt, R. *Plant growth curves: the functional approach to plant growth analysis*. London: Edward Arnold Publishers, 1982.
- Jacinto, A. C. P., Souza, L. P. D., Nakamura, A. T., Carvalho, F. J., Simão, E., Zocoler, J. L., & Bergo, C. L. Idioblasts formation and essential oil production in irrigated *Piper aduncum*. *Pesquisa Agropecuária Tropical*, 48(4), 447-452. 2018.
- Krahmer, J., Ganpudi, A., Abbas, A., Romanowski, A., Halliday, K.J. Phytochrome, carbon sensing, metabolism, and plant growth plasticity. *Plant Physiol* 176: 1039–1048. 2018.
- Kwak, M. J., Lee, S. H., Woo, S. Y. Growth and anatomical characteristics of different water and light intensities on a cork oak (*Quercus suber* L.) seedlings. *African Journal of Biotechnology*, v. 10, n. 53, p. 10964-10979, 2011.
- Lenhard, N.R., Paiva Neto, V.B., Scalon, S.P., Alvarenga, A.A. Crescimento de mudas de pau-ferro sob diferentes níveis de sombreamento. *Pesquisa Agropecuária Tropical*, 43: 178-186. 2013.
- Lima, M. A. O., Mielke, M. S., Lavinsky, A. O., França, S., de Almeida, A. A. F., & Gomes, F. P. Crescimento e plasticidade fenotípica de três espécies arbóreas com uso potencial em sistemas agroflorestais. Growth and phenotypic plasticity of three woody species with potential use in agroforestry systems. v. 38, n. 87, p. 527-534, 2010.
- Liu, Y., W. Dawson, D. Prati, E. Haeuser, Y. Feng, M. Van Kleunen. Does greater specific leaf area plasticity help plants to maintain a high performance when shaded? *Annals of Botany*. v. 118, p. 1329–1336, 2016.
- Long, R.L., Gorecki, M.J., Renton, M., Scott, J.K., Colville, L., Goggin, D.E., Commander, L.E., Westcott, D.A., Cherry, H. & Finch-Savage, W.E. The ecophysiology of seed persistence: a mechanistic view of the journey to germination or demise. *Biological Reviews*. v. 90, p. 31–59. 2015.
- Magalhães, A.C.N. Análise quantitativa do crescimento. In: FERRI, M.G. (Coord.). *Fisiologia Vegetal*. São Paulo:EPU, 1979. v.1, 362p.

- Martins, J. R., Alvarenga, A. A., Castro, E. M., Silva, A. P. O., Alves, C. O. Anatomia foliar de plantas de alfavaca-cravo cultivadas sob malhas coloridas. *Ciência Rural*. Santa Maria, v.39, p.82-87, 2009.
- Melo, L. A., Abreu, A. H. M., Leles, P. S. S., Oliveira, R. R. Qualidade e crescimento inicial de mudas de *Mimosa caesalpinifolia* Benth. produzidas em diferentes volumes de recipientes. *Ciência Florestal*, Santa Maria, v.28, n.1, p.47-55, 2018.
- Menezes, A. J. E. A., Homma, A. K. O., Ishisuka, Y., Kodama, N. R., Kodama, E. E. Gliricídia como tutor vivo para pimenteira-do-reino. Belém: Embrapa Amazônia Oriental, 2013. 33p. (Embrapa Amazônia Oriental. Documentos, 393).
- Morais, L.A.S. Influência dos fatores abióticos na composição química dos óleos essenciais. *Horticultura Brasileira*, Brasília, v.27, Ed. esp., p.4050-4063, 2009.
- Nakazono, E.M., Costa, M.C., Futatsugi, K., Paulilo MTS. 2001. Crescimento de *Euterpe edulis* em diferentes níveis de luz. *Revista Brasileira de Botânica*. v. 24, p. 173- 179
- Nascimento, L.B.S., Leal-Costa, M.V., Coutinho, M.A.S., Moreira, N.S., Lage, C.L.S., Barbi, N.S., Costa, S.S., Tavares, E.S. Increased antioxidant activity and changes in phenolic profile of *Kalanchoe pinnata* (Lamarck) persoon (Crassulaceae) specimens grown under supplemental blue light. *Photochem. Photobiol.* v. 89, p. 391–399. 2013.
- Pacheco, F. V., Avelar, R.P., Alvarenga, I.C.A., Bertolucci, S.K.V, Alvarenga, A.A., Pinto, J.E.P. Essential oil of monkey-pepper (*Piper aduncum* L.) cultivated under different light environments. *Ind Crops Prod.* v. 85, p. 251–257. 2016.
- Perera-Castro, A.V., Brito, P., González-Rodríguez, Á.M. Light response in alpine species: different patterns of physiological plasticity. *Flora*. v. 234, p. 165–172. 2017.
- Poorter, H., Niklas, K.J., Reich, P.B., Oleksyn, J., Poot, P., Mommer, L. Biomass allocation to leaves, stems and roots: meta-analyses of interspecific variation and environmental control. *New Phytologist* v. 193, p. 30–50. 2012.
- Poorter, H., Ryser, P. The limits to leaf and root plasticity: what is so special about specific root length? *New Phytologist*. v. 206, p. 1188–1190. 2015.
- Poorter, H., Niklas, K. J., Reich, P. B., Oleksyn, J., Poot, P., Mommer, L. Biomass allocation to leaves, stems and roots: meta-analyses of interspecific variation and environmental control. *New Phytologist*, v. 193, n. 1, p. 1-21, 2011.
- Ramalho, M.A.P., Ferreira, D.F., Oliveira, A.C. A experimentação em genética e melhoramento de plantas. Lavras: Ufla, 2000. 326p.
- Rodrigues, S. D. M., Poltronieri, M. C., & de Lemos, O. F. Comportamento de genótipos de pimenteira-do-reino cultivados em dois tipos de tutores. Embrapa Amazônia Oriental-Artigo em periódico indexado (ALICE). 2017.
- Santos, U. F., Ximenes, F. S., Luz, P. B., Júnior, S. S., Paiva Sobrinho, S. Níveis de sombreamento na produção de mudas de pau-de-balsa (*Ochroma pyramidale*). *Journal Bioscience*, v. 30, n. 1, p. 129-136. 2014.
- Silva, J.A., Oliveira, F. F., Guedes, E.S., Bittencourt, M.A.L., Oliveira,R.A .Atividade antioxidante de *Piper arboreum*, *Piper dilatatum* e *Piper divaricatum*. *Rev Bras Plantas Med* 16, 700–706. 2014.

Souza, P. G., Albino, A. M., Lima, R. A. Identificação de metabólitos secundários no extrato etanólico das inflorescências de *piper arboreum* aubl. E seu potencial candidacida. *Biota Amazônia* (Biote Amazonie, Biota Amazonia, Amazonian Biota), v. 9, n. 2, p. 32-34. 2019.

Souza, R. R., Beckmann, M. Z., Silva, E. M., Amaral, G. C., da Silva Brito, L. P., & Avelino, R. C. Alterações morfofisiológicas e crescimento de helicônias em função de diferentes ambientes de sombreamento. *Comunicata Scientiae*, v. 7, n. 2, p. 214-222. 2016.

Yuan, C.M., Wu, T., Geng, Y.F., Chai, Y., Hao, J.B. Phenotypic plasticity of lianas in response to altered light environment. *Ecol. Res.* 31, 375–384. 2016.

Ambientes	100%			50%			20%		
Espécies	<i>P. arboreum</i>	<i>P. tuberculatum</i>	<i>P. nigrum</i>	<i>P. arboreum</i>	<i>P. tuberculatum</i>	<i>P. nigrum</i>	<i>P. arboreum</i>	<i>P. tuberculatum</i>	<i>P. nigrum</i>
VR	205,96 bA	364,16 aA	80,59 cA	122,38 bB	262,67 aB	71,63bA	71,63 bB	158,2 aC	65,66 bA
AF	6815,68 aA	5919,16 aB	4338,37 aA	8691,69 bA	11580,20 aA	4420,92 cA	5948,55 aB	12817,09 aA	3203,27 cA
MSF	52,46 aA	33,39 bA	31,55 bA	42,03 aA	45,76 aA	30,50 bA	23,89 bB	37,78 aA	17,74 bB
MSC	41,09 bA	118,05 aA	19,07 cA	28,74 bB	123,72 aA	19,28 bA	12,79 bC	59,54 aB	12,86 bA
MSR	30,28 bA	89,94 aA	6,41 cA	15,80 bB	61,79 aB	5,90 bA	5,88 bB	33,72 aC	4,03 bA
MSPA	93,56 bA	151,44 aA	50,62 cA	70,77 bA	169,49 aA	49,79 bA	36,68 bB	97,33 aB	28,60 bA
MST	123,84 bA	241,39 aA	57,04 cA	86,85 bA	231,29 aA	55,70 bA	42,56 bB	131,05 aB	32,60 bA
AFE	129,34 bC	177,89 aC	139,83 bB	212,20 bB	256,69 aB	146,55 cB	254,28 bA	345,79 aA	179,23 cA
MFE	0,0077 aA	0,0056 bA	0,0072 aA	0,0048 bB	0,0039 cB	0,0069 aA	0,0039 bC	0,0029 cC	0,0056 aB
RMF	0,42 aC	0,13 bC	0,54 aA	0,50 aB	0,19bB	0,54 aA	0,57 aA	0,28 bA	0,54 aA
RMR	0,24 bA	0,37 aA	0,12 cA	0,16 bB	0,27 aB	0,10 cA	0,13 bB	0,26 aB	0,12 bA
CER	1,58 bB	0,73 bA	9,63 aB	5,73 bB	1,31 bA	15,85 aA	10,86 bA	2,33 cA	19,10 aA
RPA	0,32 bA	0,61 aA	0,14 cA	0,19 bB	0,37 aB	0,11 bA	0,15 bB	0,36 aB	0,14 bA
RAF	54,99 bC	24,25 cC	75,70 aB	108,55 aB	51,98 cB	80,43 bB	145,54 aA	98,64 bA	97,71 bA
IQD	3,53 bB	1,96 bA	8,87 aA	5,92 bA	2,95 cA	9,47 aA	7,18 aA	2,93 bA	7,47 aA

Tabela 1. Caracterização dos parâmetros de crescimento de das plantas de *P. arboreum*, *P. tuberculatum* e *P. nigrum*, cultivadas durante seis meses em diferentes intensidades de radiação incidente. Volume de raiz (VR), área foliar (AF), massa seca da folha (MSF), massa seca do caule (MSC), massa seca da raiz (MSR), massa seca da parte aérea (MSPA), massa seca total (MST), área foliar específica (AFE), massa foliar específica (MFE), razão de massa foliar (RMF), razão de massa radicular (RMR), comprimento específico da raiz (CER), razão raiz/parte aérea (RPA), razão de área foliar (RAF), índice de qualidade de dicksom (IQD). Médias seguidas de mesma letra minúscula comparam as espécies em cada ambiente e letras maiúsculas comparam a resposta de cada ambiente entre as espécies, pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

Espécies	CC	DC	CR	NR	NF	AFU	RMC	DTR	IRR	SQ
<i>P. arboreum</i>	62,73 c	7,87 b	47,10 b	13,00 a	111,96 b	68,68 a	0,32 b	0,11 b	0,27 a	8,17 b
<i>P. nigrum</i>	96,65 b	8,04 b	66,81 a	8,33 b	65,00 c	63,04 a	0,33 b	0,08 c	0,13 b	12,42 a
<i>P. tuberculatum</i>	109,43 a	13,18 a	70,91 a	10,26 b	223,53 a	46,54 b	0,48 a	0,23 a	0,15 b	8,65 b
Ambientes										
100%	78,23 c	10,71 a	67,55 a	11,63 a	140,26 a	45,84 b	0,38 a	0,16 a	0,23 a	7,78 b
20%	100,66 a	8,45 b	63,78 b	9,46 a	116,7 a	68,39 a	0,35 b	0,11 b	0,15 b	10,82 a
50%	89,92 b	9,94 a	53,50 b	10,50 a	143,53 a	64,02 a	0,41 a	0,14 a	0,17 b	10,63 a

Tabela 2- Caracterização dos parâmetros de crescimento de das plantas de *P. arboreum*, *P. tuberculatum* e *P. nigrum*, cultivadas durante seis meses em diferentes intensidades de radiação incidente. Comprimento do caule (CC), diâmetro do caule (DC), comprimento da raiz (CR), número de raízes (NR), número de folhas (NF), área foliar unitária (AFU), razão de massa caulinar (RMC), densidade do tecido radicular (DTR), índice de ramificações radiculares (IRR) e índice de robustez (SQ). Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

Teor de óleo essencial das folhas			
Espécies	Ambientes		
	100%	50%	20%
<i>P. arboreum</i>	0.125364 aA	0.142008 bA	0.087165 bA
<i>P. tuberculatum</i>	0.104233 aC	0.459973 aB	0.716311 aA
<i>P. nigrum</i>	0.181914 aA	0.334989 aA	0.091213 bB
Teor de óleo essencial dos caules			
Espécies	Ambientes		
	100%	50%	20%
<i>P. arboreum</i>	0.176500 aB	0.655565 aA	0.006271 aB
<i>P. tuberculatum</i>	0.005346 aA	0.007165 bA	0.034194 aA
<i>P. nigrum</i>	0.004991 aA	0.019311 bA	0.007574 aA
Teor de óleo essencial das raízes			
Espécies	Ambientes		
	100%	50%	20%
<i>P. arboreum</i>	0.092607 aA	0.113515 bA	0.050658 aA
<i>P. tuberculatum</i>	0.033012 aA	0.019216 bA	0.005497 aA
<i>P. nigrum</i>	0.021569 aB	1.593097 aA	0.037362 aB

Tabela 3. Teores de óleo essencial (g de óleo por g de MS) de folhas, caule e raiz de *P. arboreum*, *P. tuberculatum* e *P. nigrum*, cultivadas durante seis meses em diferentes intensidades de radiação incidente. Médias seguidas pela mesma letra minúscula comparam as espécies em cada ambiente e letras maiúsculas comparam a resposta de cada ambiente entre as espécies, pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

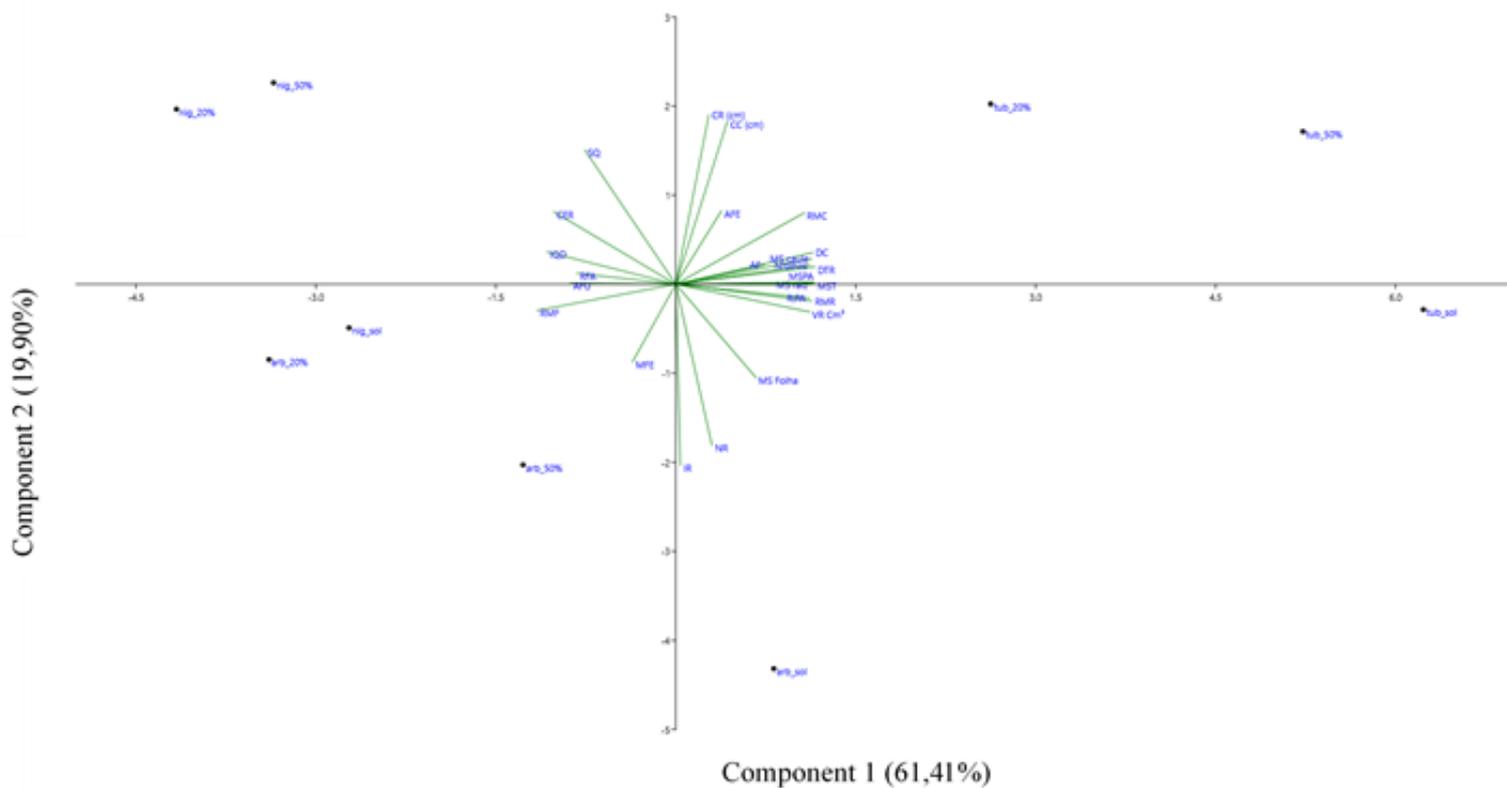


Figura 1. Análise de componentes principais (PCA) de variáveis relacionadas ao crescimento de plantas de *P. arboreum*, *P. tuberculatum* e *P. nigrum* em função de diferentes ambientes de radiação solar incidente. A análise em conjunto explica 81,31 da variação. A PC1 61,41% corresponde a massa seca radicular (MSR), massa seca caulinar (MSC), massa seca total (MST), massa seca da parte aérea (MSPA), diâmetro do caule (DC), número de folhas (NF), área foliar (AF), razão de massa radicular (RMR), razão raiz/parte aérea (RPA), área foliar unitária (AFU), razão de área foliar (RFA), razão de massa foliar (RMF), índice de qualidade de dicksom (IQD). A PC2 19,90% corresponde ao índice de ramificações radiculares (IRR), número de raízes (NR) e comprimento da raiz (CR).

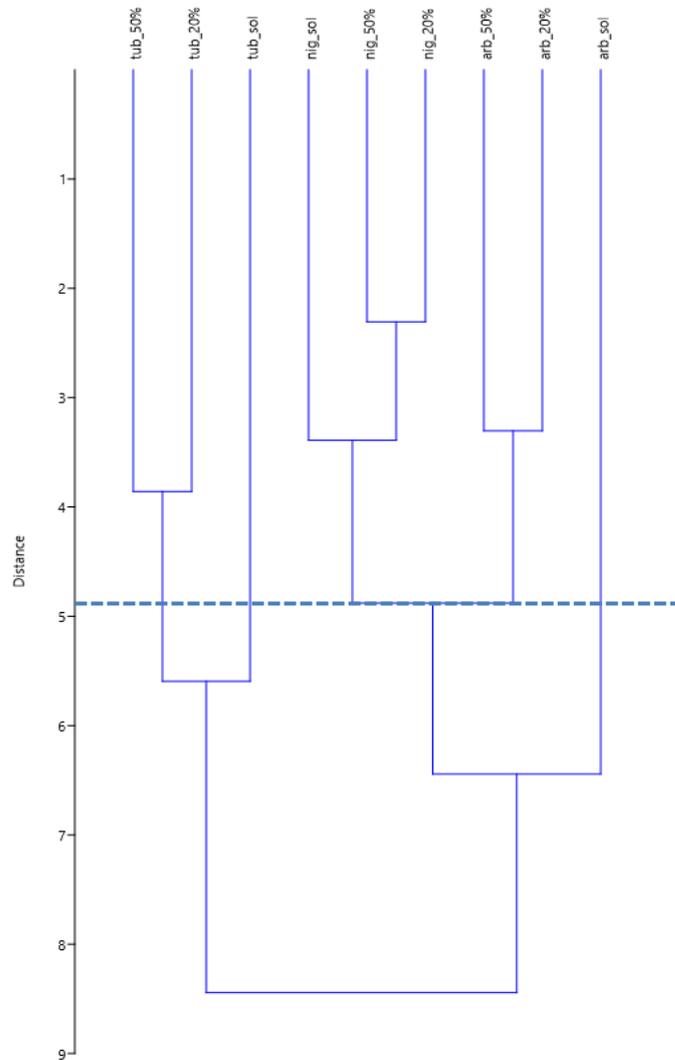


Figura 2. Dendrograma representativo da dissimilaridade genética entre três espécies de *Piper* cultivadas em três ambientes de radiação solar incidente, obtidos pelo método UPGMA utilizando-se a distância generalizada de Mahalanobis  $D^2$ . No dendrograma para o ponto de corte foi utilizado o critério de Mojema com  $K1 = 5$ .

## CAPITULO 2 – Eficiência do aparato fotossintético de espécies do gênero *Piper* em função de níveis de radiação solar incidente

### Apresentado nas normas da revista: Scientia Horticulturae.

The image shows the homepage of the journal Scientia Horticulturae. The header is green with the journal title and the text "Supports open access". Below the header, there are four main columns of content:

- Journal Metrics:** Features a cover image of green peppers. It displays a CiteScore of 2.54 and an Impact Factor of 1.961. Below this, there are links for "View editorial board" and "View aims and scope".
- Explore journal content:** Lists navigation options: "Latest issue", "Articles in press", "Article collections", and "All issues". At the bottom of this column, there are links for "Sign in to set up alerts" and "RSS | open access RSS".
- Latest issues:** Lists recent volumes: "Volume 264" (In progress, 5 April 2020), "Volume 263" (15 March 2020), "Volume 262" (27 February 2020), and "Volume 261" (5 February 2020). A "View all issues" link is at the bottom.
- Find out more:** Contains a prominent "Submit your article" button and links for "Guide for authors" and "About the journal".

## Eficiência do aparato fotossintético de espécies do gênero *Piper* em função de níveis de radiação solar incidente

Basílio Cerri Neto<sup>a</sup>, Antelmo Ralph Falqueto<sup>a,b</sup>, Sara Dousseau Arantes<sup>b,c</sup>, Rizia Joyce costa<sup>c</sup>, Thayanne Rangel Ferreira<sup>b</sup>, Fernanda Rodrigues Nunes e Silva<sup>a</sup>, Lucio de Oliveira Arantes<sup>c</sup>, José Altino Machado filho<sup>c</sup>

<sup>a</sup> Departamento de Ciências Biológicas, Centro de Ciências Humanas e Naturais, Universidade Federal do Espírito Santo, Avenida Fernando Ferrari, 514, Goiabeiras, CEP 29075-910, Vitória, Espírito Santo, Brazil

<sup>b</sup> Departamento de Ciências Agrárias e Biológicas, Centro Universitário Norte do Espírito Santo, Universidade Federal do Espírito Santo, BR101 Norte, Km. 60, Bairro Litorâneo, CEP 29932-540, São Mateus, Espírito Santo, Brazil

<sup>c</sup> Instituto Capixaba de Pesquisa, Assistência Técnica e Extensão Rural, BR 101N, km 151, Linhares, Caixa postal 62, Espírito Santo, Brazil.

### Resumo

Espécies do gênero *Piper* possuem importância econômica, sendo utilizadas nas indústrias alimentícia, farmacêutica e na agricultura. Como destaque neste gênero tem-se a pimenteira-do-reino (*Piper nigrum* L.), que produz o condimento mais consumido em todo o mundo. Dentre os fatores do ambiente que influenciam no desenvolvimento e na produção das plantas, destaca-se a radiação solar, por induzir respostas adaptativas altamente plásticas proporcionando ajuste no aparato fotossintético. Objetivou-se com este trabalho, avaliar as alterações no aparato fotossintético em três espécies de *Piper* submetidas a diferentes níveis de radiação solar através da análise da fluorescência transiente da clorofila “a” e da quantificação de pigmentos fotossintéticos. O experimento foi conduzido com duas espécies nativas (*Piper tuberculatum* Jacq. e *Piper arboreum* Aubl.) e a pimenteira-do-reino. As mudas das espécies nativas foram obtidas via seminal e da pimenteira-do-reino, por estaquia, sendo transplantadas para vasos de 5 litros e aclimadas por 30 dias em viveiro com 50% de radiação solar incidente. Após este período, as plantas foram expostas aos diferentes ambientes de luz (100% de radiação solar ou pleno sol, 50% e 20% de radiação, utilizando-se tela de sombreamento Sombrit® preta). Após seis meses, a eficiência fotossintética foi avaliada por meio da fluorescência da clorofila “a” utilizando-se o fluorômetro Handy PEA e da quantificação dos pigmentos fotossintéticos (Clorofila a, b e total e  $\beta$ -Caroteno, Licopeno, Zeaxantina,  $\alpha$ -Caroteno,  $\beta$ -Criptoxantina e Carotenoides Totais). Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias agrupadas pelo teste de Scott Knott ( $p \leq 0,05$ ). Foi realizada análise de componentes principais (PCA) e para o cálculo de similaridade foi obtida uma matriz utilizando-se a distância euclidiana e o agrupamento realizado com base no método de UPGMA (unweighted pair-group method with arithmetic means). Também foi avaliada a correlação de Pearson. O cultivo das espécies com 100% de radiação solar incidente causou uma redução na quantidade de centros de redução abertos, causando assim,

aumento em Fo, sendo esse aumento mais evidente em *P. nigrum*. O complexo de evolução do oxigênio e a conectividade energética dos componentes do fotossistema II foram afetados quando *P. arboreum* e *P. nigrum* cresceram sob alta incidência de radiação solar. *P. tuberculatum* mostrou ter muita plasticidade em seu aparato fotossintético, tendo em vista que não apresentou muitos danos quando cultivada nos diferentes ambientes. 20% de radiação solar incidente proporciona menos estresse às espécies quando comparado aos demais ambientes de cultivo, tendo em vista que os maiores valores de PI abs e PI total foram observados nas plantas crescidas nesse ambiente. De modo geral, o ambiente com 100% de radiação solar incidente promove danos no aparato fotossintético das espécies estudadas, porém, *P. nigrum* são mais sensíveis. Entre as espécies, *P. tuberculatum* apresenta maior plasticidade em função da radiação incidente e *P. nigrum* a menor.

**Palavras-chave:** Plasticidade fotossintética, fluorescência da clorofila “a”, *Piper nigrum* L., *Piper tuberculatum* Jacq. *Piper arboreum* Aub.

## 1. Introdução

Espécies do gênero *Piper* possuem grande importância econômica, sendo utilizadas nas indústrias farmacêuticas, agricultura e alimentícia. *Piper nigrum* L., conhecida internacionalmente como *black pepper* (pimenta preta), é sem dúvida a espécie cultivada de maior importância econômica do gênero. É considerado o condimento mais popular do mundo, tendo alcançado o status de ‘*King of Spices*’ (rei das especiarias). É utilizada numa infinidade de aplicações, da indústria alimentícia à farmacêutica, devido à presença de uma enorme gama de metabólitos secundários contidos em toda a planta, principalmente em seus grãos. Takooree *et al.* (2019), cita diversas aplicações na medicina humana e veterinária, incluindo atividade antimicrobiana, antioxidante, anticâncer (mama, colo do útero e próstata), antidiabética, anti-inflamatória, analgésica, anticonvulsivantes e neuroprotetores.

A espécie cultivada *P. nigrum* tem sua origem na Índia (Lemos *et al.*, 2011) e foi introduzida no Brasil no século XVII, mas seu cultivo começou a ser difundido em 1933. Possui diversos genótipos cultivados em todo o mundo, mas, o cultivar Bragantina, híbrido, obtido na Índia, introduzido no Brasil na década de 80, tem a maior expansão de área cultivada. O Brasil ocupa lugar de destaque mundial quanto à produção dessa especiaria, com 79.371 toneladas colhidas em 2017 foi o terceiro no ranking mundial (FAO, 2019).

Diversas espécies nativas do gênero *Piper* possuem importância medicinal, como *Piper tuberculatum* Jacq. e *Piper arboreum* Aubl., cujas folhas são comercializadas como fitoterápicos (Silva et al., 2014). *P. tuberculatum* apresenta comprovada ação bactericida (Gonçalves et al., 2016), inseticida (Celestino et al., 2016), citotóxica, antitumoral, sedativa, analgésica e ansiolítica (Barros et al., 2018). *P. arboreum* apresenta atividades antileishmaniose, trypanocida e antifúngica (Silva et al., 2014), fungicida (Souza et al., 2019), moluscida, citotóxica, inseticida, fungicida e antimicrobiana (Silva et al., 2014). Além da aplicação na medicina, ambas as espécies apresentam resistência à patógenos que acometem o sistema radicular da pimenteira do reino (*Piper nigrum* L.) (Albuquerque et al. 2001), sendo recomendadas como porta enxertos.

Na maior parte dos plantios, *P. nigrum* é cultivada a pleno sol, onde apresenta maior produtividade (Rodrigues et al., 2017). No entanto, sistemas de cultivo como o uso de tutores vivos e consórcios (Menezes et al., 2013), proporcionam um certo grau de sombreamento, que deve ser manejado, para não reduzir a produtividade. Por outro lado, as espécies nativas do gênero *Piper* são encontradas em diversos ambientes, desde áreas antropizadas ao interior de matas. Sarnaglia Junior et al., (2014) relata a presença de *P. tuberculatum* e *P. arboreum* em áreas degradadas, clareiras, em sub-bosque e preferencialmente em florestas com muita umidade.

A luz é utilizada como fonte de energia pelas plantas e está diretamente ligada a fotossíntese, estimulando ou causando limitações e até mesmo danos fotossintéticos (Melo et al., 2017). Alterações no ambiente luminoso podem induzir as plantas a desenvolverem estratégias adaptativas altamente plásticas, quer seja para tolerar ou evitar o sombreamento (Santos et al., 2014). Isso faz com que a luz seja capaz de influenciar a distribuição geográficas das plantas, atuando fortemente sobre sua sobrevivência em determinado ambiente (Kim et al., 2011).

Conhecer o ambiente luminoso que a planta está crescendo é de extrema importância para entender o comportamento fisiológico dela, pois a adaptação da planta ao ambiente está diretamente ligada ao ajuste do aparato fotossintético ao local em que ela está, de maneira que a luz disponível no ambiente seja usada de forma eficiente (Pereira et al., 2018). A cinética da fluorescência da clorofila “a” é extremamente sensível à condições ambientais estressantes e tem sido utilizada para investigar os fatores de estresse aos quais as plantas são submetidas como as alterações provocadas pelos diferentes ambientes de cultivo, com alta e baixa luminosidade (Kalaji et al., 2014). Portanto, a fluorescência da clorofila “a”

pode ser utilizada como mecanismo eficiente para avaliar a eficiência fotossintética em plantas, principalmente as que estão sobre estresse (Souza et al., 2019; Henriques et al., 2009).

Os métodos utilizados para avaliar a fluorescência da clorofila “a” fornecem informações rápidas, além disso, é um método não destrutivo, preservando a planta além de reduzir gastos com reagentes e tempo de avaliações (Stirbet; Govindjee, 2011). A análise por meio do transiente OJIP é uma ferramenta da mudança na cinética da fluorescência da clorofila “a”, que provê informações precisas sobre a estrutura e função do aparato fotossintético, sobretudo, do fotossistema II (Gonçalves et al., 2010).

Os pigmentos fotossintéticos são estruturas instáveis e que se degradam com facilidade alterando a qualidade e percepção luminosa das plantas. As plantas podem passar por condições de estresse e modificar o teor de pigmentos fotossintéticos, sendo isso um indicador de estresse. Estresse causados por luz podem aumentar as clorofilas quando sombreadas, a fim de otimizar o processo de fotossíntese ou aumentar os carotenoides no pleno sol para que ocorra a proteção das clorofilas (Ilić and Fallik, 2017).

A ampla distribuição das espécies nativas do gênero *Piper* poderia ser um indicativo da existência de plasticidade em função da radiação. Contudo, *P. nigrum* cv. Bragantina que sofreu processo de melhoramento para ser cultivada a pleno sol poderia ter dificuldade para se estabelecer em outros tipos de ambientes, pois o processo de melhoramento poderia ter reduzido a plasticidade (Long et al. 2015). Assim, visando compreender a plasticidade das espécies do gênero *Piper* em função da radiação, objetivou-se com este estudo, avaliar as alterações no aparato fotossintético de três espécies de *Piper* submetidas a diferentes níveis de radiação solar incidente através da análise da fluorescência transiente da clorofila “a” e quantificação dos pigmentos fotossintéticos.

## **2. Metodologia**

### **2.1 Material vegetal e condições de cultivo**

O experimento foi conduzido de julho de 2018 a janeiro de 2019, na Fazenda Experimental de Linhares, do Instituto Capixaba de Pesquisa, Assistência Técnica e Extensão Rural (Incaper), localizada a 19°25'00,1” S e 40°04'35,3” W, no município de Linhares, região Norte do estado do Espírito Santo. Durante o período da condução do

experimento foram obtidos os dados climáticos da estação meteorológica automática do INCAPER, sendo os valores médios de temperatura máxima, mínima e média, precipitação e umidade relativa, 30 °C, 20 °C, 24 °C, 2.63 mm, 76 % respectivamente.

Foram obtidas mudas de duas espécies nativas (*Piper tuberculatum* Jacq. e *Piper arboreum* Aubl.) e da pimenteira-do-reino, utilizando propágulos de plantas matrizes do Banco Ativo de Germoplasma (BAG) do Incaper. As mudas das espécies nativas foram obtidas via seminal, utilizando o protocolo proposto por Dousseau et al. (2011). Após 30 dias, as plântulas foram plantadas em bandeja de isopor com 200 células, contendo substrato Bioplant® e mantidas em sala de crescimento por mais 60 dias. As mudas de *Piper nigrum* foram obtidas através da estaquia pelo método descrito por (George et al., 2017).

Após a formação das mudas (90 dias da semeadura para espécies nativas e 60 dias após a estaquia para a pimenteira-do-reino), foi efetuado o transplântio para vasos de 5 litros, contendo substrato Bioplant® e 54 gramas de osmocote 5-6 meses por vaso. Foi adotado um padrão para a seleção das mudas, onde as nativas foram selecionadas com cinco pares de folha e a pimenteira do reino com comprimento médio de 30 cm de parte aérea. Essas foram mantidas para aclimação por 30 dias em viveiro com 50% de radiação solar incidente. Após este período, as plantas foram transferidas para os três ambientes (100% de radiação solar incidente ou pleno sol, 50% e 20% de radiação, utilizando-se tela de sombreamento Sombrit® preta), sendo o experimento instalado em delineamento inteiramente casualizado (DIC), em esquema fatorial (Ramalho et al., 2000) 3x3, sendo três espécies e três ambientes de luz, com a parcela constituída de uma única planta, totalizando dez plantas por ambiente, para cada espécie avaliada. As plantas foram irrigadas utilizando aspersores quatro vezes ao dia, 07:30, 11:30, 14:45 e 17:00, por 15 minutos.

## **2.2 Análise da fluorescência da clorofila “a”**

As plantas foram avaliadas quanto a eficiência fotossintética após seis meses da transferência para cada ambiente luminoso. Foram efetuadas medidas da fluorescência da clorofila “a” e do teor de pigmentos fotossintéticos, em sete plantas de cada ambiente, para cada espécie. As avaliações foram efetuadas na mesma folha, em duas folhas por planta, inseridas no quarto nó, na altura do terço médio.

A fluorescência da clorofila “a” foi avaliada utilizando-se o fluorômetro Handy-PEA (Hansatech, UK), de acordo com as recomendações de Strasser et al. (2004). As folhas foram adaptadas ao escuro utilizando-se clips foliares por 30 minutos, período para oxidação completa do fotossistema. Após, foi emitido um flash de luz saturante de  $3000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  de fótons com duração de 1 segundo. A partir da fluorescência transiente OJIP foram calculados os parâmetros estabelecidos pelo Teste JIP. A banda L e a banda K foram calculadas seguindo as seguintes formulas L band:  $V_0K100 = (F100\mu\text{s} - F_0) / (F300 - F_0)$  e L band:  $V_0K100 = (F100\mu\text{s} - F_0) / (F300 - F_0)$ , ambas propostas por (Desotgiu et al., 2013). A interpretação e as normalizações dos parâmetros medidos e calculados a partir deste teste foram de acordo com Strasser e Strasser (1995).

### **2.3 Pigmentos fotossintéticos**

Os pigmentos fotossintéticos foram extraídos utilizando-se as metodologias propostas por Arnon (1949) para as clorofilas e Rodriguez-Amaya e Kimura (2004) para os carotenoides. As folhas foram coletadas e imediatamente levadas para o Laboratório de Fisiologia vegetal e Pós-Colheita do Incaper. Para a extração das clorofilas e carotenoides foram utilizados 2 e 3 discos de 2mm respectivamente, os discos foram pesados e o peso utilizado nas formulas propostas por Arnon (1949) e Rodriguez-Amaya e Kimura (2004). O teor dos pigmentos foi expresso em  $\mu\text{g/ml}$ . As leituras foram feitas em espectrofotômetro (Beckman, modelo 640B).

### **2.4 Análise de dados**

Os dados foram submetidos à análise de variância pelo programa estatístico Sisvar versão 5.6, e as médias foram agrupadas pelo teste Scott Knott a 5% de probabilidade. Os dados também foram submetidos à análise de componentes principais (PCA) usando o software GENES. Foi realizada análise de componentes principais (PCA) e para o cálculo de similaridade foi obtida uma matriz utilizando-se a distância euclidiana e o agrupamento realizado com base no método de UPGMA (unweighted pair-group method with arithmetic means). Também foi avaliada a correlação de Pearson. Os gráficos foram gerados utilizando o software origin pro 8.

## **3. Resultados**

### **3.1 Fluorescência da clorofila “a”**

Quando submetidas a diferentes níveis de radiação solar incidente, *Piper tuberculatum*, *Piper nigrum* e *Piper arboreum* mantiveram-se fotossinteticamente ativas, tendo em vista que as três espécies apresentaram as curvas OJIP com aumento polifásico característico (Figura 1 A, B, C). O cultivo a 100% de radiação incidente resultou em maiores valores de  $F_0$  para as três espécies avaliadas (Figura 1 A, B, C). Contudo, *P. nigrum* apresentou maiores valores de  $F_0$  do que as demais espécies. Todas as espécies, quando cultivadas nos ambientes de 50% e 20% de radiação incidente, apresentaram supressão dos pontos I e P comparativamente àquelas cultivadas a 100%.

Todas as espécies apresentaram um incremento no ponto J (2 ms) quando cultivadas a 100% de incidência de luz (Figura 1 D, E, F). Maior incremento do ponto J foi observado em *P. nigrum* (Figura 1 F).

Não houve diferença significativa para os valores das bandas K e L em *P. tuberculatum* nos diferentes níveis de luminosidade (Figura 1 G). *P. arboreum* e *P. nigrum* apresentaram maiores valores da banda K em 100% e 50% de radiação incidente, não havendo diferença significativa entre esses ambientes (Figura 1 H e I). A banda L de ambas as espécies foi superior quando as plantas foram cultivadas a 100% de incidência de luz, sem diferenças significativas para as plantas mantidas a 50% e 20% (Figura 1 H e I).

Quando cultivadas com 100% de radiação, *P. tuberculatum*, *P. arboreum* e *P. nigrum* apresentaram um aumento na fase O-I ( $V_{oi}$ ), (Figura 3 A, B, C). As curvas O-I das plantas mantidas a 50% foram superiores às das mantidas a 20%.

As curvas referentes à fluorescência relativa variável entre os pontos I-P ( $V_{ip}$ ) foram suprimidas nas plantas cultivadas a 50% e 20% em *P. tuberculatum* e *P. arboreum* em relação às mantidas a 100% de radiação solar (Figura 3 D e E). Estas espécies apresentaram curvas I-P com uma maior amplitude nas plantas mantidas a 100% de luz incidente. *P. nigrum* (Figura 3 F) apresentou curvas  $V_{ip}$  negativas nas plantas mantidas a 100% e 50% de luz enquanto as plantas mantidas a 20% apresentaram curvas  $V_{ip}$  com amplitude positiva.

Quanto aos parâmetros estabelecidos pelo teste JIP, as plantas de *P. tuberculatum* apresentaram maior fluorescência inicial ( $F_0$ ) quando cultivadas a 100% de luz. As plantas mantidas a 50% e 20% não diferiram estatisticamente entre si (Figura 2 A). Os valores da fluorescência máxima ( $F_m$ ) não diferiram significativamente entre os tratamentos para a

espécie. *P. arboreum* expressou valores elevados de  $F_o$  para as plantas mantidas a 100% e 50% de radiação incidente. Contudo, os valores de  $F_m$  foram maiores nas plantas mantidas a 50% e 20%, (Figura 2 B). As plantas de *P. nigrum* também mostraram valores elevados de  $F_o$  quando cultivadas com 100% de luz, seguida pelas cultivadas a 50% e 20% que não se diferenciaram. Quanto a  $F_m$ , foram observados maiores valores para as plantas mantidas a 50% e 20% (Figura 2 C).

*P. tuberculatum* e *P. arboreum* apresentaram o mesmo comportamento para o rendimento quântico fotoquímico máximo ( $\phi P_o$ ), com maior desempenho observado nas plantas mantidas a 20% de radiação solar, seguidas pelas mantidas a 50% e 100% respectivamente (Figura 5 A, B). Por outro lado, em *P. nigrum*, os maiores valores de  $\phi P_o$  foram observados nas plantas mantidas a 50% e 20%, que não diferiram estatisticamente entre si, onde o menor rendimento quântico foi registrado para as plantas mantidas a 100% de radiação solar, assim como para as outras espécies (Figura 5 C). O rendimento quântico da transferência de elétrons a partir da  $Q_A$  para a cadeia de transporte de elétrons além  $Q_A$  ( $\phi E_o$ ) e o rendimento quântico fotoquímico para dissipação de calor ( $\phi D_o$ ) apresentaram o mesmo comportamento para as três espécies, com maiores valores de  $\phi E_o$  e  $\phi D_o$  foram observados nas plantas cultivadas a 20% de radiação solar (Figura 4 A, B, C).

Tanto o fluxo de energia para o transporte de elétrons por centro de reação ( $ET_o/RC$ ), quanto o fluxo de energia dissipada por centro de reação ( $DI_o/RC$ ) foram superiores nas três espécies quando cultivadas a 20% de radiação solar, seguidas pelas cultivadas a 50% e 100% (Figura 4 A, B, C). O Fluxo de absorção de energia por centro de reação ( $ABS/RC$ ) se comportou da mesma maneira em *P. tuberculatum* e *P. nigrum* (Figura 5 A, C), onde ambas apresentaram maiores valores nas plantas mantidas a 50% e 20% não se diferenciando. *P. arboreum* (Figura 5 B) apresentou valores elevados somente nas plantas mantidas a 20%, já as plantas de 100% e 50% apresentaram valores reduzidos e não se mostraram diferentes estatisticamente. Quanto ao fluxo de energia capturada por centro de reação ( $TR_o/RC$ ), *P. tuberculatum* (Figura 5 A) exibiu uma elevação nas plantas mantidas a 100% de radiação solar. *P. arboreum* e *P. nigrum* (Figura 5 B, C) apresentaram elevações nos valores de  $TR_o/RC$  nas plantas mantidas a 100%, não houve diferença estatística para as cultivadas a 50% e 20%.

Para *P. tuberculatum*, a quantidade de centros de reação do FSII ativos por seção transversal ( $RC/CS_o$ ) foi reduzida nas plantas mantidas a 100% e 50% de radiação solar

incidente (Figura 4 A), apresentando o maior número de centros de reação ativos nas plantas mantidas a 20%. *P. arboreum* apresentou menor RC/CS<sub>0</sub> nas plantas mantidas a 100%, sem diferenças significativas entre as plantas mantidas a 50% e 20% (Figura 4 B). Foi observado uma redução nos valores de RC/CS<sub>0</sub> nas plantas de *P. nigrum* mantidas a 100% e 20% (Figura 4 C).

A fração média de centros de reação abertos no período de tempo de 0 a TF<sub>max</sub> (tempo de produção da fluorescência máxima, Sm/TF<sub>max</sub>) aumentou nas plantas de *P. tuberculatum* (Figura 5 A) mantidas a 100% e 50% de radiação solar. Em *P. arboreum* e *P. nigrum*, aumentos em Sm/TF<sub>max</sub> foram observados nas plantas mantidas a 100%, sem diferença estatística entre 50% e 20% (Figura 5 B, C).

*P. tuberculatum*, *P. arboreum* e *P. nigrum* apresentaram um aumento do índice de performance fotossintético relativo à absorção (PI<sub>abs</sub>) (Figura 6 A, B, C) e no índice de performance fotossintético total (PI<sub>total</sub>) (Figura 6 D, E, F) nas plantas cultivadas a 20% de radiação solar incidente.

### 3.2 Pigmentos fotossintéticos

Não foram observadas diferenças significativas na concentração de clorofila “a” em *P. tuberculatum*, *P. arboreum* e *P. nigrum* quando cultivadas nos diferentes ambientes de radiação solar (Tabela 1). *P. tuberculatum* apresentou a maior concentração de clorofila “b” e de clorofila total quando mantidas a 50% e 20% de radiação solar incidente, seguido pelas plantas mantidas a 100%. *P. arboreum* e *P. nigrum* não apresentaram diferenças estatísticas na concentração de clorofila “b” nos três ambientes.

Para *P. tuberculatum*, maiores concentrações de pigmentos carotenoides totais, β-Caroteno, Licopeno, Zeaxantina, α-Caroteno e β-Criptoxantina foram observados nas plantas mantidas a 20% de radiação solar, seguidos pelas plantas mantidas a 50% e 100%, as quais não diferiram entre si.

*P. arboreum* apresentou a maior concentração de β-Caroteno quando cultivada com pouca radiação solar incidente (20% e 50%). Quanto aos carotenoides totais, Licopeno, Zeaxantina, α-Caroteno e β-Criptoxantina as maiores concentrações foram observadas nas plantas mantidas a 20% de radiação solar incidente.

Foi observado um decréscimo nas concentrações de todos os pigmentos carotenoides avaliados de *P. nigrum* do ambiente sombreado a 20% até o sem sombreamento. Foi

observada uma correlação de 1% entre  $\phi E_o$ ,  $\phi D_o$ ,  $ET_o/RC$  e  $DI_o/RC$  com B-Caroteno, Licopeno, Zeaxantina,  $\alpha$ -Caroteno, B-Criptoxantina e Carotenoides Totais, sendo essa correlação considerada muito forte (dados não mostrados).

Para as variáveis analisadas, duas componentes principais (PCA) explicaram 78,81% da variância dos dados, sendo 58,86% para PC1 e 19,95% para PC2 (Figura 7). Por meio do PC1 versus PC2, foi possível observar que a componente 1 foi responsável pela variação de  $PHI(P_o)$ ,  $PHI(E_o)$ ,  $PHI(D_o)$ ,  $ET_o/RC$ ,  $DI_o/RC$ ,  $\beta$ -Caroteno, Licopeno, Zeaxantina,  $\alpha$ -Caroteno,  $\beta$ -Criptoxantina, Carotenoides Totais, formando um grupo dos parâmetros que mais sofreram influência da componente 1 (Figura 7). O parâmetro que sofreu mais variação da PC1 foi  $DI_o/RC$ . A componente 2 foi responsável pela variação dos seguintes parâmetros:  $ABS/RC$ ,  $Sm/T(f_{max})$ ,  $F_o$  e  $TR_o/RC$ , onde foi observado uma correlação inversa entre  $ABS/RC$  e  $Sm/T(f_{max})$  (-0,8532) e (0,7887), respectivamente (Figura 7). Esse agrupamento observado na Pc 1 corrobora com os resultados já observados no trabalho, onde  $ET_o/RC$  e  $DI_o/RC$  aumentaram nas plantas sombreadas (Figura 4- A, B, C), influenciando, assim, o aumento da concentração de todos os carotenoides analisados (tabela 1).

Para os tratamentos de luz houve formação de quatro grupos formados pelos tratamentos que apresentaram comportamento similar. Observou-se que *P. nigrum* cultivada a 50% de radiação solar apresentou uma resposta semelhante a *P. tuberculatum* e *P. arboreum* mantidas a 20%. *P. tuberculatum* e *P. arboreum* formaram um grupo com as plantas mantidas a 100% e 50% de radiação solar, a formação desse grupo sofreu influência de  $G = ABS/RC$  e  $K = RC/CS$ . *P. nigrum*, quando cultivada com 100% e 20% de radiação solar, formou dois grupos completamente distintos e isolados.

#### 4. Discussão

Espécies com plasticidade fotossintética quando cultivadas sob alta irradiância tendem a apresentar estratégias de fotoproteção, como aumentos nas concentrações de carotenoides e dissipação de energia não fotoquímica. Por outro lado, quando a radiação incidente se torna limitante, plantas tolerantes à sombra fazem ajustes no uso e captura de luz, como aumento da eficiência do uso da luz, aumento da área foliar e concentração de clorofila (Lopes et al., 2019).

O aumento de  $F_0$  nas plantas cultivadas com 100% de radiação incidente indica que parte dos centros de reação (RC) foram fechados pela alta luz. Assim, o fluxo de elétrons entre  $Q_A$  para  $Q_B$  diminui, reduzindo a eficiência de captura de energia do PSII (Paunov et al., 2018). O fluxo diminui, pois, uma vez que o PSII absorve a luz e não faz o transporte dos elétrons, ele não é capaz de aceitar outro até que tenha oxidado o primeiro para um subsequente transportador de elétrons ( $Q_B$ ), (Salvatori et al. 2014). O aumento em  $F_0$  pode ter refletido o decréscimo em ABS/RC (Figura 5 A, B, C). Por outro lado, DI0/RC (Figura 4 A, B, C) se mostrou diferente, apresentando um comportamento inverso ao de  $F_0$ , aumentando nas plantas mantidas nos ambientes mais sombreados e diminuindo quando as plantas foram expostas a maior intensidade de luz.

O aumento de  $F_m$  observado nas plantas mantidas nos ambientes sombreados indica que a restrição de luz não afetou o *pool* de plastoquinona na cadeia transportadora de elétrons, (Janusauskaite and Feiziene 2012). Por outro lado, a redução em  $F_m$  nos tratamentos com alta exposição luminosa indica que as plantas sofreram estresse, diminuindo a eficiência de transferência de energia, além da redução do *pool* de plastoquinona (Paunov et al., 2018).

O aumento do ponto J indica que as espécies estudadas quando cultivadas a 100% de luz desencadeiam um efeito acumulativo de  $Q_A$  no estado reduzido ( $Q_{A^-}$ ) comprometendo a transferência de elétrons para  $Q_B$  (Chen et al., 2014). Assim, esse incremento observado nas plantas cultivadas sob alta irradiância solar indica que a alta exposição a luz compromete a probabilidade de um elétron se mover em direção ao FSI a partir da  $Q_{A^-}$  (Strasser et al., 2000).  $V_{OP}$  é influenciado pelas reações redox dos aceptores iniciais, em especial  $Q_A$  (Kruger et al., 2014).

A banda K se mostra sensível a temperaturas elevadas (Desotgiu et al. 2013). Contudo, nosso experimento mostra também uma sensibilidade a alta irradiância. Todas as espécies apresentaram baixos valores das bandas K e L quando cultivadas a 20% de radiação incidente em comparação as plantas expostas a 100% e 50%. Os valores elevados da banda k observados em *P. arboreum* e *P. nigrum* demonstram uma deficiência do complexo de evolução do oxigênio (CEO) e coincide com a limitação do lado doador no FSII (Gonçalves et al., 2010). Isso ocorre, pois a transferência de elétrons do CEO para o lado doador (Yz) é mais lenta do que a transferência de elétrons de P680 para a  $Q_A$  (Tomek et al., 2001). De acordo com Strasser & Stirbet (1998), quanto mais positiva a banda L, menor é a conectividade energética dos componentes do FSII, conferindo ao fotossistema

menos estabilidade e prejuízos no uso de energia de excitação (Perboni et al., 2015). Além disso, valores elevados na banda L indicam uma desestabilidade nas unidades do PSII, e, como consequência, menos energia é trocada entre as unidades independentes do PSII (Zhang et al., 2015). Ainda, a redução em  $RC/CS_0$  compromete o transporte de elétrons. Tal diminuição está relacionada ao acúmulo de  $Q_A$  reduzida (Bukhov et al. 1990). Um fator que pode ter ocasionado o decréscimo em  $RC/CS_0$  nas plantas mantidas a 100% de luz seria o aumento considerável em  $TR_0/RC$  nas plantas mantidas nesse mesmo ambiente (Lee et al. 2016).

A supressão em  $V_{oi}$  das plantas mantidas em ambiente com mais luz sobre a mantida em ambiente com menos luz na fase O-I ( $V_{oi}$ ) reflete um bloqueio no transporte de elétron do PSII para a plastoquinona (PQ) (Yusuf et al., 2010; Adamski et al., 2011).

As faixas mais negativas na fase I-P indicam uma taxa de redução mais lenta do pool de aceptores finais do FSI (Redillas et al., 2011). Por outro lado, as amplitudes positivas determinam uma rápida redução do pool de aceptores finais do FSI (Yusuf et al., 2010).

Os valores de  $\phi P_0$  refletem a eficiência fotoquímica do PSII (Chekanov et al. 2018). A redução dos valores desse parâmetro indica que as plantas mantidas sob 100% de radiação solar sofreram fotoinibição, causando a diminuição da eficiência da transferência de elétrons (Jiang et al., 2008). A redução em  $\phi E_0$ , como observado nas plantas de 50% e 100% de radiação solar é resultado de uma transmissão inadequada dos elétrons (Mathur et al., 2013). Contudo, o aumento em  $ET_0/RC$  assim como  $\phi E_0$ , segundo Redillas et al. (2011) indicam que uma fração dos centros de reação ativa foi inativada, sua queda indica uma que a cadeia de transporte de eletrons foi comprometida. Entretanto, o aumento em  $\phi D_0$  e  $DI_0/RC$  indica que houve uma redução de centros de reação ativos, que não encaminham os elétrons para a plastoquinona, mas sim os dissipam na forma de calor ( $\phi D_0$ ) evitando assim a fotoinibição (Kalaji et al., 2017). Esse aumento também está ligado a proteção contra danos foto-oxidativo (Kalaji et al., 2014). O incremento em  $\phi D_0$  e  $DI_0/RC$  está associado a quantidade de centros de reação do FSII ativos ( $RC/CS_0$ ) ter sido superior nas plantas cultivadas a 20% de radiação (Figura 4 A, B, C). Devido ao crescimento sob baixa intensidade luminosa, essas plantas necessitam aproveitar toda a luz disponível para que possam realizar suas atividades fotossintéticas e, com isso, os centros de reação ficam abertos e mais luz é captada para o FSII, assim, aumentando a dissipação. A redução de  $S_m/TF_{max}$  nas plantas mantidas a 20% também sofreu influência do incremento de  $RC/CS_0$ , pois a atenuação indica um aumento no tempo para

a planta atingir sua fluorescência máxima, assim como observado nas plantas mantidas a 20% de luz, esse aumento se dá devido aos centros de reação do FSII estarem fechados, assim a diminuição desse parâmetro pode indicar que os centros de reação fechados são uma estratégia fisiológica de fotoproteção para evitar a fotoinibição (Osório et al., 2010). Além disso, foi observado uma correlação muito forte ( $-0,850595$  ( $P \leq 0.01$ )) entre  $DI_0/RC$  e  $RC/CS_0$ .

A atenuação em  $ABS/RC$  nas plantas de *P. tuberculatum* e *P. arboreum* cultivadas sob alta radiação incidente indica um mecanismo de defesa ao estresse, que ocasiona alteração no tamanho do sistema antena do FSII, isso causa a inativação de uma fração dos centros de reação. A inativação dos centros de reação (centros de redução ou dissipação de calor) podem ser uma indicação de suscetibilidade à fotoinibição (Kalaji et al., 2018). Isso tem relação direta com  $RC/CS_0$ . *P. tuberculatum* e *P. arboreum* mostraram ter plasticidade em seu fotossistema, reduzindo a absorção de energia, evitando danos oxidativos. De acordo com Rathod et al. (2011), o aumento em  $TR_0/RC$  indica que toda a  $Q_A$  foi reduzida, mas não foi capaz de oxidar de volta devido ao estresse causado pela alta exposição à luz, isto é, a reoxidação de  $Q_A$  - é inibida de modo que há um acúmulo e não pode transferir elétrons com eficiência para  $Q_B$ .

A redução de  $PI_{abs}$  sugere uma diminuição no desempenho fotossintético geral associado à redução da capacidade de transporte de elétrons (Kalaji et al. 2018). Entretanto, a redução em  $PI_{total}$ , indica um baixo desempenho fotossintético geral associado à redução da capacidade de transportar de elétrons (Kalaji et al. 2014). Onde foi observado uma redução em todas espécies quando cultivadas com 100% e 50% de radiação solar incidente. Contudo, as plantas cultivadas com 20% não tiveram o desempenho fotossintético afetado.

O aumento nas clorofilas “b” e totais nas plantas mantidas nos ambientes com maior nível de sombreamento se dá, pois, a concentração elevada dessas clorofilas permite à planta absorver a pouca luminosidade incidente na folha e aproveitar essa luminosidade para a fotossíntese, pois de acordo com Martinazzo et al. (2007), o teor de clorofila “b” tende a aumentar nas plantas submetidas a ambiente sombreado, pois esta é degradada mais lentamente que as clorofilas “a”. Maiores concentrações de clorofila “b” em plantas sombreadas representa um mecanismo de adaptação ao sombreamento, pois possibilita a captação de energia em outros comprimentos de onde essa energia é transferida para as clorofilas “a”, que é responsável por reações fotoquímicas da fotossíntese (Scalon et al.,

houve diferença significativa para a espessura da epiderme adaxial entre as três espécies quando cultivadas a 50% e 20% de radiação (Tabela 1).

Quando crescida a 20% de radiação *P. arboreum* exibiu o maior comprimento do xilema, espessura da nervura central e número de feixes. A espessura do parênquima paliádico, limbo, comprimento do floema, a espessura horizontal e vertical dos feixes foi superior em *P. nigrum*, seguida respectivamente por *P. arboreum* e *P. tuberculatum*. A espessura do parênquima esponjoso e o número de vasos xilemáticos foi superior em *P. arboreum* e *P. nigrum*, não havendo diferença significativa entre elas (Tabela 1).

O caule das três espécies estudadas apresentou diferenças ao serem cultivadas sob diferentes ambientes de radiação solar incidente (Tabela 2). Quando cultivada a 100% de radiação solar incidente *P. arboreum* exibiu uma maior espessura da epiderme, do colênquima, comprimento xilema, espessura vertical do feixe vascular e número de vasos xilemáticos seguida pelas demais espécies. *P. nigrum* exibiu maior comprimento do floema, espessura horizontal do feixe vascular, diâmetro dos vasos xilemáticos, comprimento e largura do elemento de vaso, onde o último não se diferiu de *P. tuberculatum* (Tabela 2).

A espessura da epiderme, do colênquima e o número de vasos foi superior nas plantas de *P. arboreum* mantidas a 50% de radiação, seguida pelas demais espécies. O comprimento do xilema apresentou o mesmo comportamento para *P. arboreum* e *P. tuberculatum*, não havendo diferença significativa entre as espécies. O comprimento do floema, largura dos elementos de vaso, espessura horizontal do feixe vascular e o diâmetro dos vasos xilemáticos foi superior em *P. nigrum* (Tabela 2).

Para as plantas mantidas a 20% de radiação a espessura da epiderme, comprimento do floema, largura dos elementos de vaso e o número de vasos xilemáticos não houve diferenças significativas entre as três espécies. *P. tuberculatum* apresentou o maior comprimento do xilema, espessura vertical do feixe vascular e diâmetro dos vasos xilemáticos, seguidos pelas outras duas espécies que não apresentaram diferenças significativas. A espessura do colênquima e o comprimento dos elementos de vaso foi superior em *P. arboreum* (Tabela 2).

As estruturas radiculares também apresentaram alterações entre as espécies nos três ambientes de radiação solar (Tabela 3), onde quando cultivada a 100% de radiação, o comprimento do xilema, a espessura do córtex, do cilindro vascular da periderme e a área

2003). A menor concentração nas plantas mantidas a 100% de radiação solar indica geração de espécies reativas de oxigênio, devido ao aumento na atividade de enzimas antioxidantes (Ye et al.,2017).

As maiores concentrações dos carotenoides nas plantas mantidas a 20% de luz é reflexo do aumento em RC/CSO e DI<sub>0</sub>/RC (Figura 4 A, B, C) com o maior número de centros de reações abertos a maior área iluminada no fotossistema (Paunov et al. 2018), e os carotenoides protegem as clorofilas do excesso de luz, agindo como uma espécie de filtro (Ilić and Fallik, 2017). Os carotenoides podem absorver a energia que seria capaz de formar espécies reativas de oxigênio, principalmente a Zeaxantina, também podem eliminar os que se formaram (Ilić and Fallik, 2017). Tendo em vista que as três espécies sofreram danos no aparato fotossintético quando cultivadas a 100% de radiação solar e que as menores concentrações de carotenoides também foram encontrados nessas plantas, tal pode ter ocorrido devido à falta desses pigmentos nessas plantas, agindo como fotoprotetores, diferente do observado nas plantas mantidas a 20%, que mantiveram o transporte de elétrons funcionando sem danos e apresentaram as maiores concentrações de carotenoides.

## 5. Conclusão

As espécies estudadas sofreram danos em seu aparato fotossintético ao serem mantidas a 100% de radiação solar incidente, o que não ocorreu quando as plantas foram mantidas nos ambientes com maior nível de sombreamento. *P. tuberculatum* não sofreu alteração no seu complexo de evolução do oxigênio e na conectividade dos componentes do FSII. A alta exposição luminosa afetou o desempenho fotossintético das plantas de *P. nigrum*, havendo redução da capacidade de transporte de elétrons.

A maior concentração de clorofila “b” foi observada em *P. tuberculatum* cultivada nos ambientes com maior sombreamento, indicando que a espécie apresenta estratégias para tolerar o sombreamento. Os carotenoides foram superiores em todas as espécies mantidas a 20% e as baixas concentrações nas plantas mantidas a 100%, indicando uma degradação desses pigmentos fotoprotetores.

A análise de PCA mostrou que as variáveis que sofreram maior variação foram PHI(P<sub>0</sub>), PHI(E<sub>0</sub>), PHI(D<sub>0</sub>), ET<sub>0</sub>/RC, DI<sub>0</sub>/RC, β-Caroteno, Licopeno, Zeaxantina, α-Caroteno,

$\beta$ -Criptoxantina, Carotenoides Totais, ABS/RC e Sm/T(fmax), onde houve destaque para DI<sub>0</sub>/RC.

## Referências

Adamski, J.M., Peters, J.A., Daniloski, R., Bacarin, M.A. Excess iron-induced changes in the photosynthetic characteristics of sweet potato. *J. Plant Physiol.* v. 168, p. 2056–2062, 2011.

Albuquerque, F.C.; Duarte, M.L.R.; Benchimol, R.L.; Endo, T. Resistência de piperáceas nativas da Amazônia à infecção causada por *Nectria haematococca* f. sp. *piperis*. *Acta Amaz.* v. 31, p. 341–348. 2001.

Arnon, D.I. Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. *Plant Physiology*, v. 24, n. 1, p. 1-15. 1949.

Barros, A. C. V., Almeida, K. P. C., Cavalcante, F. S. A., Lima, R. A., de Araújo Pantoja, T. M. Prospecção fitoquímica do extrato vegetal de *Piper tuberculatum* jacq. (Piperaceae) e seu potencial antimicrobiano. *Ciência & desenvolvimento*, v. 11, n. 2. 2018.

Bukhov, N.G., S.C. Sabat., P. Mohanty. Analysis of chlorophyll a fluorescence changes in weak light in heat treated *Amaranthus* chloroplasts. *Photosynth. Res.* v. 23, p. 81–87, 1990.

Celestino, C. O.; Ribeiro Varão, C. A.; Veludo, H. H.; Braga, A. G.; Lima, R. A. Ação inseticida do extrato de *Piper tuberculatum* (Jacq.). *South American Journal of Basic Education, Technical and Technological*, v. 3, n. 2, p. 3-9. 2016.

Chekanov, K., Vasilieva, S., Solovchenko, A., Lobakova, E. Reduction of photosynthetic apparatus plays a key role in survival of the microalga *Haematococcus pluvialis* (Chlorophyceae) at freezing temperatures. *Photosynthetica*, v. 56, n. 4, p. 1268-1277, 2018.

Desotgiu, R., Pollastrini, M., Cascio, C., Gerosa, G., Marzuoli, R., Bussotti., F. Responses to ozone on *Populus* “Oxford” clone in an open top chamber experiment assessed before sunrise and in full sunlight. *Photosynthetica* v. 51, p. 267–280. 2013.

Dousseau, S., Alvarenga, A.A.D., Alves, E., Chaves, I.D.S., Souza, E.D.S., Alves, J.D.S. Physiological, morphological and biochemical characteristics of the sexual propagation of *Piper aduncum* (Piperaceae). *Rev Bras Bot* v. 34, p. 297–305. 2011.

FAO (United Nations Food and Agriculture Organization), 2019. The water–energy–food nexus a new approach in support of food security and sustainable agriculture, [http://www.fao.org/nr/water/docs/FAO\\_nexus\\_concept.pdf](http://www.fao.org/nr/water/docs/FAO_nexus_concept.pdf), (accessed on 20.04.19.).

George, K.J., Malik, N., Kumar, I., V., Krishnamurthy, K., Gene expression analysis in drought tolerant and susceptible black pepper (*Piper nigrum* L.) in response to water deficit stress. *Acta Physiol Plant.* v. 39, p. 104. 2017.

Gonçalves, A. P. S.; Lima, R. A. Identificação das classes de metabólitos secundários do extrato etanólico de *Piper tuberculatum* jacq. South American Journal of Basic Education, Technical and tecnológica. v. 3, n. 2, p. 100-109. 2016.

Gonçalves, J. F. de C., Silva, C. E., Guimarães D. G., Bernardes, R. S. Análise dos Transientes da Fluorescência da Clorofila “a” de Plantas Jovens de *Carapa guianensis* e de *Dipteryx odorata* Submetidas a Dois Ambientes de Luz. Acta amazônica, v.40 p. 89-98, 2010.

Henriques, F. S. Leaf Chlorophyll Fluorescence: Background and Fundamentals for Plant Biologists. Botanical Review, v. 75, p. 249-270. 2009.

Ilić, Z.S., Fallik, E. Light quality manipulation improves vegetable quality at harvest and postharvest: A review. Environ. Exp. Bot. v. 139, p. 79–90. 2017.

Janusauskaite, D., Feiziene, D. Chlorophyll fluorescence characteristics throughout spring triticale development stages as affected by fertilization. Acta Agriculturae Scandinavica, Section B-Soil & Plant Science. v. 62, n.1, p. 7-15,2012.

Jiang, H. X., Chen, L. S., Zheng, J.G. Aluminum-induced effects on Photosystem II photochemistry in Citrus leaves assessed by the chlorophyll a fluorescence transient. – Tree Physiology, v. 28, p. 1863-1871. 2008.

Kalaji, H. M., Racková, L., Paganová, V., Swoczyna, T., Rusinowski, S., Sitko, K. Can chlorophyll-a fluorescence parameters be used as bio-indicators to distinguish between drought and salinity stress in *Tilia cordata* Mill. Environmental and Experimental Botany, v. 152, p. 149-157, 2017.

Kalaji, H. M., Oukarroum, A., Alexandro, V. V., Kouzmanova, M., Brestic, M., Zivcak M., Samborska, IA., Cetner M.D., Allakhverdiev, S.I., Goltsev V. Nutrient deficiency in maize and tomato plants by in vivo chlorophyll a fluorescence measurements. Plant Physiol. Biochem, v. 81, p. 16–25. 2014.

Kalaji, M. H., Oukarroum, A., Alexandrov, V., Kouzmanova, M., Brestic, M., Zivcak, M., Goltsev, V. Identification of nutrient deficiency in maize and tomato plants by in vivo chlorophyll a fluorescence measurements. Plant Physiol Biochem, v. 81, p. 16-25, 2014.

Kalaji, M., Rastogi, A., Zivcák, M., Brestic, M., Daszkowska, G. A., Sitko, K. Prompt chlorophyll fluorescence as a tool for crop phenotyping: an example of barley landraces exposed to various abiotic stress factors. Photosynthetica, v. 56, p. 953–961, 2018.

Kim, S.J., Yu, D.J., Kim, T.C., Lee, H.J. Growth and photosynthetic characteristics of blueberry (*Vaccinium corymbosum* cv. Bluecrop) under various shade levels. Sci. Hortic. v. 129, p. 486–492. 2011.

Kruger, G. H. J., Villiers, M. F., Strauss, A. J., Beer, M., Van Heerden, P. D. R., Maldonado, R., Strasser, R. J. Inhibition of photosystem II activities in soybean (*Glycine max*) genotypes differing in chilling sensitivity. South African Journal of Botany, v. 95, p. 85-96. 2014.

Lee, T.Y., Woo, S.Y., Kwak, M. J., Inkyin, K., Lee, K.E., Jang, J.H., Kim, I.R. Photosynthesis and chlorophyll fluorescence responses of *Populus sibirica* to water deficit in a desertification area in Mongolia. Photosynthetica. v. 54, p.317–320. 2016.

- Lemos, O. F., Poltronieri, M., Rodrigues, S. D. M., de Menezes, I. C., & Mondin, M. Conservação e melhoramento genético da pimenteira-do-reino (*Piper nigrum* L.) em associação com as técnicas de biotecnologia. Embrapa Amazônia Oriental-Documentos (INFOTECA-E), 2011.
- Long, R.L., Gorecki, M.J., Renton, M., Scott, J.K., Colville, L., Goggin, D.E., Commander, L.E., Westcott, D.A., Cherry, H. & Finch-Savage, W.E. The ecophysiology of seed persistence: a mechanistic view of the journey to germination or demise. *Biological Reviews*. v. 90, p. 31–59. 2015.
- Lopes, J.S., Costa, K.C.P., Fernandes, V.S., Gonçalves, J.F.C. Functional traits associated to photosynthetic plasticity of young Brazil nut (*Bertholletia excelsa*) plants. *Flora* v. 258, p. 151446. 2019.
- Martinazzo, E. G., Anese, S., Wandscheer, A. C. D., Pastorini, H. Efeito do Sombreamento sobre o Crescimento Inicial e Teor de Clorofila Foliar de *Eugenia uniflora* Linn (Pitanga) – Família. *Revista Brasileira de Biociências*, v. 5, n. 2, p. 162-164. 2007.
- Mathur, S., Mehta, P., Jajoo, A. Effects of dual stress (high salt and high temperature) on the photochemical efficiency of wheat leaves (*Triticum aestivum*). – *Physiol. Mol. Biol. Plants*, v. 19, p. 179-188, 2013.
- Melo, H. F., Souza, E. R., Cunha, J. C. Fluorescence of chlorophyll a and photosynthetic pigments in *Atriplex nummularia* under abiotic stresses. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, v. 21, n. 4, p. 232-237, 2017.
- Menezes, A. J. E. A., Homma, A. K. O., Ishisuka, Y., Kodama, N. R., Kodama, E. E. *Gliricídia* como tutor vivo para pimenteira-do-reino. Belém: Embrapa Amazônia Oriental, 2013. 33p. (Embrapa Amazônia Oriental. Documentos, 393).
- Osório, M. L., Osório, J., Romano, A. Chlorophyll fluorescence in micropropagated *Rhododendron ponticum* subsp. *baeticum* plants in response to different irradiances. *Biol Plant* v. 54, p. 415–422. 2010.
- Paunov, M., Koleva, L., Vassilev, A., Vangronsveld, J., Goltsev, V. Effects of different metals on photosynthesis: Cadmium and zinc affect chlorophyll fluorescence in Durum Wheat. *Intern. J Mol. Sci.*, v. 19, n. 3, p. 787, 2018.
- Perboni, A. T., Martinazzo, E. G., Silva, D. M., Bacarin, M. A Baixas temperaturas sobre a fluorescência da clorofila “a” em plantas de diferentes híbridos de canola. *Ciência Rural*, Santa Maria, v. 45, n. 2, p. 215-222, 2015.
- Pereira, M. A., Gonçalves, D. S., Souza, P. A. D., Lucena, F. R., Silva, R. R. D., Brondani, G. E. Luminosity levels affect the initial seedlings growth and nutrient accumulation in *khaya senegalensis* a. Juss. *Cerne*, v. 24, n. 4, p. 344-351. 2018.
- Ramalho, M.A.P., Ferreira, D.F., Oliveira, A.C. A experimentação em genética e melhoramento de plantas. Lavras: Ufla, 2000. 326p.
- Rathod, D. P., Brestic, M., Shao, H. B. Chlorophyll a fluorescence determines the drought resistance capabilities in two varieties of mycorrhized and non-mycorrhized *Glycine max* Linn. *Afr J Microbiol Res*, v. 5, p. 4197–4206, 2011.

- Redillas, M.C.F.R, Jeong, J.S., Strasser, R.J., Kim, Y. S., Kim, J.K. JIP analysis on rice (*Oryza sativa* cv Nipponbare) grown under limited nitrogen conditions. *J Korean Soc Appl Biol Chem.* v. 54, p. 827–832, 2011.
- Redillas, M.C.F., Strasser, R.J., Jeong, J.S., Kim, Y.S., Kim, J.K. The use of JIP test to evaluate drought-tolerance of transgenic rice overexpressing OsNAC10. *Plant Biotechnol. Rep.* v. 5, p. 169–175, 2011.
- Rodrigues, S. D. M., Poltronieri, M. C., Lemos, O. F. Comportamento de genótipos de pimenteira-do-reino cultivados em dois tipos de tutores. *Embrapa Amazônia Oriental-Artigo em periódico indexado (ALICE).* 2017.
- Rodriguez-Amaya, D.B., Kimura, M. *Harvest Plus handbook for carotenoid analysis.* Washington, DC: International Food Policy Research Institute; Cali: International Center for Tropical Agriculture, (Technical monograph series, 2), p. 58. 2004.
- Chen, S. R.J., Strasser, S. Qiang, In vivo assessment of effect of phytotoxin tenuazonic acid on PSII reaction centers, *Plant Physiol. Biochem.* v. 84, p. 10–21, 2014.
- Salvatori, E., Fusaro, L., Gottardini, E., Pollastrini, M., Goltsev, V., Strasser, R. J., Bussotti, F. Plant stress analysis: application of prompt, delayed chlorophyll fluorescence and 820 nm modulated reflectance. Insights from independent experiments. *Plant Physiology and Biochemistry,* v. 85, p. 105–113, 2014.
- Santos, U. F., Ximenes, F. S., Luz, P. B., Júnior, S. S., Paiva S. S. Níveis de sombreamento na produção de mudas de pau-de-balsa (*Ochroma pyramidale*). *Journal Bioscience,* v. 30, n. 1, p. 129-136. 2014.
- Sarnaglia Junior, V.B., Bermudez, G.M.M., Guimarães, E.F. Diversidade de Piperaceae em um remanescente de Floresta Atlântica na região serrana do Espírito Santo, Brasil. *Biotemas.* v. 27, p. 49-57. 2014.
- Scalon, S. P. Q., Mussury, R. M., Rigoni, M. R., Scalon Filho, R. Crescimento inicial de mudas de *Bombacopsis glabra* (Pasq.) A. Robyns sob condição de sombreamento. *Revista Árvore,* v. 27, n. 6, p. 753- 758. 2003.
- Silva, J.A., Oliveira, F.F., Guedes, E.S., Bittencourt, M.A.L., Oliveira, R.A. Atividade antioxidante de *Piper arboreum*, *Piper dilatatum* e *Piper divaricatum*. *Rev Bras Plantas Med.* v. 16, p. 700–706. 2014.
- Souza, J. A., Silva R.J. E., Farias R. J. P., Sousa, W. H., Araújo, J. S., Lima, G. F. C., Dias, J. A. Rendimento quântico e eficiência de uso da água de genótipos de palma forrageira no Semiárido brasileiro. *Archivos de zootecnia,* v. 68, n. 262, p. 268-273. 2019.
- Stirbet, A., Govindjee. On the relation between the Kautsky effect (chlorophyll a fluorescence induction) and Photosystem II: Basics and applications of the OJIP fluorescence transient. *Journal of Photochemistry and Photo Biology.* v. 104, p. 236-257. 2011.
- Strasser, B. J., Strasser, R. J. Measuring fast fluorescence transients to address environmental questions: the JIP-test. In: Mathis P, editor. *Photosynthesis: from light to biosphere.* Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, p. 977–980, 1995
- Strasser, R. J., Srivastava, A., Tsimilli-Michael, M. The fluorescence transiente as a tool to characterize and screen photosynthetic samples. In YUMUS, M.; PATHRE, U.;

Mohanty, P (eds.), Probing Photosynthesis: Mechanisms, Regulation and Adaptation, Taylor & Francis, p. 445-483. 2000.

Strasser, R. J., Srivastava, A., Tsimilli-Michael, M. The fluorescence transient as a tool to characterize and screen photosynthetic samples. In: Probing Photosynthesis: Mechanisms, Regulation and Adaptation. M. Yunus. U. Pathre, P. Mohanty (eds.), Taylor & Francis. London. GB. p. 445-483, 2000.

Strasser, R. J., Tsimilli-Michael, M., Srivastava, A. Analysis of the chlorophyll a fluorescence transient. In: Papageorgiou GC, Govindjee (eds) Chlorophyll fluorescence: a signature of photosynthesis. Advances in photosynthesis and respiration series. Springer, Dordrecht, p. 321–362, 2004.

Strasser, R.J., Stirbet, A.D. Heterogeneity of photosystem II probed by the numerically simulated chlorophyll a fluorescence rise (O-J-I-P). Mathematics and Computers in Simulation, v.48, p.3-9, 1998.

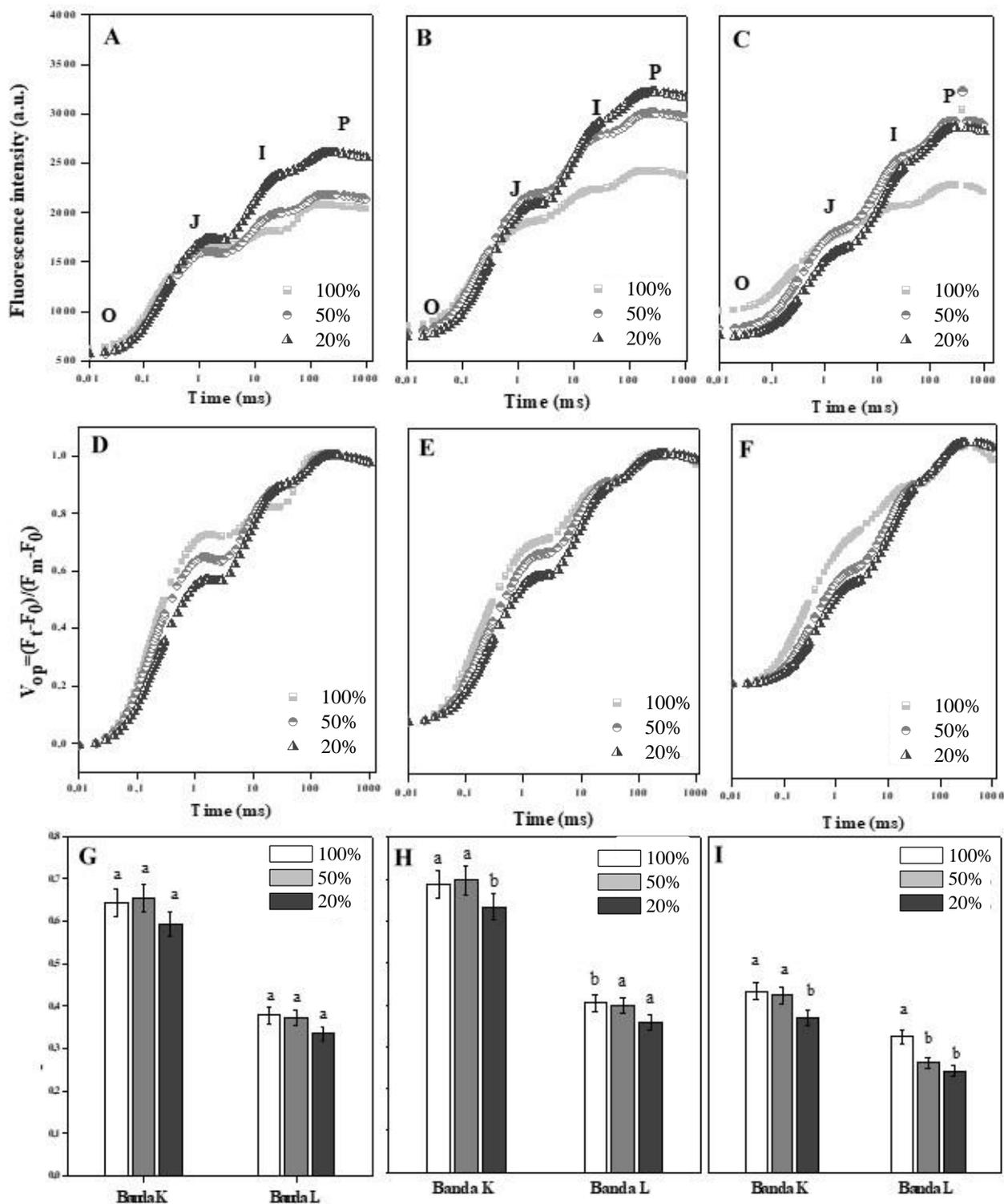
Takooree, H., Aumeeruddy, M. Z., Rengasamy, K. R. R., Venugopala, K. N., Jeewon, R., Zengin, G., Mahomoodally, M. F. A systematic review on black pepper (*Piper nigrum* L.): from folk uses to pharmacological applications. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, v. 59, n. 1, 2019.

Tomek, P., Lazár, D., Ilík, P, Naus, J. On intermediate steps between the O and P steps in chlorophyll a fluorescence rise measure at different intensities of exciting light. Australian Journal Plant Physiology, v. 28, p. 115-1160. 2001.

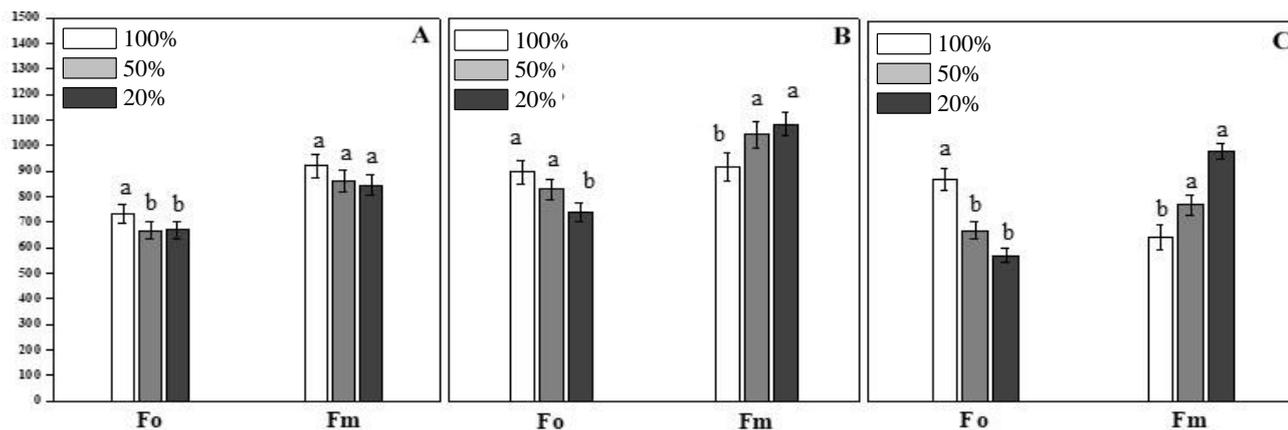
Ye, YR., Wang, W.L., Zheng, C.S., Fu, D.J., Liu, H.W., Shen, X. Foliar application of  $\alpha$ -tocopherol enhanced salt tolerance of *Carex leucochlora*. Biol Plant. v. 61, n.3, 565–570.2017.

Yusuf, M. A., Kumar, D., Rajwanshi, R., Strasser, R. J., Tsimilli-Michael, M., Govindje. Overexpression of c-tocopherol methyl transferase gene in transgenic *Brassica juncea* plants alleviates abiotic stress: physiological and chlorophyll a fluorescence measurement. Biochim Biophys Acta. v. 1797, p. 1428–1438, 2010.

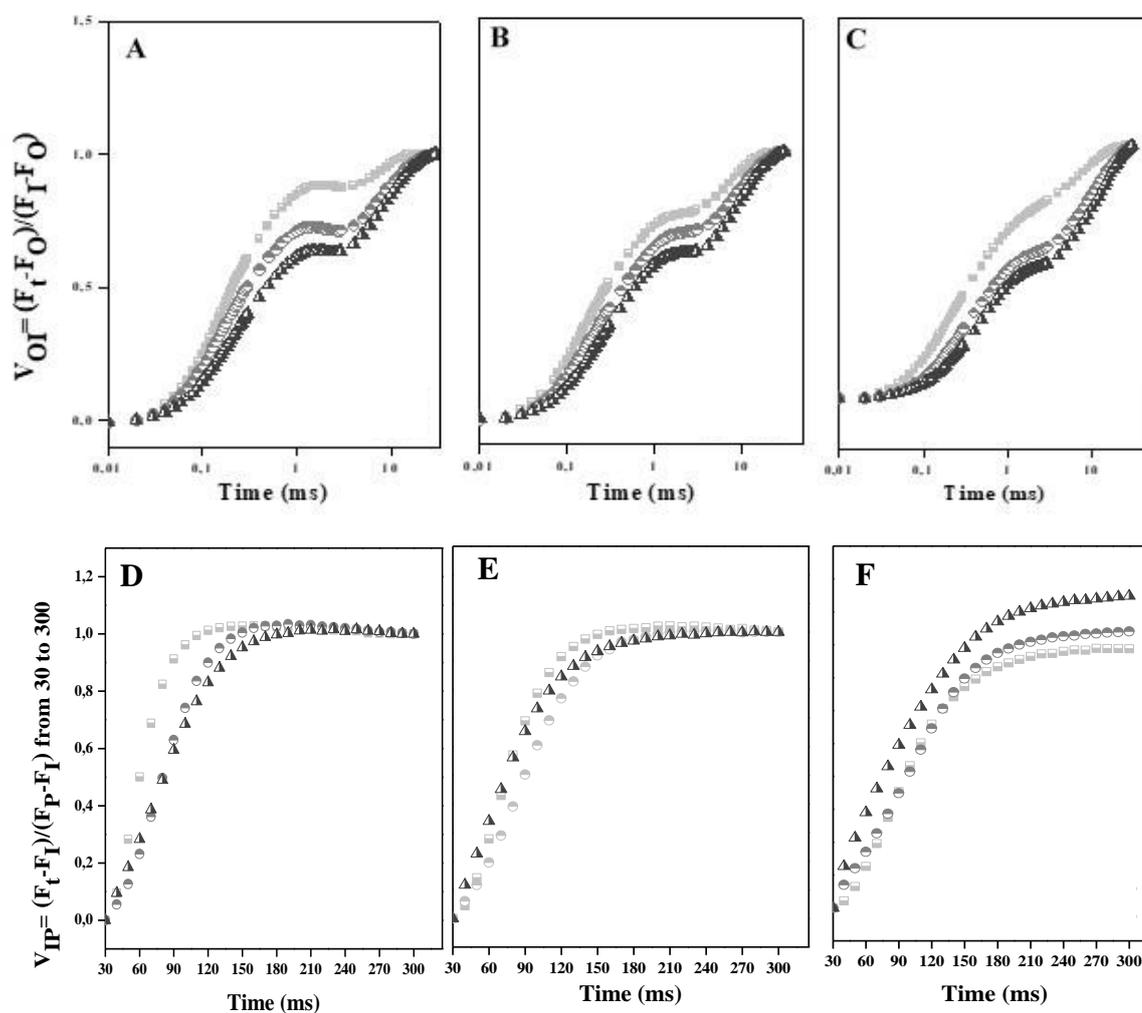
Zhang R.H., Zhang X.H., Camberato J.J. Photosynthetic performance of maize hybrids to drought stress. — Russ. J. Plant Physl. v. 62, p. 788–796, 2015.



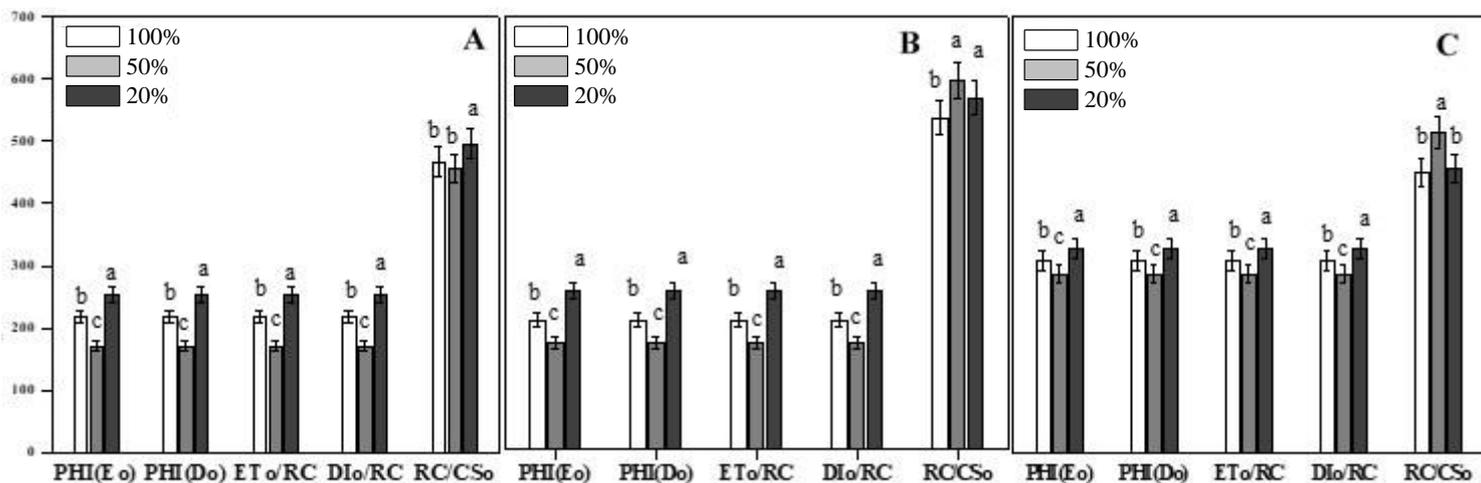
**Figura 1-** Efeitos de diferentes níveis de sombreamento (0%, 50% e 80%) sobre: (A, B e C) a curva polifásica de emissão da fluorescência da clorofila “a” em *Piper tuberculatum*, *Piper arboreum* e *Piper nigrum*; (D,E e F) fluorescência relativa entre os pontos 0,02 e 300 ms ou  $V_{op} = (F_t - F_0) / (F_m - F_0)$  e (G,H,I) Variação da banda K estabelecida a partir da normalização K band:  $V_{0J300} = (F_{300\mu s} - F_0) / (F_J - F_0)$  e Variação da banda L estabelecidas a partir da normalização L band:  $V_{0K100} = (F_{100\mu s} - F_0) / (F_{300} - F_0)$ . Diferentes letras na figura 1G, H, I se refere às diferenças significativas encontradas entre os tratamentos de acordo com o teste de Scott-Knott a 5% de significância.



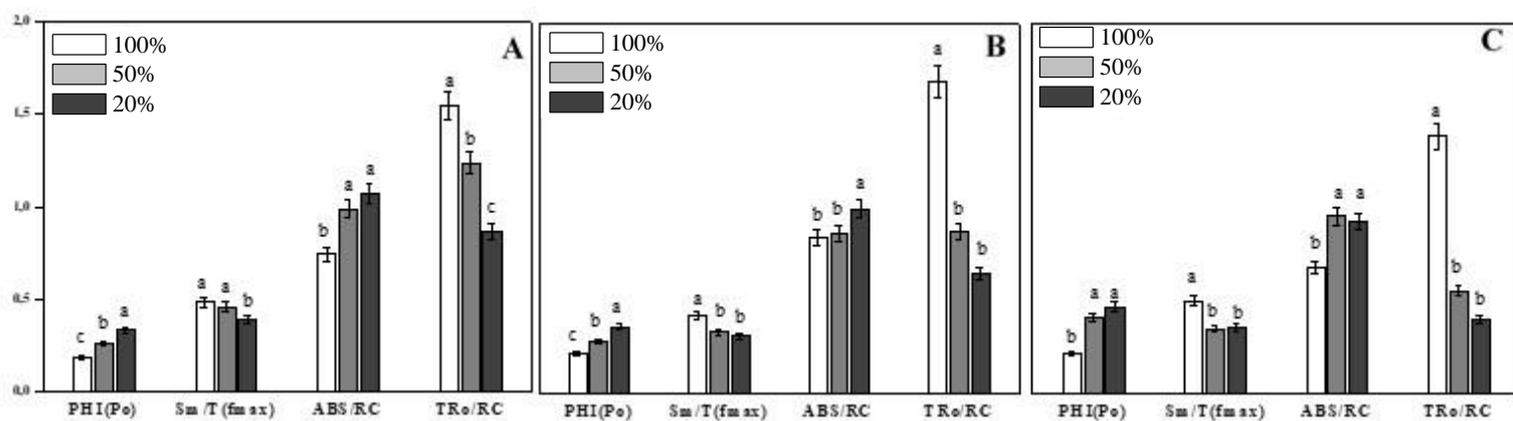
**Figura 2-** Fluorescência inicial ( $F_o$ ) e fluorescência máxima ( $F_m$ ) em plantas de *Piper tuberculatum* (A), *Piper arboreum* (B) e *Piper nigrum* (C) cultivadas sobre diferentes níveis de sombreamento (0%, 50% e 80%).



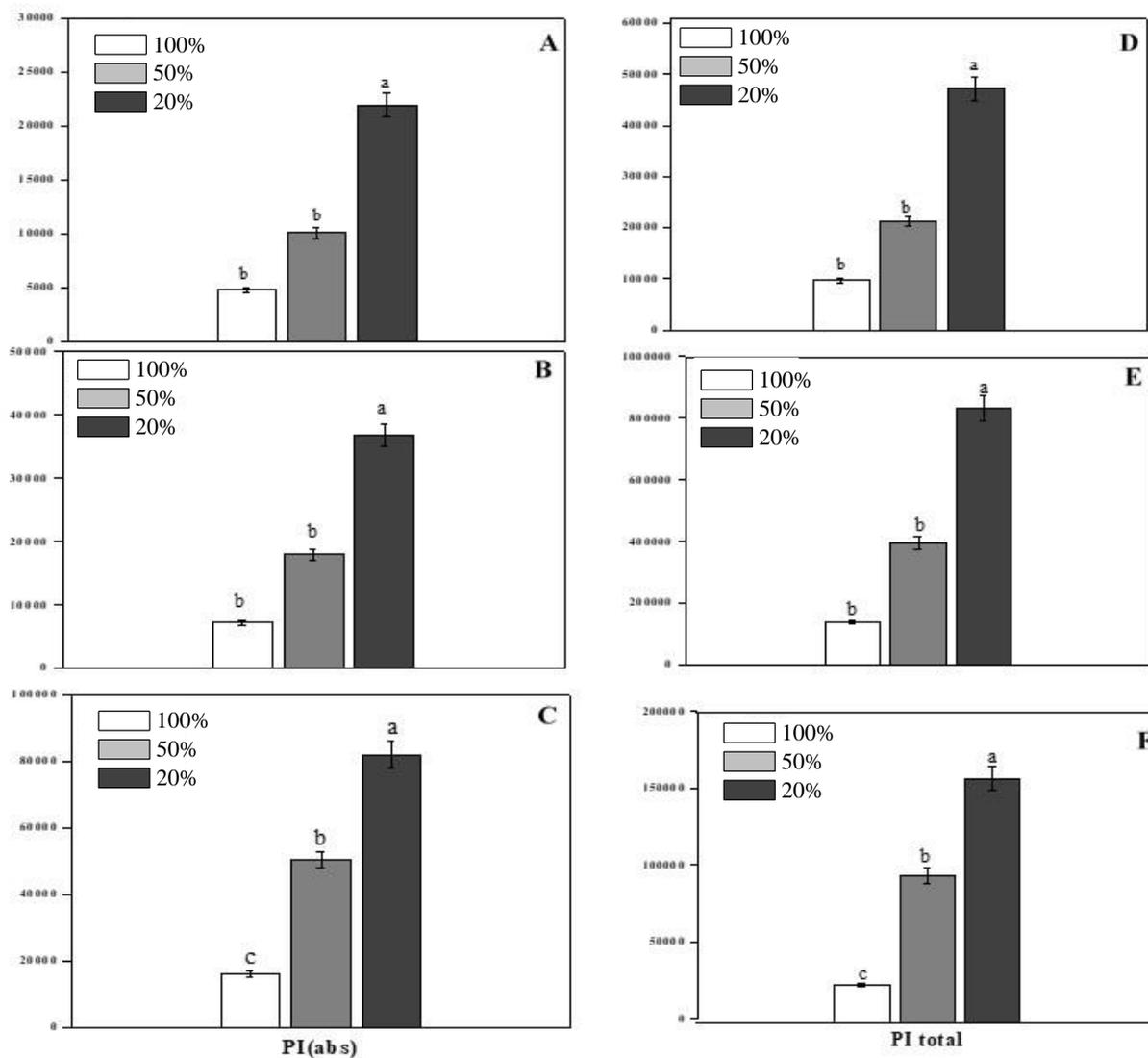
**Figura 3-** Efeitos de diferentes níveis de sombreamento (0%, 50% e 80%) sobre: (A, B e C) Normalização entre a fase O e I (30 ms) como  $V_{OI} = (F_t - F_o) / (F_I - F_o)$ , (D, E e F) normalização entre FI e FP onde  $V_{IP} = (F_t - F_I) / (F_P - F_I)$  no intervalo de 30 a 300 ms, em plantas de *Piper tuberculatum*, *Piper arboreum* e *Piper nigrum* respectivamente.



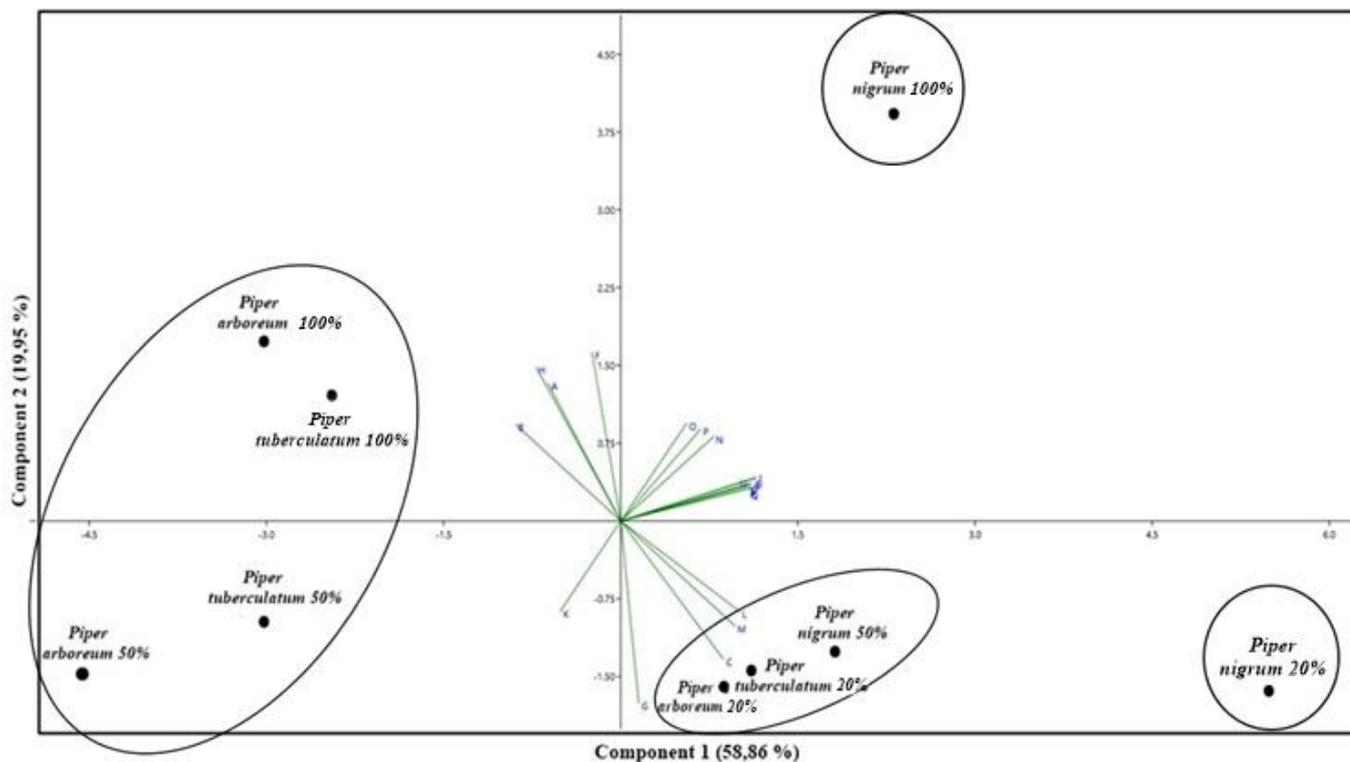
**Figura 4-** Parâmetros fotoquímicos derivados da análise do teste JIP em plantas de *Piper tuberculatum* (A), *Piper arboreum* (B) e *Piper nigrum* (C) cultivadas sobre diferentes níveis de sombreamento (0%, 50% e 80%). Rendimento quântico da transferência de elétrons a partir da QA- para a cadeia de transporte de elétrons além QA- ( $\phi E_o$ ), rendimento quântico fotoquímico para dissipação de calor ( $\phi D_o$ ), fluxo de transporte de energia por centro de reação (ET0/RC), fluxo de energia dissipada por centro de reação (DI0/RC) e quantidade de centros de reação do FSII ativos por seções cruzadas (RC/CS0).



**Figura 5-** Parâmetros fotoquímicos derivados da análise do teste JIP em plantas de *Piper tuberculatum* (A), *Piper arboreum* (B) e *Piper nigrum* (C) cultivadas sobre diferentes níveis de sombreamento (0%, 50% e 80%). Rendimento quântico fotoquímico máximo ( $\phi P_o$ ), fração média de centros de reação abertos no período de 0 a TFmax (tempo de produção da fluorescência máxima) (Sm/TFmax), Fluxo de absorção de energia por centro de reação (ABS/RC) e fluxo de energia capturada por centro de reação (TR0/RC).



**Figura 6-** Índice de desempenho para conservação de energia desde éxcitons capturados até a redução dos aceptores de elétrons do intersistema (PI abs) e índice de desempenho para conservação de energia de uméxciton capturado para redução dos aceptores finais do FSI (PI total), em plantas de *Piper tuberculatum* (A, D), *Piper arboreum* (B,E) e *Piper nigrum* (C,F) cultivadas sobre diferentes níveis de sombreamento (0%, 50% e 80%).



**Figura 7-** O gráfico para os dois componentes principais (explica em conjunto 75,81% da variação) de todos os tratamentos. As linhas verdes indicam a variação que as variáveis tiveram em cada componente, onde A=Fo, B=Fm, C=PHI(Po), D=PHI(Eo), E=PHI(Do), F=Sm/T(fmax), G=ABS/RC, H=TRo/RC, I=ETo/RC, J=DIo/RC, K=RC/CSo, L=PI(abs), M=PI total, N=C1 a, O=C1 b, P=C1 total, Q= $\beta$ -Caroteno, R=Licopeno, S=Zeaxantina, T= $\alpha$ -Caroteno, U= $\beta$ -Criptoxantina, V=Carotenoides Total. Os círculos indicam que as respostas das espécies cultivadas nos diferentes ambientes de sombreamento foram semelhantes.

	<i>Piper tuberculatum</i>			<i>Piper arboreum</i>			<i>Piper nigrum</i>		
	0%	50%	80%	0%	50%	80%	0%	50%	80%
Cl a µg/ml	2,44 a	2,06 a	2,02 a	4,69 a	6,71 a	5,51 a	9,6 a	11,7 a	10,29 a
Cl b µg/ml	2,4 b	3,29 a	3,2 a	6,5 a	7,94 a	6,09 a	10,54 a	12,91 a	8,86 a
Cl total µg/ml	4,84 b	5,35 a	5,22 a	11,2 a	14,66 a	11,6 a	20,14 a	24,61 a	19,15 a
β-Caroteno µg/ml	29,33 b	35,4 b	52,21 a	20,98 b	33,82 a	42,88 a	35,51 c	52,83 b	66,65 a
Licopeno µg/ml	22,02 b	26,92 b	39,31 a	12,17 c	25,15 b	34,5 a	26,84 c	40,24 b	50,79 a
Zeaxantina µg/ml	32,65 b	39,88 b	58,7 a	17,13 c	37,98 b	48,57 a	39,96 c	59,66 b	75,32 a
α-Caroteno µg/ml	28,61 b	35,99 b	52,01 a	15,35 c	33,68 b	44,54 a	35,54 c	53,79 b	68,14 a
β-Criptoxantina µg/ml	32,13 b	39,25 b	57,76 a	16,86 c	37,38 b	47,8 a	39,33 c	58,71 b	74,12 a
Catotenoides totais µg/ml	144,74 b	177,44 b	259,99 a	82,49 c	168,01 b	218,29 a	177,18 c	265,23 b	335,02 a

Tabela 1- Efeito de diferentes níveis de sombreamento (0%, 50% e 80%) sobre o conteúdo de pigmentos fotossintéticos de plantas de *Piper tuberculatum*, *Piper arboreum* e *Piper nigrum*. Diferentes letras referem-se às diferenças significativas encontradas entre os tratamentos de acordo com teste de Scott-nott test a 5% de significância.

CAPITULO 3 – Papel das alterações anatômicas no desempenho fisiológico em espécies de *Piper* cultivadas sob diferentes intensidades de radiação solar incidente

**Apresentado nas normas da revista:** Environmental and Experimental Botany

The image shows the homepage of the journal 'Environmental and Experimental Botany'. The header is green with the journal title in white. Below the title, it says 'Supports open access'. The main content is divided into four columns:

- Journal Cover and Metrics:** On the left, there is a thumbnail of the journal cover. To its right, the CiteScore is 4.45 and the Impact Factor is 3.712.
- Explore journal content:** A list of navigation options with blue arrow icons: Latest issue, Articles in press, Article collections, and All issues.
- Latest issues:** A list of recent volumes: Volume 172 (In progress, April 2020), Volume 171 (March 2020), Volume 170 (February 2020), and Volume 169 (January 2020).
- Find out more:** A list of links: 'Submit your article' (highlighted in a blue button), 'Guide for authors', and 'About the journal'.

## Papel das alterações anatômicas no desempenho fisiológico em espécies de *Piper* cultivadas sob diferentes intensidades de radiação solar incidente

Basílio Cerri Neto<sup>a</sup>, Antelmo Ralph Falqueto<sup>a</sup>, Sara Dousseau Arantes<sup>b,c</sup>, Guilherme Augusto Rodrigues de Souza<sup>d</sup>, Rizia Joyce costa<sup>c</sup>, Fernanda Rodrigues Nunes e Silva<sup>a</sup>, Thayanne Rangel Ferreira<sup>b</sup>, Lucio de Oliveira Arantes<sup>c</sup>, José Altino Machado Filho<sup>c</sup>, Katherine Fraga Ruas<sup>d</sup>

<sup>a</sup> Departamento de Ciências Biológicas, Centro de Ciências Humanas e Naturais, Universidade Federal do Espírito Santo, Avenida Fernando Ferrari, 514, Goiabeiras, CEP 29075-910, Vitória, Espírito Santo, Brazil.

<sup>b</sup> Departamento de Ciências Agrárias e Biológicas, Centro Universitário Norte do Espírito Santo, Universidade Federal do Espírito Santo, BR101 Norte, Km. 60, Bairro Litorâneo, CEP 29932-540, São Mateus, Espírito Santo, Brazil.

<sup>c</sup> Instituto Capixaba de Pesquisa, Assistência Técnica e Extensão Rural, BR 101N, km 151, Linhares, Caixa postal 62, Espírito Santo, Brazil.

<sup>d</sup> Setor de Fisiologia Vegetal, Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias, Universidade Estadual do Norte Fluminense, Av. Alberto Lamego, 2000 - Parque California, Campos dos Goytacazes - RJ, 28013-602.

### Resumo

As plantas utilizam a luz como uma fonte de energia, a qual pode estimular ou limitar o processo fotossintético. A limitação causada no processo fotossintético é influenciada pelas alterações ocorridas nas estruturas anatômicas, que conseqüentemente influenciam o funcionamento fisiológico da planta. Uma espécie com capacidade de modificar suas estruturas anatômicas e seu aparato fotossintético sob diferentes condições ambientais é considerada plástica. O gênero *Piper* possui grande importância econômica, tendo em vista que engloba a pimenta-do-reino, que produz o condimento mais consumido em todo o mundo, além das espécies nativas, que produzem metabolitos secundários utilizados na indústria farmacêutica e na agricultura. Com o exposto, o objetivo do trabalho foi avaliar a influência dos diferentes ambientes de radiação solar incidente sobre a anatomia e ecofisiologia em diferentes espécies de *Piper*, buscando-se entender as alterações fisiológicas causadas pelas modificações estruturais. As mudas das espécies nativas foram obtidas via seminal e da pimenta-do-reino, por estaquia, sendo transplantadas para vasos de 5 litros e aclimadas por 30 dias em viveiro com 50% de radiação solar incidente. Após este período, as plantas foram expostas aos diferentes ambientes de luz (100%, 50% e 20% de radiação). Após seis meses foram avaliadas as trocas gasosas pontuais com 1200  $\mu\text{mol}$  fótons  $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$  e as curvas de resposta à luz, além da anatomia foliar, caulinar e radicular. Os dados dos parâmetros anatômicos foram submetidos à análise de variância e as médias agrupadas pelo teste de Scott Knott ( $p \leq$

0,05). Foi realizada análise de componentes principais (PCA) com todas as variáveis analisadas para cada espécie. *P. arboreum*, apresentou a maior eficiência instantânea do uso da água ( $A/E$ ), taxa fotossintética bruta máxima em irradiância de saturação ( $A_{max}$ ), espessura horizontal do feixe vascular das folhas e largura do elemento do vaso do caule quando as plantas foram cultivadas com 20% de radiação solar. *P. tuberculatum* apresentou maior  $A/E$ ,  $A_{max}$ ,  $LSP$ ,  $LCP$ , espessura do colênquima, número de vasos xilemáticos nas folhas quando cultivada com 100% de radiação solar. Os ambientes de 20% e 50% influenciaram o rendimento quântico ( $\Phi_i$ ), comprimento do xilema, *gs*. *P. nigrum* apresentou incremento em  $\phi(I_0)$   $A_{max}$ , no ambiente de 20% de radiação solar incidente. Contudo, *gs*,  $E$ ,  $RD$ , espessura da epiderme do caule, o comprimento do xilema radicular e o potencial hídrico foliar ( $\Psi_w$ ), apresentaram melhor desempenho quando as plantas foram mantidas a 100% de radiação. O ambiente de 100% de radiação contribuiu na densidade estomática e nas espessuras do parênquima paliçádico e limbo de todas as espécies. Assim, como se espera a eficiência no uso da água ( $A/E$ ) foi maior nas plantas de *P. arboreum* mantidas a 20%. Porém, *P. tuberculatum* apresentou maiores valores nas plantas mantidas a 100%, além disso, aumentou sua fotossíntese máxima ( $A_{max}$ ) e o número de vasos xilemáticos, o incremento dessas variáveis indicam que a espécie apresenta forte plasticidade. *P. nigrum* apresentou uma contribuição nas espessuras das epidermes de folha, caule e raiz no ambiente de 100% de radiação, esse incremento auxiliou a planta a reduzir seu potencial hídrico foliar ( $\Psi_w$ ). Os resultados deste experimento comprovam a perda da plasticidade em *P. nigrum*. Assim, se recomenda estudos de melhoramento para desenvolver genótipos mais tolerantes à ambientes com pouca radiação solar incidente.

**Palavras-chave:** Fotossíntese, eficiência do uso da água, xilema, *Piper nigrum* L., *Piper tuberculatum* Jacq. *Piper arboreum* Aub.

## 1. Introdução

O crescimento e o desenvolvimento das plantas são regulados pelas características genéticas, ambientais e hormonais. Dentre os fatores ambientais de origem abiótica, a radiação solar se destaca por influenciar diversos processos no biociclo da planta. As plantas utilizam a luz como uma fonte de energia, a qual pode estimular ou limitar o processo fotossintético, como um sinal com informações espaciais e temporais importantes sobre o seu ambiente circundante (Waters; Langdale, 2009).

A limitação causada no processo fotossintético é influenciada pelas alterações ocorridas nas estruturas anatômicas, principalmente a espessura do parênquima paliçádico, densidade estomática, além das alterações no sistema vascular, particularmente no xilema e na densidade e espessura dos vasos, que controlam o fluxo de  $CO_2$  e a água que entra na planta (Vieira et al., 2012).

Uma espécie com capacidade de modificar suas estruturas anatômicas e seu aparato fotossintético sob diferentes condições ambientais é considerada plástica (Perera- Castro

et al., 2017). A plasticidade fenotípica tem forte influência sob a distribuição das plantas, pois elas conseguem se ajustar à disponibilidade de recursos e a variação espacial do ambiente em que estão.

Plantas cultivadas sob alta radiação solar incidente investem no seu sistema radicular, principalmente nas estruturas xilemáticas, a fim de aumentar a capacidade de captura de água, tendo em vista que plantas cultivadas em ambientes com maior incidência luminosa sofrem mais com o déficit hídrico, folhas aumentam o parênquima paliçádico e a densidade estomática (Morais et al. 2003). Contudo, as crescidas sob menor radiação solar incidente, investem em parte aérea, aumentando a área foliar, aumentam também o comprimento do caule. Devido à baixa radiação solar, diminuem a espessura do parênquima paliçádico, a fim de facilitar a difusão de CO<sub>2</sub> no mesófilo e também há uma redução na densidade estomática, diminuindo a transpiração e aumentando a eficiência no uso da água (Yuan et al., 2016). Segundo Ahemd et al., (2016), plantas cultivadas com pouca radiação solar incidente além de apresentarem uma maior produção, as plantas tem um efeito positivo na homogeneidade da produção, também há uma redução na quantidade de água necessária para a irrigação.

As alterações estruturais e o ajuste do aparato fotossintético são modificados em função da radiação solar incidente, influenciando diretamente o estabelecimento da planta em determinado ecossistema. Em nível de indivíduo a heterogeneidade dos ambientes das matas, como a Mata Atlântica tem forte influência sobre a eficiência do uso da radiação solar incidente, o que influencia a morfologia interna e a capacidade de fotossíntese das plantas. Esses fatores são cruciais para a distribuição especial das espécies (Vieira et al., 2012).

Espécies do gênero *Piper* são aromáticas, produzindo elevados teores de metabolitos secundários, principalmente os óleos essenciais, que são utilizados para a produção de fármacos pela indústria farmacêutica (Cysne et al., 2005). Além do uso nas indústrias, espécies do gênero vêm sendo mundialmente usadas na medicina popular, devido a suas propriedades biológicas (Araujo et al., 2019).

Os metabolitos secundários de *Piper tuberculatum* Jacq. e *Piper arboreum* Aub. exibem teores elevados de fenilpropanóide dilapiol (Facundo et al. 2008), conferindo principalmente ao óleo essencial um efeito inseticida (Celestino et al., 2016). Também

possui ação fungicida e antibacteriana (Souza et al., 2019) e antioxidantes (Silva et al. 2014).

Além das espécies nativas gênero, o *Piper* também engloba a pimenteira-do-reino (*Piper nigrum* L.), que é o condimento mais consumido no mundo. O Brasil é o terceiro maior produtor do condimento, ficando atrás apenas do Vietnã e da Indonésia e superando a produção da Índia em 2017 (FAO, 2019). Além da sua importância para a agricultura, a pimenta do reino também vem sendo utilizada na produção de fármacos, sendo utilizadas contra agentes patogênicos como bactérias, vírus e fungos (Ahmad et al., 2012). Os metabólitos secundários apresentam compostos antioxidantes naturais que tem potencial para a prevenção de inflamações e ao câncer (Ahmad et al., 2012).

Os pipericultores vem sofrendo com a presença da fusariose nas lavouras de pimenteira-do-reino, muitas vezes perdendo lavouras inteiras. Essa doença é causada por um fungo que acomete o sistema radicular das plantas. Entretanto as espécies nativas apresentam resistência e/ou imunidade. Tendo isso em vista, as espécies nativas vêm sendo utilizadas como porta enxerto para diferentes genótipos de *Piper nigrum*, principalmente a cultivar bragantina (Albuquerque et al., 2001).

Os produtores de pimenta do reino vêm utilizando outros sistemas de cultivo, a fim de aumentar a produção e reduzir gastos. Um deles é o uso de tutores vivos como a gliricídia, pois dispensa o uso de estacões de madeira, além da gliricídia alguns produtores utilizam árvores frutíferas e até mesmo o plantio em consórcio com outras culturas (Menezes et al., 2013). Entretanto, o uso de tutor vivo ou consórcio condiciona as plantas a condições de pouca radiação solar incidente, sendo desconhecidos as respostas da pimenteira-do-reino perante o sombreamento.

Esses fatores são agravantes, tendo em vista que *Piper tuberculatum* e *Piper arboreum* ocorrem naturalmente nas matas, preferencialmente em locais úmidos e com pouca radiação solar incidente (Araújo, 2011). Entretanto *Piper nigrum* passou por um processo de melhoramento genético para ser cultivada a pleno sol (Menezes et al., 2013). Com o exposto, o objetivo do trabalho foi avaliar a influência dos diferentes ambientes de radiação solar incidente sobre a anatomia e ecofisiologia em diferentes espécies de *Piper*, buscando-se entender as alterações fisiológicas causadas pelas modificações estruturais.

## 2. Metodologia

### 2.1 Material vegetal e condições de cultivo

O experimento foi conduzido entre julho de 2018 e janeiro de 2019, na Fazenda Experimental de Linhares, do Instituto Capixaba de Pesquisa, Assistência Técnica e Extensão Rural (Incaper), localizada a 19°25'00,1" S e 40°04'35,3" W, no município de Linhares, região Norte do estado do Espírito Santo. Durante o período da condução do experimento foram obtidos os dados climáticos da estação meteorológica automática do INCAPER, sendo os valores médios de temperatura máxima, mínima e média, precipitação e umidade relativa, 30.17°, 20.36°, 23.84°, 2.63 mm, 76.26 % respectivamente.

Foram utilizadas no experimento duas espécies selvagens (*Piper tuberculatum* Jacq. e *Piper arboreum* Aubl.) e a *Piper nigrum* L cultivar Bragantina ('Panniyur 1'), foram utilizados propágulos de plantas matrizes do Banco Ativo de Germoplasma (BAG) do Incaper. As mudas das espécies nativas foram obtidas via seminal, utilizando o protocolo proposto por Dousseau et al. (2011). Após 30 dias, as plântulas foram plantadas em bandeja de isopor com 200 células, contendo substrato Bioplant®, e mantidas em sala de crescimento por mais 60 dias. As mudas de *Piper nigrum* foram obtidas através da estaquia pelo método descrito por (George et al., 2017).

Após a formação das mudas (90 dias da sementeira para espécies nativas e 60 dias após a estaquia para a pimenteira-do-reino), foi efetuado o transplante para vasos de 5 litros, contendo substrato Bioplant® e 54 gramas de osmocote 5-6 meses por vaso. Foi adotado um padrão para a seleção das mudas, onde as nativas foram selecionadas com cinco pares de folha e a pimenteira-do-reino com comprimento médio de 30 cm de parte aérea. Essas foram mantidas para aclimação por 30 dias em viveiro com 50% de radiação solar incidente. Após este período, as plantas foram transferidas para os três ambientes (100% de radiação solar incidente ou pleno sol, 50% e 20% de radiação, utilizando-se tela de sombreamento Sombrit® preta) e mantidas por seis meses. Sendo o experimento instalado em delineamento inteiramente casualizado (DIC), em esquema fatorial (Ramalho et al., 2000) 3x3, sendo três espécies e três ambientes de luz, com a parcela constituída de uma única planta, totalizando sete plantas por ambiente, para cada espécie avaliada. As plantas foram irrigadas utilizando aspersores quatro vezes ao dia, 07:30, 11:30, 14:45 e 17:00, por 15 minutos.

## 2.2 Trocas gasosas foliares

Ao final do experimento foram realizadas as avaliações de trocas gasosas entre 08:00 e 11:00 da manhã, sendo efetuada em folhas maduras e completamente expandidas (2ª ou 3ª folha) a partir do ápice do ramo plagiotrópico de cada indivíduo. As avaliações foram realizadas utilizando analisador de gás infravermelho-IRGA 6400 LI-COR (LI-COR Inc., Lincoln, NE, EUA). Um controlador de injeção de CO<sub>2</sub> foi utilizado para manter uma concentração constante de CO<sub>2</sub> de 400ppm na câmara do IRGA, o qual tem uma área de análise de 6 cm<sup>2</sup> e é equipado com uma fonte de luz vermelho-azul (6400-02B) emitida por meio de light emitting diodes (LED's).

As taxas de fotossíntese líquida (A), de transpiração (E) por unidade de área foliar, a condutância estomática ao vapor de água (g<sub>s</sub>) e a razão entre a concentração interna e atmosférica de CO<sub>2</sub> (C<sub>i</sub>/C<sub>a</sub>) foi estimada a partir dos valores da variação de CO<sub>2</sub> e da umidade no interior da câmara, determinados pelo analisador de gases por infravermelho do aparelho, em RFA  $\geq$  1200  $\mu$ mol fótons m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>.

### 2.2.1 Curvas de resposta a luz

Para a obtenção das curvas de resposta à luz foram utilizadas as seguintes intensidades de RFA (0, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 80, 90, 100, 200, 500, 800, 1200, 1500). As curvas foram normalizadas ajustando os dados em uma hipérbole retangular modificada, proposta por Lobo et al. (2013). O modelo foi ajustado aos dados, usando a análise de regressão não linear a partir da ferramenta Microsoft Solver do Excel (Microsoft Corporation, Redmond, WA, EUA), assim, calculando então, o ponto de compensação luminoso (PCL,  $\mu$ mol fótons m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>), ponto de saturação luminoso (PSL,  $\mu$ mol fótons m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>), rendimento quântico incidente ( $\Phi_i$ ,  $\mu$ mol fótons m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>), fotossíntese máxima (A<sub>max</sub>,  $\mu$ mol fótons m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>) (valor máximo da taxa fotossintética líquida) e a respiração no escuro (RD,  $\mu$ mol fótons m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>).

## 2.3 Potencial hídrico foliar ( $\Psi_w$ )

O potencial hídrico foliar ( $\Psi_w$ ) foi medido com uma bomba de pressão do tipo Scholander (modelo 1000, PMS Instruments, Albany, NY, EUA). Foram utilizadas as mesmas folhas das análises de trocas gasosas.

## 2.4 Análises anatômicas

Para as avaliações anatômicas o material botânico foi coletado ao final do sexto mês do experimento, foram coletadas folhas completamente expandidas do terceiro ramo, os fragmentos de entrenós do caule foram coletados entre o 5° e 7° nó do maior ramo, os fragmentos de raízes foram coletados 5 cm acima da coifa. Ambos materiais foram fixados por 48 horas em FAA 70%, após esse tempo armazenados em álcool 70%.

Foram realizadas secções transversais no caule, na raiz e na nervura central das folhas, ambos os cortes foram clarificados com hipoclorito de sódio e corados com safrablue. Além disso, foram realizadas secções paradermicas nas folhas, utilizando a técnica de impressão epidérmica, com uso de adesivo instantâneo universal (Super-Bonder®) conforme descrito em Segatto et al. 2004. Também foi realizada a técnica de maceração no caule para se obter as medidas biométricas dos elementos de vaso do xilema, segundo Franklin (1945). Após a realização dos cortes foram montadas lâminas histológicas semipermanentes com gelatina glicerizada (Kaiser 1880).

Todas as secções foram analisadas em microscópio de campo claro (Euromex). As imagens foram capturadas com microcâmera (CMEX 5) e as medidas biométricas dos tecidos foram realizadas com o software ImageFocus 4. De onde se obteve as seguintes variáveis para folha, em vista frontal: Densidade estomática mm<sup>2</sup> (De), Diâmetro polar (Dp), Diâmetro equatorial (Deq), Relação entre diâmetro polar e o diâmetro equatorial (Dp/De) e em vista longitudinal foram mensurados as espessuras da Epiderme da superfície adaxial (EpAd), parênquima paliçádico (Pp), parênquima esponjoso (Pe), Epiderme da superfície abaxial (EpAb), Xilema primário (Xp), Limbo foliar (Lf), Nervura central (Nc), Floema (F), espessura dos vasos xilemáticos (Vx), número de feixes vasculares (NFx), Espessura horizontal do feixe vascular (EhFx), Espessura vertical do feixe vascular (EvFx), Número de vasos xilemáticos (NVx).

Para caule foram avaliados as seguintes variáveis: espessura da Epiderme (Ep), Bainha perimedular (Bp), xilema (Xi), Floema (Fp), colênquima (Co), Cortex (Ctx), Espessura horizontal do feixe vascular (EhFx), Espessura vertical do feixe vascular (EvFx), Vaso xilemático (Vxi), Placa de perfuração (Plp), Largura do elemento de vaso (Lev), Comprimento do elemento de vaso (Cev), Número de vasos xilemáticos (N° Vx).

Para as raízes foram, espessura do Xilema (Xi), Floema (F), Vaso xilemático (Vx), CórTEX (Ctx), Área do cilindro vascular (Acv), Espessura do cilindro vascular (Ecv), Periderme (Pr) e Número de vasos xilemáticos (NVx).

### 2.5 Análise de dados

Os dados de anatomia foram submetidos à análise de variância pelo programa estatístico Sisvar versão 5.6, e as médias foram agrupadas pelo teste Scott Knott a 5% de probabilidade. Os dados anatômicos e ecofisiológicos também foram submetidos à análise de componentes principais (PCA) usando o software GENES. Foi realizada análise de componentes principais (PCA) e para o cálculo de similaridade foi obtida uma matriz utilizando-se a distância euclidiana e o agrupamento realizado com base no método de UPGMA (unweighted pair-group method with arithmetic means).

## 3. Resultados

Foi observada interação significativa para todos os parâmetros anatômicos de folha, caule e raiz estudados entre as espécies (*P. tuberculatum*, *P. arboreum* e *P. nigrum*) com os diferentes ambientes de radiação incidente (0%, 50% e 80%) (Tabela 1,2 e 3).

### 3.1 Anatomia

As estruturas anatômicas foliares apresentaram diferenças ao serem cultivadas sob diferentes níveis de radiação solar incidente (Tabela 1). Quando cultivada a 100% de radiação solar incidente a espessura da epiderme adaxial, nervura central e o número de feixes da nervura foram superiores em *P. arboreum*, seguida por *P. nigrum* e *P. tuberculatum*. O comprimento do xilema, floema a espessura horizontal e vertical dos feixes vasculares e o número de vasos xilemáticos foi superior em *P. nigrum*, seguido pelas demais espécies. As espessuras do parênquima paliçádico, esponjoso e do limbo foram aumentaram em *P. arboreum* e *P. nigrum*, não havendo diferença significativa. *P. tuberculatum* apresentou a maior densidade estomática independente do seu ambiente de cultivo (Tabela 1).

Com cultivo a 50% de radiação *P. nigrum* apresentou a maior espessura do parênquima paliçádico, comprimento do xilema, floema, espessura horizontal e vertical dos feixes e espessura da nervura central. As espessuras do parênquima esponjoso e do limbo foram superiores em *P. arboreum* e *P. nigrum*, não apresentando diferença significativa. Não

do cilindro vascular foi aumentado em *P. tuberculatum*. *P. nigrum* apresentou um maior comprimento do floema, número de vasos e diâmetro dos vasos xilemáticos (Tabela 3).

O cultivo de *P. arboreum* a 50% de radiação ocasionou o aumento na espessura da periderme e da área do cilindro vascular, seguida por *P. tuberculatum* e *P. nigrum* respectivamente. O comprimento do floema foi superior em *P. nigrum*, assim como o comprimento do xilema e a espessura dos vasos xilemáticos onde os dois últimos foram estatisticamente iguais a *P. tuberculatum* (Tabela 3).

*P. arboreum* crescida com 20% de radiação solar mostrou maiores valores de espessura e área do cilindro vascular e espessura da periderme, seguida de *P. tuberculatum* e *P. nigrum*. O comprimento do xilema e a espessura do córtex foi superior em *P. tuberculatum*. *P. nigrum* apresentou maior comprimento do floema e maior número de vasos xilemáticos (Tabela 3).

Foi observada interação significativa entre os diferentes ambientes de radiação solar incidente (0%, 50% e 80%) com as espécies estudadas (*P. tuberculatum*, *P. arboreum* e *P. nigrum*) para todos os parâmetros anatômicos de folha, caule e raiz (Tabela 1,2 e 3).

Quanto a anatomia foliar, o cultivo de *P. arboreum* com 100% de radiação solar incidente influenciou no aumento da densidade estomática, na espessura da epiderme adaxial, no comprimento do xilema e no número de vasos xilemáticos, seguida pelas plantas mantidas a 50% e 20%. Contudo, a espessura do parênquima esponjoso, número de feixes, espessura vertical do feixe vascular e a espessura da nervura central foram superiores nas folhas mantidas a 20% de radiação. A espessura do limbo e o comprimento do floema não apresentaram diferença estatística entre os ambientes (Tabela 1).

*P. tuberculatum* apresentou a maior densidade estomática e maior espessura do parênquima esponjoso nas plantas mantida a 100% de radiação. Foi observado um aumento no número de feixes vasculares, comprimento do xilema, espessura vertical do feixe vascular e a espessura da nervura central nas plantas cultivadas no ambiente de 20% (Tabela 1). Não foram observadas diferenças significativas para as espessuras da epiderme adaxial, do parênquima paliçádico e do limbo, comprimento do floema e número de vasos xilemáticos.

Não foi observada diferença significativa para espessura da epiderme adaxial de *P. nigrum* nos diferentes ambientes. Todavia, a densidade estomática, o comprimento do

xilema e floema, o número de vasos xilemáticos e as espessuras horizontais e verticais dos feixes vasculares foram superiores nas plantas mantidas a 100% de radiação, seguida pelas mantidas a 50% e 20% respectivamente. As espessuras do parênquima paliádico, esponjoso, limbo e da nervura central foram superiores nas folhas mantidas a 20% de radiação solar (Tabela 1).

A espessura da epiderme caulinar, do colênquima, o comprimento do xilema e o número de vasos de *P. arboreum* foram superiores em 100% de radiação, seguido pelos demais ambientes. O comprimento do floema, a largura e comprimento dos elementos de vaso e o diâmetro dos vasos não diferiram nos ambientes de cultivo (Tabela 2).

*P. tuberculatum* exibiu um aumento na espessura da epiderme, do colênquima, na largura e comprimento dos elementos de vaso e espessura horizontal dos feixes vasculares quando cultivada em ambiente com 100% de radiação solar incidente, seguida pelas mantidas a 50% e 20%. Os ambientes com menor incidência de radiação (20% e 50%) influenciaram no aumento do comprimento do xilema e floema, e no diâmetro dos vasos xilemáticos. O número de vasos xilemáticos não apresentou diferença significativa entre os ambientes (Tabela 2).

Com o aumento da incidência de radiação solar incidente *P. nigrum* apresentou uma maior espessura da epiderme caulinar, comprimento do floema, largura e comprimento dos elementos de vaso, espessura horizontal e vertical dos feixes vasculares e número de vasos. O comprimento do xilema não mostrou variação dentro dos ambientes (Tabela 2).

Quanto a anatomia radicular, ao ser cultivada com maior incidência de radiação solar (100% 50%) *P. arboreum* apresentou maior comprimento do xilema e floema, além da espessura do córtex. A pouca radiação incidente influenciou na espessura e na área do cilindro vascular, onde houve diminuição de acordo com o aumento da incidência de luz 50% e 100% respectivamente. O número de vasos e a espessura dos vasos xilemáticos não apresentaram diferenças significativas (Tabela 3).

*P. tuberculatum* quando cultivada com 100% de radiação solar incidente exibiu um incremento no comprimento do xilema e floema, no número de vasos, na espessura do córtex, do cilindro vascular e periderme, além de aumentar a área do cilindro vascular (Tabela 3).

*P. nigrum* quando cultivada com maior incidência de luz (100% e 50%) apresentou um maior comprimento do xilema e floema, número de vasos xilemáticos, espessura dos vasos, córtex e periderme. A espessura e a área do cilindro vascular não apresentaram diferenças significativas (Tabela 3).

### **3.2 Análise das componentes principais (PCA) dos dados ecofisiológicos e anatômicos**

Para as variáveis analisadas duas componentes principais (PC) explicaram 100% da variância dos dados em *P. arboreum*, sendo 59,86% para a PC1 e 40,14% para a PC2 (Figura 1). A componente 1 (59,86%) foi responsável pela variação de eficiência instantânea do uso da água ( $A/E$ ), Taxa fotossintética bruta máxima em irradiância de saturação ( $A_{max}$ ), espessura horizontal do feixe vascular das folhas e largura do elemento do vaso do caule esses sofreram influência quando as plantas foram cultivadas com 20% de radiação solar, contudo a espessura do colênquima, ponto de saturação luminoso (LSP), espessura vertical do feixe vascular e comprimento do xilema caulinar e radicular foram influenciados pelo cultivo nos ambientes com maior incidência de luz (100% e 50%). A componente 2 (40,14%) foi responsável pela variação de Taxa transpiratória foliar ( $E$ ), Condutância estomática ( $g_s$ ) influenciados pelo cultivo a 50% e Taxa respiratória na ausência de luz (RD), número de vasos xilemáticos na folha pelo cultivo a 100%.

As duas componentes principais (PC) de *P. tuberculatum* explicam 100% da variância dos dados, sendo 73,73% para a PC1 e 26,27% para a PC2 (Figura 2). A componente 1 (73,73%) contribuiu para a variação de  $A/E$ ,  $A_{max}$ , LSP, espessura do colênquima, número de vasos xilemáticos nas folhas esses foram influenciados pelo ambiente de 100% de radiação solar. Contudo, os ambientes de menor incidência solar (20% e 50%) influenciaram o rendimento quântico ( $\Phi_i$ ), comprimento do xilema e floema caulinar e a espessura vertical dos feixes vasculares da folha. A componente 2 (26,27) contribuiu para a variação de  $g_s$  e o número de vasos xilemáticos da raiz foram aumentados com o cultivo a 20% de radiação solar incidente. Os ambientes de 50% e 100% contribuíram para o aumento do LCP e da espessura do córtex radicular.

As componentes principais (PC) de *P. nigrum* explicam 100% da variância dos dados, sendo 62,14% para a PC1 e 37,86% para a PC2 (Figura 3). A componente 1 (62,14%) explica a variação de  $\phi(I_0)$   $A_{max}$ , que sofreram incremento no ambiente de 20% de

radiação solar incidente e RD, espessura da epiderme do caule e o comprimento do xilema radicular que apresentaram melhor desempenho quando as plantas foram mantidas a 100% de radiação. A componente 2 (37,86%) contribuiu para  $g_s$ ,  $E$ , Razão entre a concentração intercelular e ambiente de CO<sub>2</sub> ( $C_i/C_a$ ) e o diâmetro do vaso xilemático do caule das plantas cultivadas a 50% de luz incidente. Entretanto, o potencial hídrico foliar ( $\Psi_w$ ), SPAD e a espessura da epiderme da superfície adaxial foram influenciados pelo ambiente de 100% de radiação solar incidente.

#### 4. Discussão

Os efeitos da intensidade de radiação solar incidente na anatomia e fisiologia das plantas de *Piper* são de extrema importância, visto que são plantas originalmente de ambientes sombreados, particularmente na Mata Atlântica e Amazônia (Araújo, 2011), e *Piper nigrum* sofreu melhoramento para ser cultivada a pleno sol.

A luz está diretamente ligada à fotossíntese e sua intensidade pode alterar o metabolismo e crescimento das plantas, havendo conseqüentemente mudanças estruturais (Lenhard et al., 2013).

Muitas espécies conseguem se adaptar a diferentes ambientes de radiação solar incidente, sendo a plasticidade fenotípica ligada à luz responsável por isso, além de extrema importância para a sobrevivência e estabelecimento das plantas em ambientes com variação de luz e dinâmicos, (Lima et al 2010).

A priori, o corpo das plantas tem suas estruturas formadas com base na sua composição genética e, conseqüentemente, o funcionamento fisiológico também, pois o mesmo está diretamente ligado ao organograma das estruturas anatômicas. Entretanto, a luz tem um grande efeito sob o crescimento das plantas, de modo que a anatomia e fisiologia podem se ajustar em diferentes níveis de radiação solar incidente, a fim de melhorar o desempenho ou somente manter a planta viva (Krahmer et al., 2018).

Os valores da densidade estomática, a espessura do parênquima paliçádico e a espessura do limbo foram superiores em todas as espécies quando cultivadas a 100% de radiação solar incidente (tabela 1). Isso ocorre, pois, a redução na intensidade de radiação solar provoca a redução no número de estômatos, além do parênquima e limbo (Morais et al. 2003). A densidade estomática está ligada ao incremento da conversão de energia

luminosa em energia química, que se dá com maior intensidade de radiação solar (Malone et al., 1993).

A maior espessura do parênquima paliçádico nas plantas expostas a alta radiação solar incidente é um mecanismo para evitar a fotoinibição (Dardengo et al., 2017). Isso permite que a luz seja transmitida mais diretamente, evitando o excesso de luz que incide na porção superior da planta.

A maior densidade estomática possibilita à planta um aumento na sua condutância estomática ( $g_s$ ), estando a estrutura diretamente ligada à função, aumentando assim, a absorção de  $\text{CO}_2$  (Evans, 1999). Simultaneamente ao aumento da ( $g_s$ ) ocorre o aumento da transpiração ( $E$ ), pois com o maior influxo de  $\text{CO}_2$  ocorre um maior efluxo de vapor de água, elevando os valores de  $E$ . Esse comportamento foi observado nas três espécies quando cultivadas com maior intensidade de radiação solar.

*P. arboreum* apresentou um aumento no  $A/E$  nos ambientes de 20% de radiação solar incidente, isso se dá, pois a demanda respiratória é menor, justamente pela densidade estomática ser reduzida, tendo menos local para perda de água por unidade de folha, perdendo menos água e aumentando sua eficiência do uso da água. Isso ocorreu devido ao aumento da fotossíntese induzida pelo sombreamento, em vez do aumento da transpiração (Ahemd et al., 2016; Montanaro et al. 2009). Além disso, ambientes sombreados são geralmente mais úmidos, com isso o fluxo de água pelas células xilemáticas é maior, sendo assim a planta investe no calibre das células xilemáticas.

Todavia, *P. tuberculatum* quando cultivada com 100% de radiação solar incidente apresentou uma contribuição significativa de  $A/E$ . Indicando que a espécie apresenta plasticidade, pois mesmo em condição onde a demanda transpiratória é alta, a espécie consegue suprir a demanda de água. Isso pode ser justificado pelo aumento no número de vasos e do tecido xilemático, onde a planta supri a demanda de água causada pelo ambiente com alta intensidade de radiação.

A  $A_{max}$  apresentou uma maior contribuição para o ambiente de 100% de radiação solar incidente em *P. tuberculatum*, contudo *P. arboreum* e *P. nigrum* apresentaram maior contribuição no ambiente de 20% de radiação. O incremento de  $A_{max}$  nas plantas mantidas com 100% de radiação mostra que a espécie consegue se ajustar para tolerar elevados valores de radiação fotossinteticamente ativa (RFA). Indicando que a espécie demandou

de muita radiação solar para alcançar sua  $A_{max}$ . O maior ganho fotossintético está diretamente ligado ao aumento da  $A_{max}$  (Marenco et al. 2014).

Plantas aclimatadas com pouca radiação solar incidente perdem sua eficiência fotossintética quando submetidas a altos níveis de RFA. Além do ambiente com menor radiação solar incidente exigir um aperfeiçoamento na captura de luz (Zhang et al., 2003).

Como observado nas componentes principais, a RD sofreu maior variação para todas as espécies quando cultivadas a 100% de radiação solar incidente, indicando que o balanço de carbono não foi alterado. O desbalanço ocorre quando em ambiente de pleno sol, RD e diminuído (Aleric e Kirkman.,2005). Entretanto, o ponto de compensação luminosa (LCP) em *P. arboreum* e *P. nigrum* foram reduzidos no ambiente com maior sombreamento, isso se dá devido ao baixo valor de RD nesse ambiente. Contudo, *P. tuberculatum* manteve seu LCP no ambiente de 100% de radiação.

*P. arboreum* e *P. tuberculatum* sofreram contribuição do LSP no ambiente de 100% de radiação solar incidente apresentando pontos de 1200 e 1500 respectivamente. Plantas cultivadas com maiores níveis de radiação solar apresentam aptidão para lidar com a alta incidência de luz, onde além de um maior LSP, apresentam também maiores taxas de  $g_s$  e  $A$ .

As maiores espessuras das epidermes da folha, caule e raiz foram nas plantas de *P. nigrum* quanto cultivada a 100% de radiação solar, isso é uma estratégia adaptativa para evitar perda de água intensa, devido a planta está em um ambiente com alta exposição luminosa e alta demanda transpiratória. Com isso, foi observado um menor  $\Psi_w$  (Batista et al., 2010). Isso se deve ao processo de melhoramento que o genótipo passou.

O  $\Phi_i$  indica quanto  $CO_2$  foi assimilado por cada fóton absorvido, os maiores valores observados em *P. tuberculatum* e *P. nigrum* quando cultivadas com 20% de radiação solar incidente. Esse aumento se dá, pois, plantas mantidas com baixa radiação solar incidente tem uma limitação na quantidade de energia recebida, sendo assim, mesmo com a pouca energia, as espécies conseguem assimilar mais carbono, por isso o aumento no  $\phi(I_0)$ .

## 5. Conclusão

O ambiente de 100% de radiação contribuiu para o aumento na densidade estomática e nas espessuras do parênquima paliçádico e limbo de todas as espécies. Assim como se

espera, a eficiência no uso da água ( $A/E$ ) foi maior nas plantas de *P. arboreum* mantidas a 20%.

Contudo, *P. tuberculatum* apresentou maiores valores nas plantas mantidas a 100%, além disso aumentou sua fotossíntese máxima ( $A_{max}$ ) e o número de vasos xilemáticos. O incremento dessas variáveis indica que a espécie apresenta forte plasticidade.

*P. nigrum* apresentou uma contribuição nas espessuras das epidermes de folha, caule e raiz no ambiente de 100% de radiação, esse incremento auxiliou a planta a reduzir seu potencial hídrico foliar ( $\Psi_w$ ). Isso ocorreu, pois, o genótipo passou por melhoramento genético para ser cultivado a pleno sol. Os resultados deste experimento comprovam a perda da plasticidade em *P. nigrum*, assim se recomenda estudos de melhoramento para desenvolver genótipos mais tolerantes a ambientes com pouca radiação solar incidente.

## Referências

- Ahemd, H.A., Al-Faraj, A.A., Abdel-Ghany, A.M. Shading greenhouses to improve the microclimate, energy and water saving in hot regions: A review. *Sci. Hortic.* v. 201, p. 36-45. 2016.
- Ahmad, N., Fazal, H., Abbasi, B. H., Farooq, S., Ali, M., Khan, M. A. Biological role of *Piper nigrum* L. (Black pepper): A review. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, v. 2, p. 1945-1953, 2012.
- Albuquerque, F.C., Duarte, M.L.R., Benchimol, R.L., Endo, T. Resistência de piperáceas nativas da Amazônia à infecção causada por *Nectria haematococca* f. sp. *piperis*. *Acta Amaz.* v. 31, p. 341–348. 2001.
- Aleric, K.M.; Kirkman, K. Growth and photosynthetic responses of the federally endangered shrub, *Lindera melissifolia* (Lauraceae), to varied light environments. *American Journal of Botany*, v. 92, n. 4, p. 682-689, 2005.
- Araujo, C. A., Camara, C. A., de Moraes, M. M., Vasconcelos, G. J. N., Pereira, M. R., & Zartman, C. E. Chemical Compositions of Essential Oil of *Piper* Species from Atlantic Forest of Amazonia, Brazil. *Records of Natural Products*, v. 13, n. 4, p. 1-9. 2019.
- Araújo, M.S., Miguel, J. R., Jascone, C.E.S. O gênero *Piper* L. (Piperaceae) no Parque Natural Municipal da Taquara, Duque de Caxias, RJ, Brasil. *Saúde & Ambiente em Revista*, Vol. 6, n. 2, p. 1-21, 2011.
- Batista, L.A., Guimarães, R.J., Pereira, F.J., Carvalho, G.R., Castro, E.M. Anatomia foliar e potencial hídrico na tolerância de cultivares de café ao estresse hídrico. *Revista Ciênc Agronômica*, v. 41, p. 475–481. 2010.

- Celestino, C. O., Ribeiro Varão, C. A., Veludo, H. H., Braga, A. G., Lima, R. A. Ação inseticida do extrato de *Piper tuberculatum* (Jacq.). *South American Journal of Basic Education, Technical and Technological*. v. 3, n. 2, p. 3-9. 2016.
- Cysne, J. B., Canuto, K. M., Pessoa, O. D. L., Nunes, E. P., Silveira, E. R., 2005. Leaf essential oils of four *Piper* species from the State of Ceará – northeast of Brazil. *Journal of the Brazilian Chemical Society*. v.16, p. 1378–1381.
- Dardengo, J.F.E., Rossi, A.A.B., Silva, I.V., Pessoa, M.J.G., SILVA, C.J. Análise da influência luminosa nos aspectos anatômicos de folhas de *Theobroma speciosum* Willd ex Spreng. (Malvaceae). *Ciência Florestal, Santa Maria*, v.27, n.3, p.843-851, 2017.
- Dousseau, S., Alvarenga, A.A.D, Alves, E., Chaves, I.D.S., Souza, E.D.S., Alves, J.D.S. Physiological, morphological and biochemical characteristics of the sexual propagation of *Piper aduncum* (Piperaceae). *Rev Bras Bot* v. 34, p. 297–305. 2011.
- Evans, J. R. Leaf anatomy enables more equal access to light and CO<sub>2</sub> between chloroplasts. *New Phytologist*, v.143, p. 93-104, 1999.
- Facundo, V.A., Polli, A.R., Rodrigues, R.V., Militão, J.S.L.T., Stabelli, R.G., Cardoso, C.T. Constituintes químicos fixos e voláteis dos talos e frutos de *Piper tuberculatum* Jacq e das raízes de *P. hispidum* H. B. K. *Acta Amaz* v. 38, p. 743–748. 2008.
- FAO (United Nations Food and Agriculture Organization), 2019. The water–energy–food nexus a new approach in support of food security and sustainable agriculture, [http://www.fao.org/nr/water/docs/FAO\\_nexus\\_concept.pdf](http://www.fao.org/nr/water/docs/FAO_nexus_concept.pdf), (accessed on 20.04.19.).
- Franklin, G.L. Preparation of thin sections of synthetic resins and wood – resin composites, and a new macerating method for wood. *Nature*. v. 155, p. 51. 1945.
- George, K.J., Malik, N., Kumar, I., V., Krishnamurthy, K. Gene expression analysis in drought tolerant and susceptible black pepper (*Piper nigrum* L.) in response to water deficit stress. *Acta. Physiol. Plant*. v. 39, n. 4, p. 104, 2017.
- Kaiser, E. Verfahren zur Herstellung einer tadellosen Glycerin-Gelatine. *Botanisch Zentralb, Berlin*, v. 18, p. 25-26, 1980.
- Krahmer, J., Ganpudi, A., Abbas, A., Romanowski, A., Halliday, KJ. Phytochrome, carbon sensing, metabolism, and plant growth plasticity. *Plant Physiol*. v. 176, p. 1039–1048. 2018.
- Lenhard, N.R., Paiva Neto, V.B., Scalon, S.P. & Alvarenga, A.A. Crescimento de mudas de pau-ferro sob diferentes níveis de sombreamento. *Pesquisa Agropecuária Tropical*, v. 43, p. 178-186. 2013.
- Lima, M. A. O., Mielke, M. S., Lavinsky, A. O., França, S., de Almeida, A. A. F., & Gomes, F. P. Crescimento e plasticidade fenotípica de três espécies arbóreas com uso potencial em sistemas agroflorestais. *Sci. For*. v. 38, n. 87, p. 527-534, 2010.
- Lobo F.A., Barros M.P., Dalmagro H.J., Dalmolin Â.C., Pereira W.E., Souza E.C., Vourlitis G.L., Rodríguez O.C.E. Fitting net photosynthetic light-response curves with Microsoft Excel - a critical look at the models. *Photosynthetica*. v.51, p.445-456, 2013.

- Malone, S. R., Mayeux, H. S., Johnson, H. B., Polley, H.W. Stomatal density and aperture length in four plant species grown across a subambient CO<sub>2</sub> gradient. *American Journal of Botany*, v. 80, p. 1413-1418, 1993.
- Marengo, R.A., Antezana-Vera, A.S., Gouvêa, P.R.S., Camargo, M.A.B., Oliveira, M.F., Santos, J.K.S. Fisiologia de espécies florestais da Amazônia: fotossíntese, respiração e relações hídricas. *Revista Ceres*. v. 61, p. 786-799. 2014.
- Menezes, A. J. E. A., Homma, A. K. O., Ishizuka, Y., Kodama, N. R., Kodama, E. E. Gliricídia como tutor vivo para pimenteira-do-reino. Belém, PA: Embrapa Amazônia Oriental, (Embrapa Amazônia Oriental. Documentos, 393). p. 31, 2013.
- Montanaro, G., Dichio, B., Xiloyannis, C. Shade mitigates photoinhibition and enhances water use efficiency in kiwifruit under drought. *Photosynthetica* v. 47, n.3, 363–371. 2009.
- Morais, H., Marur, C. J., Caramori, P. H., Ribeiro, A. M. A., Gomes, J. C. Características fisiológicas e de crescimento de cafeeiro sombreado com guandu e cultivado a pleno sol. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v. 38, n. 10, p. 1131-1137, 2003.
- Perera-Castro, A.V., Brito, P., González-Rodríguez, Á.M. Light response in alpine species: different patterns of physiological plasticity. *Flora*. v. 234, p. 165–172. 2017.
- Ramalho, M.A.P., Ferreira, D.F., Oliveira, A.C. A experimentação em genética e melhoramento de plantas. Lavras: Ufla, 326p. 2000.
- Segatto, F.B., Bisognin, D.A., Benedetti, M., Costa, L.C., Rampelotto, M.V., Nicoloso, F.T. Técnica para estudo da anatomia da epiderme foliar de batata. *Ciência Rural*, v. 34, p. 1597-1601. 2004.
- Silva, J.A., Oliveira, F.F., Guedes, E.S., Bittencourt, M.A.L., Oliveira, R.A. Atividade antioxidante de *Piper arboreum*, *Piper dilatatum* e *Piper divaricatum*. *Rev Bras Plantas Med*. v. 16, p. 700–706. 2014.
- Souza, P. G., Albino, A. M., Lima, R. A. identificação de metabólitos secundários no extrato etanólico das inflorescências de *Piper arboreum* AUBL. e seu potencial candidacida. *Biota Amazônia (Biote Amazonie, Biota Amazonia, Amazonian Biota)*. v. 9, n. 2, p. 32-34, 2019.
- Vieira, T.O., Lage-Pinto, F., Ribeiro, D.R., Alencar, T.S., Vitória, A.P. Estresse luminoso em plântulas de jequitibá-rosa (*Cariniana legalis*, Lecythidaceae): monitoramento da capacidade de aclimatação fotossintética sob duas intensidades luminosas. *Vértices*. v. 13, p.129-142, 2012.
- Waters, M., Langdale, J. A. The making of a chloroplast. *EMBO Journal*. v.28, n.19, p.2861–2873. 2009.
- Yuan, C.M., Wu, T., Geng, Y.F., Chai, Y., Hao, J.B. Phenotypic plasticity of lianas in response to altered light environment. *Ecol. Res*. v. 31, p. 375–384. 2016.
- Zhang, S., MA, K., Chen, L. Response of photosynthetic plasticity of *Paeonia suffruticosa* to changed light environments. *Environmental and Experimental Botany*, v. 49, p. 121-133, 2003.

Ambiente	100%			50%			20%		
Especie	<i>P. arboreum</i>	<i>P. tuberculatum</i>	<i>P. nigrum</i>	<i>P. arboreum</i>	<i>P. tuberculatum</i>	<i>P. nigrum</i>	<i>P. arboreum</i>	<i>P. tuberculatum</i>	<i>P. nigrum</i>
Sd	171,452 bA	241,773 aA	107,742 cA	104,840 bB	224,515 aB	81,290 cB	84,354 bC	161,129 aC	82,258 bB
AdEp	0,014 aA	0,010 bA	0,010 bA	0,011 aB	0,0113 aA	0,012 aA	0,011 aB	0,011 aA	0,012 aA
Ppt	0,042 aB	0,028 bA	0,046 aB	0,056 bA	0,022 cA	0,070 aA	0,043 bB	0,024 cA	0,072 aA
Spt	0,063 aC	0,036 bA	0,054 aC	0,070 aB	0,019 bB	0,068 aB	0,082 aA	0,026 bB	0,091 aA
Lbt	0,246 aA	0,160 bA	0,237 aB	0,237 aA	0,131 bA	0,258 aB	0,251 bA	0,128 cA	0,308 aA
Nvb	7,84 aB	3,333 bC	1 cB	5,533 aC	4,6 bB	4,533 bA	8,533 aA	5,733 bA	1,533 cB
Lxy	0,089 bA	0,058 cB	0,123 aA	0,068 bB	0,078 bA	0,110 aB	0,080 aB	0,073 bA	0,076 bC
Lph	0,058 bA	0,048 bA	0,090 aA	0,054 bA	0,050 bA	0,072 aB	0,064 bA	0,051 cA	0,084 aB
Wve	0,108 bA	0,106 bA	0,296 aA	0,108 bA	0,108 bA	0,182 aB	0,119 bA	0,095 cA	0,197 aB
Lve	0,153 bB	0,125 cB	0,252 aA	0,142 bB	0,140 bA	0,189 aB	0,162 bA	0,139 cA	0,201 aB
Nxyv	34 bA	24 cA	48 aA	20 aB	20 aA	24 aB	26 aB	19 bA	28 aB
Cvt	0,599 aB	0,414 cC	0,506 bB	0,618 bB	0,551 cB	0,784 aA	0,799 aA	0,612 bA	0,650 bA

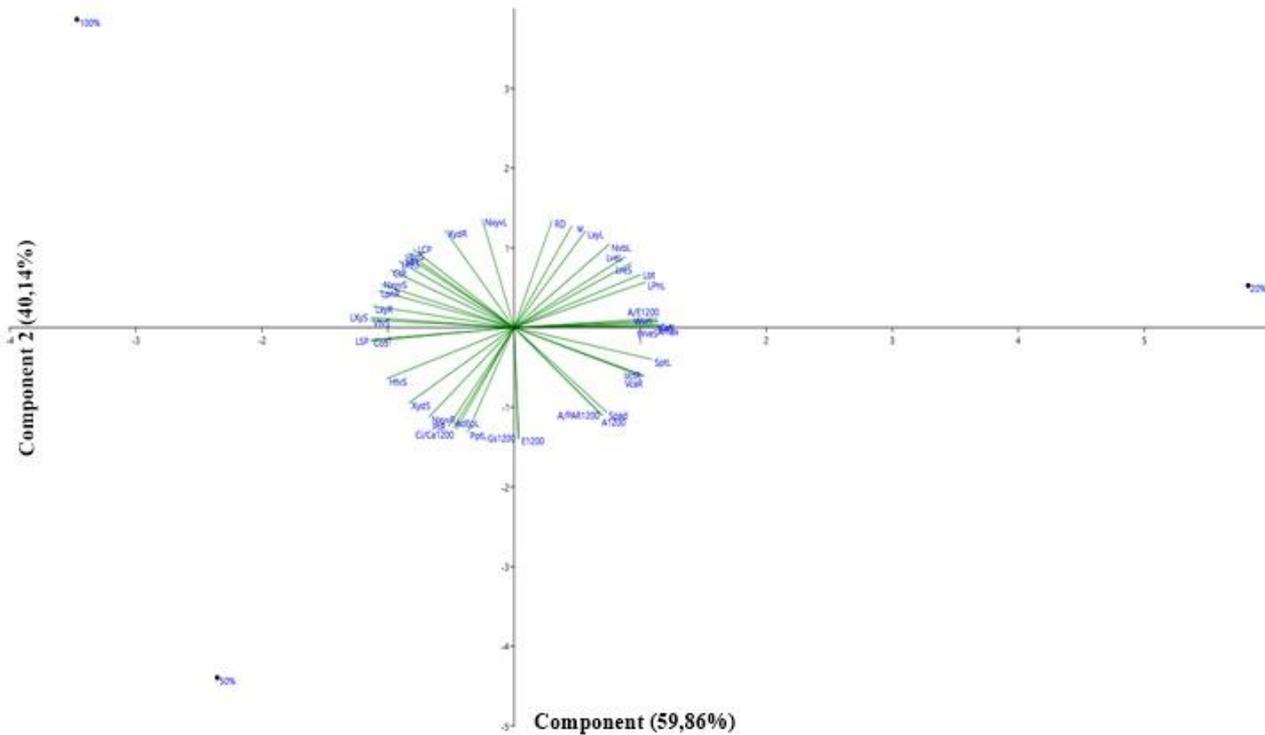
**Tabela 1.** Variáveis anatômicas foliares de *Piper arboreum*, *Piper tuberculatum* e *Piper nigrum* submetidos a diferentes níveis de radiação solar incidente. Sd: Stomatic density, AdEp: Adaxial surface epidermis, Ppt: Palisade parenchyma thickness, Spt: Spongy parenchyma thickness, Lbt: Leaf blade thickness, Nvb: Number of vascular bundles, Lxy: length Xylem, LPh: length Phloem, Wve: Horizontal thickness of the vascular bundle, Lve: Vertical thickness of vascular bundle, Nxyv: Number of xylem vessels, Cvt: Central vein thickness. Médias seguidas de mesma letra minúscula comparam as espécies em cada ambiente e letras maiúsculas comparam a resposta de cada ambiente entre as espécies, pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

Ambiente	100%			50%			20%		
Especie	<i>P. arboreum</i>	<i>P. tuberculatum</i>	<i>P. nigrum</i>	<i>P. arboreum</i>	<i>P. tuberculatum</i>	<i>P. nigrum</i>	<i>P. arboreum</i>	<i>P. tuberculatum</i>	<i>P. nigrum</i>
Ep	0,033 aA	0,019 bA	0,018 bA	0,016 aB	0,012 bB	0,012 bB	0,011 aC	0,011 aB	0,01 aB
Co	0,056 aA	0,05 bA	0,025 cB	0,056 aA	0,038 bB	0,036 bA	0,043 aB	0,034 bB	0,038 bA
LXy	0,220 aA	0,126 bB	0,117 bA	0,206 aA	0,236 aA	0,147 bA	0,153 bB	0,266 aA	0,146 bA
LPh	0,0566 bA	0,036 cB	0,086 aA	0,052 bA	0,052 bA	0,089 aA	0,05 aA	0,051 aA	0,059 aB
Wve	0,029 bA	0,046 aA	0,043 aA	0,030 bA	0,033 bB	0,038 aA	0,035 aA	0,033 aB	0,030 aB
Lve	0,172 bA	0,184 bA	0,208 aA	0,159 aA	0,157 aB	0,164 aB	0,186 aA	0,135 bC	0,120 bC
Htv	0,097 bA	0,097 cA	0,186 aA	0,110 bA	0,081 bB	0,178 aA	0,075 bA	0,079 bB	0,115 aB
Vtv	0,344 aA	0,218 cC	0,303 bA	0,328 aA	0,291 aB	0,327 aA	0,259 bB	0,353 aA	0,244 bB
Nxyv	20,466 aA	12,733 bA	15,066 bA	15,533 aB	11 bA	11,533 bB	10,333 aC	11,666 aA	12,01 aB
Xyd	0,021 bA	0,019 bB	0,028 aB	0,023 cA	0,028 bA	0,038 aA	0,020 bA	0,027 aA	0,023 bC

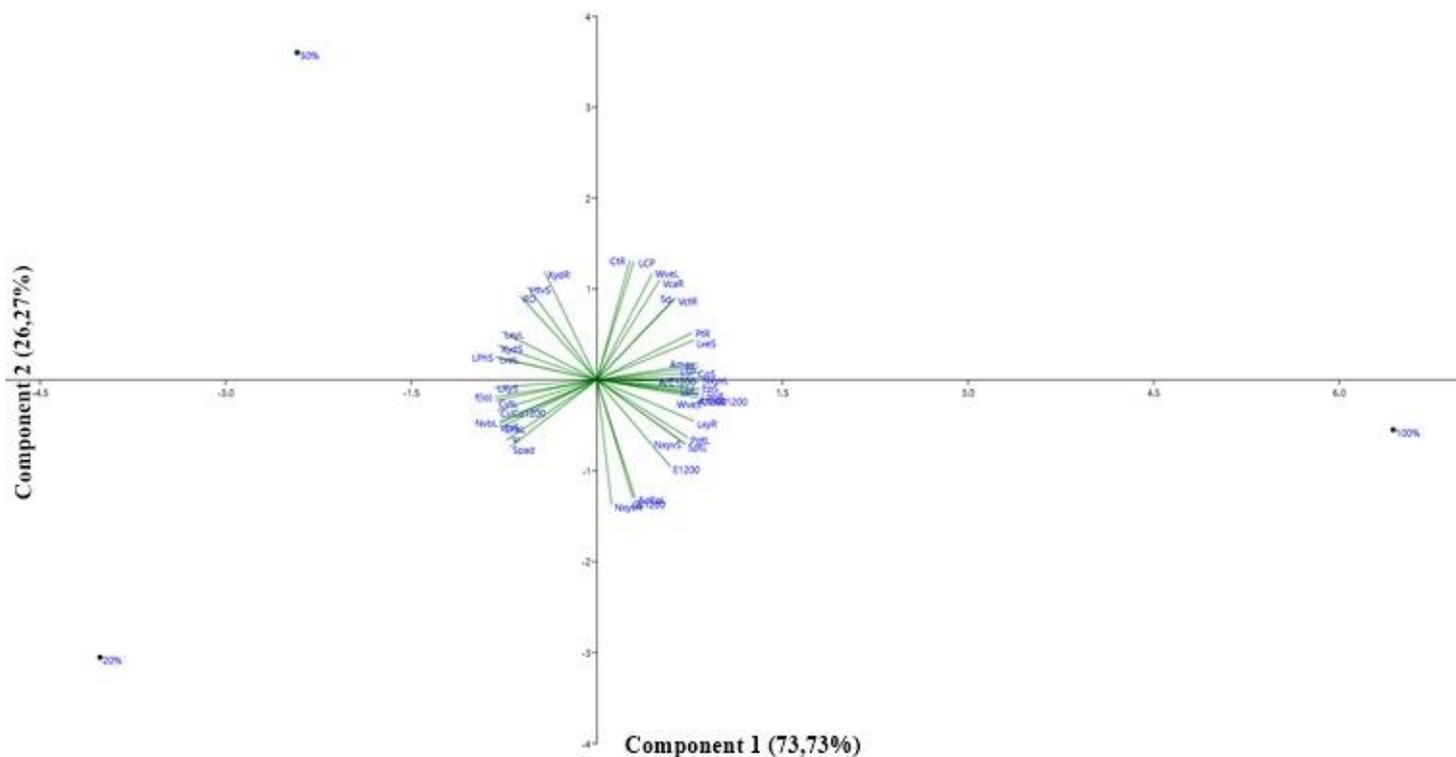
**Tabela 2.** Variáveis anatômicas caulinares de *Piper arboreum*, *Piper tuberculatum* e *Piper nigrum* submetidos a diferentes níveis de radiação solar incidente. Ep: Epidermis, Co: collenchyma, LXy: length Xylem, LPh: length Phloem, Wve: Width of vase element, Lve: Length of vase element, Htv: Horizontal thickness of the vascular bundle, Vtv: Vertical thickness of vascular bundle, Nxyv: Number of xylem vessels, Xyd: xylem vessel diameter. Médias seguidas de mesma letra minúscula comparam as espécies em cada ambiente e letras maiúsculas comparam a resposta de cada ambiente entre as espécies, pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

Ambiente	100%			50%			20%		
Especie	<i>P. arboreum</i>	<i>P. tuberculatum</i>	<i>P. nigrum</i>	<i>P. arboreum</i>	<i>P. tuberculatum</i>	<i>P. nigrum</i>	<i>P. arboreum</i>	<i>P. tuberculatum</i>	<i>P. nigrum</i>
Lxy	0,356 cA	0,682 aA	0,551 bA	0,335 bA	0,451 aB	0,442 aB	0,288 cB	0,497 aB	0,345 bC
Lph	0,082 bA	0,081 bA	0,139 aA	0,073 bA	0,064 bB	0,113 aB	0,062 bB	0,063 bB	0,090 aC
Nxyv	14,733 bA	16 bA	23,533 aA	16,533 aA	13 bB	20,133 aB	14,2 bA	12 bB	20,066 aB
Xyd	0,025 bA	0,029 bA	0,044 aA	0,020 bA	0,033 aA	0,030 aB	0,021 bA	0,030 aA	0,034 aB
Ct	0,305 cA	0,441 aA	0,339 bA	0,254 cB	0,416 aB	0,283 bB	0,221 cC	0,368 aC	0,285 bB
Vct	0,588 bC	0,748 aA	0,351 cA	0,730 aB	0,702 aB	0,367 bA	0,857 aA	0,525 bC	0,398 cA
Pt	0,028 bB	0,041 aA	0,031 bA	0,037 aA	0,031 bB	0,025 bA	0,027 aB	0,021 bC	0,018 bB
Vca	0,265 bC	0,386 aA	0,119 cA	0,486 aB	0,388 bA	0,120 cA	0,675 aA	0,196 bB	0,146 cA

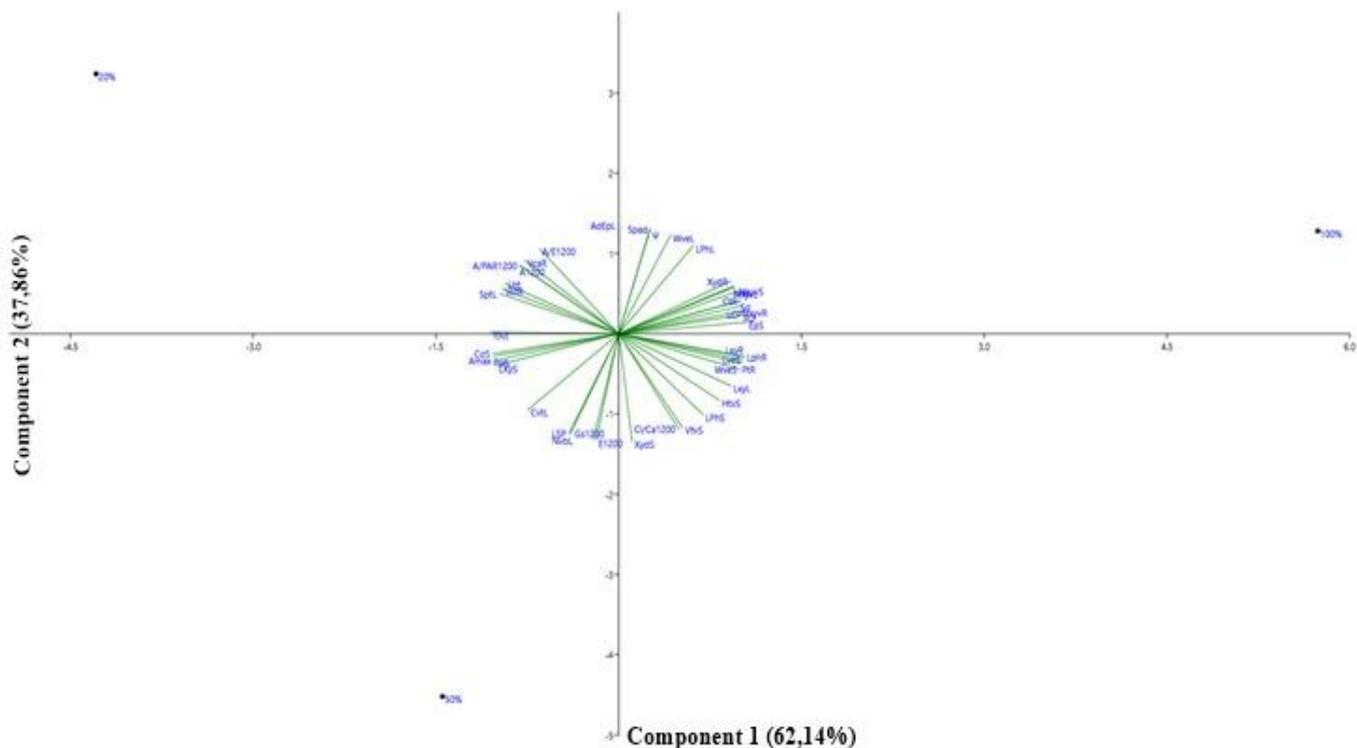
**Tabela 3.** Variáveis anatômicas radiculares de *Piper arboreum*, *Piper tuberculatum* e *Piper nigrum* submetidos a diferentes níveis de radiação solar incidente. Lxy: Length Xylem, Lph: Length Phloem, Nxyv : Number of xylem vessels, Xyd: Xylem vessel diameter, Ct: Cortex thickness, Vct: Vascular cylinder thickness, Pt: Periderm thickness, Vca: Vascular cylinder area. Médias seguidas de mesma letra minúscula comparam as espécies em cada ambiente e letras maiúsculas comparam a resposta de cada ambiente entre as espécies, pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabili



**Figura 1.** Análise de componentes principais (PCA) de variáveis anatômicas e ecofisiológicas de *P. arboreum*, em função de diferentes ambientes de radiação solar incidente. Onde a PC1 explica 59,86% e a PC2 40,14% da variação. Amax: photosynthetic capacity,  $\phi$ : quantum yield, RD: dark respiration, LCP: Light compensation point, LSP: Light saturation point, A1200: Photosynthesis,  $gs_{1200}$ : stomatal conductance, E1200: transpiration,  $Ci/Ca_{1200}$ : The ratio of intercellular to ambient  $CO_2$ ,  $A/E_{1200}$ : water use efficiency,  $A/PAR_{1200}$  light use efficiency,  $\Psi_w$ : leaf water potential. Sd: Stomatic density, AdEpL : Adaxial surface epidermis leaf, PptL: Palisade parenchyma thickness leaf, SptL: Spongy parenchyma thickness leaf, Lbt: Leaf blade thickness leaf, NvbL: Number of vascular bundles leaf, LxyL: length Xylem leaf, LPhL: length Phloem leaf, WveL: Horizontal thickness of the vascular bundle leaf, LveL: Vertical thickness of vascular bundle leaf, NxyvL, Number of xylem vessels leaf, CvtL: Central vein thickness leaf. EpS: Epidermis stem, CoS: collenchyma stem, LXYs: length Xylem stem, LPhS: length Phloem stem, WveS: Width of vase element stem, LveS: Length of vase element stem, HtvS: Horizontal thickness of the vascular bundle stem, VtvS: Vertical thickness of vascular bundle stem, NxyvS: Number of xylem vessels stem, XydS: xylem vessel diameter stem. LxyR: Length Xylem root, LphR: Length Phloem root, NxyvR : Number of xylem vessels root, XydR: Xylem vessel diameter root, CtR: Cortex thickness root, VctR: Vascular cylinder thickness root, PtR: Periderm thickness root, VcaR: Vascular cylinder area root.



**Figura 2.** Análise de componentes principais (PCA) de variáveis anatômicas e ecofisiológicas de *P. tuberculatum* em função de diferentes ambientes de radiação solar incidente. Onde a PC 1 explica 73,73% e a PC 2 26,27 da variação. Amax: photosynthetic capacity,  $\phi$ : quantum yield, RD: dark respiration, LCP: Light compensation point, LSP: Light saturation point, A1200: Photosynthesis,  $gs_{1200}$ : stomatal conductance, E1200: transpiration,  $Ci/Ca_{1200}$ : The ratio of intercellular to ambient  $CO_2$ ,  $A/E_{1200}$ : water use efficiency,  $A/PAR_{1200}$  light use efficiency,  $\Psi_w$ : leaf water potential. Sd: Stomatic density, AdEpL: Adaxial surface epidermis leaf, PptL: Palisade parenchyma thickness leaf, SptL: Spongy parenchyma thickness leaf, Lbt: Leaf blade thickness leaf, NvbL: Number of vascular bundles leaf, LxyL: length Xylem leaf, LPhL: length Phloem leaf, WveL: Horizontal thickness of the vascular bundle leaf, LveL: Vertical thickness of vascular bundle leaf, NxyvL, Number of xylem vessels leaf, CvtL: Central vein thickness leaf. EpS: Epidermis stem, CoS: collenchyma stem, LXYs: length Xylem stem, LPhS: length Phloem stem, WveS: Width of vase element stem, LveS: Length of vase element stem, HtvS: Horizontal thickness of the vascular bundle stem, VtvS: Vertical thickness of vascular bundle stem, NxyvS: Number of xylem vessels stem, XydS: xylem vessel diameter stem. LxyR: Length Xylem root, LphR: Length Phloem root, NxyvR : Number of xylem vessels root, XydR: Xylem vessel diameter root, CtR: Cortex thickness root, VctR: Vascular cylinder thickness root, PtR: Periderm thickness root, VcaR: Vascular cylinder area root.



**Figura 3.** Análise de componentes principais (PCA) de variáveis anatômicas e ecofisiológicas de *P. nigrum* em função de diferentes ambientes de radiação solar incidente. Onde a PC 1 explica 62,14% e a PC 2 37,86% da variação. Amax: photosynthetic capacity,  $\phi$ : quantum yield, RD: dark respiration, LCP: Light compensation point, LSP: Light saturation point, A1200: Photosynthesis,  $gs_{1200}$ : stomatal conductance, E1200: transpiration,  $C_i/C_a_{1200}$ : The ratio of intercellular to ambient  $CO_2$ ,  $A/E_{1200}$ : water use efficiency,  $A/PAR_{1200}$ : light use efficiency,  $\Psi_w$ : leaf water potential. Sd: Stomatic density, AdEpL: Adaxial surface epidermis leaf, PptL: Palisade parenchyma thickness leaf, SptL: Spongy parenchyma thickness leaf, Lbt: Leaf blade thickness leaf, NvbL: Number of vascular bundles leaf, LxyL: length Xylem leaf, LPhL: length Phloem leaf, WveL: Horizontal thickness of the vascular bundle leaf, LveL: Vertical thickness of vascular bundle leaf, NxyvL, Number of xylem vessels leaf, CvtL: Central vein thickness leaf. EpS: Epidermis stem, CoS: collenchyma stem, LXYs: length Xylem stem, LPhS: length Phloem stem, WveS: Width of vase element stem, LveS: Length of vase element stem, HtvS: Horizontal thickness of the vascular bundle stem, VtvS: Vertical thickness of vascular bundle stem, NxyvS: Number of xylem vessels stem, XydS: xylem vessel diameter stem. LxyR: Length Xylem root, LphR: Length Phloem root, NxyvR: Number of xylem vessels root, XydR: Xylem vessel diameter root, CtR: Cortex thickness root, VctR: Vascular cylinder thickness root, PtR: Periderm thickness root, VcaR: Vascular cylinder area root.