

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

LIANA HILDA GOLIN MENGARDA

**RESPOSTAS MORFOFISIOLÓGICAS DE PLANTAS JOVENS DE PAU-BRASIL
(*Caesalpinia echinata* Lam., LEGUMINOSAE) À RADIAÇÃO SOLAR**

Vitória - ES

2010

LIANA HILDA GOLIN MENGARDA

**RESPOSTAS MORFOFISIOLÓGICAS DE PLANTAS JOVENS DE PAU-BRASIL
(*Caesalpinia echinata* Lam., LEGUMINOSAE) À RADIAÇÃO SOLAR**

Dissertação 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 para obtenção do título de Mestre em Biologia Vegetal, Área de Concentração: Fisiologia Vegetal.

Orientador: Prof. Marco Antonio Galeas Aguilar

Co-orientador: Prof. Geraldo Rogério Faustini Cuzzuol

Vitória - ES

2010

Dados Internacionais de Catalogação-na-publicação (CIP)
(Biblioteca Central da Universidade Federal do Espírito Santo, ES, Brasil)

M544r Mengarda, Liana Hilda Golin, 1983-
Respostas morfofisiológicas de plantas jovens de pau-brasil
(*Caesalpinia echinata* Lam., Leguminosae) à radiação solar /
Liana Hilda Golin Mengarda. – 2010.
106 f. : il.

Orientador: Marco Antonio Galeas Aguilar.
Co-Orientador: Geraldo Rogério Faustini Cuzzuol.
Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Espírito
Santo, Centro de Ciências Humanas e Naturais.

1. Cesalpinácea. 2. Ecofisiologia. 3. Crescimento (Plantas). 4.
Fotossíntese. 5. Morfologia. 6. Anatomia vegetal. I. Aguilar, Marco
Antonio Galeas, 1960-. II. Cuzzuol, Geraldo Rogério Faustini. III.
Universidade Federal do Espírito Santo. Centro de Ciências
Humanas e Naturais. IV. Título.

CDU: 57

AGRADECIMENTOS

Aos meus orientadores, professores **Geraldo R. F. Cuzzuol** e **Marco Antonio G. Aguiar**, e à Prof^a. **Camilla R. D. Milanez**, que dedicaram muito de sua experiência e de seus conhecimentos para o desenvolvimento deste trabalho.

Aos **professores** do PPGBV, pelos valiosos ensinamentos transmitidos.

Aos **colegas** do mestrado, turmas de 2007 e 2009, e colegas dos laboratórios do Setor de Botânica, pela conviência, aprendizado, cooperação e diversão.

Aos amigos da turma 2008/I, **Emerson, Gabriela, Shirley e Wilka**, que compartilharam desta conquista de forma plena.

Ao **Emerson Campos Canal**, pelo exemplo de boa vontade, disposição em ajudar sempre, pelo companheirismo e amizade.

Aos funcionários, **Ricardo e Elizabete**, pela paciência, dedicação e eficiência.

Ao **Núcleo de Estudos da Fotossíntese (NEF)**, Profa. Diolina Moura Silva e Priscilla Nobres, pelo empréstimo do equipamento e auxílio nas medidas de fluorescência;

Ao **Laboratório de Anatomia Vegetal (LABAV)**, Profa. Camilla Milanez e bolsistas.

Ao Prof. **Carlos Albeto Labate**, supervisor do Laboratório Max Feffer de Genética de Plantas da ESALQ - USP, onde foram realizadas as análises de carboidratos.

Ao **Laboratório de Química de Proteínas (LQP)** da UFES, em nome da Prof^a. Suely Figueiredo e de Thiago Menezes, pela colaboração para a liofilização das amostras.

A **Universidade Federal do Espírito Santo**.

À **Fundação de Apoio Científico e Tecnológico da Prefeitura Municipal de Vitória (FACITEC)**, à **Fundação Biodiversitas** e à **Fundação de Apoio à Pesquisa do Espírito Santo (FAPES)** pelo apoio financeiro ao projeto.

À **FACITEC**, pela concessão da bolsa de Pós-graduação.

A minha **família**, pela confiança depositada em meus sonhos.

Ao **Anderson**, pelo apoio incondicional e pelo otimismo, capaz de iluminar e inspirar!

Este trabalho não teria sido realizado sem a colaboração de cada um de vocês.

Muito obrigada!

RESUMO

Caesalpinia echinata Lam. é uma arbórea da Mata Atlântica em risco de extinção. As informações quanto à ecofisiologia e ao estágio sucessional desta espécie são contraditórias, o que dificulta o seu manejo e conservação. Objetivou-se analisar o comportamento ecofisiológico de plantas jovens de pau-brasil em relação à luminosidade, por meio da análise de crescimento e das respostas morfofisiológicas. Plantas com um ano de idade foram cultivadas em 0%, 50%, 80% de sombreamento e em sombreamento natural durante 392 dias, e realizadas medidas de crescimento. Em sombreamento moderado (50%) foram obtidas maiores área foliar, massa seca e taxa de crescimento relativo. Em pleno sol as plantas apresentaram maior razão raiz/parte aérea e maior massa foliar específica. O crescimento foi inibido em 80% de sombreamento artificial, e em sombreamento natural. As plantas cultivadas em 50% de sombreamento foram transferidas para pleno sol. No momento da transferência (0 hora), às 3, 24, 48 e 192 horas, foram realizadas medidas das trocas gasosas e da eficiência quântica máxima potencial do fotossistema II (FSII) (F_V/F_M). As plantas apresentaram queimadura e abscisão dos foliólulos, inibição da assimilação fotossintética de CO_2 (A) e redução da F_V/F_M . Assim, o sombreamento de 50% apresentou-se como condição ideal de luminosidade para o desenvolvimento das plantas jovens de pau-brasil. Posteriormente, plantas com um ano de idade cultivadas em 50% de sombreamento foram submetidas à radiação solar direta. Aos 0, 2, 4, 7, 14, 20, 30, 40, 50, 60, 120 e 180 dias, foi analisada a morfofisiologia foliar. Observou-se abscisão dos foliólulos das plantas transferidas para o sol a partir dos 2 dias, sendo emitidas novas folhas até os 14 dias. Verificou-se aumento expressivo da massa foliar específica e do teor de água, aumento da espessura do limbo, da cutícula, da epiderme da face adaxial, e do parênquima paliçádico. Houve redução das razões clorofila a/b e clorofila/carotenóides. Os teores de carboidratos solúveis, em especial da sacarose, aumentaram com a exposição das plantas ao pleno sol no período entre 7 e 60 dias. Glicose e frutose apresentam elevados valores aos 7 dias. Alterações na morfoanatomia e nas concentrações de pigmentos e de carboidratos indicam plasticidade morfofisiológica. No entanto, verificou-se redução expressiva de F_V/F_M , da

eficiência quântica efetiva do FSII (F_v/F_0) e do índice de desempenho ($P.I.$) até os 14 dias, sendo observado valores abaixo do controle até o final do período de análise. Assim, evidenciou-se que a exposição das plantas ao pleno sol levou a redução da eficiência fotoquímica da fotossíntese, indicando que *C. echinata* não pode ser considerada uma espécie pioneira. Seu crescimento foi prejudicado em sombreamento intenso, o que não a caracteriza como espécie clímax. Sendo assim, pau-brasil apresenta características de espécie intermediária. Embora tenham apresentado fotoinibição, as plantas jovens possuem plasticidade e capacidade de tolerância ao estresse por elevada irradiância.

Palavras-chave: Caesalpinioideae, ecofisiologia, crescimento, fotossíntese, morfologia, anatomia, bioquímica.

ABSTRACT

Caesalpinia echinata Lam. is native specie from the Brazilian Atlantic Forest and is on extinction risk. The informations about the ecophysiological and the successional stage of this specie are contradictory, what difficult its management and conservation. The ecophysiological behavior of young plants of brazilwood affected by light was evaluated through the growth analysis and morphophysiological responses. One-year-old plants were cultivated under 0%, 50%, 80% artificial shading and natural shading for a period of 392 days, and growth parameters were measured. Higher leaf area, dry mass and relative growth rate were obtained under moderate shade (50%). Under full sunlight the plants showing higher ratio root/shoot and specific leaf mass. Growth was inhibited under 80% artificial shading and natural shade. Plants cultivated under 50% shading were transferred to full sunlight, and at 0, 3, 24, 48 and 192 hours, were measured gas exchange and the potential maximum quantum efficiency of photosystem II (PSII) (F_v/F_m). Plants leaflets presented burning and abscission, inhibition of net photosynthesis (A) and reduction of F_v/F_m . Thus, 50% shading presented as ideal lighting conditions for the development of brazilwood young plants. Subsequently, one-year-old plants cultivated under 50% shading were subjected to direct sunlight. At 0, 2, 4, 7, 14, 20, 30, 40, 50, 60, 120 and 180 days were analyzed leaf morphophysiology. Plants transferred to the sunlighth showing leaflets abscission after 2 days, and issued new leaves up to 14 days. There was significant increase in specific leaf mass and water content, increasing blade thickness, cuticle, adaxial epidermis and palisade parenchyma. There was reduction in the chlorophyll a/b and chlorophyll/carotenoids ratios. The soluble carbohydrates levels, especially sucrose, increased with plant exposure to full sunlight during 7- 60 days. Glucose and fructose showed higher level at 7 days. Morphoanatomical changes, in the pigments and carbohydrates levels indicate morphophysiological plasticity. However, there was significant reduction of F_v/F_m , effective maximum quantum efficiency of PSII (F_v/F_0) and performance index ($P.I.$) to 14 days. There were observed values below the control until 180 days. Thus, it was observed that full sunlight exposure decreases the plants photochemical efficiency,

indicating that *C. echinata* is not pioneer-sucession species. Growth was inhibited under intense shading, not characterizing the climax specie. Thus, brazilwood has the characteristics of intermediate specie. Although they presented photoinhibition, the young plants have plasticity and capacity of tolerance to high-light stress.

Keywords: Caesalpinioideae, ecophysiology, growth, photosynthesis, morphology, anatomy, biochemistry.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
2 MATERIAL E MÉTODOS	20
2.1 ARTIGO I	20
2.1.1 Crescimento.....	21
2.1.2 Trocas Gasosas e Fluorescência.....	22
2.2 ARTIGO II	23
2.2.1 Morfoanatomia Foliar e Testes Histoquímicos.....	24
2.2.2 Pigmentos Fotossintéticos.....	25
2.2.3 Fluorescência da Clorofila <i>a</i>	26
2.2.4 Carboidratos solúveis.....	28
2.2.5 Dados Climáticos	29
3 REFERÊNCIAS	30
4 RESULTADOS	38
ARTIGO I - LUZ COMO UM INDICADOR DA SUCESSÃO ECOLÓGICA DO PAU-BRASIL (<i>Caesalpinia echinata</i> LAM.)	39
ABSTRACT	40
RESUMO	40
INTRODUÇÃO	41
MATERIAL E MÉTODOS	44
Área de estudo e instalação do experimento.....	44
Análises de crescimento.....	45
Análise das trocas gasosas.....	45

Análise da fluorescência.....	46
Delineamento experimental e análise estatística.....	46
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	47
Análises de crescimento.....	47
Fotossíntese.....	50
AGRADECIMENTOS.....	55
REFERÊNCIAS.....	56
TABELAS.....	61
LEGENDA DAS FIGURAS.....	63
FIGURAS.....	65

**ARTIGO II – ALTERAÇÕES MORFOFISIOLÓGICAS EM FOLHAS DE PAU-BRASIL
(*Caesalpinia echinata* LAM.) SUBMETIDAS À RADIAÇÃO SOLAR**

DIRETA.....	69
ABSTRACT.....	70
RESUMO.....	70
INTRODUÇÃO.....	71
MATERIAL E MÉTODOS.....	72
Material Vegetal e Estabelecimento do Experimento.....	72
Massa Foliar Específica, Área Foliar Específica e Teor de Água.....	73
Anatomia Foliar e Testes Histoquímicos.....	73
Pigmentos Fotossintetizantes.....	73
Fluorescência da Clorofila <i>a</i>	74
Carboidratos Solúveis.....	74
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	74
Morfologia Foliar.....	74
Caracterização e Alterações da Anatomia Foliar.....	75
Pigmentos Fotossintetizantes.....	77
Fotoinibição da Fotossíntese.....	78
Carboidratos Solúveis.....	80

Conclusões e Considerações Finais.....	82
AGRADECIMENTOS.....	82
REFERÊNCIAS.....	82
TABELAS.....	87
FIGURAS.....	90
APÊNDICE.....	96

1. INTRODUÇÃO

Caesalpinia echinata Lam. (Leguminosae), o pau-brasil, é uma espécie semidecídua da Floresta Estacional Caducifólia Costeira do Brasil, Bioma Mata Atlântica. Esta arbórea apresenta porte médio de 10 a 15 m de altura, tronco recoberto por acúleos, e inflorescências amarelas-ouro. Suas folhas são bipinadas ou recompostas (Figura 1) (CARVALHO, 1994). Na época da colonização portuguesa, a espécie encontrava-se amplamente distribuída na costa brasileira, especialmente entre os estados do Rio de Janeiro e Rio Grande do Norte (LIMA, 1992), mas após intensa e prolongada exploração, chegou a ser considerada extinta por quase um século. Na atualidade, em virtude de iniciativas de conservação *in situ* e *ex situ*, o pau-brasil é encontrado em remanescentes de Mata Atlântica, porém em número bastante reduzido (SOARES, 1985; ROCHA; SIMABUKURO, 2008).

O pau-brasil é considerado a árvore símbolo do Brasil e, apesar do seu valor histórico e econômico, corre sério risco de erosão genética (Portaria IBAMA n.37-N, de 03 de abril de 1992). Na atualidade, a espécie ainda sofre forte pressão de extinção, principalmente devido ao corte ilegal de árvores para fins comerciais, como a fabricação de instrumentos musicais (PIERCE, 2002).

O perigo de extinção das espécies nativas, assim como o pau-brasil, é atribuído não somente ao intenso extrativismo e a destruição do habitat, mas também pela falta de informações sobre suas características fisiológicas, o que compromete as ações de conservação e manejo. Uma vez que as informações relacionadas à ecofisiologia das espécies são insuficientes, o reflorestamento com espécies nativas pode não alcançar os resultados esperados. O plantio de arbóreas nativas tropicais depende, principalmente, de dados sobre o comportamento em relação à intensidade luminosa. Tais informações são de grande importância na definição do posicionamento da sucessão, imprescindível na regeneração artificial e manejo de florestas (KITAJIMA, 1996; KOERSELMAN; MEULEMAN, 1996; DUZ et al., 2004).



Figura 1 – Plantas jovens de *Caesalpinia echinata*. a – aspecto geral. b – folhas bipinadas. c – detalhes dos foliólulos.

As informações quanto ao comportamento ecofisiológico do pau-brasil são bastante contraditórias. Para Budowski (1965), *C. echinata* é uma espécie semi-heliófila, classificada como clímax, enquanto Lima (1992), Lorenzi (2002) e Baroni (2005) a classificam como heliófila. Rocha (2004) comprovou adaptação da espécie ao cultivo em áreas abertas e de clima seco. Carvalho (1994) sugere que esta espécie possa ser um exemplo de arbórea que necessite de um sombreamento moderado na fase juvenil, e que seu desenvolvimento é completado quando ocorre a formação de clareiras. Aguiar et al. (2005) constaram que a espécie se desenvolve melhor com a redução do sombreamento (de intenso para moderado). O pau-brasil também é considerado uma espécie de meia sombra, bastante resistente a extremos de luz e que, ao menos

quando jovem, apresenta grande plasticidade de resposta a irradiância (ZAIDAN et al., 2008). É necessário, pois, maior esclarecimento das condições ideais de incidência de radiação solar para o desenvolvimento desta espécie, para que, além de uma definição do posicionamento da sucessão ecológica, as mudas possam ser manejadas corretamente.

A classificação das espécies arbóreas quanto ao estágio sucessional foi, inicialmente, baseada em características germinativas, como a quantidade e qualidade de luz para a germinação e o tamanho das sementes e, assim, as espécies podiam ser clímax ou pioneiras (WALTER, 1979). Mais tarde, a posição sucessional das espécies passou a ser utilizada para explicar a maior ou menor capacidade das plantas em responder a variações ambientais: espécies de estágios successionais tardios possuem menor plasticidade que espécies de estágios successionais iniciais (HUANTE; RINCÓN, 1998).

No entanto, a caracterização dos diferentes grupos ecológicos envolvidos nos processos de formação florestal é ainda pouco precisa. De acordo com Ribeiro et al. (2004), a distinção mais concisa entre as classes successionais deve levar em consideração aspectos ecofisiológicos, como a capacidade de aproveitamento da energia luminosa. Para tanto, novas formas de avaliar os processos fisiológicos nos vegetais, que permitem ou não as espécies ocuparem um determinado ambiente (aptidão fisiológica), justifica a classificação do estágio sucessional das plantas por meio de características ecofisiológicas, como, por exemplo, a eficiência fotossintética em resposta à luz (RIBEIRO et al., 2004; LÜTTGE; SCARANO, 2007).

O desenvolvimento vegetal é afetado por inúmeros fatores ambientais, sendo a irradiância um parâmetro diretamente ligado à produção de biomassa, que regula o ganho de energia e o metabolismo de carboidratos através da fotossíntese. Assim, a luminosidade é um dos fatores ambientais mais importantes no estabelecimento da vegetação (SOUZA; VÁLIO 2003; DUZ et al., 2004; GONÇALVES et al., 2005; WALTER, 2008). A regulação do processo fotossintético é modificada em função da luz disponível, tendo efeito direto sobre a capacidade da planta em viver em determinado

habitat (GOTTLIEB; KAPLAN; BORIN, 1996; TAIZ; ZAIGER, 2008). Assim, o conhecimento sobre os efeitos da intensidade luminosa sobre o processo fotossintético pode garantir a sobrevivência e o desenvolvimento adequado das plantas quando transplantadas para o campo. Além disso, estudos dessa natureza permitem avaliar a plasticidade fisiológica da planta em relação ao estresse por luminosidade (ZAMITH; SCARANO, 2004; LIMA et al., 2008).

Embora as plantas possam ser geneticamente determinadas a crescer sob alta ou baixa intensidade de luz, a maioria dos vegetais de ocorrência nas regiões tropicais apresenta capacidade de se adaptar a baixa ou a alta irradiância. Quando verificada esta capacidade de aclimação de uma espécie aos diferentes níveis de irradiância, é possível observar diferentes fenótipos. Plantas crescendo a pleno sol podem apresentar alterações morfológicas resultantes de mudanças fisiológicas, como na coloração das folhas decorrente da variação no conteúdo e composição dos pigmentos fotossintetizantes, no tamanho e espessura das folhas, etc. (LÜTTGE, 1997; MARENCO; LOPES, 2009).

Adaptações morfofisiológicas permitem a manutenção da eficiência do aparato fotossintético e, assim, a manutenção dos valores de assimilação fotossintética de CO₂. A aclimação em relação à quantidade de luz ocorre, portanto, no sentido de maximizar o ganho total de carbono e, segundo Osunkoya et al. (1994), pode se dar por meio de dois caminhos: a) mudança nas propriedades de assimilação fotossintética de carbono pelas folhas, envolvendo ajustes morfológicos, fisiológicos e bioquímicos; b) pela mudança no padrão de alocação de biomassa em favor da parte vegetativa mais severamente afetada pela mudança (LAMBERS; POORTER, 1992; CAMPOSTRINI; MAESTRI, 1998).

Variação da área e massa foliar, da razão de massa da raiz em relação à parte aérea, e da taxa de crescimento relativo podem ser empregadas para descrever as preferências ecológicas das plantas quanto à disponibilidade de luz (LAMBERS; POORTER, 1992). A análise de crescimento é um instrumento simples e preciso para avaliar as respostas

fisiológicas, pois por meio desta é possível conhecer a cinética de produção de biomassa das plantas (BENINCASA, 2003).

As alterações estruturais nos vegetais ocorrem comumente na folha, por se tratar de um órgão que está muito suscetível às mudanças ambientais. Estas modificações podem alterar a quantidade de luz que alcança o cloroplasto, regulando os processos fotossintéticos. O estudo da anatomia foliar é, portanto, de grande importância para a compreensão da plasticidade adaptativa de uma espécie às variações ambientais, e em especial com a luminosidade, por estar correlacionada com processos de trocas gasosas e assimilação de CO₂, e outras características inerentes ao crescimento da planta (LIMA JR. et al., 2006).

A condição de luminosidade pode modificar a estrutura das folhas, como espessura da lâmina foliar, espessura cuticular, densidade e distribuição dos estômatos, número e espessura das camadas epidérmicas e do parênquima clorofiliano (LIMA JR. et al., 2006; COSTA et al., 2007; PINTO et al., 2007; OLIVEIRA et al., 2008). Tais modificações podem influenciar no aumento ou na redução da radiação que chega aos tecidos sensíveis do mesofilo que, por sua vez, pode alterar o mecanismo e a eficiência da fotossíntese. De acordo com Sullivan et al. (1996), Vasconcellos, Gomes e Esquibel (1998), a maior incidência de luz pode desencadear mecanismos de proteção que podem ter relação direta com os padrões fotossintéticos. As análises anatômicas e histoquímicas evidenciam, pois, a capacidade do vegetal de alterar padrões morfológicos e bioquímicos, garantindo sua adaptação frente a uma condição de estresse.

O efeito de alterações ambientais no metabolismo fotossintético pode ser verificado através de análises das trocas gasosas que possibilitam mensurar a assimilação fotossintética de CO₂, transpiração, condutância estomática, etc. (LAMBERS; CHAPIN; PONS, 1997), ou por meio da análise da cinética de emissão de fluorescência da clorofila *a*, que expressa eficiência da fase fotoquímica da fotossíntese. A técnica da fluorescência da clorofila *a* tem permitido uma avaliação muito apurada do estado

funcional do aparelho fotossintético, por ser capaz de detectar alterações estruturais e funcionais do complexo proteína-pigmento do fotossistema II (FSII) (MAXWELL; JOHNSON, 2000; HOUTER; PONS, 2005).

Elevada irradiância pode comprometer a fotossíntese por meio do processo de fotoinibição, que envolve danos aos centros de reação, especialmente ao FSII. Mas a fotossíntese pode ser inibida, também, pela foto-oxidação, processo que envolve diretamente os pigmentos cloroplastídicos. De acordo com Morais et al. (2007), as plantas respondem a mudanças nas condições de luminosidade em termos de quantidade e qualidade dos pigmentos, o que afeta diretamente as propriedades fotossintéticas. As clorofilas podem ser foto-oxidadas sob alta irradiação e, devido aos carotenóides serem capazes de prevenir este processo, a relação entre estes pigmentos pode ser um indicador potencial de perdas foto-oxidativas causadas por elevada irradiação (HENDRY; PIERCE, 1993). A relação clorofila *a/b* também é um indicativo da plasticidade do vegetal frente a alterações na radiação incidente (KITAJIMA; HOGAN, 2003; MARTINAZZO et al., 2007). Assim, plantas que crescem sob elevada irradiância, tendem a apresentar além de características estruturais, alterações bioquímicas na acepção de reduzir a quantidade de luz que alcança o cloroplasto, evitando os processos de fotoinibição e foto-oxidação.

A produção de carboidratos pela fotossíntese é um processo vital que assegura às plantas a capacidade de regular seu crescimento e adaptar seu metabolismo a modificações do ambiente. Estas substâncias são mobilizadas no decorrer do desenvolvimento, e seus produtos de degradação são usados para diferentes propósitos, como a geração de energia, reservas, e matéria-prima para a construção de células e tecidos (TAIZ; ZEIGER, 2008).

Os carboidratos atuam no ajuste osmótico e, portanto, na manutenção da turgescência celular, permitindo a abertura estomática e a fotossíntese sob condições de redução do potencial hídrico, que pode ocorrer em decorrência do aumento da temperatura foliar em condições de alta irradiância (TURNER; JONES, 1980; TURNER, 1997). A sacarose,

além de fornecer substrato para a síntese de material celular e de outros carboidratos de reserva, ainda atua como molécula sinalizadora do metabolismo do desenvolvimento vegetal, através da modulação da expressão gênica e do *turnover* de proteínas (FARRAR; POLLOCK; GALLAGHER, 2000). Os carboidratos solúveis, como frutose, glicose e rafinose, desempenham inúmeras funções metabólicas, de sinalização e proteção (BUCHI; BACHMAN; KELLER, 1998; FARRAR; POLLOCK; GALLAGHER, 2000; HELDT, 2005; SOUZA; MORAIS; FIGUEIREDO-RIBEIRO, 2005). Os teores e a dinâmica de carboidratos podem ser sinalizadores de uma condição de estresse, ou ainda serem alterados a partir da necessidade da planta se adaptar a uma nova condição ambiental (SMEEKENS 2000).

O estudo do efeito da luminosidade no crescimento do pau-brasil é de fundamental interesse para inferir sobre as preferências ecofisiológicas da espécie, sobre seu papel na sucessão ecológica, e obter informações imprescindíveis para o desenvolvimento de mudas, visando dar suporte a trabalhos de conservação e manejo. Entende-se que o estudo das respostas das plantas à alteração nas condições de luminosidade possibilita definir a melhor estratégia de recuperação da cobertura vegetal, tendo como base a capacidade da planta em expressar os mecanismos fisiológicos com a máxima eficiência (MACHADO et al., 2005; MUSIL; CHIMPHANGO; DAKORA, 2002). A investigação destes mecanismos, portanto, pode gerar informações úteis para a conservação e recuperação florestal, bem como a implantação de bancos de germoplasma *in situ* e *ex situ* de espécies ameaçadas como o pau-brasil (ROCHA; SIMABUKURO, 2008).

Assim, o objetivo deste trabalho foi de verificar o comportamento ecofisiológico de plantas jovens de *C. echinata* sob diferentes condições de luminosidade, por meio de análises de crescimento e das respostas fisiológicas e morfoanatômicas.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Para a realização desta pesquisa, foram utilizadas plantas de pau-brasil (*Caesalpinia echinata* Lam.), propagadas por sementes fornecidas pela FUNBRASIL (Fundação Nacional do Pau-brasil/PE). Para a germinação, as sementes foram dispostas em placas de Petri, a temperatura de 25°C em luz contínua. Aos 15 dias após a germinação, as plântulas foram transferidas para tubetes. Com aproximadamente 9 meses de idade as plantas foram transplantadas para vasos plásticos, e mantidas sob temperatura e fotoperíodo natural, em casa de vegetação localizada no Campus Universitário de Goiabeiras, Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória, ES (20°18'52"S e 40°19'06"W).

2.1 ARTIGO I

Plantas com aproximadamente um ano de idade, envasadas em recipientes plásticos (5 L) contendo como substrato terra preta e areia (1:1), foram submetidas à diferentes condições de luminosidade, divididas em quatro tratamentos: 0% de sombreamento (pleno sol), 50 e 80% de sombreamento artificial (sombrite), e sombreamento natural, aonde as os vasos foram dispostos sob um bosque próximo à casa de vegetação. Para evitar o aquecimento e perda excessiva de água pela evaporação do solo, os vasos em pleno sol (0%) foram envolvidos em papel alumínio e a superfície do solo recebeu uma camada de vermiculita. As plantas foram regadas diariamente, de forma que não houvesse restrição hídrica.

A radiação fotossinteticamente ativa nas diferentes condições de luminosidade foi determinada em um dia ensolarado as 12 h, por meio de um espectroradiômetro da Sky Instruments Ltda. Os valores médios da radiação fotossinteticamente ativa (PAR) para cada tratamento foram de aproximadamente: 0% de sombreamento= 1550 $\mu\text{mol.m}^{-1}.\text{s}^{-1}$; 50% de sombreamento= 770 $\mu\text{mol.m}^{-1}.\text{s}^{-1}$; 80% de sombreamento= 310 $\mu\text{mol.m}^{-1}.\text{s}^{-1}$; sombreamento natural= 110 $\mu\text{mol.m}^{-1}.\text{s}^{-1}$. A razão vermelho/vermelho extremo (Lv:Lve), no sombreamento natural e em pleno sol, foi calculada pela razão dos valores do

espectro de irradiância no comprimento de 656-664 nm e 726-734 nm com o sensor colocado na altura da copa das plantas.

2.1.1 Crescimento

No tempo inicial (plantas com aproximadamente 12 meses) e aos 392 dias após o estabelecimento do experimento (plantas com aproximadamente 24 meses), foram realizadas medidas de crescimento tais como: altura, número de folhas, massa fresca, e massa seca (em estufa 60°C até obtenção da massa seca constante), e área foliar (Area Meter da LI-COR 3100). O pau-brasil é uma espécie que apresenta folhas bipenadas, com folíolos e foliólulos. Para a análise de área foliar, 30 foliólulos foram scanneados, e as imagens geradas forneceram a medida de área a partir do método gravimétrico. Com o total da massa dos 30 foliólulos e sua respectiva área, foi calculada a área foliar total. A metodologia aplicada é considerada confiável, com erro estimado de até 5%.

As taxa de crescimento absoluto ($TCA = M_2 - M_1 / t_2 - t_1$), taxa de crescimento relativo ($TCR = (\ln M_2 - \ln M_1) / (t_2 - t_1)$), razão de área foliar ($RAF = AF / MST$), razão raiz:parte aérea (R:PA), massa foliar específica ($MFE = MF / AF$), razão de massa foliar ($RMF = MF / MST$), razão de massa caulinar ($RMC = MC / MST$) e razão de massa radicular ($RMR = MR / MST$), foram calculadas segundo Hunt (1982), onde, M_1 =massa inicial; M_2 =massa final; t_1 =tempo inicial; t_2 =tempo final; \ln =Log natural; MF =massa foliar, MC =massa caulinar, MR =massa radicular, AF =área foliar; MST =massa seca total; RMF = razão de massa foliar; RMC =razão de massa caulinar; RMR =razão de massa radicular.

O delineamento foi inteiramente casualizado (DIC), constituído de sete repetições e duas plantas por parcela para cada tratamento. Os dados foram submetidos à análise de variância e teste de Tukey a 5% de significância.

2.1.2 Trocas Gasosas e Fluorescência

Ao término das análises de crescimento, plantas cultivadas em 50% de sombreamento foram divididas em dois tratamentos: plantas transferidas para pleno sol e plantas mantidas em sombreamento constante. No momento da transferência (0 hora), às 3, 24, 48 e 192 horas após a transferência, foram realizadas análises das trocas gasosas e da fluorescência da clorofila *a*, partir de folíolos da região mediana da primeira folha apical completamente expandida.

As análises de trocas gasosas foram realizadas em sistema fechado com analisador de gases infravermelho portátil (IRGA) modelo LI-6200 (LI-COR, Inc.) no horário entre 9:00 e 11:00 h, utilizando-se concentração atmosférica de CO₂ (em aproximadamente 370 ppm) e temperatura ambiente. Foi utilizada fonte de luz artificial com intensidade aproximada de 1.500 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$. Avaliou-se a assimilação fotossintética de carbono (*A*), condutância estomática (*g_s*), transpiração (*E*) e déficit de pressão de vapor entre a folha e o ar ($DPV_{\text{folha-ar}}$). Foram calculadas a eficiência do uso da água (*EUA*) e a eficiência intrínseca do uso da água (*EIUA*), por meio das equações $EUA = [\text{mmol CO}_2\cdot\text{mol}^{-1}(\text{H}_2\text{O})]$ deduzida pela razão de fotossíntese (*A*) / transpiração (*E*) e $EIUA = [\mu\text{mol CO}_2\cdot\text{mol}^{-1} \text{H}_2\text{O}]$ dada pela razão de fotossíntese (*A*) / condutância estomática (*g_s*).

Para a medida da fluorescência da clorofila *a* utilizou-se um analisador de eficiência fotossintética portátil (PEA, Hanstech, King's Lynn, UK), com 30 minutos de adaptação ao escuro, no horário das 8:00 horas da manhã. Foi verificada a eficiência quântica máxima potencial do FSII (F_V/F_M).

O experimento foi estabelecido em delineamento inteiramente casualizado (DIC), com cinco repetições e três plantas por parcela para cada tratamento. Os dados foram submetidos à análise de variância e teste de Tukey a 5% de significância.

2.2 ARTIGO II

Plantas com aproximadamente um ano de idade, envasadas em recipientes plásticos (8 L) contendo terra preta e acondicionadas a sombreamento artificial de aproximadamente 50%, temperatura e fotoperíodo natural, foram divididas em dois lotes: um mantido sob sombreamento constante em casa de vegetação (50%) constituindo o *controle*; e outro transferido para o ambiente externo à casa de vegetação, a *pleno sol*. Para evitar o aquecimento e perda excessiva de água pela evaporação do solo, os vasos em pleno sol foram envolvidos em papel alumínio e a superfície do solo recebeu uma camada de vermiculita. As plantas foram regadas diariamente, de forma que não houvesse restrição hídrica.

A coleta de amostras e as medidas fisiológicas foram realizadas a partir de foliólulos da região mediana da primeira folha completamente expandida a partir do ápice (Figura 2), aos 0, 2, 4, 7, 14, 20, 30, 40, 50, 60, 120 e 180 dias após o estabelecimento do experimento, totalizando seis meses de análises.

O experimento foi estabelecido em delineamento inteiramente casualizado (DIC), com cinco repetições e seis plantas por parcela para cada tratamento. No sentido de investigar variações com relação à condição de luminosidade e com relação ao tempo, foi estabelecido um arranjo fatorial (2 x 12), constituído por 2 tratamentos e 12 períodos de avaliação. Os dados referentes às razões entre os pigmentos foram submetidos à análise de regressão e calculado o respectivo erro padrão da média. Os resultados da análise de fluorescência são apresentados em valores de percentual em relação ao controle. Para os demais dados foi realizada análise de variância (ANAVA) e as médias comparadas pelo teste Tukey ($P < 0,05$).

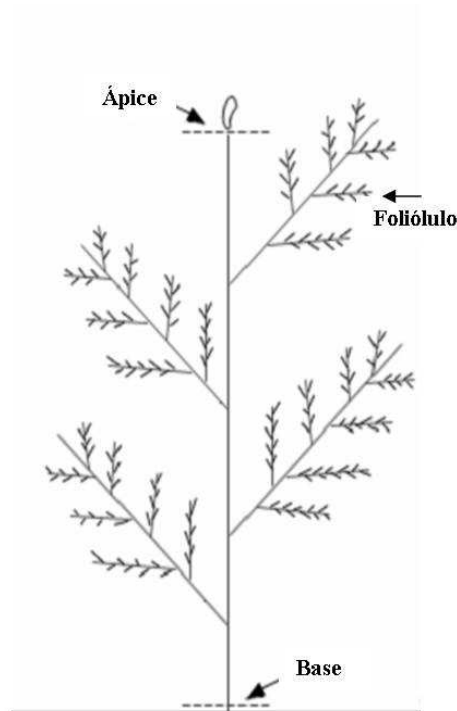


Figura 2 – Esquema representando as plantas jovens de *Caesalpinia echinata* indicando a região da folha utilizada para as análises e a coleta de foliólulos.

2.2.1 Morfoanatomia Foliar e Testes Histoquímicos

Os padrões morfológicos das folhas de *C. echinata* foram mensurados a partir da análise da área foliar específica, massa foliar específica e teor de água. Foram realizadas medidas da massa fresca e a massa seca (estufa 60°C), e área foliar, sendo calculadas massa foliar específica ($MFE=MF/AF$), área foliar específica ($AFE=AF/MF$), segundo Hunt (1982), e teor de água ou suculência ($Teor\ H_2O=MFF-MSF/AF$), de acordo com Parida, Dias e Mittra (2004). Onde, MF=massa foliar, AF=área foliar; MFF=massa fresca foliar; MSF= massa seca foliar.

As análises da anatomia e histoquímica foliar foram realizadas no Laboratório de Anatomia Vegetal, do Setor de Botânica da UFES. Amostras do terço médio do limbo (0,5 cm x 0,5 cm) foram fixadas em FAA 50 (Formaldeído, Ácido acético e Etanol) por

48 horas (JOHANSEN, 1940), e estocadas em álcool 70%, sendo posteriormente desidratadas em série etanólica crescente e incluídas em historresina (Leica Historesin^R), segundo Gerrits (1964). Foram realizadas secções transversais de 9 µm de espessura, com auxílio de micrótomo rotativo, as quais foram coradas com Azul de Toluidina 0,05%, pH 4,7 (O'BRIEN; FEDER; MCCULLY, 1964) e montadas entre lâmina e lamínula, em bálsamo do Canadá.

A análise anatômica quantitativa foi realizada por meio de medições da espessura total do limbo, da cutícula, da epiderme de ambas as faces da folha, e dos parênquimas paliçádico e lacunoso. Foi determinada a densidade estomática (mm²) por meio de impressão da face abaxial dos foliólulos. As medições foram realizadas com auxílio do software analisador de imagens TSview. Os valores médios foram obtidos a partir de 20 medições para cada característica. Os dados foram submetidos à análise de variância e teste Tukey (p<0,05).

Para a determinação da natureza química da parede e do conteúdo celular, cortes obtidos à mão-livre foram submetidos a testes histoquímicos utilizando-se os seguintes reagentes: Cloreto férrico a 10%, para a detecção de substâncias fenólicas; Sudan IV, para substâncias lipídicas; Vermelho de Rutênio, para detecção de substâncias pécticas (JOHANSEN, 1940). Os resultados foram documentados por meio de fotomicroscópio.

2.2.2 Pigmentos Fotossintéticos

O teor de clorofila total, clorofila *a*, clorofila *b*, carotenóides e as razões clorofila *a/b* e clorofila/carotenóides, foi determinado após extração com dimetilsulfóxido (DMSO), utilizando quatro discos foliares de 0,45 cm de diâmetro, macerados em 5 mL de DMSO, em tubos de ensaio com tampa, mantidos no escuro, em temperatura ambiente, por sete dias. As leituras da densidade ótica foram feitas em espectrofotômetro a 470, 663 e 645 nm. As determinações das concentrações de clorofila e carotenóides foram realizadas usando as equações de Lichtenthaler (1987):

$$\text{Clorofila } a = (12,7.A_{663} - 2,69.A_{645} / 1000MF).V \text{ (mg.g}^{-1} \text{ MF)}$$

$$\text{Clorofila } b = (22,9.A_{645} - 4,68.A_{663} / 1000MF).V \text{ (mg.g}^{-1} \text{ MF)}$$

$$\text{Clorofila Total} = (20,2.A_{663} - 2,69.A_{645} / 1000MF).V \text{ (mg.g}^{-1} \text{ MF)}$$

$$\text{Carotenóides} = (1000.A_{470}) - (1,82.\text{Clor.}a) - (85,02.\text{Clor.}b) / (198).V \text{ (mg.g}^{-1} \text{ MF)}$$

Onde:

A_{470} = absorvância a 470 nm; A_{663} = absorvância a 663 nm; A_{645} = absorvância a 645 nm; V = volume da amostra (mL); MF = massa fresca da amostra (g).

2.2.3 Fluorescência da Clorofila a

A cinética da emissão da fluorescência da clorofila a foi mensurada em um fluorômetro portátil Handy PEA (Plant Efficiency Analyzer, Hanstech, King's Lynn, Norfolk, UK). As medidas foram realizadas entre as 8:00 e 9:00 horas, com a adequação da área foliar ao escuro por 30 minutos. Imediatamente após a adequação ao escuro as folhas foram expostas a um pulso saturante de luz vermelha de cerca de $3000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ fornecido por um conjunto de três LED's (pico de 650 nm), aplicado sobre a superfície da folha para proporcionar uma iluminação homogênea sobre a área exposta (4 mm de diâmetro). Os resultados da cinética da fluorescência transiente foram tabulados com o programa do Handy PEA (PEA Plus) para uma planilha eletrônica. Este software extrai os valores básicos da fluorescência: fluorescência inicial (F_0), fluorescência máxima (F_M), fluorescência variável (F_V).

A fluorescência transiente da clorofila a foi analisada de acordo com o teste J-I-P. A partir da curva transiente, a análise dos parâmetros básicos (F_0 , F_m , $F_{50 \mu\text{s}}$, $F_{100 \mu\text{s}}$, $F_{300 \mu\text{s}}$, F_J , F_I , e tF_m) conduziu ao cálculo e derivação de uma variedade de parâmetros específicos da fluorescência, que fornecem informações estruturais e funcionais do FSII. Foram expressos os valores de fluxo específico por centro de reação (RC), conforme Tabela 1. ABS refere-se à absorção de fótons por molécula de clorofila do complexo antena. Parte da energia absorvida (ABS/RC) pode ser capturada pelo centro de reação do FSII (P680) (TR_0/RC), ou dissipada na forma de calor ou de fluorescência (DI_0/RC). Da energia capturada, parte pode ser convertida em energia redox para o

transporte de elétrons (ET_0/RC) entre Quinona A e B. Foram mensuradas também a probabilidade (no tempo zero) de um excitron capturado pelo RC do FSII, mover um elétron na cadeia de transporte para além de Q_A^- ($\psi_0 = ET_0/TR_0$) e a razão entre o número de centros de reação ativos do FSII pela quantidade de luz absorvida pelo sistema antena (RC/ABS). Foram determinados o rendimento quântico máximo potencial do FSII ($F_V/F_M = \phi_{P0}$), o rendimento quântico efetivo do FSII ($\phi_{P0}/(1-\phi_{P0})=F_V/F_0$), e o índice de desempenho (P.I.), permitindo, assim, quantificar o comportamento do FSII nos diferentes períodos e condições avaliados.

Tabela 1 – Definição das variáveis analisadas através da fluorescência transiente da clorofila a e dos cálculos da curva O-J-I-P de acordo com Christen et al. (2007).

PARÂMETRO	DESCRIÇÃO
F_0	Fluorescência inicial. Intensidade da fluorescência aos 50 μ s obtidas em amostras adaptadas ao escuro. É considerada como a intensidade da fluorescência quando todos os RC do FSII estão abertos, isto é ou quando Q_A está totalmente oxidada.
F_M	Fluorescência máxima. Intensidade da fluorescência obtida após 300 ms, considerada como a intensidade da fluorescência quando todos os RC's do FSII estão fechados e o acceptor Q_A esta completamente reduzido.
F_V/F_M	Eficiência quântica máxima potencial do FSII. Eficiência de captura de energia de excitação pelos centros de reação do FSII abertos ($\phi_{P0} = F_V/F_M$).
ABS/RC	Fluxo de fótons absorvidos por centros de reação.
TR₀/RC	Fluxo de energia de excitação efetivamente capturada pelo centro de reação.
ET₀/RC	Fluxo de energia que foi efetivamente destinada ao transporte de elétrons pelo centro de reação o que resultará na reoxidação das Q_A reduzidas.
DI₀/RC	Dissipação de energia de excitação do centro de reação ativo.
RC/CS₀	Densidade de Centros de Reação ativos do FSII por centro de reação.
F_V/F_0	Eficiência quântica máxima efetiva de conversão de energia ($F_V/F_0 = \phi_{P0}/(1-\phi_{P0})$).
ET₀/TR₀	Probabilidade (no tempo zero) de um excitron capturado, mover um elétron na cadeia de transporte para além de Q_A^- ($ET_0/TR_0 = \psi_{P0}$).
PI	Índice de desempenho. É o produto de três parâmetros independentes: RC/ABS , ϕ_{P0} e ψ_{P0} , e é considerado um indicador da vitalidade da amostra, ou seja, a densidade de centros de reação expressos com base na absorção (RC/ABS), o rendimento quântico máximo efetivo do FSII ($\phi_{P0} / (1-\phi_{P0}) = F_V/F_0$) e a habilidade de transferência de elétrons na cadeia transportadora, entre o FSII e FSI ($\psi_{P0} = ET_0/TR_0$).

2.2.4 Carboidratos Solúveis

A análise dos carboidratos solúveis foi realizada no Laboratório de Max Feffer de Genética de Plantas da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” ESALQ Piracicaba – SP.

Amostras de tecido foliar de pau-brasil previamente liofilizadas por 48 horas, foram moídas em moinho micro-wiley através de peneiras de 60 mesh (AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS, 2001). Para a determinação do conteúdo de carboidratos solúveis (glicose, frutose, sacarose e rafinose) pesou-se aproximadamente 20 mg de amostra em tubo *Eppendorf*, adicionou-se 1 mL de água ultrapura (Milli-2), deixando em banho-maria à 80°C durante 1 hora. As amostras foram centrifugadas por 10 minutos, e as soluções obtidas resultantes do processo de extração foram utilizadas para a quantificação do conteúdo de carboidratos solúveis. Os teores de açúcares solúveis foram analisados por HPAE-PAD (*High Performance Anion Exchange- Pulsed Amperometric Detection*).

As curvas de concentração para cada açúcar foram construídas de acordo com o perfil cromatográfico das amostras com os referidos padrões: glicose frutose, sacarose e rafinose todos da Sigma®. As determinações foram realizadas com o auxílio do equipamento ICS 2500, HPLC Dionex®. O eluente de arraste utilizado foi 60 mM de NaOH e o eluente de limpeza foi de 200 mM de NaOH, com fluxo de 1 mL.min⁻¹, pressão no sistema de aproximadamente 1500 psi. As amostras foram injetadas com volume de 25 µL determinado pelo *loop* de amostragem. A coluna utilizada foi a de troca aniônica Dionex® CarboPac PA1 (4 x 250 mm) com coluna-guarda CarboPac PA1 (4 x 50mm) e o detector amperométrico associado ao eletrôdo de ouro foi ajustado de acordo com a metodologia descrita por Bragatto (2007). Os dados foram submetidos à análise de variância e teste Tukey (p<0,05).

2.2.5 Dados Climáticos

Na Tabela 2 são apresentados os dados climáticos dos dias em que foram realizadas as análises, durante os primeiros 60 dias do experimento. Na Figura 3, são apresentadas as médias mensais no período total de duração do experimento.

Tabela 2 – Dados climatológicos da UFES - Campus de Goiabeiras, nos dia em que foram realizadas as análises (média das 24 h). A primeira coluna representa os períodos das medidas. T. Média = temperatura média; UR = Umidade relativa média; PP = precipitação diária; Rad = radiação. Fonte: Estação Meteorológica Automática do INMET.

Período (dias)	T. Média (°C)	UR Média (%)	PP(mm)	Rad (MJ/m ²)
0	24,1	82,0	2,2	23,3
2	24,3	74,2	0,0	25,5
4	24,3	78,6	12,6	22,5
7	25,2	72,0	0,0	26,8
14	25,3	76,7	0,0	27,5
20	25,7	76,9	6,2	16,7
30	25,8	77,0	0,0	19,6
40	23,7	85,4	0,0	13,8
50	22,9	81,3	0,0	17,0
60	25,7	80,4	1,4	20,2

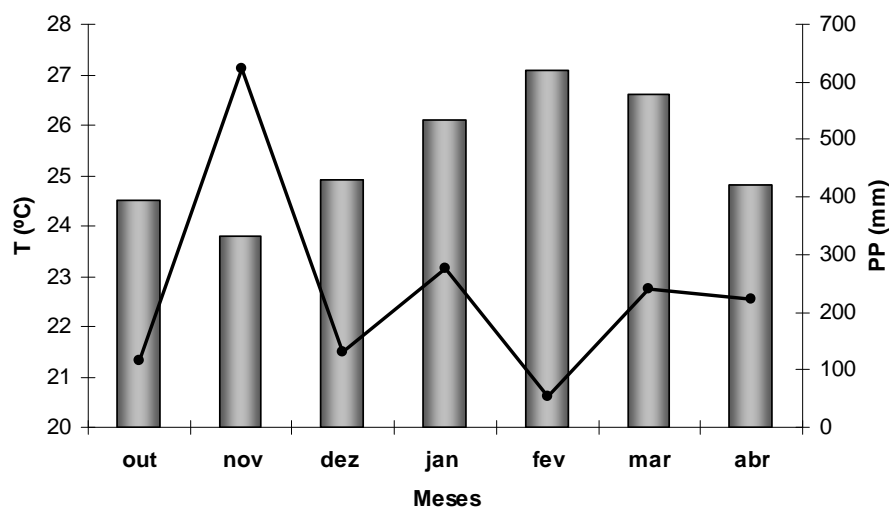


Figura 3 – Dados climatológicos mensais de Vitória - ES, do período total de duração do experimento (Outubro de 2008 a Abril de 2009). T = temperatura média mensal (colunas); PP = precipitação mensal (linha). Fonte: Estação Meteorológica Automática do INMET.

3. REFERÊNCIAS

- AGUIAR, J. et al. Germinação de sementes e produção de mudas de *Caesalpinia echinata* Lam. (pau-brasil): efeito de sombreamento. **Árvore**, v. 29, n. 6, p. 871-875, 2005.
- AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS. **ASTM E 1758-01**. Standard Test Method for Determination of Carbohydrates in Biomass by High Performance Liquid Chromatography. USA. 2001.
- BARONI, A. M. **Caracterização do sistema fotossintético em folhas de plantas jovens de *Caesalpinia echinata* Lam. (pau-brasil)**. 2005. 67 f. Dissertação de Mestrado, Pós-Graduação em Biodiversidade Vegetal e Meio Ambiente, Instituto de Botânica, São Paulo. 2005.
- BENINCASA, M. M. P. **Análise de crescimento de plantas**. 2 ed. Jaboticabal: FUNEP, 2003.
- BRAGATTO, J. **Avaliação da composição química da parede celular de plantas de tabaco (*Nicotiana tabacum*) que superexpressam o gene *ugdh* de soja, que codifica a enzima UDP-glicose desidrogenase (EC 1.1.1.22)**. 2007. 73 f. Dissertação de Mestrado, Escola Superior de Agricultura Luiz e Queiroz, Piracicaba. 2007.
- BUCHI, R; BACHMAN, M; KELLER, F. Carbohydrate metabolism in source leaves of sweet basil (*Ocimum basilicum* L.) a starch-storing and stachiose-translocation labiate. **Journal of Plant Physiology**, v. 153, p. 308-315, 1998.
- BUDOWSKI, A. Distribution of tropical rain forest species in the light of. successional progress. **Turrialba**, v. 15, p. 40-42, 1965.

CAMPOSTRINI, E.; MAESTRI, M. Photosynthetic potential of five genotypes of *Coffea canephora* Pierre. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v. 10, n. 1, p. 13 - 18, 1998.

CARVALHO, P. E. R. **Espécies florestais brasileiras** - recomendações silviculturais, potencialidades e uso da madeira. Brasília: EMBRAPA-CNPQ/SPI, 1994.

CHRISTEN, D. et al. Characterization and early detection of grapevine (*Vitis vinifera*) stress responses to escape disease by *in situ* chlorophyll fluorescence and comparison with drought stress. **Environmental and Experimental Botany**, n. 60, p. 504–514, 2007.

COSTA, L.C.B. et al. Aspectos da anatomia foliar de *Ocimum selloi* Benth. (Lamiaceae) em diferentes condições de qualidade de luz. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 5, n.3, p. 587-596, 2007.

DUZ, S. R. et al. Crescimento inicial de três espécies de arbóreas da floresta atlântica em resposta a variação na quantidade de luz. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 27, n. 3, p. 587-596, 2004.

FARRAR, J.; POLLOCK, C.; GALLAGHER, J. Sucrose and the integration of metabolism in vascular plants. **Plant Science**, v. 154, p. 1-11, 2000.

GERRITS, P. O. The application of glycol metacrylate histotechnology: some fundamental principles. **Leica Gmbh**, 1964.

GONÇALVES, J. F. C. et al. Growth, photosynthesis and stress indicators in young rosewood plants (*Aniba rosaeodora* Ducke) under different light intensities. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, v. 17, n. 3, p. 325-334, 2005.

GOTTLIEB, O. R.; KAPLAN, M. A. C.; BORIN, M. R. M. B. **Biodiversidade**: um enfoque químico biológico. Rio de Janeiro: Ed. UFRJ, 1996.

HELDT, H-W. **Plant Biochemistry**. London : Elsevier Academic Press, 2005.

HENDRY, G. A. F.; PRICE, A. H. Stress indicators: chlorophylls and carotenoids. In: HENDRY, G. A. F.; GRIME, J. P. (Eds.) **Methods in comparative plant ecology**. London: Chapman & Hall, 1993. p. 148-152.

HOUTER, N. C.; PONS, T. L. Gap size on photoinhibition in understorey saplings in tropical rainforest. **Plant Ecology**, v. 179, p. 43-51, 2005.

HUANTE, P.; RINCÓN, E.; Responses to light changes in tropical deciduous woody seedlings with contrasting growth rates. **Oecologia**, v. 113, p. 53-56, 1998.

HUNT, R. **Plant growth curves**: the functional approach to plant growth analysis. London: Edward Arnold Publishers, 1982.

JOHANSEN, D.A. **Plant Microtechnique**. New York: McGraw-Hill Co., 1940.

KITAJIMA, K. Ecophysiology of tropical tree seedlings. In. MULKEY, S.S.; CHAZDON, R.L.; SMITH, A.P (Eds.). **Tropical forest plant ecophysiology**. New York: Chapman & Hall, 1996. p. 559-595.

KITAJIMA, K.; HOGAN, K. P. Increases of chlorophyll *a/b* ratios during acclimation of tropical woody seedlings to nitrogen limitation and high light. **Plant, Cell and Environment**, v. 26, p. 857-865, 2003.

KOERSELMAN, W.; MEULEMAN A. F. M. The vegetation N:P ratio: a new tool to detect the nature of nutrient limitation. **Journal of Applied Ecology**, v. 33, p. 1441-1450, 1996.

LAMBERS, H.; POORTER, H. Inherent variation in growth rate between higher plants: a search for physiological causes and ecology consequences. **Advances in Ecology Research**, v. 23, p. 187-261, 1992.

LAMBERS, H.; CHAPIN III, F. S.; PONS, T. L. **Plant Physiological Ecology**. New York: Spring-Verlag. 1997.

LARCHER, W. **Ecofisiologia Vegetal**. São Carlos: Rima. 2000.

LICHTENTHALER, H. K. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. In: PACKER, L.; DOUCE, R. (Eds.). **Methods in Enzymology**. London: Academic Press, v. 148, 1987. p. 350-381.

LIMA, H. C. Aspectos botânicos do pau-brasil. In: CUNHA, M.W.; LIMA, H.C. (Eds.). **Viagem à terra do pau-brasil**. Rio de Janeiro: Agência Brasileira de Cultura, 1992. p. 23-38.

LIMA J. D. et al. Efeitos da luminosidade no crescimento de *Caesalpinia ferrea* Mart. ex Tul. (Leguminosae, Caesalpinoideae). **Acta Amazônica**, v. 38, n. 1, p. 5-10, 2008.

LIMA JR., E. C. et al. Aspectos fisiológicos de plantas jovens de *Cupania vernalis* Camb. submetidas a diferentes níveis de sombreamento. **Revista Árvore**, v. 30, n. 1, p. 33-41, 2006.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras**. 4 ed, v. 1. Nova Odessa: Plantarum, 2002.

LÜTTGE, U. **Physiological Ecology of Tropical Plants**. Berlim: Spring-Verlag, 1997.

LÜTTGE, U.; SCARANO, F. R. Synecological comparisons sustained by ecophysiological fingerprinting of intrinsic photosynthetic capacity of plants as assessed

by measurements of light response curves. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 30, n. 3, p. 355-364, 2007.

MACHADO, E. C. et al. Respostas da fotossíntese de três espécies de citros a fatores ambientais. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 40, n. 12, p. 1161-1170, 2005.

MARENCO, R. A.; LOPES, N.F. **Fisiologia Vegetal**, Viçosa: UFV, 2009.

MARTINAZZO, E. G. et al. Efeito do sombreamento sobre o crescimento inicial e teor de clorofila foliar de *Eugenia uniflora* Linn. (Pitanga) – família Myrtaceae. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 5, sup. 2, p. 162-164, 2007.

MAXWELL, K.; JOHNSON, G. N. Chlorophyll fluorescence - a practical guide. **Journal of Experimental Botany**, v. 51, n. 345, p. 659-668, 2000.

MORAIS, R. R. et al. Chloroplastid pigment contents and chlorophyll a fluorescence in Amazon tropical three species. **Revista Árvore**, v. 31, n. 5, p. 959-966, 2007.

MUSIL, C. F.; CHIMPHANGO, S. B. M.; DAKORA, F. D. Effects of elevated ultraviolet-B radiation on native and cultivated plants of southern Africa. **Annals of Botany**, v. 90, p. 127-137, 2002.

O'BRIEN, T. P., FEDER, N.; MCCULLY, M. E. Polychromatic staining of plant cell walls by toluidine blue O. **Protoplasma**, v. 59, p. 368-373, 1964.

OLIVEIRA, E.C.P. et al. Estrutura foliar de curauá em diferentes intensidades de radiação fotossinteticamente ativa. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.43, n. 2, p. 163-169, 2008.

OSUNKOYA, O. O. et al. Influence of seed size and seedling ecological attributes on shade-tolerance in northern Queensland. **Journal of Ecology**, v. 82, p. 149-163. 1994.

PIERCE, R. The big issue. **The Strad**, v. 8, p. 840-843, 2002.

PINTO, J.E.B.P. et al. Aspectos morfofisiológicos e conteúdo de óleo essencial de plantas de alfazema-do-Brasil em função de níveis de sombreamento. **Horticultura Brasileira**, v. 5, p. 210-214, 2007.

RIBEIRO, R. V. et al. Chlorophyll fluorescence of tropical tree species in a semi-deciduous forest gap. **Revista Árvore**, v. 28, n. 1, p. 21-27, 2004.

ROCHA, Y. T.; SIMABUKURO, E. A. Estratégias de conservação *in situ* e *ex situ* do pau-brasil. In: FIGUEIREDO-RIBEIRO, R. C. L.; BARBEDO, C. J.; ALVES, E. S.; DOMINGOS, M.; BRAGA, M. R. (Eds.). **Pau-Brasil da semente à madeira**. São Paulo: Instituto de Botânica de São Paulo, 2008. p. 102-113.

ROCHA, Y. T. **Ibirapitanga: história, distribuição geográfica e conservação do pau-brasil (*Caesalpinia echinata* Lam., Leguminosae) do descobrimento à atualidade**. 2004. Tese de Doutorado, Universidade de São Paulo, São Paulo. 2004.

SMEEKENS, S. Sugar-induced signal transduction in plants. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, v. 51, p. 49-81, 2000.

SOARES, C.M.C. **Pau-brasil: a árvore nacional**. Recife: Universidade Federal Rural de Pernambuco/Estação Ecológica. 1985.

SOUZA, A.; MORAES, M.G.; FIGUEIREDO-RIBEIRO, R.C.L. Gramíneas do cerrado: carboidratos não-estruturais e aspectos ecofisiológicos. **Acta Botanica Brasilica**, v.19, n. 1, p. 81-90, 2005.

SOUZA, R. P.; VÁLIO, I. F. M. Seedling growth of fifteen Brazilian tropical tree species differing in successional status. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 26, n. 1, p. 35-47, 2003.

SULLIVAN, J. H. et al. Changes in leaf expansion and epidermal screening effectiveness in *Liquidambar styraciflua* and *Pinus taeda* in response to UV-B radiation. **Physiologia Plantarum**, v. 98, p. 349-357, 1996.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 4. ed. Porto Alegre: Artmed, 2008.

TURNER, N. C. Further progress in crop water relations. In: SPARKS, D. L. (Ed.). **Advances in agronomy**. New York: Academic Press, 1997. p. 293-337.

TURNER, N. C.; JONES, M. M. Turgor maintenance by osmotic adjustment: a review and evaluation. In: TURNER, N. C.; KRAMER, J. P. (Eds.). **Adaptation on plants to water and high temperature stress**. New York: Wiley Interscience, 1980. p. 87-103.

VASCONCELLOS, A. G.; GOMES, D. M.; ESQUIBEL, M. A. Anatomical plasticity of *Physalis angulata* L. (Solanaceae) monoclonal plants in relation to light intensity. **Leandra**, v.13, p. 17-27, 1998.

WALTER, A. Plant Growth Dynamics: Analysis of Basic and Temporal Growth Patterns on the Background of Photosynthetic Energy Gain and Interactions with the Environment. **Plant Cell Monographs**, v. 10, p. 63-88, 2008.

WALTER, H. **Vegetations on Earth and Ecological Systems of the Geobiosphere**. 2 ed. Berlin: Springer-Verlag, 1979.

Z Aidan, L. B. P. et al. Crescimento e propagação de plantas de pau-brasil. In: FIGUEIREDO-RIBEIRO, R. C. L.; BARBEDO, C. J.; ALVES, E. S.; DOMINGOS, M.;

BRAGA, M. R. (Eds.). **Pau-Brasil da semente à madeira**. São Paulo: Instituto de Botânica de São Paulo, 2008. p. 58-66.

ZAMITH, L. R.; SCARANO, F. R. Produção de mudas de espécies das restingas do município do Rio de Janeiro, RJ, Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, v. 18, n. 1, p. 161-176, 2004.

4. RESULTADOS

Os resultados obtidos no presente trabalho possibilitaram a elaboração de dois artigos científicos. Para cada artigo, a formatação segue as normas de publicação exigidas pelos periódicos. O Artigo I foi publicado no periódico *Brazilian Journal of Plant Physiology*. O Artigo II será submetido ao periódico *Trees*.

Luz como um indicador da sucessão ecológica do pau-brasil
(*Caesalpinia echinata* Lam.)

Light as an indicator of ecological succession in brazilwood
(*Caesalpinia echinata* Lam.)

**Liana Hilda Golin Mengarda¹, Rogério Luís Faria de Souza¹, Eliemar Campostrini²,
Fabrício de Oliveira Reis³, Wagner Aparecido Vendrame⁴, Geraldo Rogério Faustini
Cuzzuol^{3*}**

¹*Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal (PPGBV) da Universidade Federal do Espírito Santo (UFES). Av. Fernando Ferrari 514, Campus Universitário Alaor Queiroz de Araújo, CEP 29075-910 Vitória ES. E-mail: liana_ya@yahoo.com.br*

²*Professor do Setor de Fisiologia Vegetal da Universidade Estadual Norte Fluminense (UENF), Av. Alberto Lamego, CEP 28015620, Campos dos Goytacazes, RJ. E-mail: campost@uenf.br*

³*Professor do Departamento de Ciências Biológicas/CCHN/UFES. Av. Fernando Ferrari 514, Campus Universitário Alaor Queiroz de Araújo, CEP 29075-910, Vitória ES. E-mail: gcuzzuol@gmail.com.*

⁴*Associate Professor, Tropical Research and Education Center, IFAS – University of Florida, 18905 SW 280th St, Homestead, FL, 33031, USA. E-mail: vendrame@ufl.edu*

Braz. J Plant Physiol. 21 (1): 55-64, 2009. Recebido em 16 abril 2009. Revisado em 09 julho 2009. Aceito em 14 julho 2009 (Ver apêndice).

Abstract - The ecophysiological behavior of brazilwood (*Caesalpinia echinata* Lam.) plants was evaluated as affected by light quantity and quality. Nine-month-old plants were cultivated under 0%, 50%, and 80% artificial shading, and natural shading imposed by a closed canopy for a period of 392 days. At the end of that period growth parameters were measured, including relative growth rate (*RGR*), net assimilation rate (*NAR*), leaf area ratio (*LAR*), specific leaf mass (*SLM*) and root:shoot ratio (*R:S*). Higher leaf area, dry mass and *RGR* were obtained under 50% artificial shade. Under full sunlight (0% shade), growth was satisfactory showing higher *R:S* and *SLM*. Growth was inhibited under 80% artificial and natural shading indicating that *C. echinata* is not pioneer-succession or climax specie. Simulating a gap, plants cultivated under artificial shade (50%) were transferred to full sunlight for an interval of 192 h, during which net photosynthesis (*A*), transpiration (*E*), stomatic conductance (*gs*), deficit of pressure vapor (*VPD_{leaf-to-air}*) and the efficiency quantum potential of photosystem II (*F_v/F_m*) were analyzed. Plants transferred to full sunlight presented severe burning and abscission of the leaflets, as well as inhibition of *A* and of the photochemical efficiency of PSII (*F_v/F_m*). This observation associated with the reduced growth under full sunlight and better performance under moderate shade suggests characteristics of intermediate species.

Key words: chlorophyll fluorescence, gas exchange, growth, light stress, shade, tropical tree.

Resumo - Luz como um indicador da sucessão ecológica do pau-brasil (*Caesalpinia echinata* Lam.). Foi avaliado o comportamento ecofisiológico de plantas de pau-brasil em relação ao gradiente de luminosidade. Plantas com um ano de idade foram cultivadas em 0%, 50%, 80% de sombreamento e em sombreamento natural durante 392 dias. Ao final desse período foram realizadas medidas de crescimentos e calculada a taxa de crescimento relativo (*TCR*), taxa assimilatória líquida (*TAL*), razão de área foliar (*RAF*), massa foliar específica (*MFE*) e razão raiz

e parte aérea ($R:PA$). Maiores valores de área foliar, massa seca e TCR foram obtidos em 50% de sombreamento. Em pleno sol, o crescimento foi satisfatório mostrando maior $R:PA$ e MFE . O crescimento foi inibido em 80% de sombreamento artificial e natural indicando que *C. echinata* não seja uma espécie clímax e sim intermediária inicial. Simulando uma clareira, plantas cultivadas em sombreamento artificial (50%) foram transferidas para pleno sol e num intervalo de 192 horas foram determinadas A , E , gs , $DPV_{folha-ar}$ e a eficiência quântica potencial da fotossíntese (Fv/Fm). As plantas transferidas para pleno sol apresentaram profundas injúrias como queimadura e abscisão dos foliólulos assim como inibição da fotossíntese líquida (A) e da eficiência fotoquímica (Fv/Fm). Esta observação associada com a redução do crescimento sob pleno sol e a melhor performance sob sombreamento moderado sugerem características de espécie intermediária.

Palavras-chave: fluorescência da clorofila, trocas gasosas, crescimento, sombreamento, estresse por luminosidade, arbórea tropical.

INTRODUÇÃO

O plantio de espécies silvestres tropicais está em ascensão e essa atividade depende de dados sobre o comportamento das espécies em relação ao gradiente luminoso. Tais informações são de grande valor na definição do posicionamento da sucessão e é imprescindível na regeneração artificial e manejo de florestas (Kitajima, 1996; Koerselman e Meuleman, 1996; Duz et al., 2004). Estudos dessa natureza permitem avaliar a plasticidade fisiológica da planta frente aos tensores ambientais (Zamith e Scarano, 2004; Lima et al., 2008) gerando informações de grande importância no recrutamento de plantas resistentes. Com isso, fica assegurada a sobrevivência e o

bom desenvolvimento das mudas em condições de campo onde os fatores ambientais são adversos.

O conhecimento das respostas das plantas às flutuações dos fatores ambientais possibilita definir a melhor estratégia de recuperação da cobertura vegetal tendo como base a capacidade da planta expressar os mecanismos fisiológicos com a máxima eficiência (Musil et al. 2002; Machado et al., 2005). Portanto, estudos ecofisiológicos podem gerar importantes informações para a conservação e recuperação florestal bem como a implantação de bancos de germoplasma *in situ* e *ex situ* (Rocha e Simabukuro, 2008) de espécies ameaçadas como o pau-brasil (*Caesalpinia echinata*).

O pau-brasil (*Caesalpinia echinata* Lam.) é uma arbórea nativa da Mata Atlântica brasileira, com importante valor histórico e econômico que, no entanto, corre sério risco de erosão genética provocado pelo intenso extrativismo, aliado a falta de informações sobre suas características fisiológicas. A densidade, a flexibilidade e a acústica de seu lenho fizeram do pau-brasil a matéria prima ideal na confecção de arcos para instrumentos de corda musical de reconhecido valor internacional (Franco e Yojo, 2008). No entanto, mesmo com sua importância comercial, valor histórico e cultural, aliado à ameaçada de extinção da flora brasileira, pouco se sabe sobre o comportamento ecofisiológico dessa arbórea, símbolo do Brasil.

As informações quanto às preferências ecológicas de *C. echinata* são bastante contraditórias. Sua classificação vai desde semi-heliófila, heliófila até umbrófila (Lima, 1992; Lorenzi, 2002). Há indicações de que a espécie possa ser um exemplo de arbórea que necessite de sombreamento moderado na fase juvenil e seu desenvolvimento é completado quando ocorre a formação de clareiras (Carvalho, 1994).

Há um consenso de que a luminosidade seja um dos fatores ambientais mais importantes no estabelecimento da vegetação (Souza e Válio 2003a; Duz et al., 2004; Gonçalves et al., 2005b).

Na floresta, os raios solares incidentes são absorvidos pelo dossel e apenas menos de 3% da luminosidade alcança o extrato inferior da floresta (Clark et al., 1996). Essa condição limita o crescimento de muitas plantas devido à baixa radiação com ondas de maior comprimento (730 nm) (Souza e Válio, 2003a). Além disso, o movimento das copas pelos ventos, a abscisão de folhas na estação seca e a abertura de clareiras altera a incidência da radiação e a qualidade de luz no interior da floresta provocando variações na atividade microbiana e na umidade do solo interferindo, e no processo de mineralização (Kitajima, 1996; Minotta e Pinzauti, 1996).

Essas alterações no regime de luz modificam a composição florística e a morfologia da população do banco de plântulas. Influencia, ainda, o padrão de alocação e partição de biomassa entre a raiz e a parte aérea concomitantemente com a taxa de assimilação líquida de carbono, taxa de crescimento relativo e a razão de área foliar (Lambers e Poorter, 1992; Osunkoya et al., 1994; Souza e Válio, 2003a,b). Essas respostas do crescimento à luminosidade podem indicar a habilidade de adaptação em maximizar o uso eficiente de nutrientes e da água em ambientes com variação da radiação luminosa (Gonçalves et al., 2005b).

A luminosidade tem grande efeito nas trocas gasosas e na fluorescência da clorofila. A fluorescência da clorofila *a* do FSII, que revela a eficiência da captura, absorção e transporte de elétrons, permite uma análise segura sobre a eficiência quântica potencial da fotossíntese das plantas que se desenvolvem em diferentes condições de luminosidade (Gonçalves e Santos Jr, 2005). Análises do conteúdo de pigmentos e a fluorescência da clorofila *a* são usados como indicadores de estresse por excesso de luminosidade (Hendry e Price, 1993). A elevada radiação causa a fotooxidação da clorofila. Assim, em geral as arbóreas tendem a apresentar melhor eficiência fotoquímica (F_v/F_m) e maiores concentrações de clorofila em sombreamento moderado, mas podem apresentar mecanismos de fotoproteção quando cultivadas em pleno sol (Gonçalves et al., 2005b).

Dada a falta de informações sobre a posição do pau-brasil na sucessão ecológica e considerando a sua importância econômica além de estar em risco de extinção, o presente trabalho foi realizado com o objetivo de avaliar o efeito da luminosidade no crescimento, trocas gasosas e fluorescência da clorofila *a*, na fase juvenil do pau-brasil (*C. echinata*) visando subsidiar informações para programas de reflorestamento.

MATERIAL E MÉTODOS

Área de estudo e instalação do experimento: Sementes de pau-brasil (*Caesalpinia echinata* Lam.) foram fornecidas pela FUNBRASIL (Fundação Nacional do Pau-brasil, Pernambuco, Brasil). As sementes foram dispostas em placas de Petri, e as condições de germinação foram a 25°C em luz contínua (Mello e Barbedo, 2007). Aos 15 dias após a germinação, as pântulas foram transferidas para vasos plásticos (5 L) contendo como substrato terra preta sem adubo e areia (1:1). As plantas foram mantidas em temperatura e fotoperíodo ambiente na casa de vegetação no Departamento de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Espírito Santo, em Vitória (20°18'52''S e 40°19'06''W) onde foi realizado o experimento. De acordo com a classificação climática, o clima da região é tropical úmido, com média anual de precipitação de 900 mm, e temperatura média em torno de 24±2° C e fotoperíodo de 13 h no verão, e 11 h no inverno.

Após três meses de aclimatização, as plantas com nove meses de idade foram divididas em quatro lotes com 14 plantas. Os 3 primeiros lotes foram submetidos a diferentes condições de luminosidade: 0, 50 e 80 % de sombreamento artificial em caixas de sombrite. O quarto lote foi submetido em sombreamento natural sob um bosque próximo à casa de vegetação. Para evitar o aquecimento e perda excessiva de água pela evaporação do solo, os vasos em pleno sol (0% de sombreamento) foram envolvidos em papel alumínio e a superfície do solo recebeu uma camada

de vermiculita. A radiação fotossinteticamente ativa nas diferentes condições de luminosidade e a razão Lv:Lve foram determinadas com espectroradiômetro da Sky Instruments Ltda num dia ensolarado ao meio dia. A Lv:Lve no sombreamento natural e em pleno sol foi calculada pela razão dos valores do espectro de irradiância no comprimento de 656-664 nm e 726-734 nm com o sensor colocado acima das plantas. Durante o experimento, as plantas foram regadas de acordo com a necessidade diária.

Análises de crescimento: No tempo inicial e aos 392 dias após o estabelecimento do experimento, plantas de pau-brasil foram aleatoriamente selecionadas para a realização de medidas de crescimento como altura, número de folhas, área foliar, massa fresca, e massa seca após condicionamento em estufa 60° C até obtenção da massa seca constante. O pau-brasil é uma espécie que apresenta folhas bipenadas, com folíolos primários e foliólulos secundários. A Área foliar total foi mensurada a partir de scanner de geração de imagens (LI-3100C Area Meter, Nebraska, USA). Foram calculadas as taxa de crescimento absoluto ($TCA = M_2 - M_1 / t_2 - t_1$), taxa de crescimento relativo ($TCR = \ln M_2 - \ln M_1 / (t_2 - t_1)$), razão de área foliar ($RAF = AF / MST$), razão raiz:parte aérea (R:PA), massa foliar específica ($MFE = MF / AF$) e razão de massa foliar ($RMF = MF / MST$), razão de massa caulinar ($RMC = MC / MST$) e razão de massa radicular ($RMR = MR / MST$), foram calculadas conforme descrito por Hunt (1982), onde, M_1 =massa inicial; M_2 =massa final; t_1 =tempo inicial; t_2 =tempo final; \ln =Log natural; MF=massa foliar, MC=massa caulinar, MR=massa radicular, AF=área foliar; MST=massa seca total; RMF= razão de massa foliar; RMC=razão de massa caulinar; RMR=razão de massa radicular.

Análise das trocas gasosas: Plantas cultivadas em 50% de sombreamento foram transferidas para pleno sol. No momento da transferência (0 hora), às 3, 14, 48 e 192 horas após a transferência, foram realizadas análises das trocas gasosas, medidas nos foliólulos medianos da primeira folha apical completamente expandida de quatro plantas por tratamento.

As análises de trocas gasosas foram realizadas em sistema fechado com analisador de gases infravermelho portátil (IRGA) modelo LI-6200 (LI-COR, Inc.) no horário entre 9:00 e 11:00 h, utilizando a concentração de CO₂ atmosférica, fonte de luz artificial em aproximadamente 1.500 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$, e temperatura ambiente. Foi obtida a curva de luz com densidade de fluxo de fótons (PPFD) entre 0 e 3.000 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$. Avaliou-se a assimilação fotossintética de carbono (A), condutância estomática (g_s), transpiração (E) e déficit de pressão de vapor ($DPV_{\text{folha-ar}}$). Foram calculadas a eficiência do uso da água (EUA) e a eficiência intrínseca do uso da água (EIUA) foram calculadas pelas equações $\text{EUA} = [\text{mmol CO}_2.\text{mol}^{-1}(\text{H}_2\text{O})]$ deduzida pela razão de fotossíntese (A) / transpiração (E) e $\text{EIUA} = [\mu\text{mol CO}_2.\text{mol}^{-1} \text{H}_2\text{O}]$ dada pela razão de fotossíntese / condutância estomática (g_s).

Análise da fluorescência: A medida da fluorescência da clorofila a foi realizada nas folhas e mesmo período da análise das trocas gasosas. Utilizou-se um analisador de eficiência fotossintética portátil (PEA, Hanstech, King's Lynn, UK). Após 30 minutos de adaptação ao escuro, as folhas foram expostas a um pulso saturante de luz de 1680 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ por 5 seg, no horário das 8:00 h da manhã. Foi verificada a eficiência quântica máxima potencial do FSII (F_v/F_m).

Delineamento experimental e análise estatística: o delineamento foi inteiramente casualizado. Para as análises de crescimento foram utilizadas 7 repetições, com duas plantas por parcela para cada tratamento (7 plantas no tempo inicial e 7 plantas aos 392 dias), enquanto para as análises de trocas gasosas e da fluorescência, quatro repetições e 5 plantas por parcela para cada tratamento. Foi realizada análise de variância (ANAVA) e as medias separadas pelo teste de Tukey a 5% de significância, software ASSISTAT 7.4 (Silva e Azevedo, 2007).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Análises de crescimento: Os diferentes regimes de luminosidade não influenciaram no comprimento do caule e número de folhas, folíolos e foliólulos, mas sim na área foliar e área foliar unitária cujos valores foram maiores em 50% de sombreamento (Tabela 1). Esses resultados refletiram na maior produção de MSF, MSPA e MST seguido de valores intermediários em pleno sol, e menor produção em 80% de sombreamento artificial e em sombreamento natural. A massa de raiz e MSC foram estimuladas em 50% de sombreamento (moderado) e em pleno sol (0% de sombreamento). Estas medidas sofreram redução em sombreamento mais intenso (80%) e em sombreamento natural (interior da mata). Sendo assim, a produção de massa seca total foi estimulada em sombreamento moderado em relação à condição de pleno sol e de sombreamento intenso (Tabela 1). Resultados observados quanto ao tamanho e número de folhas e folíolos mostram uma alta plasticidade na adaptação do pau-brasil as diferentes condições de luminosidade.

A menor área foliar e AFU em 80% de sombreamento e em sombreamento natural pode ter sido influenciada pela baixa luminosidade como, também, pela menor razão Lv:Lve, 24% menor no sombreamento natural que em pleno sol. Área foliar reduzida é uma das respostas evocadas pelo fitocromo sob baixa relação de Lv:Lve (Smith e Whitelam 1990, Souza e Válio 2003a).

A alongação caulinar em condições de sombreamento natural, conforme esperado, não ocorreu possivelmente em função da baixa relação fonte:dreno sob restrição de fluxo de fótons em sombreamento natural. Nessa condição, a reduzida taxa de fotossíntese pode limitar a capacidade de alongamento do caule controlado pela baixa razão Lv:Lve (Bartlett e Remphrey, 1998).

Os relatos sobre as preferências ecológicas do pau-brasil em relação à luminosidade são controversos (Budowski, 1965; Carvalho, 1994; Lorenzi, 2002). Por exemplo, árvores com 8

anos de idade cultivadas no distrito de Domingos Martins-ES (20°21'49" latitude (S) e 40°39'33" longitude), num terreno em declive recebendo luz solar direta pela parte da manhã, apresentaram 6,60 m em altura enquanto outro lote com a mesma idade e cultivado no interior de um bosque na mesma localidade não ultrapassaram a 1,50 m (Mengarda, observação pessoal). Esse crescimento limitado no interior da mata aliado ao baixo desempenho do pau-brasil cultivado sob 80% de sombreamento artificial e em sombreamento natural (Tabela 1) confirma que o pau-brasil não pode ser considerado uma espécie clímax. Sendo assim, o pau-brasil possui características de espécie intermediária e apresenta melhor crescimento em sombreamento moderado (50%). Chazdon (1992) afirma que plantas nessa categoria de sucessão podem expressar o máximo crescimento potencial em irradiância moderada.

Além da luminosidade, o relevo é outro fator ambiental de grande importância no crescimento e no metabolismo vegetal. Plantas de pau-brasil podem responder diferentemente à amplitude de luz de acordo com o relevo e o clima em que se desenvolve. Enquanto o clima de Vitória-ES localizada no nível do mar é do tipo tropical seco, Domingos Martins-ES, situada há 400 m do nível do mar, apresenta clima do tipo tropical de altitude.

Plantas de pau-brasil em pleno sol mostraram mesmo padrão observado em 50% de sombreamento artificial, como maiores valores de MSR o que refletiu na maior razão R:PA nessas duas condições de maior intensidade luminosa (Tabela 2). Arbóreas de mata ombrófila tropical tendem a alocar mais biomassa para o sistema radicular com o aumento da intensidade luminosa em detrimento da parte aérea (Osunkoya et al., 1994; Souza e Válio, 2003a; Duz et al., 2004; Gonçalves et al., 2005). Essa estratégia adaptativa controla a perda de água pela transpiração foliar auxiliando, dessa forma, na manutenção dos processos metabólicos em elevada irradiância e temperatura. De fato, maior RMR e menor RMF foram verificados em plantas de pau-brasil em 0 e 50% de sombreamento (Tabela 2), confirmando esta afirmação.

Contudo, deve-se levar em conta que a alta irradiância está associada a temperaturas elevadas, e estes fatores juntos podem afetar o crescimento das espécies de espécies intermediárias, como observado por Rondon et al. (2006) em plantas de pau-brasil cultivadas e temperaturas elevadas. As análises foliares são tidas como fator chave para estudos ecofisiológicos, pois os efeitos de perturbações do ambiente refletem nas características morfológicas e fisiológicas das folhas (Lambers e Poorter, 1992). Plantas que crescem sob baixa incidência de luz geralmente mostram maior AFE, folhas tenras e finas (Evans e Poorter, 2001; Souza e Válio, 2003 a,b), enquanto aquelas que crescem sob alta irradiância apresentam menor área foliar e maior MFE, com folhas mais espessas e lignificadas. Dessa forma, as medidas mais sensíveis às variações ambientais são AFE e a MFE.

Plantas de pau-brasil cultivadas em pleno sol apresentaram maior MFE e, conseqüentemente, menor AFE (Tabela 2), sugerindo que essa espécie se ajusta bem à alta radiação solar desenvolvendo espessamento do mesofilo foliar evidenciado pelo maior valor de MFE. Essa adaptação reduz os danos da exposição da área foliar à elevada radiação solar reduzindo a perda de água e garantindo o bom desempenho fotossintético (Nakazono et al., 2001). Elevados valores da AFE sob baixa irradiância é um indicativo de melhor aproveitamento da baixa luminosidade que chega até a planta (Lima et al., 2008) confirmando que o pau brasil possui características fisiológicas de espécie intermediária inicial e não de clímax.

Além de apresentar baixa MFE e menor R:PA em baixa irradiância, as plantas tendem a apresentar maior razão de área foliar (RAF) nessas condições (Poorter, 1999). Plantas de pau-brasil cultivadas em 80% de sombreamento apresentaram maior RAF seguido de valor intermediário em sombreamento natural, e menor valor em pleno sol (Tabela 2). Outras arbóreas tropicais cultivadas em sombreamento também mostraram maior RAF (Souza et al., 2003a; Lima et al., 2008).

Embora a RAF possa estar diretamente relacionada à TCR (Poorter e Nagel, 2000; Souza e Válio, 2003a) a maior RAF em plantas de pau-brasil em 80% de sombreamento artificial e sombreamento natural não foi associada à TCR (Tabela 2). Além de estar diretamente relacionado à TCR, existe uma correlação positiva entre MFE e a taxa fotossintética (Poorter e Nagel, 2000).

Plantas de pau-brasil em 80% de sombreamento e sombreamento natural apresentaram menor valor de MSF relacionada, portanto, a mais baixa TAL. A maior TCR e TAL do pau-brasil em sombreamento moderado (50%) ou em pleno sol sugerem que a espécie tenha características sucessionais de intermediária ou inicial. No entanto, menor área foliar e menor produção de MST em pleno sol em relação ao tratamento de 50% de sombreamento contrastam com esta hipótese. Para confirmar esta ideia, as análises da área foliar, MSF e MST bem como as TCA, TCR e TAL (Tabela 2) mostram que o sombreamento moderado configura-se na condição de luminosidade ideal para o crescimento inicial do pau-brasil.

Com base nos mais baixos valores de massa seca da parte aérea em sombreamento intenso (80% e sombra natural), o pau-brasil não pode ser classificado como pertencente ao estágio sucessional tardio ou clímax. Devido à capacidade de tolerar sombreamento moderado na fase juvenil, algumas espécies, como o pau-brasil, completam seu desenvolvimento com a abertura de clareiras (Whitmore, 1990). Baixa taxa de crescimento em 80% de sombreamento e sombreamento natural demonstram menor capacidade do pau-brasil de se desenvolver em sombreamento intenso, o que pode ser associado a menor eficiência fotossintética em condições de baixa intensidade luminosa.

Fotossíntese: No experimento que simulou a abertura de uma clareira, tanto as plantas que foram transferidas para pleno sol como aquelas que permaneceram em sombreamento constante apresentaram uma queda na assimilação do CO₂ até às 48 horas após o início do experimento.

Porém, os valores da A foram sempre superiores nas plantas em sombreamento. Essa redução da A nas primeiras 48 horas pode ser devido às variações ambientais como temperatura, irradiância e umidade relativa do ar (Oliveira et al., 2002; Costa e Marengo, 2007; Dias e Marengo, 2007). Em plantas, transferidas para pleno sol, a taxa de fotossíntese diminuiu progressivamente até 192 h, tempo em que as plantas cultivadas na sombra recuperaram a capacidade fotossintética (Figura 1A).

Embora a taxa de assimilação de carbono, geralmente, apresente um aumento linear em função da intensidade luminosa, a elevada irradiância pode limitar a assimilação fotossintética de CO_2 por mecanismos de dissipação de energia como a fotorrespiração e a fotoinibição (Dias e Marengo, 2007; Costa e Marengo, 2007). A fotoinibição da fotossíntese e a oxidação da clorofila em plantas de pau-brasil expostas à radiação solar podem ser evidenciadas pelas queimaduras e sintomas de clorose dos foliólulos já nas 72 horas de exposição à radiação solar direta (Figura 4).

A condutância estomática (g_s) seguiu padrão similar ao de A , porém, o dano da exposição ao sol foi mais imediato caindo rapidamente na terceira hora e alcançando os valores mais baixos às 192 horas (Figura 2A). No sombreamento, o comportamento da g_s seguiu o comportamento observado para A até as 48h. A taxa de transpiração (E) sofreu uma redução rápida em plantas em pleno sol já na terceira hora de exposição e aumentou concomitantemente com as plantas em sombreamento, porém, sem diferença significativa (Figura 2B). Posteriormente, as plantas de ambos os tratamentos apresentaram uma redução progressiva em A , até ao final do experimento. Houve aumento do $DPV_{folha-a}$ até às 24 horas seguido de uma tendência de decréscimo até às 192 horas, porém, com maiores valores para as plantas que foram transferidas à radiação solar direta (Figura 2C).

Essa redução da taxa fotossintética associada ao aumento da $DPV_{folha-a}$ e redução da condutância estomática pode ser devido ao aumento do tempo de exposição à luminosidade e temperatura

(Dias e Marengo, 2007). Em condições de elevado $DPV_{folha-ar}$ pode ocorrer fechamento dos estômatos, diminuição da concentração interna de carbono e, conseqüentemente, redução na fotossíntese. Em plantas de pau-brasil transferidas para a radiação solar direta foi observado aumento da $DPV_{folha-ar}$ e redução gradativa da A durante as 192 horas de exposição à radiação solar direta.

A rápida redução E nas três primeiras horas de exposição à luz em relação à taxa de fotossíntese líquida é um indicativo de mecanismo eficiente de adaptação visando o controle da redução da perda de água (Oliveira et al., 2002; Cavalcante e Conforto, 2006). Esse comportamento pode ser confirmado quando verificado que valores altos de E até as 48 horas refletiram na redução do uso eficiente da água (EUA) associada aos valores decrescentes da A . Isto pode ser confirmado pela redução da EUA associada à diminuição valores de A durante as primeiras 48 horas após a transferência, diferença que se intensificou a 192 h (Figura 3A). De fato, espécies tropicais como a arbórea *Aniba roseadora* da floresta Amazônica apresentam uma relativa queda na EUA quando sujeitas à elevada intensidade luminosa (Gonçalves et al. 2005). Resultado similar também ocorreu na $EIUA$ (Figura 3B) demonstrando que o pau-brasil tem limitação no uso da água em exposição à radiação solar direta devido ao fechamento parcial dos estômatos, conforme verificado nessa condição (Figura 2A).

A exposição de plantas jovens a luz solar direta pode intensificar os efeitos de fotoinibição, ocasionada principalmente pelo aumento da temperatura foliar e quedas drásticas no potencial hídrico da folha, que por sua vez, afeta diretamente a condutância e a transpiração (Valladares e Pearcy, 1997). A fotoinibição pode ser evidenciada a partir de medidas de fluorescência da clorofila a , expressa na forma de eficiência quântica máxima do FSII ou Fv/Fm (Butler, 1978; Björkman, 1987).

Plantas expostas a pleno sol, bem como ao sombreamento mostraram pouca variação na F_v/F_m até às 24 horas, com amplitude de 0,700 a 0,815 (Figura 1B) similar ao encontrado por Gleber et al. (2005) em plantas adultas de *C. echinata* em seu ambiente de ocorrência natural. A partir das 24 horas, nota-se uma queda acentuada na eficiência quântica do FSII nas plantas em pleno sol em até 50% do valor encontrado nas plantas mantidas em sombreamento às 192 horas do início do tratamento. Reduções na razão F_v/F_m têm sido relacionadas à indução fotoinibição, como relatado em árvores tropicais submetidas a aumento da irradiância (Dias e Marengo, 2007) e em plantas expostas a tensões ambientais que afetam a funcionalidade FSII (Long et al., 1994; Rohacek e Bartak, 1999). Na verdade, a exposição das folhas a intensa luminosidade pode danificar a proteína D_1 do FSII interferindo no transporte de elétrons ao longo da cadeia transportadora, e pode reduzir a efetividade da fase fotoquímica da fotossíntese (Gonçalves e Santos Jr., 2005).

O estágio de sucessão pode influenciar na fotossíntese e eficiência fotoquímica potencial das plantas quando expostas à luz direta ou em clareira. De fato, algumas arbóreas tropicais mostram redução na F_v/F_m em uma clareira de floresta semidescídua e no decorrer do dia (Brook et al., 2004). No entanto, as espécies tolerantes ao sol possuem melhor utilização da energia luminosa e capacidade de dissipar o excesso de energia em relação às secundárias tardias.

Essas afirmações permitem pressupor que, a partir das análises de trocas gasosas e da fluorescência da clorofila *a*, *C. echinata* é menos eficiente na utilização da energia sob incidência de luz direta. Isto pode resultar em danos estruturais e fisiológicos resultando na redução da A , g_s , E e aumento na $DPV_{folha-ar}$.

Tendo avaliado um curto período de exposição, foi possível identificar a fase de sinalização do estresse luminoso de A e g_s já nas primeiras horas que se estendeu em até as 192 horas de exposição à radiação solar direta. Baseado nos resultados com plantas jovens, o pau-brasil

apresenta características que evidenciam sua classificação como espécie intermediária, por ter apresentado melhor desenvolvimento em sombreamento moderado (50%). A espécie não pode ser classificada como pioneira e como clímax, pois demonstrou não ser tolerante ao pleno sol, bem como ao sombreamento intenso (80% sombreamento artificial e sombreamento natural). A classificação de plantas jovens de pau-brasil como espécie intermediária pode ser confirmada ainda, pela inibição da fotossíntese queimadura e abscisão dos foliólulos quando as plantas jovens foram transferidas do sombreamento para pleno sol (Figuras 1 A, B). Além disso, as espécies secundárias tardias compreendem as espécies normalmente encontradas em sombreamento (no subbosque das matas) enquanto as secundárias iniciais compreendem as espécies que estão ausentes em clareiras e nos bordas florestais (Souza e Válio, 2003a). Portanto, os resultados mostraram que as plantas jovens de pau-brasil poderiam ser consideradas espécie intermediárias, pois toleram a condição de sombreamento moderado, como observado naturalmente em pequenas clareiras, bordas sombreadas ou moderadamente sombreados das matas. Para confirmar estas observações, em sombreamento natural simulado pela disposição das plantas no interior da mata, aonde houve redução da densidade de fluxo de fótons e da razão V/V_e , indica que o pau-brasil responde tanto a qualidade quanto a quantidade de luz.

Em contraste, quando simulada a abertura de uma clareira as plantas são afetadas pelo excesso de luz (Tabela 1, 2). O crescimento das plantas sob sombreamento natural foi mais afetado do que sob intenso sombreamento artificial (80%), indicando elevada sensibilidade da espécie à qualidade e quantidade de luz. Quando a radiação solar incide sob a copa, a luz verde é filtrada reduzindo tanto densidade de fluxo de fótons quanto a razão V/V_e (Souza e Válio, 2001, 2003). Apenas as espécies secundárias podem tolerar estas condições. A intolerância do pau-brasil a esta condição, e os efeitos de inibição da fotossíntese (Figura 1A, B), associado ao fato do crescimento ter sido afetado (Tabela 1, 2), permite classificá-las com a espécie intermediária.

Esta sugestão é apoiada pelo seu habitat natural, a Floresta Estacional Semidescídua, e por apresentar crescimento lento, ocorrendo em solos da Mata Atlântica entre os estados do Rio Grande do Norte ao Rio de Janeiro (Gebler et al. 2005).

O número de folhas é uma das respostas que podem ser provocadas pelo fitocromo em condições nas quais a razão V/V_e é reduzida (Smith e Whitelam, 1990). As respostas de NF e comprimento do caule sob sombreamento natural mostram que o pau-brasil não apresenta resposta morfogenética típica de espécies secundárias tardias. Outra evidência é o mais elevado TCR e TAL em menor sombreamento (Tabela 2).

É possível que sob o aumento da incidência de luz, como acontece quando se abre uma clareira, o pau-brasil possa encontrar as condições satisfatórias para rustificação, garantindo condições para o crescimento ideais para recrutamento das mudas. Esta informação pode atender as necessidades dos trabalhos de manejo desta espécie, visando o reflorestamento com nativas tropicais. Análises de carboidratos solúveis e aminoácidos podem ajudar na compreensão dos mecanismos fisiológicos do pau-brasil sob o efeito do estresse em alta radiação luminosa. Essas informações permitirão também, uma classificação mais segura da espécie em relação à sua posição na sucessão ecológica, o que é muito importante para os programas de gestão e reflorestamento.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos à Fundação Biodiversitas, Fundação de Apoio à Pesquisa do Espírito Santo (FAPES), Fundo de Apoio Científico e Tecnológico da Prefeitura Municipal de Vitória (FACITEC) e da Fundação Biodiversitas para o apoio financeiro a este trabalho. O primeiro autor agradece a bolsa oferecida pela FACITEC.

REFERÊNCIAS

- Bartlett GA, Remphrey WR (1998) The effect of reduced quantities of photosynthetically active radiation on *Fraxinus pennsylvanica* growth and architecture. *Can. J. Bot.* 76:1359-1365.
- Björkman O (1987) Fluorescence in leaves and its relationship to photon yield of photosynthesis in photoinhibition. In: Kyle DJ, Osmond CB, Arntzen CJ (eds), *Photoinhibition*, pp.123. Elsevier Publishers, Amsterdam, The Netherlands.
- Butler WL (1978) Energy distribution in the photochemical apparatus of photosynthesis. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 29: 345-378.
- Carvalho PER (1994) Espécies florestais brasileiras: recomendações silviculturais, potencialidades e uso da madeira. Embrapa-CNPQ/SPI, Brasília, Brasil.
- Cavalcante JR, Conforto EC (2006) Fotossíntese e relações hídricas de duas cultivares jovens de seringueira. *Rev. Bras. Bot.* 29: 701-708.
- Chazdon RL (1992) Photosynthetic plasticity of two rain forest shrubs across natural gap transects. *Oecologia* 92: 586-595.
- Clark DB, Clark DA, Rich PM, Weis SE, Oberbauer SF (1996) Landscape-scale evaluation of understorey light and canopy structure: methods and application in a neotropical lowland rain forest. *Can. J. For. Res.* 26: 747-757.
- Costa GF, Marengo RA (2007) Fotossíntese, condutância estomática e potencial hídrico foliar em árvores jovens de andiroba (*Carapa guianensis*). *Acta Amazonica* 37: 229-234.
- Dias DP, Marengo RA (2007) Fotossíntese e fotoinibição em mogno e acariquara em função da luminosidade e temperatura foliar. *Pesq. Agropec. Bras.* 42: 305-311.

- Duz SR, Siminski A, Santos M, Paulilo MTS (2004) Crescimento inicial de três espécies de arbóreas da floresta atlântica em resposta a variação na quantidade de luz. *Rev. Bras. Bot.* 27: 587-596.
- Evans JRE, Poorter H (2001) Photosynthetic acclimation of plants to growth irradiance: the relative importance of specific leaf area and nitrogen partitioning in maximizing carbon gain. *Plant Cell Environ.* 24: 755-767.
- Franco N, Ioyo T (2008) Propriedades físicas, mecânicas e acústicas da madeira do pau-brasil. In: Figueiredo-Ribeiro RCL, Barbedo CJ, Alves ES, Domingos M, Braga MR (eds), *Pau-Brasil, da Semente à Madeira*, pp. 145-158. Instituto de Botânica, São Paulo, Brasil.
- Gebler A, Duarte HM, Franco AC, Lüttge U, Mattos EA, Nahm M, Rodrigues PJEP, Scarano FR, Rennenberg H (2005) Ecophysiology of selected tree species in different plant communities at the periphery of the Atlantic Forest of SE - Brazil III. Three legume trees in a semi-deciduous dry forest. *Trees* 19: 523-530.
- Gonçalves JFC, Santos Jr UM (2005a) Utilization of the chlorophyll *a* fluorescence technique as a tool for selecting tolerant species to environments of high irradiance. *Braz. J. Plant Physiol.* 17: 307-313.
- Gonçalves JFC, Barreto DCS, Santos Jr UM, Fernandes AV, Sampaio PTB, Buckeridge MS (2005b) Growth, photosynthesis and stress indicators in young rosewood plants (*Aniba rosaeodora* Ducke) under different light intensities. *Braz. J. Plant Physiol.* 17: 325-334.
- Hendry GAF, Price AH (1993) Stress indicators: chlorophylls and carotenoids. In: Hendry GAF, Grime JP (eds), *Methods in Comparative Plant Ecology*, pp. 148-152. Chapman & Hall, London, UK.
- Hunt R (1982) *Plant growth curves: the functional approach to plant growth analysis*. Edward Arnold Publishers, London, UK.

- Kitajima K (1996) Ecophysiology of tropical tree seedlings. In: Mulkey SS, Chazdon RL, Smith AP (eds), Tropical forest plant ecophysiology, pp 559-595. Chapman & Hall, New York, USA.
- Koerselman W, Meuleman AFM (1996) The vegetation N:P ratio: a new tool to detect the nature of nutrient limitation. *J. Applied Ecol.* 33:1441-1450.
- Lambers H, Poorter H (1992) Inherent variation in growth rate between higher plants: a search for physiological causes and ecology consequences. *Adv. Ecol. Res.* 23: 187-261.
- Lichtenthaler HK (1996) Vegetation stress: an introduction to the stress concept in plants. *J. Plant Physiol.* 148: 4-14.
- Lima HC (1992) Aspectos botânicos do pau-brasil. In: Cunha MW, Lima HC (eds), Viagem à terra do pau-brasil, pp 23-38. Agência Brasileira de Cultura, Rio de Janeiro, Brasil.
- Lorenzi H (2002) Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas do Brasil. 2th ed. Plantarum, São Paulo, Brasil.
- Lima JD, Silva BMS, Moraes WS, Dantas VAV, Almeida CC (2008) Efeitos da luminosidade no crescimento de *Caesalpinia ferrea* Mart. ex Tul. (Leguminosae, Caesalpinioideae). *Acta Amazônica* 38: 5-10.
- Machado EC, Schimidt PT, Medina CL, Ribeiro RV (2005) Respostas da fotossíntese de três espécies de citros a fatores ambientais. *Pesq. Agropec. Bras.* 40: 1161-1170.
- Mello JIO, Barbedo CJ (2007) Temperatura, luz e substrato para germinação de sementes de pau-brasil (*Caesalpinia echinata* Lam., Leguminosae. Caesalpinioideae). *Revista Árvore*, 31: 645-655.
- Minotta G, Pinzauti S (1996) Effects of light and soil fertility on growth, leaf chlorophyll content and nutrient use efficiency of beech (*Fagus sylvatica* L.) seedlings. *For. Ecol. Manag.* 86:61-67.
- Musil CF, Chimphango SBM, Dakora FD (2002) Effects of elevated ultraviolet-B radiation on native and cultivated plants of southern Africa. *Ann. Bot.* 90: 127-137.

- Nakazono EM, Costa MC, Futatsugi K, Paulino MTS (2001) Crescimento inicial de *Euterpe edulis* Mart. em diferentes regimes de luz. Rev. Bras. Bot. 24: 173-179.
- Osunkoya OO, Ash JE, Hopkins MS, Graham AW (1994) Influence of seed size and seedling ecological attributes on shade-tolerance in northern Queensland. J. Ecol. 82:149-163.
- Oliveira MAJ, Bovi ML, Machado EC, Gomes MMA, Habermann G, Rodrigues JD (2002) Fotossíntese, condutância estomática e transpiração em pupunheira sob deficiência hídrica. Sci. Agric. 59: 59-63.
- Poorter L (1999) Growth responses of 15 rain-forest tree species to a light gradient: the relative importance of morphological and physiological traits. Funct. Ecol. 13: 396-410.
- Poorter H, Nagel O (2000) The role of biomass allocation in the growth response of plants to different levels of light, CO₂, nutrients and water: a quantitative review. Aust. J. Plant Physiol. 27: 595-607.
- Rocha YT, Simabukuro EA (2008) Estratégias de conservação in situ e ex situ do pau-brasil. In: Figueiredo-Ribeiro RCL, Barbedo CJ, Alves ES, Domingos M, Braga MR (eds), Pau-Brasil, da Semente à Madeira, p. 102-113. Instituto de Botânica, São Paulo, Brasil.
- Rondon JN, Zaidan, LBP, Domingos M, Barbedo, CJ, Figueiredo-Ribeiro, RCL (2006) Vegetative responses to temperature and photoperiod in saplings of brazilwood (*Caesalpinia echinata* Lam., Leguminosae). Braz. J. Plant Physiol. 18(4): 467-474.
- Silva FAS, Azevedo CAV (2007) A new version of the Assistat-Statistical Assistance Software. In: World Congress on computers in agriculture 4. Orlando, USA, pp. 393-396.
- Smith H, Whitelam GC (1990) Phytochrome, a family of photoreceptors with multiple physiological roles. Plant Cell Environ. 13: 695-707.
- Souza RP, Válio IFM (2003a) Seedling growth of fifteen Brazilian tropical tree species differing in successional status. Rev. Bras. Bot. 26: 35-47.

Souza RP, Válio IFM (2003b) Leaf optical properties as affected by shade in saplings of six tropical tree species differing in successional status. *Braz. J. Plant Physiol.* 15: 49-54.

Valladares F, Percy RW (1997) Interactions between water stress, sun-shade acclimation, heat tolerance and photoinhibition in the sclerophyll *Heteromeles arbutifolia*. *Plant Cell Environ.* 20: 25-36.

Withmore TC (1990) An introduction to tropical rain Forest. Claredon Press, Oxford.

Zamith LR, Scarano FR (2004) Produção de mudas de espécies das restingas do município do Rio de Janeiro, RJ, Brasil. *Acta Bot. Bras.* 18:161-176.

TABELAS

Tabela 1. Parâmetros de crescimento em plantas de *C. echinata* após 392 dias sob diferentes regimes de luminosidade: número de folhas (NF); número de folíolos (NFI); número de foliólulos (NFII); área foliar total (AFT); área foliar unitária (AFU); massa seca da raiz (MSR); massa seca do caule (MSC); massa seca das folhas (MSF); massa seca da parte aérea (MSPA) e massa seca total (MST). Letras distintas indicam diferenças significativas em $P \leq 0,05$ pelo teste de Tukey e \pm representa o erro padrão ($n=7$).

Table 1. Growth parameters for C. echinata after 392 days under different light regimes: height; leaf numbers (LN); primary leaflets numbers (PLN); secondary leaflet number (SLN); total leaf area (TLA); unitary leaf area (ULA); root dry mass (RDM); stem dry mass (SDM); leaf dry mass (LDM); shoot dry mass (ShootDM) e total dry mass (TDM). Numbers represent means \pm standard error ($n=7$). Different letters indicate significant differences at 0.05 by Tukey's test.

Shade	Height (cm)	LN	PLN	SLN	TLA	ULA	RDM	SDM	LDM	ShootDM	TDM
					(cm ²)				(g)		
0%	50 \pm 3,8 a	12 \pm 0,9 a	83 \pm 6,4 a	846 \pm 82 a	5522 \pm 260 b	06,5 \pm 0,51 b	22 \pm 2,87 a	11,7 \pm 0,93 a	14 \pm 0,87 b	26 \pm 1,73 b	47 \pm 4,13 b
50%	68 \pm 1,7 a	11 \pm 0,9 a	75 \pm 4,3 a	833 \pm 48 a	9876 \pm 286 a	11,8 \pm 0,64 a	22 \pm 1,28 a	13,5 \pm 0,63 a	18 \pm 0,96 a	32 \pm 1,52 a	54 \pm 2,35 a
80%	51 \pm 1,5 a	15 \pm 0,8 a	112 \pm 9,3 a	1199 \pm 125 a	5514 \pm 580 b	04,6 \pm 0,87 b	04,2 \pm 0,36 b	04,1 \pm 0,18 b	10 \pm 0,62 c	14 \pm 0,74 c	18 \pm 1,05 c
Natural	44 \pm 4,2 a	11 \pm 1,4 a	67 \pm 8,2 a	626 \pm 88 a	4674 \pm 610 b	07,5 \pm 0,55 b	04,4 \pm 0,33 b	04,4 \pm 0,44 b	09 \pm 0,90 c	13 \pm 1,26 c	18 \pm 1,53 c

Tabela 2. Razão e taxas de crescimento em plantas de *C. echinata* após 392 dias sob diferentes regimes de luminosidade: razão raiz e parte aérea (R:PA); massa foliar específica (MFE); área foliar específica (AFE); razão de massa de raiz (RMR); razão de massa de caule (RMC); razão de massa de folha (RMF); taxa de crescimento absoluto (TCA); razão de área foliar (RAF); taxa de crescimento relativo (TCR) e taxa assimilatória líquida (TAL). Letras distintas indicam diferenças significativas em $P \leq 0,05$ pelo teste de Tukey e \pm representa o erro padrão ($n=7$).

Table 2 - Ratio and growth rate of C. echinata after 392 days under different light regimes: Root:shoot ratio (R:S); specific leaf mass (SLM); specific leaf area (SLA); root mass ratio (RMR); stem mass ratio (SMR); leaf mass ratio (LMR); leaf area ratio (LAR); absolute growth rate (AGR); relative growth rate (RGR) e net assimilatory rate (NAR). Different letters indicate significant differences $P \leq 0.05$ by Tukey test and \pm represents the standard error ($n = 7$).

Shade	R:S	SLM (mg cm ⁻²)	SLA (cm ² mg ⁻¹)	RMR (g g ⁻¹)	SMR (g g ⁻¹)	LMR (g g ⁻¹)	LAR (cm ² d ⁻¹)	AGR (g d ⁻¹)	RGR (mg g ⁻¹ d ⁻¹)	NAR (mg cm ⁻² dia ⁻¹)
0%	0,83 \pm 0,08 a	2,57 \pm 1,0 a	0,39 \pm 0,02 b	0,45 \pm 0,02 a	0,24 \pm 0,01 a	0,30 \pm 0,02 b	116 \pm 0 d	0,11 \pm 0,01 a	6,21 \pm 0 a	0,033 \pm 0 a
50%	0,69 \pm 0,04 a	1,86 \pm 0,7 b	0,54 \pm 0,04 a	0,41 \pm 0,01 a	0,25 \pm 0,01 a	0,34 \pm 0,01 b	182 \pm 0 c	0,13 \pm 0,01 a	6,54 \pm 0 a	0,036 \pm 0 a
80%	0,30 \pm 0,02 b	1,81 \pm 1,0 b	0,55 \pm 0,05 a	0,23 \pm 0,01 b	0,22 \pm 0,01 a	0,54 \pm 0,01 a	301 \pm 0 a	0,03 \pm 0,00 b	3,78 \pm 0 b	0,013 \pm 0 b
Natural	0,33 \pm 0,02 b	1,90 \pm 1,0 b	0,53 \pm 0,06 a	0,25 \pm 0,01 b	0,25 \pm 0,01 a	0,50 \pm 0,02 a	264 \pm 0 b	0,03 \pm 0,00 b	3,70 \pm 0 b	0,014 \pm 0 b

LEGENDA DAS FIGURAS

Figura 1A - Assimilação fotossintética de carbono, e 1B - Eficiência quântica potencial da fotossíntese (F_v/F_m) em plantas de *C. echinata* acondicionadas em sombreamento constante (●) e transferidas do sombreamento para pleno sol (○), as 0, 3, 24, 48 e 192 horas após o estabelecimento dos tratamentos. As barras verticais indicam o erro padrão (n=5).

*Figure 1A - Photosynthetic carbon assimilation (A), and 1B - Photosynthetic potential efficiency (F_v/F_m) of *C. echinata* plants subjected to constant artificial shade of 50% (●) and transferred from shade to full sunlight (○) at 0, 3, 24, 48 and 192 h. after the start of the experiment. Vertical bars indicate standard error (n=5).*

Figura 2A - Condutância estomática (g_s), 2B - transpiração (E), e 2C - déficit de pressão de vapor ($DPV_{\text{folha-ar}}$), em plantas de *C. echinata* acondicionadas em sombreamento constante (●) e transferidas do sombreamento para pleno sol (○) aos 0, 3, 24, 48 e 192 horas após o estabelecimento dos tratamentos. As barras verticais indicam o erro padrão (n=5).

*Figure 2A - Stomatic conductance (g_s), 2B - transpiration (E), and 2C - deficit of pressure vapor ($DPV_{\text{leaf-air}}$), of *C. echinata* plants subjected to constant artificial shade of 50% (●) and transferred from shade to full sunlight (○) at 0, 3, 24, 48 and 192 h. after the start of the experiment. Vertical bars indicate standard error (n=5).*

Figura 3A - Eficiência do uso da água (EUA), e 3B - eficiência intrínseca do uso da água ($EIUA$) em plantas de *C. echinata* acondicionadas em sombreamento constante (●) e transferidas do sombreamento para pleno sol (○) aos 0, 3, 24, 48 e 192 horas após o estabelecimento dos tratamentos. As barras verticais indicam o erro padrão (n=5).

Figure 3A - Water-use efficiency (WUE), and 3B - intrinsic water-use efficiency (IWUE) of C. echinata plants subjected to constant artificial shade of 50% (●) and transferred from shade to full sunlight (○) at 0, 3, 24, 48 and 192 h. after the start of the experiment. Vertical bars indicate standard error (n=5).

Figura 4 - Aspecto fisionômico dos foliólulos das plantas de *C. echinata* acondicionadas em 50% de sombreamento (A) e após a transferência para pleno sol (B). Folhas de todas as plantas mostraram clorose marginal e necrose as 72 h após a transferência para pleno sol (n=5).

Figure 4. Physiognomic leaflets aspects of the C. echinata plants subjected to 50% of artificial shade constant (A) and after the transfer to full sunlight (B). Leaflets of all plants show burn and marginal chlorosis at 72 h after the transfer to full sunlight (n=5).

FIGURAS

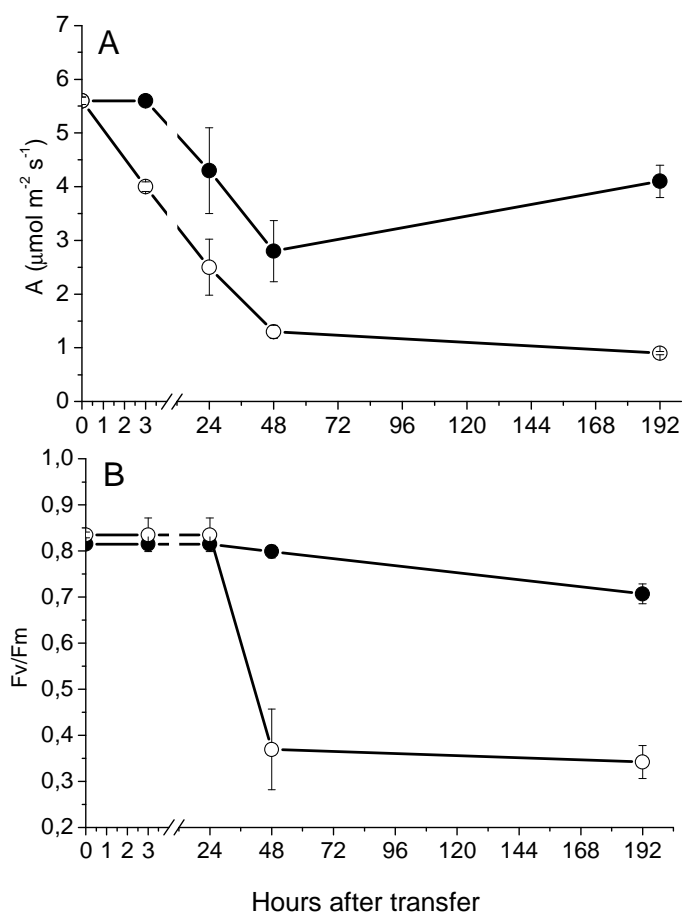


Figura 1

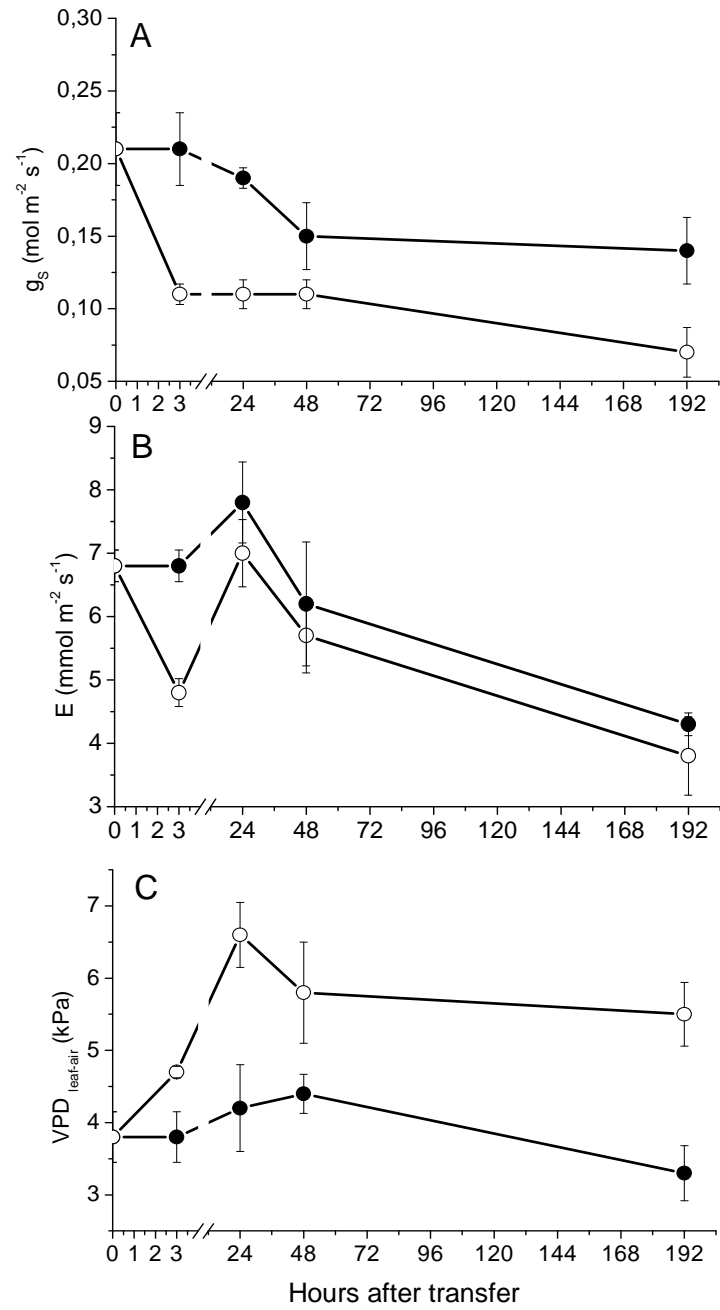


Figura 2

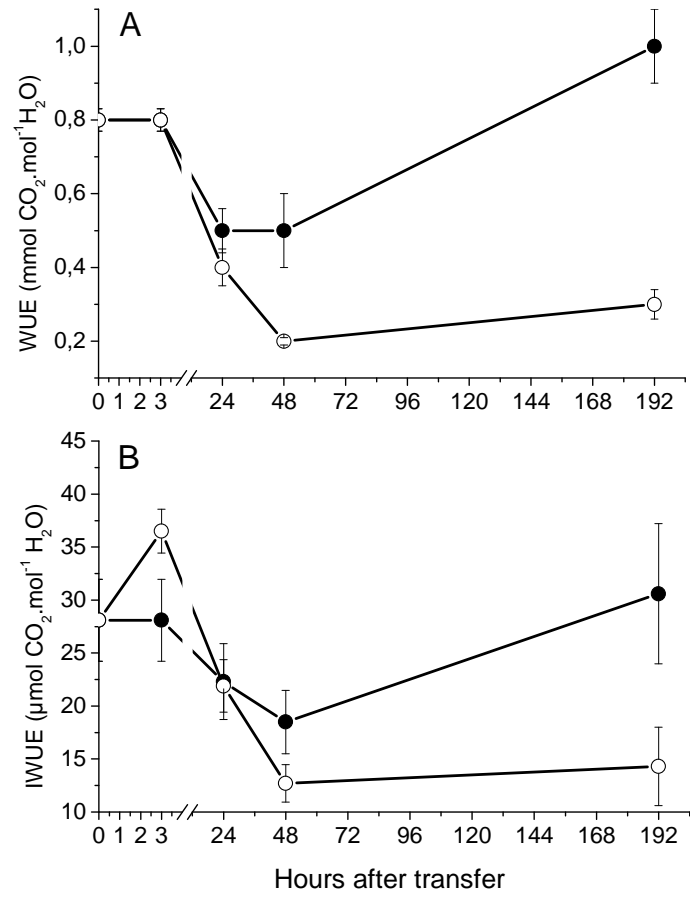


Figura 3

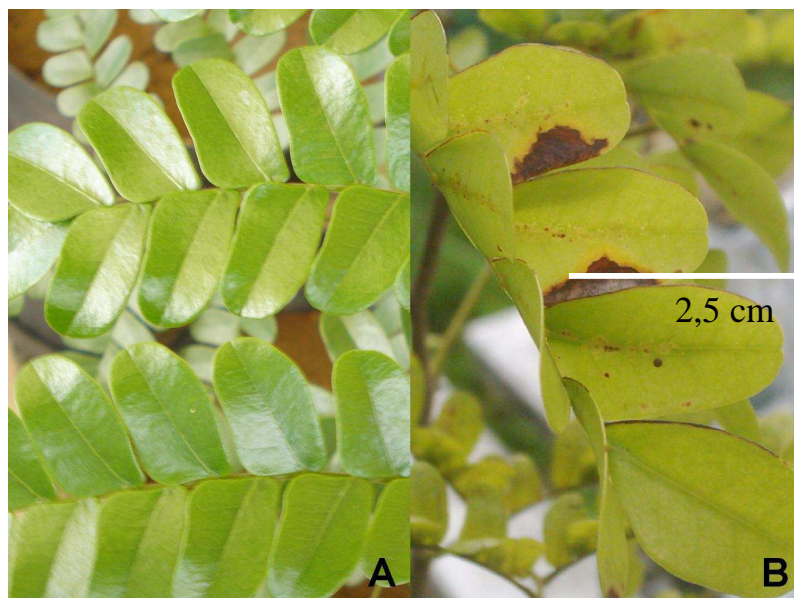


Figura 4

Liana Hilda Golin Mengarda^{1*}, Emerson Campos Canal¹, Geraldo Rogério Faustini Cuzzuol^{2*}, Camilla Rozindo Dias Milanez², Diolina Moura Silva², Marco Antonio Galeas Aguilar³

Alterações morfofisiológicas em folhas de pau-brasil (*Caesalpinia echinata* Lam.) submetidas à radiação solar direta.

Morphophysiological changes in brazilwood leaves (*Caesalpinia echinata* Lam.) under higher irradiance.

(1) Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal (PPGBV) da Universidade Federal do Espírito Santo (UFES). Av. Fernando Ferrari 514, Campus Universitário Alaor Queiroz de Araújo, CEP 29075-910, Vitória, ES, Brasil. *E-mail: liana_ya@yahoo.com.br

(2) Docente do Departamento de Ciências Biológicas/CCHN/UFES e PPGBV/UFES. Av. Fernando Ferrari 514, Campus Universitário Alaor Queiroz de Araújo, CEP 29075-910, Vitória, ES, Brasil. *E-mail: gcuzzuol@gmail.com

(3) Docente do PPGBV/UFES; Pesquisador da Comissão Executiva do Plano da Lavoura Cacaueira (CEPLAC), Linhares, ES, Brasil. E-mail: magaguilar@uol.com.br

O manuscrito será submetido ao periódico *Trees*, após tradução para língua inglesa.

Abstract

Brazilwood young plants cultivated under 50% shading were transferred to full sunlight and changes morphoanatomical, in the histochemical, pigments, chlorophyll a fluorescence and soluble carbohydrates were analyzed. The leaves showed chlorosis, necrosis and abscission of leaflets between 2 and 7 days, and new leaves issuance between 7 and 14 days. In the new leaves formed was observed significant increase in specific leaf mass (SLM) and the leaf content of H₂O. Leaves showed increased thickness of the lamina, cuticle, adaxial epidermis, and reduced of palisade parenchyma /spongy parenchyma ratio. There was a reduction in the concentration of pigments and the chlorophyll a/b and chlorophyll/carotenoids ratios. Between 2 and 14 days, there was increase of initial fluorescence (F₀), reduction in maximum fluorescence (F_M) and in the potential efficiency quantum of photosystem II (PSII) (F_V/F_M). The effective quantum efficiency of PSII (F_V/F₀) and performance index (P.I.) had values below the control until 180 days, indicating photoinhibition. The concentration of soluble carbohydrates, especially sucrose, increased with exposure of plants to full sunlight during the period between 7 and 60 days. Glucose and fructose showed a higher level at 7 days. These results demonstrate that the direct solar radiation is a stress condition, especially in the initial period of exposure, followed by a partial recovery. Although they showed photoinhibition, the brazilwood young plants presented high-light stress plasticity.

Keywords: high-light stress, photoinhibition, leaf anatomy, pigments, soluble carbohydrates.

Resumo

Plantas jovens de pau-brasil cultivadas em 50% de sombreamento foram transferidas para pleno sol e analisadas quanto às alterações morfoanatômicas, histoquímicas, dos pigmentos, da fluorescência da clorofila *a* e dos carboidratos solúveis. As folhas apresentaram clorose, necrose e abscisão dos folíolos entre 2 e 7 dias, havendo emissão de folhas novas entre 7 e 14 dias. Nas folhas novas foi observado aumento significativo da massa foliar específica (MFE) e do teor foliar de H₂O. As folhas apresentaram aumento da espessura do limbo, cutícula, epiderme da face adaxial, e redução da razão entre parênquima lacunoso e paliçádico. Houve redução na concentração dos pigmentos e na razão clorofila *a/b* e clorofila/carotenóides. Entre 2 e 14 dias, houve aumento da fluorescência inicial (F₀), redução da fluorescência máxima (F_M) e do rendimento fotoquímico máximo potencial do fotossistema II (FSII) (F_V/F_M). Já o rendimento fotoquímico máximo efetivo do FSII (F_V/F₀) e o índice de desempenho (P.I.) apresentaram valores abaixo do controle até os 180 dias, indicando fotoinibição. A concentração de carboidratos solúveis, em especial de sacarose, aumentaram com a exposição das plantas ao pleno sol no período entre 7 e 60 dias. Glicose e frutose apresentam aumento da concentração aos 7 dias. Tais resultados demonstram que a radiação solar direta configura-se como estresse, principalmente no período inicial de exposição, seguido de uma recuperação parcial. Embora sofrido fotoinibição, as plantas jovens de pau-brasil apresentaram alta plasticidade frente ao estresse luminoso.

Palavras-chave: estresse luminoso, fotoinibição, anatomia foliar, pigmentos, carboidratos solúveis.

Introdução

O uso de arbóreas nativas tropicais em reflorestamentos está em evidência, mas essa atividade depende de dados sobre o comportamento das espécies em relação à irradiância. Tais informações são de grande importância na definição do posicionamento da sucessão e do manejo adequado de mudas de espécies nativas, imprescindível na regeneração artificial e manejo de florestas (Kitajima 1996; Campos e Uchida 2002; Almeida et al. 2004; Duz et al. 2004).

A irradiância é um dos fatores ambientais mais importantes no estabelecimento e desenvolvimento inicial das arbóreas florestais. A abertura do dossel, com a formação das clareiras, promove a alteração nas condições de luminosidade que chega às plantas jovens, o que é imprescindível para a dinâmica da floresta. No entanto, o aumento da irradiância pode induzir a fotoinibição da fotossíntese ou resultar na foto-oxidação do tecido foliar (Duz et al. 2004; Houter e Ponds, 2005; Magalhães, Marengo e Mendes, 2009). Tais processos estão relacionados à estratégia adaptativa e ao estágio sucessional das espécies, que podem ser caracterizadas como tolerante ou intolerante ao sombreamento (Lambers, Chapin e Pons, 1997). Contudo, muitas espécies tolerantes à sombra apresentam plasticidade ao aumento da quantidade de radiação incidente sobre suas folhas (Gonçalves et al. 2005; Magalhães, Marengo e Mendes, 2009), enquanto outras não possuem capacidade de se aclimatar (Gonçalves e Santos-Jr, 2005; Gonçalves et al. 2007; Morais et al. 2007). Neste sentido, a luz age regulando as taxas fotossintéticas, a biossíntese de pigmentos e metabólitos, promovendo alterações morfológicas e anatômicas, entre outros processos fisiológicos (Kitajima 1996; Schluter et al. 2003; Duz et al. 2004; Oguchi, Hikosaka e Hirose, 2005).

Ajustes morfológicos, estruturais e do padrão de alocação de biomassa relacionados às folhas, podem alterar a quantidade de luz que alcança o cloroplasto, auxiliando na aclimação do vegetal em relação à quantidade de luz (Osunkoya et al. 1994). Assim, alterações na relação entre massa e área foliar (Souza e Válio, 2003; Rego e Possamai, 2006; Shipley 2006; Magalhães, Marengo e Mendes, 2009), e modificações na estrutura anatômica foliar (Dickison 2000; Cao 2000; Fermino-Jr 2004; Boeger et al. 2006; Lima Jr et al. 2006) estão diretamente relacionadas com processos fotossintéticos e outras características inerentes ao crescimento da planta (Lima Jr. et al. 2006), e podem indicar plasticidade adaptativa de uma espécie à luminosidade.

A resposta das plantas quanto à quantidade e a qualidade dos pigmentos cloroplastídicos afeta diretamente a fotossíntese. Plantas que crescem sob alta irradiância tendem a apresentar alterações no conteúdo de pigmentos, reduzindo a absorção de luz, e evitando a fotoinibição e a foto-oxidação. A relação entre os pigmentos pode ser um indicador potencial de perdas foto-oxidativas, e também identificar plasticidade do vegetal frente a alterações nas condições de luminosidade (Hendry e Pierce, 1993; Kitajima e Hogan, 2003; Morais et al. 2007). Além disso, as medidas da atividade fotossintética são de extrema importância para avaliar o estresse por luminosidade e fornecer informações gerais sobre o estado fisiológico da planta (Campostrini e Maestri, 1998; Torres Neto et al. 2002; Tóth 2006). A técnica da fluorescência da clorofila *a* permite a avaliação do estado funcional do aparelho fotossintético por meio da eficiência da fase fotoquímica da fotossíntese, evidenciando estresse por alta irradiância, que pode levar a fotoinibição (Maxwell e Johnson 2000; Strasser, Tsimilli-Michael e Srivastava, 2004; Houter e Pons, 2005).

Os teores e a dinâmica dos carboidratos podem ser sinalizadores de uma condição de estresse, ou ainda serem alterados a partir da necessidade da planta se adaptar a uma nova condição ambiental (Smeekens 2000). A

variação do conteúdo foliar dos carboidratos solúveis pode indicar que, além do papel de reserva, estes compostos estejam relacionados a mecanismo adaptativos em resposta a estresse (Dias-Tagliacozzo et al. 2004; Würth et al. 2005; Chaves Filho e Stacciarini-Seraphin, 2001; Mendes et al. 2007; Cuzzuol e Clippel, 2009).

O pau-brasil (*Caesalpinia echinata*) é uma arbórea nativa da Mata Atlântica, de grande importância histórica, econômica e ecológica, mas seu comportamento ecofisiológico não é suficientemente conhecido. Em ambiente natural, *C. echinata* apresenta baixa eficiência fotossintética com o aumento da irradiância, sugerindo comportamento típico de plantas tolerantes à sombra (Gebler et al. 2005). Já a partir de estudo realizado com plantas jovens de pau-brasil (Mengarda et al. 2009), o sombreamento moderado mostrou-se a condição ideal para o desenvolvimento da espécie, verificando-se que o intenso sombreamento compromete o crescimento, e o que o excesso de luz causa fotoinibição da fotossíntese. Assim, se plantas jovens de *C. echinata* encontram condições para o crescimento sob elevada incidência de luz, devem ser necessários ajustes morfofisiológicas que venham a garantir plasticidade e rustificação ao estresse por luminosidade.

Baseado nestas informações, este trabalho teve como objetivo analisar as alterações morfofisiológicas em folhas de plantas jovens de pau-brasil expostas a radiação solar direta, visando identificar os mecanismos de rustificação das mudas de *C. echinata* ao estresse por elevada irradiância.

Material e Métodos

Material Vegetal e Estabelecimento do Experimento

Foram utilizadas plantas de pau-brasil (*Caesalpinia echinata* Lam.) propagadas por sementes fornecidas pela Fundação Nacional do Pau-brasil/PE (FUNBRASIL). Sementes foram dispostas em placas de Petri, a 25°C e luz contínua. Quinze dias após a germinação, as plântulas foram transferidas para tubetes. Com aproximadamente nove meses de idade, as plantas foram envasadas em recipientes plásticos de 8 L contendo terra preta, e aclimatadas por um período de três meses em sombreamento de 50%, temperatura e fotoperíodo natural, em casa de vegetação localizada no Campus Universitário Alair Queiroz de Araújo, Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória, ES (20°18'52''S e 40°19'06''W).

As plantas, com aproximadamente um ano de idade, foram divididas em dois lotes: um mantido sob sombreamento constante de 50% - *controle*; e outro transferido ao ambiente externo à casa de vegetação, sob incidência de radiação solar direta - *pleno sol*. Para evitar o aquecimento e perda excessiva de água pela evaporação do solo, os vasos em pleno sol foram envolvidos em papel alumínio e a superfície do solo recebeu uma camada de vermiculita. As plantas foram regadas diariamente, de forma que não houvesse restrição hídrica.

O experimento foi estabelecido em delineamento inteiramente casualizado (DIC), com cinco repetições e seis plantas por parcela para cada tratamento, em arranjo fatorial (2 x 12), constituído por 2 tratamentos e 12 períodos de avaliação. A coleta de amostras e as medidas fisiológicas foram realizadas a partir de foliólulos da região mediana da primeira folha completamente expandida a partir do ápice, aos 0, 2, 4, 7, 14, 20, 30, 40, 50, 60, 120 e 180 dias após o estabelecimento do experimento. Os dados referentes às razões entre os pigmentos foram submetidos à análise de regressão e calculado o erro padrão da média. Os resultados da análise de fluorescência são

apresentados em valores de percentual em relação ao controle. Para os demais dados, foi realizada análise de variância (ANAVA) e as médias comparadas pelo teste Tukey ($P < 0,05$).

Massa Foliar Específica, Área Foliar Específica e Teor de Água

Foram realizadas medidas da massa fresca e da massa seca das folhas (estufa 60°C), área foliar, e calculadas a massa foliar específica (MFE = MF/AF), área foliar específica (AFE = AF/MF), segundo Hunt (1982), e teor de água (Teor H_2O = MFF-MSF/AF) segundo Parida, Das e Mitra (2004). Onde, MF = massa foliar, AF = área foliar; MFF = massa fresca foliar; MSF = massa seca foliar.

Anatomia Foliar e Testes Histoquímicos

A análise da anatomia foliar foi realizada no Laboratório de Anatomia Vegetal, do Setor de Botânica da UFES. O período de sete dias não foi analisado, em decorrência dos foliólulos terem sofrido abscisão. Amostras do terço médio do limbo (0,5 cm x 0,5 cm) foram fixadas em FAA 50 (Formaldeído, Ácido acético e Etanol) por 48 horas (Johansen 1940), e estocadas em álcool 70%, sendo posteriormente desidratadas em série etanólica crescente, e incluídas em historresina (Leica Historesin^R) segundo Gerrits (1964). Foram realizadas secções transversais de 9 µm de espessura, com auxílio de micrótomo rotativo, as quais foram coradas com Azul de Toluidina 0,05%, pH 4,7 (O'Brien, Feder e McCully 1964) e montadas entre lâmina e lamínula, em bálsamo do Canadá.

A análise anatômica quantitativa foi realizada por meio de medições da espessura total do limbo (*L*), da cutícula (*CUT*), da epiderme das faces adaxial (*EAd*) e abaxial (*EAb*), do parênquima paliçádico (*PP*) e do parênquima lacunoso (*PL*). Foi determinada a densidade estomática (mm^2) por meio de impressão da face abaxial dos foliólulos. As medições foram realizadas em analisador de imagens TSVIEW. Os valores médios foram obtidos a partir de 20 medições para cada característica e os dados foram documentados por meio de fotomicroscópio.

Para a determinação da natureza química da parede e do conteúdo celular, cortes obtidos à mão-livre foram submetidos a testes histoquímicos utilizando-se os seguintes reagentes: Vermelho de Rutênio, para detecção de substâncias pécticas; Sudan IV, para substâncias lipídicas; Cloreto férrico a 10%, para a detecção de substâncias fenólicas (Johansen 1940). Os resultados foram documentados por meio de fotomicroscópio.

Pigmentos Fotossintetizantes

Os teores de clorofila total, clorofila *a*, clorofila *b*, carotenóides e as razões clorofila *a/b* e clorofila/carotenóides, foram determinados após extração com dimetilsulfóxido (DMSO), utilizando quatro discos foliares de 0,45 cm de diâmetro, macerados em 5 mL de DMSO, em tubos de ensaio com tampa, mantidos no escuro em temperatura ambiente por sete dias. As leituras da densidade ótica foram feitas em espectrofotômetro a 470, 663 e 645 nm e a determinação das concentrações de pigmentos realizada de acordo com Lichtenthaler (1987).

Fluorescência da Clorofila a

A cinética de emissão da fluorescência da clorofila *a* foi mensurada em um fluorômetro portátil Handy PEA (Plant Efficiency Analyzer, Hanstech, King's Lynn, Norfolk, UK). As medidas foram realizadas entre as 8:00 e 9:00 horas, com a adequação da área foliar ao escuro por 30 minutos. Em seguida as folhas foram expostas a um pulso saturante de luz vermelha de cerca de $3000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Os dados foram tabulados com o programa do Handy PEA (PEA Plus).

A fluorescência transiente da clorofila *a* foi analisada de acordo com o teste J-I-P (Strasser, Tsimilli-Michael e Srivastava 2004). A partir da análise dos parâmetros básicos (F_0 , F_m , $F_{50 \mu\text{s}}$, $F_{100 \mu\text{s}}$, $F_{300 \mu\text{s}}$, F_J , F_I , e tF_m) conduziu-se o cálculo e derivação dos parâmetros do fluxo específico por centro de reação (RC). Parte da energia absorvida (ABS/RC) pode ser capturada pelo centro de reação do FSII (P680) (TR_0/RC), ou dissipada na forma de calor ou de fluorescência (DI_0/RC). Da energia capturada, parte pode ser convertida em energia redox para o transporte de elétrons (ET_0/RC) entre Quinona A e B. Foram mensurados, ainda, a probabilidade de um excitron capturado pelo RC do FSII, mover um elétron na cadeia de transporte para além de Q_A^- ($\Psi_0 = ET_0/TR_0$), a razão entre o número de centros de reação ativos do FSII pela quantidade de luz absorvida pelo sistema antena (RC/ABS), a eficiência quântica máxima potencial ($\phi_{P_0} = F_V/F_M$) e efetiva do FSII ($\phi_{P_0}/(1 - \phi_{P_0}) = F_V/F_0$), e o índice de desempenho ($P.I. = RC/ABS \times [\phi_{P_0}/(1 - \phi_{P_0})] \times [\Psi_0/(1 - \Psi_0)]$) (Christen et al. 2007; Gonçalves et al. 2007).

Carboidratos solúveis

A análise dos carboidratos solúveis foi realizada no Laboratório Max Feffer de Genética de Plantas da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" ESALQ Piracicaba – SP. Os tecidos foliares das amostras de pau-brasil foram previamente liofilizados por 48 horas. Adicionou-se 1 mL de água ultrapura em aproximadamente 20 mg de amostra moída, deixando em banho-maria à 80°C por 1 hora. As amostras foram centrifugadas por 10 minutos, e as soluções obtidas utilizadas para a quantificação de glicose, frutose, sacarose e rafinose (padrão Sigma®). Os teores dos açúcares solúveis foram analisados por HPAE-PAD (*High Performance Anion Exchange- Pulsed Amperometric Detection*), sendo as determinações realizadas com o auxílio do equipamento ICS 2500, HPLC Dionex®.

Resultados e Discussão

Morfologia Foliar

C. echinata possui folhas bipinadas, peninérveas, glabras, com foliólulos de consistência membranácea e de coloração verde brilhante (Fig. 1a). A partir de dois dias de exposição à radiação solar direta, os foliólulos apresentaram clorose e manchas necróticas, seguidas de abscisão (Fig. 1b). Em ambiente natural, esta é uma resposta esperada para plantas de sombra ou plantas aclimatadas ao sub-bosque submetidas ao aumento súbito da irradiância, como ocorre durante a formação de clareiras (Houter e Ponds, 2005). Apesar da senescência prematura das folhas,

não houve mortalidade das plantas, sendo que, entre os 7 e 14 dias, houve emissão de folhas novas (Figs. 1c, d). A abscisão de grande parte das folhas também foi observada por Magalhães, Marengo e Mendes (2009) em plantas jovens de *Minquartia guianensis* (acariquara), arbórea da Amazônia tolerante à sombra. A emissão de folhas novas com morfologia e fisiologia adequadas ao novo ambiente parece ser a principal estratégia de aclimação destas espécies.

As plantas de *C. echinata* transferidas para pleno sol apresentaram decréscimo da área foliar específica (*AFE*) e aumento da massa foliar específica (*MFE*) no decorrer do período das análises. Foram verificados valores significativamente diferentes do controle após a emissão de folhas novas (7-14 dias), sendo que esta diferença que se acentuou com o decorrer do tempo (Tabela 1). Observou-se aumento dos valores de *MFE* em mais de 100% desde o tempo inicial (3,84 mg MF cm⁻²) até os 180 dias de análise (9,20 mg MF cm⁻²). Este aumento também foi observado em relação ao teor de água (Tabela 1). As alterações de crescimento relacionadas às folhas são tidas como fator chave, pois direta ou indiretamente, os efeitos do estresse refletem nestes órgãos. Sendo assim, as medidas de *AFE* e *MFE* são bastante expressivas em termos de resposta fisiológica (Lambers e Poorter, 1992; Shipley 2006).

Souza e Válio (2003) também verificaram menores valores de *AFE* para quinze espécies arbóreas tropicais quando estas foram submetidas a pleno sol. O aumento da luminosidade também levou a redução da *AFE* em *Cariniana legalis* (jequitibá-rosa) (Rego e Possamai, 2006), bem como em *Minquartia guianensis* (acariquara) (Magalhães, Marengo e Mendes, 2009). A alteração de *MFE* e *AFE* pode levar a redução da área de exposição direta à radiação solar, evitando danos ao aparato fotossintético, reduzindo a perda de água e, assim, melhorando o desempenho fotossintético da planta sob elevada incidência de luz (Nakazono et al. 2001). De acordo com Kitajima (1994) e Oguchi, Hikosaka e Hirose (2003) tais respostas morfológicas podem estar ligadas ao balanço positivo no ganho de carbono, o que proporciona ao vegetal a manutenção do seu crescimento e a sua sobrevivência. Sendo assim, é possível afirmar que as folhas de plantas jovens de *C. echinata* apresentaram plasticidade morfológica à exposição à radiação solar direta.

Caracterização e Alterações da Anatomia Foliar

Secções transversais da lâmina foliar de *C. echinata* de ambos os tratamentos mostraram epiderme uniestratificada (Figs. 2a, b) com conteúdo fenólico (Figs. 3g, h). As células apresentam paredes delgadas e formato predominantemente retangular, sendo as da face abaxial mais achatadas tangencialmente, e menores em relação às da face adaxial (Figs. 2a, b). Em vista frontal, a epiderme mostra células de formato variável e paredes anticlinais levemente sinuosas, tanto na face adaxial quanto na abaxial (Figs. 2c, d). A folha é hipoestomática (Figs. 2a, b, d) com estômatos do tipo paracítico (Fig. 2d). O mesofilo é dorsiventral, constituído de uma camada de parênquima paliçádico e 4-8 camadas celulares de parênquima lacunoso (Fig. 2a). Idioblastos com conteúdo mucilaginoso (Figs. 2a, b) ocorrem em ambas as faces. Feixes vasculares colaterais de calibre médio e pequeno estão dispostos ao longo do mesofilo e são envolvidos por fibras (Fig. 2a). Idioblastos com cristais prismáticos ocorrem com frequência na endoderme. A nervura central, em secção transversal, mostra superfície adaxial plana, sendo ligeiramente convexa na face abaxial (Fig. 2b). À semelhança dos feixes de menor calibre, o feixe vascular central é do tipo colateral e apresentando fibras e cristais prismáticos na sua proximidade.

As plantas do controle e em pleno sol apresentaram variação quanto à espessura total do limbo, da cutícula, da epiderme da face adaxial, do parênquima paliçádico, e da densidade estomática (Tabela 2 e Fig. 3). Nas plantas em pleno sol, aos 4 dias (Fig. 3d) foi observada a redução da espessura do limbo (*L*), o que ocorreu, principalmente, devido a redução da espessura da epiderme da face adaxial (*EAd*) e do parênquima paliçádico (*PP*) (Tabela 2). De acordo com Boeger et al. (2006), a alteração da espessura do mesofilo está diretamente relacionada à espessura dos parênquimas. É possível observar que, neste período, as células da *EAd* e do *PP* sofreram redução do tamanho, possivelmente devido à perda de água, e apresentavam sinais de necrose, vindo a sofrer abscisão logo em seguida. De acordo com Oguchi, Hikosaka e Hirose (2003), geralmente folhas maduras possuem uma plasticidade reduzida quanto à adaptação anatômica para manterem seu desenvolvimento, o que ocorre mais comumente em folhas jovens.

As folhas novas emitidas entre 7 e 14 dias, apresentaram respostas de aclimação à elevada irradiância. A espessura do *L*, *PP*, bem como a densidade de estômatos passou a ser maior, e a razão entre parênquima lacunoso e parênquima paliçádico (*PL/PP*) diminuiu nas plantas em pleno sol (Tabela 2 e Figs. 3f, h). O aumento da espessura de tais estruturas anatômicas em ambientes de elevada irradiância também foi observado por Boeger et al. (2008) em *Miconia sellowiana*, espécie da Mata Atlântica. A maior espessura do mesofilo foi observada por Fermino-Jr (2004) com o aumento da luminosidade incidente em folhas de *Guapira opposita*. Em relação à *PL/PP*, este mesmo autor verificou aumento do *PP* quando folhas se encontravam no sol. De acordo com Gurevitch, Scheiner e Fox (2009), o desenvolvimento de camadas de *PP* mais profundas permite a planta aumentar as taxas fotossintéticas. Já o *PL*, juntamente com espaços intercelulares, é responsável pela distribuição da luz difusa no interior da folhas (Vogelmann et al. 1996), conferindo maior absorção de luz por espécies de sub-bosque (Boeger et al. 2006). Assim, a redução dos espaços intercelulares e de *PL/PP* observada em pleno sol, pode indicar uma resposta fisiológica adaptativa do pau-brasil em reduzir a chegada de luz aos cloroplastos, evitando danos pelo excesso de luz.

Maior densidade estomática em plantas jovens sob maior irradiância observada em pau-brasil, também foi verificada em espécies de diversas fitofisionomias da Mata Atlântica, como no cerrado (Marques et al. 2000), Floresta Ombrófila Densa (Santiago et al. 2001), restinga (Fermino-Jr 2004), Floresta Ombrófila Mista e Alto Montana (Borger et al. 2006). Duz et al. (2004) também observaram que o aumento da intensidade luminosa aumenta o número de estômatos por área em arbóreas da Floresta Ombrófila Densa. Gurevitch, Scheiner e Fox (2009) ressaltam que, geralmente associado a maior densidade, as plantas podem apresentar redução da área da fenda estomática. As condições de maior irradiância geralmente são associadas à menor umidade relativa do ar e, nesta condição, menor área de abertura da fenda e a maior densidade de estômatos permitem que, quando abertos, haja a formação de uma camada de vapor de água envolvendo a epiderme foliar, aumentando a resistência da folha à perda de água e, ainda, reduzindo a distância percorrida pelo CO₂ para chegar às células fotossintezantes, maximizando o ganho de carbono (Marques et al. 2000; Mendes, Gazzarini e Rodrigues, 2001; Gurevitch, Scheiner e Fox, 2009). Além disso, Dickison (2000) e Fermino-Jr (2004) afirmam que espécies com folhas hipostomáticas, assim como o pau-brasil, podem ter vantagens na ocupação de diferentes ambientes, pois este padrão pode minimizar a perda de água para a atmosfera, permitindo que estas ocupem ambientes de maior temperatura e incidência de luz.

A cutícula (*CUT*) e a epiderme da face adaxial (*EAd*) também se apresentaram mais espessadas em plantas de *C. echinata* submetidas ao pleno sol (Tabela 2). Aos 180 dias, as plantas do controle apresentavam, em média, cutícula com 3,27 µm de espessura, enquanto as plantas em pleno sol apresentavam espessura média de 4,74 µm

(Tabela 2). De acordo com Gurevitch, Scheiner e Fox (2009), o espessamento da cutícula é uma resposta observada em plantas xerófitas e não-xerófitas submetidas à condição de elevada irradiância, pois aumenta a resistência cuticular à transpiração, evitando a perda de água mesmo quando os estômatos estão fechados, e também auxilia na reflexão de parte da luz que incide sobre as folhas. O aumento na espessura da *CUT* e das células da *EAd* pode desempenhar importante papel na manutenção dos níveis ótimos de temperatura foliar, mantendo a efetividade dos processos fotossintético em elevada irradiância (Dickison 2000). Cao (2000), comparando a anatomia foliar de doze arbóreas tropicais em diferentes condições de luminosidade, verificou que no sol as células da face adaxial da epiderme foliar apresentam maior espessura. Fermino-Jr (2004) também observou aumento das células epidérmicas de *G. opposita* em folhas de sol.

O teste com Cloreto Férrico evidenciou acúmulo de compostos fenólicos na epiderme das folhas das plantas do controle e em pleno sol em todos os períodos analisados, sendo que nas folhas em pleno sol, tais substâncias também ocorreram no interior de algumas células do mesofilo (Figs. 3g, h). Casagrande Jr et al. (1999) observaram maiores teores de compostos fenólicos em *Psidium cattleianum* (araçazeiro) sob luminosidade intensa, o que pode indicar que estes compostos atuam na proteção contra o estresse luminoso.

A plasticidade fisiológica à alteração das condições de luminosidade envolve características relacionadas à maior eficiência na captação ou dissipação de luz pelas folhas, o que depende primordialmente da morfoanatomia foliar. Assim, mudanças na anatomia e fisiologia da folha estão diretamente relacionadas a adaptações fotossintéticas (Kilch 2000; Oguchi, Hikosaka e Hirose, 2003; 2005; Lima Jr et al. 2006). Sendo assim, considerando as respostas observadas em plantas jovens de pau-brasil em pleno sol, é possível afirmar que a espécie apresenta alta plasticidade morfoanatômica em resposta a luz.

Pigmentos Fotossintetizantes

Foi observado decréscimo significativo das concentrações de pigmentos nas plantas em pleno sol no decorrer do tempo (Tabela 3). Os teores de clorofilas totais (*Chl total*), em média 4,21 mg g⁻¹ MF no tempo inicial, ao final do período de análises (180 dias), foi de 1,85 mg g⁻¹ MF. Neste mesmo período, a concentração de carotenóides (*Carot*), teve redução de 1,49 mg g⁻¹ MF para 0,58 mg g⁻¹ MF. De acordo com Laisk et al. (2005), plantas desenvolvidas no sol investem menos em complexos coletores de luz, isso porque em alta irradiância, as folhas absorvem mais energia radiante que a capacidade de processamento do aparato fotossintético, e o excesso de energia pode levar a fotoinibição da fotossíntese. Assim, a diminuição da antena coletora de luz, ou seja, a redução dos teores de clorofila pode ser um mecanismo eficiente para reduzir o aporte de energia para os fotossistemas (Magalhães, Marengo e Mendes 2009). Fermino-Jr (2004) conclui que a redução da concentração de clorofila em folhas de sol pode atuar como um mecanismo de redução da fotoinibição. Em presença de luz, a clorofila é constantemente sintetizada e degradada, mas sob alta irradiância a taxa de degradação é maior e, assim, um ajuste fisiológico é estabelecido com a baixa concentração de clorofila (Tan et al. 2000).

Rego e Possamai (2006) verificaram que plantas de jequitibá-rosa respondem ao aumento da luminosidade com a redução dos teores de clorofila *a*, *b* e total. Morais et al. (2007), por sua vez, observaram que arbóreas da Amazônia que crescem sob sombreamento apresentam maior teor foliar de clorofila. Almeida et al. (2004) e

Fermino-Jr (2004), além de observar maior teor de clorofila em folhas sombreadas, verificaram que folhas de sol apresentam redução da razão clorofila *a/b*. A clorofila *b* e os carotenóides são considerados pigmentos acessórios do processo fotossintético, pois, embora não estejam relacionados à captura da energia luminosa nos centros de reação (papel desenvolvido pela clorofila *a*), promovem fotoproteção ao sistema (Marengo e Lopes, 2009). Desta forma, a relação clorofila *a/b* (*Chl a/b*) e clorofilas/carotenóides (*Chl/Carot*) são indicadores da plasticidade fisiológica em relação à alteração nas condições de luminosidade (Scalon et al. 2003; Kitajima e Hogan, 2003). Foi observada a redução das razões *Chl a/b* e *Chl/Carot* nas plantas em pleno sol, que se acentuou ao longo do tempo. (Figs. 4a, b).

A razão *Chl a/b* que era de 1,11 no tempo inicial, sofreu redução para 0,62 aos 180 dias (Fig. 4a). Almeida et al. (2004) também observaram redução da razão clorofila *a/b* em plantas de *Cryptocaria aschersoriana* cultivadas em pleno sol quando comparado ao cultivo em sombreamento (30, 50 e 70%). Enquanto maiores níveis de clorofila *b* podem ser encontrados em condições de baixa luminosidade, atuando no aumento da captação de luz (captação de energia em comprimentos de onda diferentes que a clorofila *a*) (Scalon et al. 2003), a clorofila *a* é mais sensível ao aumento da radiação que a clorofila *b*, sendo degradada mais facilmente (Tan et al. 2000; Magalhães, Marengo e Mendes, 2009). Assim, a razão clorofila *a/b* tende a diminuir tanto em plantas que se desenvolvem em sombreamento intenso, quando em plantas submetidas à elevada irradiância.

A relação entre *Chl/Carot* foi menor nas plantas em pleno sol, assim como também observado por Magalhães, Marengo e Mendes (2009) em plantas de *Minquartia guianensis*. O aumento de carotenóides pode atuar na aclimação à alta irradiância por terem papel relevante na dissipação de energia sob a forma de calor (Demmig-Adams e Adams, 2006; Marengo e Lopes, 2009). Observou-se uma expressiva redução da razão *Chl/Carot* aos 180 dias (aproximadamente 50% do valor do tempo inicial) (Fig. 4b). Esta resposta observada para os teores de pigmentos fotoativos em *C. echinata* pode representar uma adaptação no sentido de proteger os fotossistemas de danos fotoinibitórios e foto-oxidativos.

Fotoinibição da Fotossíntese

De acordo com as medidas da fluorescência da clorofila *a*, foi possível verificar que a exposição à radiação solar direta configura-se como uma condição de estresse para as plantas jovens de pau-brasil. Observou-se que, aos 2 dias, plantas em pleno sol apresentaram fluorescência inicial (F_0) muito superior, e expressiva redução da fluorescência máxima (F_M) (Fig. 5a). Assim, verificou-se que no período de 2 e 4 dias, o rendimento quântico máximo potencial do fotossistema II (F_V/F_M) foi reduzido a aproximadamente 20% do controle, e mesmo após 180 dias, F_V/F_M nas plantas em pleno sol permaneceu inferior ao controle (Fig. 5a).

De acordo com Gilmore et al. (1996) e Gonçalves et al. (2007), o aumento da F_0 pode ocorrer durante a exposição à elevada irradiância em razão do bloqueio da transferência de elétrons entre Q_A e Q_B , e do pool de PQ, como resultado da inativação parcial do FSII por meio da degradação da proteína D1. Já a redução de F_M pode ser atribuída à dissipação não-fotoquímica, uma vez que a inativação de uma fração dos FSII contribui para a dissipação de energia na forma de calor (Demmig-Adams e Adams, 2006). Magalhães, Marengo e Mendes (2009) também observaram aumento de F_0 , redução de F_M e de F_V/F_M nas primeiras semanas de aclimação de *Minquartia guianensis*, uma arbórea tropical, à elevada irradiância. Estes autores observaram, no entanto, recuperação quase

total aos 30 dias, e após quatro meses, os valores de F_V/F_M atingiram 93% do controle. Em *Aniba rosaeodora*, Gonçalves et al. (2005) verificaram a redução de F_V/F_M aos 2 dias de exposição a elevada irradiância, mas também verificaram a recuperação aos 60 dias, com valores próximos dos sombreamentos intenso e moderado. Morais et al. (2007) verificaram em folhas de sombra de arbóreas da Amazônia, maiores valores de maior F_V/F_M e da fluorescência variável (F_V), que representa a diferença entre F_0 e F_M . Estes autores relacionam o baixo rendimento fotoquímico em folhas de sol principalmente à redução de F_M .

Dias e Marengo (2007) sugerem que F_0 pode ser um bom indicador de estresse quando analisado em conjunto com F_M e F_V/F_M . Entretanto, outros parâmetros fornecidos a partir do teste J-I-P têm sido bastante utilizados para elucidar detalhadamente o fluxo de energia através FSII em nível de centro de reação (RC), auxiliando no estudo de processos fisiológicos (Strasser, Tsimilli-Michael e Srivastava, 2004).

A partir da análise dos parâmetros de fluxo de energia, verificou-se que as plantas submetidas à alta irradiância apresentaram maior densidade de fótons absorvidos por centro de reação do FSII (ABS/RC) (Fig. 5b), assim como foi verificado por Gonçalves et al. (2007). De acordo com estes autores, essa reposta pode indicar o aumento da funcionalidade da antena, ou a inativação de centros de reação (RC). No caso do pau-brasil, houve decréscimo acentuado de RC ativos, que pode ter contribuído para o aumento de ABS/RC . A taxa de transporte dos elétrons (ET_0/RC) foi mais elevada após a exposição das plantas de pau-brasil à radiação plena. Contudo, a dissipação de energia radiante (DI_0/RC) foi muito elevada, principalmente no período de 2 e 4 dias (Fig. 5b).

Após 2 dias, houve um aumento representativo na probabilidade do elétron capturado pelo centro de reação do FSII permanecer na cadeia de transporte para além de Q_A^- (ET_0/TR_0). No entanto, aos 2, 4 e 7 dias houve grande redução na densidade de centros de reação ativos do FSII (RC/ABS). Como consequência, foi observado valores próximos a zero para a eficiência quântica efetiva da conversão de energia radiante (F_V/F_0), e para o índice de desempenho ($P.I.$) quando comparadas ao controle (Fig. 5c). Gonçalves et al. (2007) também observaram inativação de 58 a 78% dos RC que, juntamente com a redução de F_V/F_M , indicam o aumento da dissipação da energia na forma de calor e fluorescência. RC/ABS apresentou aumento após 20 dias, mas sofreu redução novamente e, embora os valores de F_V/F_0 e $P.I.$ tenham aumentado neste período, não foi verificada a recuperação efetiva do aparelho fotossintético. Aos 180 dias, o valor relativo ao controle de F_V/F_0 foi de 60%, e o de $P.I.$ foi de 35% (Fig. 4c). Elevados valores de dissipação de energia por centro de reação (DI_0/RC) estão relacionados a uma energia de excitação em nível da molécula de clorofila da antena (ABS/RC) maior do que a taxa de transporte de elétrons (ET_0/RC), bem como a uma menor RC/ABS (Figs. 5a-c). Assim, a variação dos parâmetros de fluxo de energia refletiu na redução do rendimento quântico efetivo (F_V/F_0) e do índice de desempenho ($P.I.$) das plantas de pau-brasil transferidas para pleno sol. Isto pode indicar que o excesso de energia causou fotoinibição e redução da eficiência da fotoquímica primária.

Para Gonçalves et al. (2007), a análise conjunta de F_V/F_M e $P.I.$ pode ser relacionada à capacidade das plantas em transformar a energia luminosa na energia que é direcionada para as reações metabólicas dos processos bioquímicos da fotossíntese. Assim, levando em conta os valores reduzidos de F_V/F_M no período entre 2 e 20 dias, e a queda significativa de $P.I.$ durante o período total de análise observado nas plantas em pleno sol, conclui-se que a exposição de plantas jovens de pau-brasil a radiação solar direta levou a fotoinibição da fotossíntese.

A condição de estresse é causada pelo excesso de entrada de energia no sistema, havendo dificuldade do uso desta energia no processo fotossintético, enquanto em condições ideais, as plantas apresentam baixa energia livre no sistema e estado termodinâmico ótimo, sem o comprometimento da fase fotoquímica no FSII (Gonçalves et al. 2007). No entanto, a fotoinibição verificada em plantas de pau-brasil submetidas à radiação solar direta pode ser representativa de um mecanismo de fotoproteção, atuando no balanço entre a dissipação não-fotoquímica efetiva da energia excedente e a fotossíntese em si. Isto não descaracteriza uma condição de estresse, mas permite o ajuste e a sobrevivência do vegetal em condições adversas (Niyogi 1999).

Em termos ecofisiológicos, Ribeiro et al. (2004) afirmam que a fluorescência da clorofila é uma ferramenta potencial para diferenciar espécies de estágios sucessionais distintos. Espécies pioneiras e secundárias iniciais, embora estejam sujeitas a redução de F_v/F_M como indicativo de fotoinibição dinâmica (nas horas do dia com maior insolação), apresentam maior capacidade fotoquímica e tendência crescente de dissipar o excesso de energia com o aumento da intensidade luminosa, o que não é observado em espécie secundária tardia. Gonçalves e Santos-Jr (2005) afirmam que a fluorescência da clorofila *a* pode ser uma ferramenta para a seleção de espécies tolerantes a ambientes de alta irradiância, baseado no maior *P.I.*, e aptas a serem utilizadas como espécies de cobertura em recuperação de áreas degradadas. Em estudo realizado com três leguminosas da Floresta Semi-decídua da Mata Atlântica (*Caesalpinia echinata*, *C. ferrea* e *Machaerium obovatum*) foi observado maior taxa de transporte de elétrons e maior F_v/F_M com maior intensidade de saturação de luz em *C. ferrea* sugerindo que esta espécie é mais adaptada a ambientes de elevada radiação, enquanto *C. echinata* e *M. obovatum* não mostram tais respostas (Gebler et al. 2005). Baseado nisto, e em concordância com estudo realizado por Mengarda et al. (2009), *C. echinata* caracteriza-se como espécie intermediária, pois não apresenta aclimação fotossintética efetiva à condição de elevada irradiância. No entanto, sendo a aclimação fotossintética parcial e os mecanismos de fotoproteção suficientes para manter a sobrevivência e o crescimento, é possível afirmar que as plantas jovens de pau-brasil apresentaram capacidade de tolerância ao estresse por exposição à radiação solar direta.

Carboidratos Solúveis

A concentração foliar de carboidratos solúveis totais foi igual entre plantas em pleno sol e do controle até os 4 dias. A partir dos 7 até os 60 dias, houve aumento expressivo da concentração nas plantas em pleno sol (Fig. 6e). Em estudos sobre a relação entre luminosidade e conteúdo de açúcares, Martinazzo et al. (2007) verificaram aumento dos carboidratos não-estruturais em *Eugenia uniflora* quando submetidas ao pleno sol. Casagrande Jr et al. (1999) observaram redução da concentração foliar de carboidratos em araçazeiro com o aumento do sombreamento.

Conforme observado por Gebler et al. (2005), a maior parte dos açúcares solúveis em folhas de pau-brasil corresponde a *Suc*, *Fru* e *Glu* e, assim, a variação no conteúdo destes açúcares é o maior responsável pela alteração do conteúdo total. Assim, o aumento dos teores de carboidratos solúveis totais ocorreu concomitantemente a dois fenômenos: 1- o aumento expressivo do conteúdo de Glicose (*Glu*) e Frutose (*Fru*) aos 7 dias (Figs. 6a, b), período no qual as plantas estavam sofrendo forte estresse, danos foto-oxidativos e abscisão foliar; e 2- o aumento do conteúdo de Sacarose (*Suc*) a partir dos 7-14 dias (Fig. 6c), período de emissão de folhas novas. O conteúdo de sacarose foi mais elevado em plantas do sol até os 120 dias, igualando-se ao controle aos 180 dias.

O pico de *Fru* e *Glu* observado aos 7 dias não foram decorrentes da degradação da *Suc*, uma vez que, neste período, não foi observada sua redução. O aumento pode ter sido decorrente da translocação ou mobilização destes compostos para as folhas que estavam sofrendo injúrias e, assim, estes dois açúcares podem estar relacionados à fase inicial do estresse, funcionando como sinalizadores. Já o aumento da concentração de *Suc* por um período prolongado (7-120 dias), pode indicar sua relação com a fase de rustificação ao estresse por elevada irradiância.

A rafinose é encontrada em baixos níveis nas folhas, mas possui importante papel de proteção a estresse, principalmente contra dessecação (Souza, Morais e Figueiredo-Ribeiro, 2005). A concentração de rafinose (*Raf*) apresentou grande variação durante o período de análise, havendo um pico para as plantas em pleno sol aos 20 dias (Fig. 6d).

As variações dos carboidratos podem indicar que, além do papel de reserva, estes compostos estejam relacionados a mecanismo adaptativos em resposta a estresse, como observado por Dias-Tagliacozzo et al. (2004) em condições de baixa temperatura e dessecação, por Würth et al. (2005) durante estiagem, e por Chaves Filho e Stacciarini-Seraphin (2001), Mendes et al. (2007) e Cuzzuol e Clippel (2009) em plantas sob restrição hídrica. Além de compostos protetores contra diferentes estresses, quando uma planta entra em crescimento ativo, o metabolismo de carboidratos se torna mais intenso, elevando principalmente os teores de sacarose (Borba, Scarpate Filho e Kluge 2005). Sendo assim, o aumento expressivo do conteúdo de carboidratos totais, atribuído principalmente ao aumento de *Suc*, pode ter ocorrido pelo aspecto protetor deste açúcar, mas também devido ao crescimento ativo das plantas que, durante o período inicial das análises (7-14 dias), estavam emitindo folhas novas. Isso porque a regulação osmótica exercida pela *Suc* que confere seu aspecto de proteção, também pode estar ligada ao processo de alongamento celular (entrada de água para o interior das células).

Sabe-se ainda que açúcares como *Suc* e *Glu* podem atuar nas respostas anti-oxidantes de plantas sob estresse. De acordo com Coué et al. (2006), diferentes condições de estresse, como o excesso de energia radiante, podem causar o acúmulo de espécies reativas de oxigênio (EROs), que também estão associadas ao acúmulo de açúcares solúveis. Estes atuam na regulação dos processos metabólicos das EROs e, portanto, a investigação do metabolismo anti-oxidativo relacionado ao metabolismo dos carboidratos solúveis poderia levantar informações importantes para o entendimento de respostas adaptativas ao estresse por luminosidade em pau-brasil.

Após os 60 dias, observou-se que o conteúdo foliar de carboidratos em plantas em pleno sol foi igual ao controle. De acordo com Larcher (2000), a planta sob estresse atravessa uma sucessão de fases: o início do distúrbio é caracterizado pela perda da estabilidade das estruturas e das funções metabólicas (fase de sinalização), quando foi observado maior conteúdo foliar de *Fru* e *Glu*. Se a intensidade do agente estressor continuar, a planta entra na fase de rustificação, aonde ocorre à síntese protéica e de outras substâncias de proteção. Neste caso, *Suc* em maior concentração pode ter atuado como um agente protetor. O sucesso da rustificação leva a fase de resistência ao estresse contínuo, ou seja, um ajustamento ou adaptação à nova condição de crescimento. Mendes et al. (2007) observaram que após o término do estresse, os teores de carboidratos apresentaram redução, voltando aos valores pré-estresse. No entanto, a redução dos teores de carboidratos pode estar relacionada também à menor atividade fotossintética, como observado em espécies tropicais por Lemos Filho (2000) e Franco, Matsubara e Orthen (2007). Neste estudo, no período final de análise, quando verificadas concentrações similares de carboidratos entre as plantas em pleno sol e do controle, observou-se também baixo desempenho fotoquímico em plantas transferidas para pleno

sol, indicando fotoinibição. Assim, não é possível afirmar se o aumento da concentração de carboidratos está associado com a função de proteção, auxiliando na resistência ao estresse, ou se a redução destes compostos, observada após 60 dias, se deve ao comprometimento da eficiência fotossintética e, assim, a redução da produção de fotossimilados.

Conclusões e Considerações Finais

As respostas verificadas em plantas jovens de pau-brasil indicam que a exposição à radiação solar direta causa fotoinibição da fotossíntese, o que se configura como uma condição de estresse. A fase de sinalização do estresse ocorreu nos dois primeiros dias, havendo abscisão de grande parte das folhas. A partir dos 14 dias, as folhas novas formadas apresentaram alteração significativa da morfoanatomia foliar, da concentração dos pigmentos e dos carboidratos solúveis, indicando plasticidade morfofisiológica, e recuperação parcial da eficiência fotoquímica.

Em plantas submetidas ao pleno sol, foi verificada fotoinibição durante todo o período de análise. Porém, se em conjunto com mecanismos eficientes de fotoproteção, a fotoinibição pode representar a compensação entre a dissipação não-fotoquímica efetiva da energia excedente (em decorrência da alta irradiância) e a fase bioquímica da fotossíntese. E para determinar se a fotoinibição representa ou não o comprometimento da fotossíntese torna-se necessária maior investigação sobre os mecanismos de ajustamento, reparo e fotoproteção relacionados ao processo fotossintético.

Nas condições de estudo, as plantas jovens de pau-brasil apresentaram capacidade de tolerância à elevada irradiância. Embora outros aspectos ainda possam ser investigados em ambiente controlado, sugere-se o estudo ecofisiológico de *C. echinata* em condições de campo com a finalidade de facilitar seu manejo e o uso desta espécie em reflorestamentos.

Agradecimentos

À Fundação Biodiversitas, a Fundação de Apoio à Pesquisa do Espírito Santo (FAPES), e a Fundação de Apoio Científico e Tecnológico da Prefeitura Municipal de Vitória (FACITEC), pelo apoio financeiro, ao Dr. Carlos Albeto Labate, supervisor do Laboratório Max Feffer de Genética de Plantas da ESALQ- USP, Piracicaba, SP- Brasil, onde foram realizadas as análises de carboidratos. O primeiro autor agradece à FACITEC pela bolsa de Pós-Graduação.

Referências

- Almeida LP et al. (2004) Crescimento inicial de plantas de *Cryptocaria aschersoriana* Mez. submetida a níveis de radiação solar. Ciênc Rural 34(1):83-88
- Boeger MRT et al. (2006) Estrutura foliar de seis espécies do sub-bosque de um remanescente de Floresta Ombrófila Mista. Hoehnea 33(4):521-531
- Boeger MRT et al. (2008) Variabilidade morfológica foliar de *Miconia sellowiana* (DC.) Naudin (Melastomataceae) em diferentes fitofisionomias do Estado do Paraná. R Bras Bot 31(3):443-452

- Borba MR, Scarpate Filho JA, Kluge RA (2005) Teores de carboidratos em pessegueiros submetidos a diferentes intensidades de poda verde em clima tropical. *R Bras Frutic* 27(1):68-72
- Campos MAA, Uchida T (2002) Influência do sombreamento no crescimento de mudas de três espécies amazônicas. *Pesq Agropec Bras* 37(3):281-288
- Campostrini E, Maestri M (1998) Photosynthetic potential of five genotypes of *Coffea canephora* Pierre. *Braz J Plant Physiol* 10(1):13-18
- Cao KF (2000) Leaf anatomy and chlorophyll content of 12 woody species in contrasting light conditions in a Bornean heath forest. *Can J Bot* 78:1245-1253
- Casagrande Jr JG, et al. (1999) Influência do sombreamento sobre os teores de carboidratos e fenóis em estacas semilenhosas de araçazeiro. *Pesq Agropec Bras* 34(12):2219-2223
- Chaves Filho JT, Stacciarini-Seraphin E (2001) Alteração no potencial osmótico e teor de carboidratos solúveis em plantas jovens de lobeira (*Solanum lycocarpum* St.-Hil.) em resposta ao estresse hídrico. *R Bras Bot* 24(2): 199-204
- Coué I et al. (2006) Involvement of soluble sugars in reactive oxygen species balance and responses to oxidative stress in plants. *J Exp Bot* 57 (3):449-459
- Christen D et al. (2007) Characterization and early detection of grapevine (*Vitis vinifera*) stress responses to escape disease by *in situ* chlorophyll fluorescence and comparison with drought stress. *Environ Exp Bot* 60:504–514
- Cuzzuol GRF, Clippel JK (2009) Aspectos ecofisiológicos de *Sinningia aghensis* Chautems em condições de campo. *Hoehnea* 36(1):73-81
- Demmig-Adams B, Adams WW (2006) Photoprotection in an ecological context: the remarkable complexity of thermal energy dissipation. *New Phytol* 172:11-21
- Dias DP, Marengo RA (2007) Fotossíntese e fotoinibição em mogno e acariquara em função da luminosidade e temperatura foliar. *Pesq Agropec Bras* 42:305-311
- Dias-Tagliacozzo GM et al. (2004) Fructan and water suppression in intact and fragmented rhizophores of *Vernonia herbaceae*. *Braz Arc Biol Technol* 47:363-373
- Dickison WC (2000) Integrative Plant Anatomy. Academic Press, London
- Duz SR et al. (2004) Crescimento inicial de três espécies de arbóreas da floresta atlântica em resposta a variação na quantidade de luz. *R Bras Bot* 27(3):587-596
- Fermino-Jr PCP (2004) Anatomia ecológica comparada de folhas de *Guapira opposita* (Vell.) Reitz (Nyctaginaceae) na vegetação de restinga e na Floresta Ombrófila Densa. Dissertação, Universidade Federal de Santa Catarina
- Franco AC, Matsuba S, Orthen B (2007) Photoinhibition, carotenoid composition and the co-regulation of photochemical and non-photochemical quenching in neotropical savanna trees. *Tree Physiol* 27:717-725
- Gebler A et al. (2005) Ecophysiology of selected tree species in different plant communities at the periphery of the Atlantic Forest of SE – Brazil III. Three legume in a semi-deciduous dry forest. *Trees* 19:523-530
- Gerrits PO (1964) The application of glycol metacrylate histotechnology: some fundamental principles. *Leica Gmbh*
- Gilmore AM et al. (1996) Comparative time-resolved photosystem II chlorophyll *a* fluorescence analyses reveal distinctive differences between photoinhibition reaction center damage and xanthophyll cycle-dependent energy dissipation. *Photochemistry and Photobiology* 64:552-563

- Gonçalves JFC et al. (2005) Growth, photosynthesis and stress indicators in young rosewood plants (*Aniba rosaeodora* Ducke) under different light intensities. *Braz J Plant Physiol* 17(3):325-334
- Gonçalves JFC, Santos-Jr UM (2005) Utilization of the chlorophyll a fluorescence technique as a tool for selecting tolerant species to environments of high irradiance. *Braz J Plant Physiol* 17(3):307-313
- Gonçalves JFC et al. (2007) Energetic flux and performance index in copaíba (*Copaifera multijuga* Hayne) and mahogany (*Swietenia macrophylla* King) seedlings grown under two irradiance environments. *Braz J Plant Physiol* 19(3):171-184
- Gurevitch J, Scheiner SM, Fox GA (2009) *Ecologia Vegetal*. Artmed, Porto Alegre
- Hendry GAF, Price AH (1993) Stress indicators: chlorophylls and carotenoids. In: Hendry GAF, Grime JP (eds) *Methods in comparative plant ecology*. Chapman & Hall, London, pp 148-152
- Houter NC, Pons TL (2005) Gap size on photoinhibition in understorey saplings in tropical rainforest. *Plant Ecol* 179:43-51
- Hunt R (1982) *Plant growth curves: the functional approach to plant growth analysis*. Edward Arnold Publishers, London
- Johansen DA (1940) *Plant Microtechnique*. McGraw-Hill Co., New York
- Kilch MR (2000) Leaf variation in *Elaeagnus angustifolia* related to environmental heterogeneity. *Environ Exp Bot* 44:171-183.
- Kitajima K (1994) Relative importance of photosynthetic traits and allocation patterns as correlates of seedling shade tolerance of 13 tropical trees. *Oecologia* 98:419-428
- Kitajima K (1996) Ecophysiology of tropical tree seedlings. In: Mulkey SS, Chazdon RL, Smith AP (eds) *Tropical forest plant ecophysiology*. Chapman & Hall, New York, pp 559-595
- Kitajima K, Hogan KP (2003) Increases of chlorophyll *a/b* ratios during acclimation of tropical woody seedlings to nitrogen limitation and high light. *Plant Cell Environ* 26:857-865
- Laisk A et al. (2005) Adjustment of leaf photosynthesis to shade in a natural canopy: rate parameters. *Plant Cell Environ* 28:375-388
- Lambers H, Poorter H (1992) Inherent variation in growth rate between higher plants: a search for physiological causes and ecology consequences. *Adv Ecol Res* 23:187-261
- Lambers H, Chapin FS, Pons TL (1997) *Plant Physiological Ecology*. Springer-Verlag, New York
- Larcher W (2000) *Ecofisiologia Vegetal*. Rima, São Carlos
- Lemos Filho JP (2000) Fotoinibição em três espécies do cerrado (*Annona crassifolia*, *Eugenia dysenterica* e *Campomanesia adamantium*) na estação seca e na chuvosa. *R Bras Bot* 23:45-50
- Lichtenthaler HK (1987) Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. In: Packer L, Douce R (eds) *Methods in Enzymology*. Academic Press, London, pp 350-381
- Lima Jr et al. (2006) Aspectos fisionômicos de plantas jovens de *Cupania vernalis* Camb. submetidas a diferentes níveis de sombreamento. *Árvore* 30(1):33-41
- Magalhães NS, Marengo RA, Mendes KR (2009) Aclimação de mudas de acariquara à alta irradiância. *Pesq Agropec Bras* 44(7):687-694
- Marengo RA, Lopes NF (2009) *Fisiologia Vegetal*. UFV, Viçosa

- Martinazzo EG et al. (2007) Efeito do sombreamento sobre o crescimento inicial e teor de clorofila foliar de *Eugenia uniflora* Linn. (Pitanga) – família Myrtaceae. R Bras Bioc 5(2):162-164
- Marques AR et al. (2000) Variations in leaf characteristics of two species of *Miconia* in the Brazilian cerrado under different light intensities. Trop Ecol 41:47-60
- Maxwell K, Johnson GN (2000) Chlorophyll fluorescence - a practical guide. J Exp Bot 51(345):659-668
- Mendes FS et al. (2007) Níveis de prolina e carboidratos solúveis totais em folhas de mogno (*Swietenia macrophylla* King R.A) induzidas ao estresse hídrico e reidratação. R Bras Bioc 5(2):939-941
- Mendes MM, Gazarini LC, Rodrigues ML (2001) Acclimation of *Myrtus communis* to contrasting Mediterranean light environments – effects on structure and chemical composition of foliage and plant water relations. Environ Exp Bot 45:164-178
- Mengarda LHG et al. (2009) Light as an indicator of ecological succession in brazilwood (*Caesalpinia echinata* Lam.) Braz J Plant Physiol 21(1):55-63
- Morais RR et al. (2007) Chloroplastid pigment contents and chlorophyll *a* fluorescence in Amazon tropical three species. Árvore 31(5):959-966
- Nakazono EM et al. (2001) Crescimento inicial de *Euterpe edulis* Mart. em diferentes regimes de luz. R Bras Bot 24(2):173-179
- Niyogi K (1999) Photoprotection Revisited: Genetic and Molecular Approaches. Ann Rev Plant Physiol Plant Mol Biol 50:333-359
- O'Brien TP, Feder N, McCully ME (1964) Polychromatic staining of plant cell walls by toluidine blue O. Protoplasma 59:368-373
- Oguchi R, Hirosaka K, Hisose T (2003) Does the photosynthetic light-acclimation need change in leaf anatomy? Plant Cell Environ 26:505-512
- Oguchi R, Hirosaka K, Hisose T (2005) Leaf anatomy as a constraint for photosynthetic acclimation: differential responses in leaf anatomy to increasing growth irradiance among three deciduous trees. Plant Cell Environ 28:916-927
- Osunkoya OO et al. (1994) Influence of seed size and seedling ecological attributes on shade-tolerance in northern Queensland. J Ecol 82:149-163
- Parida AK, Das AB, Mitra B (2004) Effects of salt on growth, ion accumulation, photosynthesis and leaf anatomy of the mangrove, *Bruguiera parviflora*. Trees 18:167-174
- Rego GM, Possamai E (2006) Efeito do sombreamento sobre o teor de clorofila e crescimento inicial de jequitibá-rosa. Bol Pesq Flo 53:179-194
- Ribeiro RV et al. (2004) Chlorophyll fluorescence of tropical tree species in a semi-deciduous forest gap. Arvore 28(1):21-27
- Santiago EJA de et al (2001) Aspectos da anatomia foliar da pimenta-longa (*piper hispidinervium* C.DC.) sob diferentes condições de luminosidade. Cienc Agrotec 25(5):1035-1042
- Scalon SPQ et al. (2003) Crescimento inicial de mudas de *Bombacopsis glabra* (Pasq.) A. Robyns sob condição de sombreamento. Árvore 27(6):753-758

- Schluter U et. al (2003) Photosynthetic performance of an *Arabidopsis* mutant with elevated stomatal density (sdd1-1) under different lighth regimes. *J Exp Bot* 54(383):867-874
- Shiple B (2006) Net assimilation rate, specific leaf area and leaf mass ratio: which is most closely correlated with relative growth rate? A meta-analysis. *Funct Ecol* 20:565-574
- Smeekens S (2000) Sugar-induced signal transduction in plants. *Ann Rev Plant Physiol Plant Mol Biol* 51:49-81
- Souza A, Moraes MG, Figueiredo-Ribeiro RCL (2005) Gramíneas do cerrado: carboidratos não-estruturais e aspectos ecofisiológicos. *Acta Bot Bras* 19(1):81-90
- Souza RP, Válio IFM (2003) Seedling growth of fifteen Brazilian tropical tree species differing in successional status. *R Bras Bot* 26(1):35-47
- Strasser RJ, Tsimilli-Michael M, Srivastava A (2004) Analysis of the fluorescence transient. In: George C, Papageorgiou C, Govindjee (eds) *Chlorophyll Fluorescence: A Signature of Photosynthesis*. *Advances in Photosynthesis and Respiration Series*. Springer, Dordrecht, pp 321–362
- Tan Y et al. (2000) Resolution of kinetic system of simultaneous degradation of chlorophyll *a* and *b* by Parafac. *Analytic Chem Acta* 412: 195-202
- Torres Neto A et al. (2002) Portable chlorophyll meter for the quantification of photosynthetic pigments, nitrogen and the possible use for assessment of the photochemical process in *Carica papaya* L. *Braz J Plant Physiol* 14(3):203-210
- Tóth SZ (2006) Analysis and application of the fast chl-*a* fluorescence (OJIP) transient complemented with simultaneous 820 nm transmission measurements. Doctoral thesis, University of Geneva
- Vogelmann TC, Nishio JN, Smith WK (1996) Leaves and light capture: light propagation and gradients of carbon fixation within leaves. *Trend Plant Sci* 1:65-70
- Würth MKR et al. (2005). Non-structural carbohydrates pools in a tropical forest. *Oecologia* 143:11-24

Tabelas

Tabela 1 Área foliar específica (*AFE*), massa foliar específica (*MFE*) e teor de água (*Teor H₂O*) de plantas de *C. echinata* submetidas ao tratamento *Controle* e ao tratamento *Sol*, aos 0, 2, 4, 7, 14, 20, 30, 40, 50, 60, 120 e 180 dias. Linha pontilhada refere-se ao período de emissão de folhas novas.

<i>Tempo</i> (dias)	<i>AFE (cm² g⁻¹ MF)</i>		<i>MFE (mg MF cm⁻²)</i>		<i>Teor H₂O (mg H₂O cm⁻²)</i>	
	<i>Controle</i>	<i>Sol</i>	<i>Controle</i>	<i>Sol</i>	<i>Controle</i>	<i>Sol</i>
0	250 aAB	254 a A	4,04 aAB	3,84 aF	18,0 aAB	17,8 aEF
2	241 aABC	226 aAB	4,17 aAB	4,44 aEF	18,0 aAB	17,2 aEF
4	233 aABC	188 bBC	4,70 aAB	5,44 aDE	17,2 aAB	15,4 aF
7	246 aABC	180 bBC	3,80 bB	5,33 aDEF	17,3 aAB	19,0 aCDEF
14	214 aABC	161 bC	4,96 bAB	6,23 aCD	14,6 bAB	17,9 aDEF
20	249 aAB	172 bBC	4,10 bAB	5,94 aCDE	18,2 bAB	22,0 aABCDE
30	232 aABC	187 bBC	3,79 bB	5,39 aDE	14,4 bB	21,0 aBCDE
40	211 aABC	143 bCD	4,82 bAB	6,71 aCD	17,3 bAB	23,9 aABC
50	207 aABC	135 bCD	4,64 bAB	7,18 aBC	18,7 bAB	22,9 aABCD
60	191 aC	143 bCD	5,35 bA	6,60 aCD	18,1 bAB	26,3 aA
120	267 aA	141 bCD	3,61 bB	8,38 aAB	18,8 bAB	26,0 aAB
180	234 aABC	104 bD	4,34 bAB	9,20 aA	19,5 bA	26,7 aA

Letras minúsculas referem-se à diferença entre os tratamentos. Letras maiúsculas referem-se à diferença no tempo. Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,01$), $n=5$.

Tabela 2 Dados anatômicos quantitativos de foliólulos de *C. echinata* do controle e submetidas ao pleno sol, aos 0, 2, 4, 7, 14, 20, 30, 40, 50, 60, 120 e 180 dias. Valores médios das espessuras do limbo, cutícula, epiderme da face adaxial e abaxial, parênquimas paliçádico e lacunoso, razão entre as espessuras dos parênquimas paliçádico e lacunoso (PP/PL) e densidade estomática (*Estômatos/mm²*). Linha pontilhada refere-se ao período de emissão de folhas novas.

Tempo (dias)	Limbo		Cutícula		Epiderme da face adaxial		Parênquima Paliçádico		Parênquima Lacunoso		Epiderme da face abaxial		PL/PP		Estômatos/mm ²	
	Espessura (µm)															
	C	S	C	S	C	S	C	S	C	S	C	S	C	S	C	S
0	123 aE	120 aFG	2,74 aA	2,57 aG	16,0 aABC	15,2 aCD	36,8 aCD	37,8 aEF	57,9 aD	53,3 bE	11,1 bC	12,4 aCD	1,60 aABC	1,41 bBC	213 aAB	198 bE
2	125 aDE	125 aF	2,92 aA	2,76 aEFG	16,7 aAB	14,3 bD	36,7 bCD	41,4 aDE	59,2 aCD	55,8 aDE	11,4 aBC	11,9 aCD	1,63 aABC	1,38 bBC	229 aA	190 bEF
4	133 aBCD	115 bG	3,19 aA	2,65 bFG	16,3 aAB	7,5 bE	43,7 aAB	34,5 aF	60,4 aCD	58,9 aDE	12,9 aA	13,1 aABC	1,40 bC	1,75 aA	181 aDE	174 aF
14	125 bDE	138 aE	3,21 aA	3,13 aDEFG	17,2 aA	16,4 aBC	35,4 bD	46,2 aD	59,5 aCD	62,5 aD	12,2 aABC	12,2 aCD	1,82 aA	1,37 bBCD	209 bABC	224 aD
20	134 bABCD	167 aD	3,27 aA	3,40 aCDE	14,7 bBC	18,3 aAB	39,5 bABCD	63,1 aBC	66,6 bABC	72,9 aC	11,2 bBC	12,7 aBCD	1,71 aAB	1,33 bBCDE	170 bE	310 aB
30	125 bDE	146 aE	3,02 aA	3,24 aDEF	16,3 aAB	14,2 bD	35,7 bD	58,5 aC	61,2 aBCD	60,5 aDE	12,6 aAB	11,4 bD	1,74 aAB	1,05 bEF	212 bAB	285 aC
40	140 aAB	180 aC	3,01 bA	3,68 aCD	14,1 bC	16,0 aCD	45,3 bA	79,4 aA	68,3 aAB	70,7 aC	11,7 bABC	12,8 aBCD	1,51 aBC	0,91 bF	204 bBC	300 aBC
50	136 bABC	174 aCD	3,11 bA	4,85 aA	16,4 aAB	16,1 aCD	42,9 bABC	69,1 aB	64,7 bBCD	76,4 aC	11,7 bABC	12,6 aBCD	1,53 aABC	1,13 bCDEF	194 bBCD	286 aC
60	145 bA	204 aA	2,89 bA	4,54 aAB	16,8 bA	18,9 aA	41,7 bABCD	83,3 aA	73,1 bA	87,5 aB	11,3 bBC	13,2 aABC	1,78 aAB	1,07 bDEF	200 bBCD	298 aBC
120	128 bCDE	192 aB	3,33 bA	3,91 aBC	16,7 bAB	19,8 aA	36,6 bCD	67,2 aB	64,3 bBCD	89,4 aB	11,5 bABC	14,4 aA	1,79 aAB	1,35 bBCDE	192 bBCD	335 aA
180	126 bCDE	192 aB	3,27 bA	4,74 aA	16,2 aAB	19,2 aA	37,4 bBCD	60,6 aC	62,2 bBCD	97,6 aA	12,3 bABC	14,0 aAB	1,70 aABC	1,61 bABC	189 bCDE	299 aBC

Letras minúsculas referem-se à diferença entre os tratamentos. Letras maiúsculas referem-se à diferença no tempo. Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,01$), $n=20$.

Tabela 3 Concentrações de clorofilas totais (*Chl*), e de carotenóides (*Carot*) em plantas de *C. echinata* do controle e submetidas ao *pleno sol*, aos 0, 2, 4, 7, 14, 20, 30, 40, 50, 60, 120 e 180 dias. Linha pontilhada refere-se ao período de emissão de folhas novas.

<i>Tempo (dias)</i>	<i>Chl (mg g⁻¹MF)</i>		<i>Carot (mg g⁻¹MF)</i>	
	<i>Controle</i>	<i>Sol</i>	<i>Controle</i>	<i>Sol</i>
0	3,95 aABC	4,21 aA	1,34 aA	1,49 aA
2	4,15 aABC	2,65 bBC	1,37 aA	1,02 aA
4	4,40 aAB	2,77 bABC	1,46 aA	1,04 aA
7	4,25 aABC	2,54 bBCD	1,63 aA	1,04 aA
14	5,08 aAB	2,91 bAB	1,88 aA	1,41 aA
20	4,16 aABC	1,80 bBCD	1,27 aA	1,88 aA
30	4,58 aAB	1,75 bBCD	1,77 aA	0,75 bA
40	5,19 aA	2,09 bBCD	1,68 aA	0,79 bA
50	4,43 aAB	1,85 bBCD	1,50 aA	0,77 aA
60	5,40 aA	1,45 bBCD	2,01 aA	0,64 bA
120	2,79 aC	1,26 bCD	1,01 aA	0,60 aA
180	3,62 aBC	1,03 bD	1,30 aA	0,58 aA

Letras minúsculas referem-se à diferença entre os tratamentos. Letras maiúsculas referem-se à diferença no tempo. Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$), $n=5$.

Figuras



Fig. 1a-d Aspectos das plantas jovens de *C. echinata* submetidas à radiação solar direta. a: tempo inicial; b: período entre 2 e 7 dias, quando observado clorose, necrose e abscisão das folhas; c: período entre 7 e 14 dias, quando houve emissão de folhas novas; d: 60 dias.

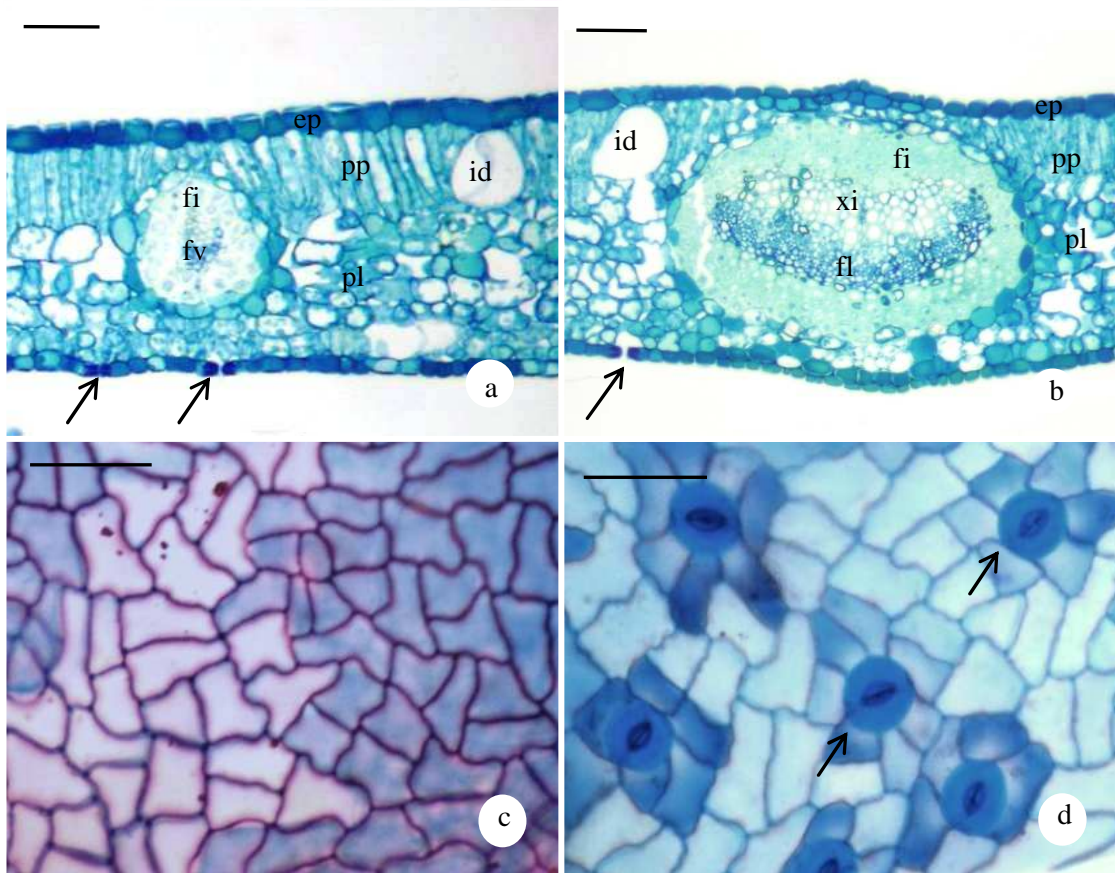


Fig. 2a-d Caracterização anatômica de foliólulos de *C. echinata*. **a-b:** Secções transversais **a.** Área internervural; **b.** Nervura central (Barras = 50 μ m). **c-d:** Secções paradérmicas. **c.** Face adaxial da epiderme; **d.** Face abaxial da epiderme (Barras = 25 μ m). Epiderme (ep); Estômatos (setas); Fibras (fi); Floema (fl); Feixe vascular (fv); Idioblasto (id); Parênquima lacunoso (pl); Parênquima paliçádico (pp); Xilema (xi).

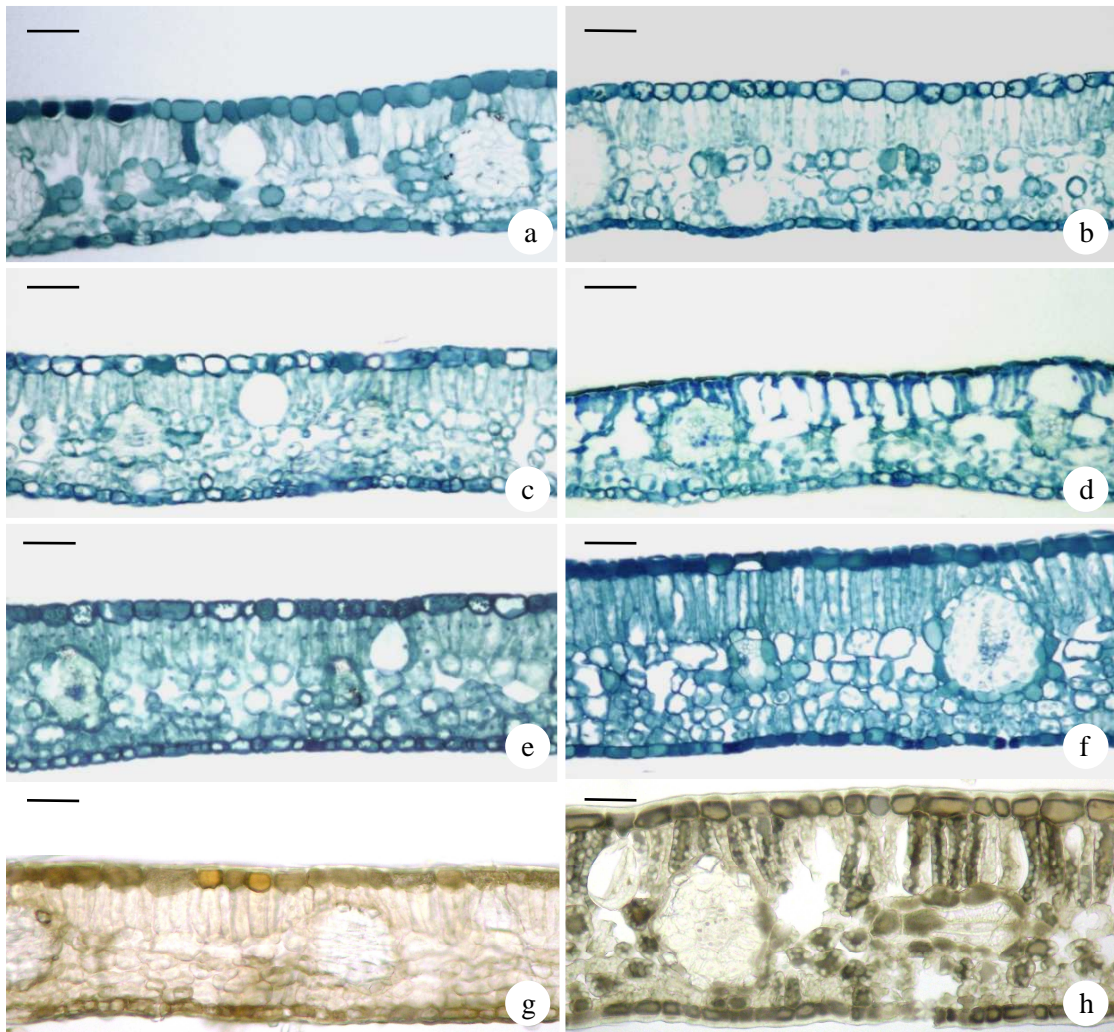


Fig. 3a-h Secções transversais de foliólulos de *C. echinata* do *controle* (coluna à esquerda) e submetidas ao *pleno sol* (coluna à direita). **a-b**: tempo inicial; **c-d**: 4 dias; **e-f**: 60 dias; **g-h**: teste histoquímico com cloreto férrico, evidenciando a presença de compostos fenólicos aos 180 dias. Barra = 50µm.

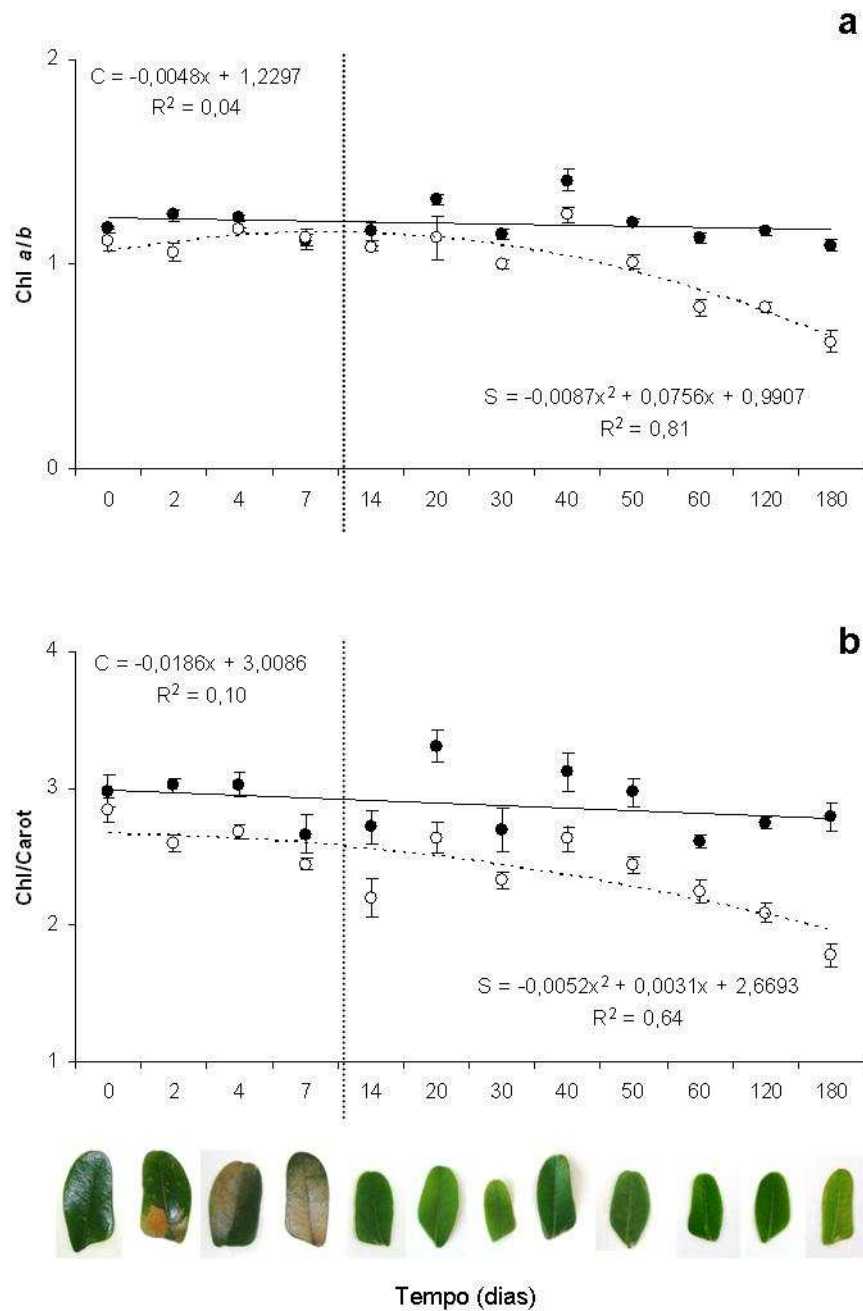


Fig. 4a Razão entre as concentrações de clorofila *a* e clorofila *b* (*Chl a/b*); **4b** Razão entre os teores de clorofilas totais e carotenóides (*Chl/Carot*), em plantas de *C. echinata* do controle (●) e submetidas ao *pleno sol* (○), aos 0, 2, 4, 7, 14, 20, 30, 40, 50, 60, 120 e 180 dias. Detalhe do aspecto dos foliólulos nos diferentes tempos. Linha pontilhada na vertical refere-se ao período de emissão de folhas novas. As barras verticais indicam o erro padrão da média (n=5); C = equação do controle (linha contínua), S = equação do sol (linha tracejada).

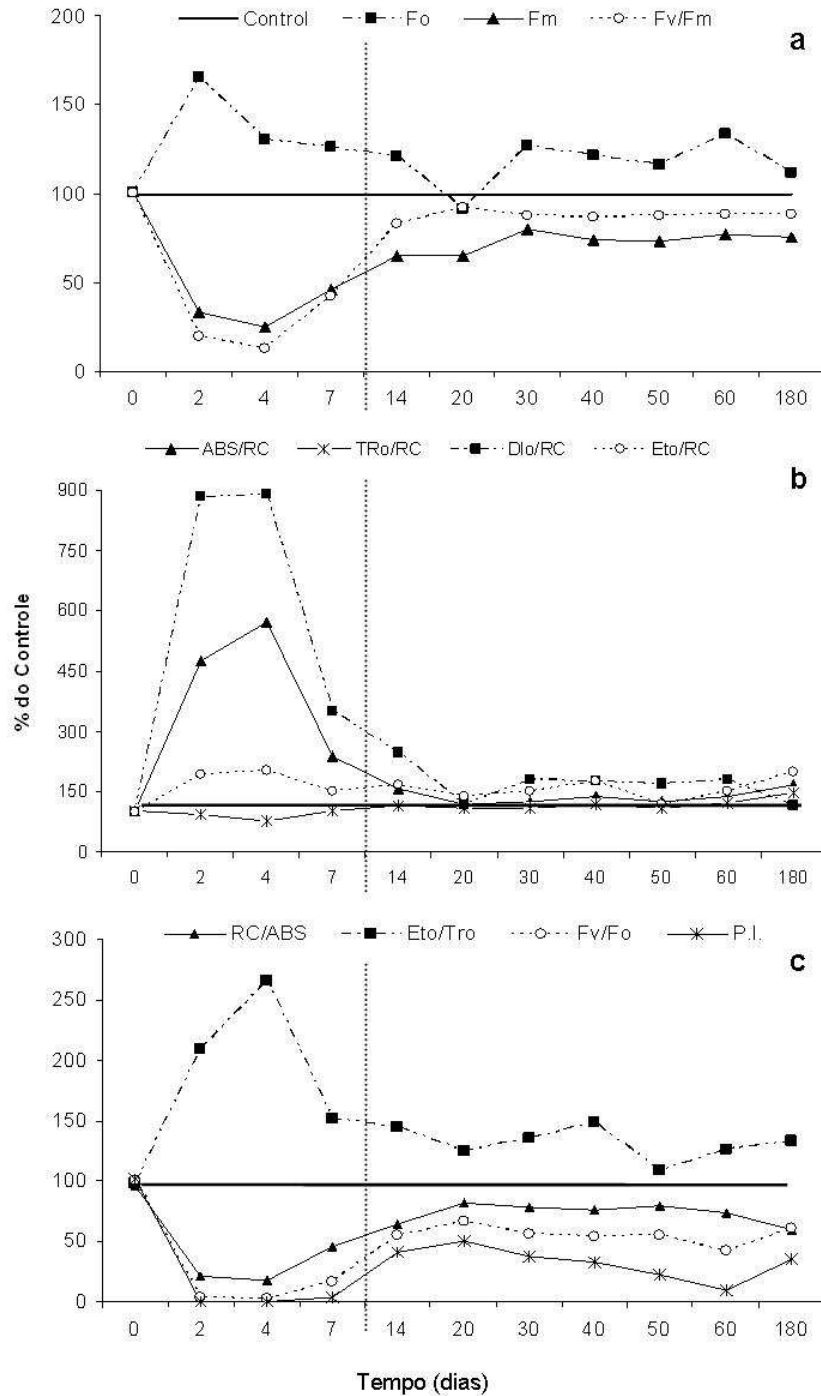


Fig. 5a-c Parâmetros da emissão da fluorescência da clorofila *a* das plantas de *C. echinata* submetidas ao *pleno sol* aos 0, 2, 4, 7, 14, 20, 30, 40, 50, 60, 120 e 180 dias. **a:** F₀ (fluorescência inicial), F_M (fluorescência máxima); F_V/F_M (eficiência quântica máxima potencial do FSII). **b:** Fluxo específico de energia por centro de reação (RC): ABS/RC (absorção); TR₀/RC (captura); DI₀/RC (dissipação); ET₀/RC (transporte); **c:** RC/ABS (razão entre o número de centros de reação ativos do FSII pela quantidade de luz absorvida pelo sistema antena), ET₀/TR₀ (probabilidade de um exciton capturado pelo RC do FSII mover um elétron na cadeia de transporte para além de Q_A); F_V/F₀ (eficiência quântica máxima efetiva do FSII); P.I. (índice de desempenho com base na absorção). Valores expressos em percentual em relação ao *controle* (= 100%), n=5. Linha pontilhada refere-se ao período de emissão de folhas novas.

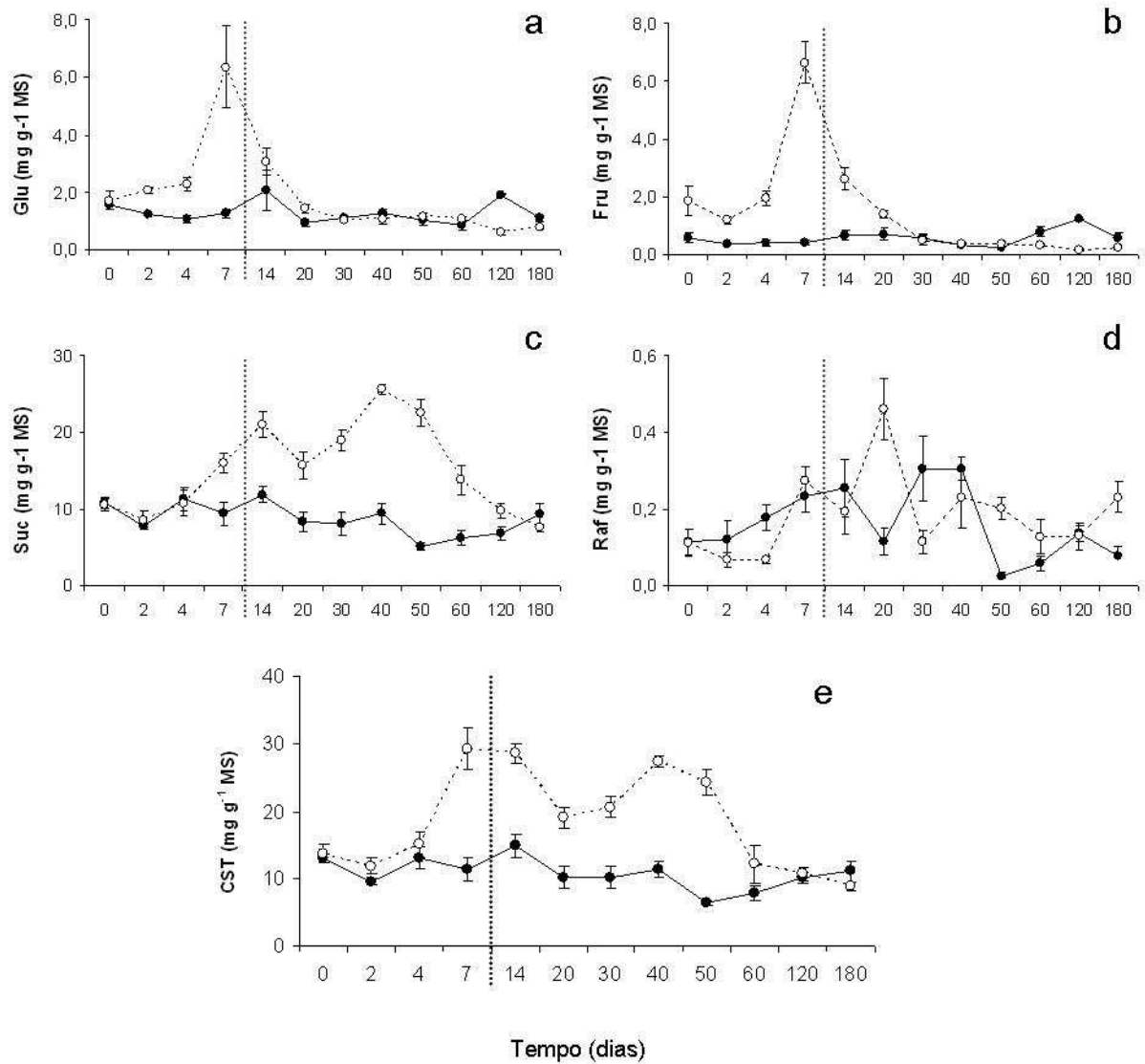


Fig. 6a-e Concentração foliar de carboidratos solúveis em plantas de *C. echinata* do controle (●) e submetidas ao pleno sol (○), aos 0, 2, 4, 7, 14, 20, 30, 40, 50, 60, 120 e 180 dias. **a:** Glicose (*Glu*); **b:** Frutose (*Fru*); **c:** Sacarose (*Suc*); **d:** Rafinose (*Raf*); **e:** Carboidratos solúveis totais (*CST*). As barras verticais indicam o erro padrão da média (n=6). Linha pontilhada na vertical refere-se ao período de emissão de folhas novas.

APÊNDICE -**Light as an indicator of ecological succession in brazilwood****(*Caesalpinia echinata* Lam.)**