

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

VINÍCIUS NOVO GAMA

ANÁLISES MORFOFISIOLÓGICAS DE PLANTAS DE PAU-BRASIL
(*Caesalpinia echinata* Lam.) CULTIVADAS EM PLENO SOL E EM
SOMBREAMENTO NATURAL

VITÓRIA
2013

VINÍCIUS NOVO GAMA

**Análises morfofisiológicas de plantas de pau-brasil (*Caesalpinia echinata*
Lam.) cultivadas em pleno sol e em sombreamento natural**

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. Geraldo Rogério Faustini Cuzzuol.

Vitória, 2013.

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

G184a Gama, Vinícius Novo, 1988-
Análises morfofisiológicas de plantas de pau-brasil (*Caesalpinia
echinata* Lam.) cultivadas em pleno sol e em sombreamento
natural / Vinícius Novo Gama. – 2013.
90 f.: il.

Orientador: Geraldo Rogério Faustini Cuzzuol.
Dissertação (Mestrado em Biologia Vegetal) – Universidade
Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências Humanas e
Naturais.

1. Ecofisiologia vegetal. 2. Sucessão ecológica. 3. Plantas –
Desenvolvimento. 4. Fotossíntese. 5. Plantas – Anatomia. 6.
Stress oxidativo. I. Cuzzuol, Geraldo Rogério Faustini. II.
Universidade Federal do Espírito Santo. Centro de Ciências
Humanas e Naturais. III. Título.

CDU: 57

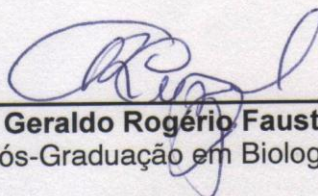
VINICIUS NOVO GAMA

"ANÁLISES MORFOFISIOLÓGICAS DE PAU-BRASIL (*Caesalpinia echinata Lam.*) CULTIVADAS EM PLENO SOL E EM SOMBREAMENTO NATURAL"

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

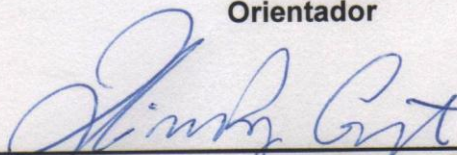
Aprovada em 26 de Fevereiro de 2013.

COMISSÃO EXAMINADORA

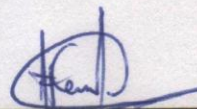


Profº Drº Geraldo Rogério Faustini Cuzzuol
Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal-UFES

Orientador



Profª Drª Viviana Borges Corte
Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal - UFES
Examinador Interno



Profº Drº José Francisco de Carvalho Gonçalves
Instituto Nacional Pesquisa Amazônica - INPA
Examinador Externo

*Aos meus pais, irmão,
namorada, familiares e amigos,
que tornaram possível a
realização deste trabalho,
dedico.*

AGRADECIMENTOS

Considerando esta dissertação como resultado de uma caminhada que não começou na UFES, agradecer pode não ser tarefa fácil, nem justa. Para não correr o risco da injustiça, agradeço de antemão a todos que de alguma forma passaram pela minha vida e contribuíram para a construção de quem sou hoje.

Aos meus pais, irmão, e a toda minha família que, com muito carinho e apoio, não mediram esforços para que eu chegasse até esta etapa de minha vida.

À Karen, sempre ao meu lado, companheira que me inspira dedicação e determinação nesta carreira acadêmica.

Aos amigos e colegas pelo incentivo, inspiração e apoio constantes.

Ao grupo do Laboratório de Fisiologia Vegetal da UFES, Joilton, Thiele e Leonardo que são tão importantes na minha vida acadêmica e pessoal. Cada um ajudou de forma indispensável no desenvolvimento deste trabalho.

À Universidade Federal do Espírito Santo, pela oportunidade de graduação e pós-graduação.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela essencial ajuda financeira.

Aos meus professores do Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal (PPGBV) pelo essencial aprendizado.

À orientação e amizade do professor Dr. Geraldo Rogério Faustini Cuzzuol, por idealizar este projeto e me aceitar em seu laboratório. Agradeço à professora Camilla Rozindo Dias Milanez e ao professor José Eduardo Macedo Pezzopane pela ajuda e apoio metodológico.

Aos funcionários e amigos do PPGBV, Ricardo e Elizabeth, pela disponibilidade e atenção com eficiência a qualquer hora.

À Reserva Natural da Vale pela autorização e apoio logístico na condução desse estudo em suas dependências físicas.

“Tu te tornas eternamente responsável por aquilo que cativas.”

Antoine de Saint-Exupéry

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 - Variantes da espécie *Caesalpinia echinata* Lam. A – Variante com foliólulos pequenos. B – Variante com foliólulos médios. C – Variante com foliólulos grandes. D – Comparação entre as três variantes. Figura de Juchum (2007).....29
- Figura 2 - Secções transversais do limbo de plantas jovens de pau-brasil (*Caesalpinia echinata* Lam.) em duas condições de luz diferente: pleno sol (A) e sombreamento natural (B). Barras vermelhas = 1µm. 47
- Figura 3 - Esquerda: folha de um indivíduo exposto ao sombreamento natural, evidenciando foliólulos médios de coloração verde escura. Direita: folha de um indivíduo em pleno sol com foliólulos médios com coloração verde claro. Barra = 2cm.....51
- Figura 4 - (A) Cinética da Fluorescência da Clorofila *a* (curva OJIP) em folhas de plantas de *C. echinata* do morfotipo folha pequena em pleno sol (círculo) e sombreamento natural (triângulo). (B) Representa a diferença das curvas OJIP (ΔV_t) entre os valores F_t de plantas em pleno sol (círculo) e plantas em sombreamento natural (triângulo). O eixo horizontal apresenta o tempo (ms) em escala logarítmica. E as letras O, J, I e P sinalizam o momento em que cada ponto ocorre na curva. As médias são referentes a 20 indivíduos por tratamento..... 53
- Figura 5 - Parâmetros da fotossíntese deduzidos a partir do teste OJIP para a análise da fluorescência transiente em folhas de plantas jovens de pau-brasil (*Caesalpinia echinata* Lam.) em duas condições de luz diferente: pleno sol (círculo) e sombreamento natural (triângulo). Avaliadas sob a perspectiva de dez parâmetros organizados e separados em quatro grupos: índices de desempenho, dissipação de elétrons por centro de reação ativo, cascata de rendimento quântico (indicada pela seta) e movimento dos elétrons pelos fotossistemas. Para cada parâmetro as médias foram normalizadas usando como referência a média das médias como unidade. As médias são referentes a 20 indivíduos por tratamento e as diferenças significativas entre os

tratamentos (5% de probabilidade, teste de Tukey) são indicadas pelo asterisco.....56

Figura 6 - Concentração foliar de carboidratos solúveis em folhas de plantas de *C. echinata* em pleno sol e sombreamento natural. As médias são referentes a 6 indivíduos por tratamento. Valores indicados com letras iguais não diferem pelo teste Tukey a 5%..... 59

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1 -Concentração de nutrientes foliares de plantas jovens de pau-brasil (*Caesalpinia echinata* Lam.) em duas condições de luz diferente: pleno sol e sombreamento natural. As médias são referentes a 5 indivíduos por tratamento.....44
- Tabela 2 -Concentração de nutrientes do solo nos locais de pleno sol e sombreamento natural. As médias são referentes a 5 pontos de coleta ao longo de toda extensão em que as plantas foram analisadas.....44
- Tabela 3 -Altura, diâmetro do caule, teor de água foliar, área foliar unitária (AFU) e massa foliar específica (MFE) de plantas jovens de pau-brasil (*Caesalpinia echinata* Lam.) em duas condições de luz diferente: pleno sol e sombreamento natural. As médias são referentes a 10 indivíduos por tratamento..... 45
- Tabela 4 -Dados anatômicos quantitativos de folhas jovens de pau-brasil (*Caesalpinia echinata* Lam.) em duas condições de luz diferente: pleno sol e sombreamento natural. Valores médios das espessuras do limbo, cutícula, epiderme da face adaxial e abaxial, parênquimas paliçádico e lacunoso, diâmetro do feixe vascular e razão entre as espessuras dos parênquimas lacunoso e paliçádico (PL/PP), e densidade estomática (mm^2). As médias são referentes a 6 indivíduos por tratamento. 48
- Tabela 5 -Concentrações de clorofila a, clorofila b, clorofila total e carotenóides; bem como, as razões entre clorofila a e b e clorofila total e carotenóides de plantas jovens de pau-brasil (*Caesalpinia echinata* Lam.) em duas condições de luz diferente: pleno sol e sombreamento natural. As médias são referentes a 6 indivíduos por tratamento. 51
- Tabela 6 -Temperatura ambiente e foliar; variação de carbono ambiente-folha (ΔCO_2) e carbono interno subestomático (*C_i*); radiação fotossinteticamente ativa (RFA), taxa de transpiração (*E*), condutância estomática (*gs*) e fotossíntese (*A*). Bem como as razões: eficiência do uso de água (*A/E*) e

eficiência intrínseca do uso de água (A/G_s) e eficiência aparente de carboxilação (A/C). As medidas foram realizadas em plantas jovens de pau-brasil (*Caesalpinia echinata* Lam.) em duas condições de luz diferente: pleno sol e sombreamento natural. As médias são referentes a 20 indivíduos por tratamento.....58

Tabela 7 -Valores médios para peroxidases, superóxido dismutase, teores de fenóis totais e capacidade antioxidante total (ABTS) das plantas de *C. echinata* em pleno sol e sombreamento natural. As médias são referentes a 6 indivíduos por tratamento..... 62

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

- Δ **CO₂** – Diferença entre as concentrações de carbono ambiente e foliar.
- Δ **Vt** – Diferença entre duas curvas OJIP.
- A** – Fotossíntese líquida.
- A/Ci** – Eficiência aparente de carboxilação da rubisco.
- A/E** – Eficiência no uso da água.
- A/g_s** – Eficiência intrínseca no uso da água.
- AFU** - Área foliar unitária.
- APX** - Peroxidase do ascorbato.
- CAT** – Catalase.
- Chl total** - Clorofila total.
- Chl/Carot** - Razão clorofila total/carotenóides.
- Chla** - Clorofila *a*.
- Chla/Chlb** - Razão clorofila total/carotenóides.
- Chlb** - Clorofila *b*.
- Ci** – Carbono foliar interno.
- E** – Taxa de transpiração.
- ERO'S** - Espécies reativas de oxigênio.
- ET₀/ABS** - Rendimento quântico do transporte de elétrons de Q_A⁻ até o 'pool' de plastoquinona (PQ).
- ET₀/TR₀** - Probabilidade de movimento dos elétrons de Q_A⁻ para PQ.
- FSI** – Fotossistema 1.
- FSII** – Fotossistema 2.
- g_s** – Taxa de condutância estomática.
- MFE** - Massa foliar específica.
- PI_{ABS}** – Índice de desempenho parcial.
- PI_{TOTAL}** - Índice de desempenho total.

PQ – Plastoquinona.

Q_A – Quinona a.

RC/ABS – Densidade de centros ativos dos fotossistemas.

RE₀/ABS - Rendimento quântico da redução dos aceptores finais do FSI.

RE₀/ET₀ . Probabilidade de movimento dos elétrons de PQ reduzido para os aceptores finais do FSI.

RE₀/TR₀ - Eficiência na captura de elétrons de PQ reduzido para os aceptores finais do FSI.

RFA – Radiação fotossinteticamente ativa.

T. amb. – Temperatura ambiental.

T. foliar – Temperatura foliar.

TR₀/ABS – Rendimento quântico na absorção até a redução do acceptor primário de elétrons do FSII (Q_A).

RESUMO

Caesalpinia echinata Lam. é uma arbórea da Mata Atlântica em risco de extinção. Dados já publicados demonstraram que esta espécie possui três variantes morfológicas foliares diferentes, sendo a variante de foliólulo pequeno considerada uma planta secundária na classificação sucessional de floresta, contrastando com os resultados de crescimento da variante de foliólulo médio observados em campo. O objetivo central deste trabalho foi caracterizar alguns aspectos morfológicos, bioquímicos e fisiológicos do morfotipo folha média de *C. echinata* em condições de irradiância contrastante. Este trabalho foi conduzido na Reserva Natural da Vale, no município de Sooretama, ES. Foram analisados foliólulos do terceiro ao quarto nós de plantas jovens de pau-brasil em duas condições de luz diferentes: a pleno sol e a sombreamento natural. As plantas a pleno sol apresentaram maior eficiência na captura de energia luminosa, seguida de melhor aproveitamento fotoquímico e maior assimilação líquida de carbono, o que possivelmente resultou em maior conteúdo de carboidratos solúveis. Em virtude do desequilíbrio fotossintético, presume-se que tenha ocorrido um excesso de atividade fotorrespiratória das plantas em sombreamento, na tentativa de evitar a formação de radicais livres pelos compostos redutores formados. A energia que deveria estar sendo utilizada nas reações fotoquímicas e/ou bioquímicas da população em sombreamento foi, em sua maior parte, dissipada como calor, reemitida como fluorescência ou translocada para produção de compostos de defesa antioxidativa do metabolismo secundário. Logo, a maior intensidade de irradiância proporcionou maior crescimento da população exposta ao pleno sol em relação às plantas cultivadas em sombreamento natural. A morfologia anatômica adaptada e os teores de pigmentos fotossintéticos das plantas expostas ao sol apresentados neste trabalho, também indicam forte tolerância desta variante à elevada irradiância. Os resultados apresentados neste trabalho demonstram que a radiação solar direta configura-se como condição mais adequada que o sombreamento natural para o crescimento a variante foliar média do pau-brasil. Diante dessas diferenças ecofisiológicas das variantes da espécie *C. echinata*, é necessário uma reestruturação taxonômica da espécie em possíveis táxons sub-específicos, para assim, restabelecemos uma nova classificação do pau-

brasil na sucessão florestal, e conseqüentemente, fornecer subsídios para o correto plantio e manejo desta planta nos programas de reflorestamento.

Palavras-chave: Sucessão florestal, eficiência fotossintética, anatomia foliar, pigmentos, carboidratos solúveis, estresse oxidativo.

ABSTRACT

Caesalpinia echinata Lam. is an endangered tree of the Atlantic Forest. Published data has demonstrated that this species has three different leaf morphological variants, and the variant with small leaflets is considered a secondary classification in forest succession, in contrast with the results of growth of the medium leaflet variant observed in the field. The central aim of this study was to characterize some morphological, biochemical and physiological leaf morphotypes of average *C. echinata* contrasting under conditions of irradiance. This work was conducted at the Reserva Natural da Vale in the municipality of Sooretama, ES. We analyzed average leaflets of fully expanded leaves of the third-fourth of young plants of Brazil wood in two different light conditions: full sun and natural shade. Plants in full sun showed greater efficiency in capturing light energy, followed by a photochemical better utilization and higher net carbon assimilation, which possibly resulted in a higher content of soluble carbohydrates. Because of the imbalance in photosynthesis presumed to have been an excess of plant photorespiratory activity in shading in an attempt to prevent the formation of free radicals by reducing compounds formed. The energy that should be being used in photochemical reactions and / or biochemical plants to shading was, for the most part, dissipated as heat or re-emitted as fluorescence translocated to the production of antioxidative defense compounds of secondary metabolism. Therefore, the high light condition provided greater growth of population exposed to full sun in relation to plants exposed to low light. The morphology and anatomic levels of photosynthetic pigments of plants exposed to the sun presented in this study also indicate a strong tolerance to this variant of intense light condition. The results presented in this paper show that the direct solar radiation is configured as a condition more suitable for the planting of the shading variant mean leaf of Brazil wood. Given these differences in morphology and ecophysiological variants of the species *C. echinata*, a restructuring is necessary in taxonomic species in possible sub-specific taxa, for thus reestablish a new classification of Brazil wood in forest succession, and thus provide support for proper planting and management of this plant in reforestation programs.

Keywords: Forest succession, photosynthetic efficiency, leaf anatomy, pigments, soluble carbohydrates, oxidative stress.

SUMÁRIO

1 - INTRODUÇÃO	19
1. 1 - A luminosidade e o crescimento dos vegetais	21
1. 2 - A luminosidade e o metabolismo primário dos vegetais	22
1. 3 - A luminosidade e o estresse oxidativo	26
1. 4 - O Pau-Brasil e a luminosidade	28
1. 5 - Objetivo Geral.....	32
1. 6 - Objetivos Específicos	32
2 - MATERIAIS E MÉTODOS.....	34
2. 1 - Área de Estudo	34
2. 2 - Crescimento.....	34
2. 3 - Anatomia Foliar	35
2. 4 - Pigmentos Fotossintéticos.....	35
2. 5 - Cinética de Emissão da Fluorescência Transiente ou Polifásica (OJIP).....	36
2. 6 - Trocas Gasosas.....	37
2. 7 - Extração e Quantificação de Carboidratos Solúveis	38
2. 8 - Determinação de Proteínas Totais	39
2. 9 - Extração e Quantificação de Enzimas Antioxidantes	40
2. 9. 1 - Superóxido Dismutase (SOD, E.C. 1.15.1.1).....	40
2. 9. 2 -Atividade das Peroxidasas (POD. EC. 1.11.1.7).....	41
2. 10 - Compostos Fenólicos Totais.....	42
2. 11 - Capacidade Antioxidante Total (Método ABTS)	42
2. 12 - Nutrientes Minerais	42
2. 13 - Análise Estatística.....	43
3 - RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	44
3. 1 - Crescimento.....	44
3. 2 - Anatomia Foliar	47
3. 3 - Pigmentos Fotossintéticos.....	50

3. 4 - Cinética de Emissão da Fluorescência Transiente ou Polifásica (OJIP).....	52
3. 5 - Trocas Gasosas.....	56
3. 6 - Carboidratos Solúveis	58
3. 7 - Compostos Antioxidantes	59
4 - CONCLUSÕES E CONSIDERAÇÕES FINAIS	63
5 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	65

1 - INTRODUÇÃO

A Mata Atlântica, além de seu papel no ciclo global do carbono (FAVARETTO et al, 2011), é considerada um dos *hotspots* em biodiversidade (MYERS et al., 2000) possuindo remanescentes que correspondem a cerca de 7% da área original, distribuídos em pequenos fragmentos isolados (FUNDAÇÃO SOS MATA ATLÂNTICA, 2002) e circundados, em sua maioria, por áreas ocupadas por atividades agropecuárias.

Estudos com nativas deste bioma têm sido realizados para avaliação do comportamento das espécies quando submetidas a condições ambientais diversas, a fim de gerarem propostas para execução de programas de recuperação de áreas degradadas (ALMEIDA et al., 2005; MENGARDA et al., 2009; LIMA et al., 2010). Fatores como luz, temperatura, disponibilidade hídrica, salinidade e condições edáficas (e.g. disponibilidade de nutrientes) têm grande influência no desempenho dos vegetais (MACHADO et al., 2005; GONÇALVES et al., 2007; SILVA et al., 2007).

A luz é considerada um dos fatores ambientais de maior relevância no crescimento vegetal e está intimamente associada à sucessão florestal. Controla desde os processos morfogenéticos da germinação até os padrões morfológicos e fisiológicos do crescimento vegetal nas diferentes classes da sucessão florestal (CUZZUOL e MILANEZ, 2012).

Existem várias propostas para definir as classes sucessionais de arbóreas baseado no posicionamento das espécies na floresta. De maneira geral, dois grupos sucessionais extremos são distinguidos: a) espécies da categoria inicial de sucessão (pioneiras), que germinam, sobrevivem e crescem somente em clareiras e, b) espécies da categoria final ou tardia de sucessão (clímax), que exigem ambientes sombreados do sub-bosque para se estabelecer. Entretanto, entre essas duas classes de sucessão, já se reconhece um grande número de espécies ocupando posições intermediárias (CUZZUOL e MILANEZ, 2012).

Budowski (1965) sugeriu que as arbóreas tropicais fossem agrupadas em quatro grupos sucessionais: pioneiras, secundárias iniciais, secundárias tardias

e clímax. Já Hartshorn (1980) propôs a classificação das espécies apenas como tolerantes ou intolerantes à sombra.

Como o termo tolerância sugere melhor desempenho em uma condição ambiental ótima, mas com habilidade em se aclimatar em condições menos favoráveis ao crescimento, Cuzzuol e Milanez (2012) propõem a terminologia plantas de sol (pioneiras, obrigatórias de sol ou tolerantes ao sol) e plantas de sombra (não pioneiras, obrigatórias de sombra ou tolerantes à sombra). As espécies que se posicionam entre essas duas categorias denominamos plantas facultativas de sol (intermediárias iniciais) que desenvolvem melhor em pleno sol, mas que toleram irradiância moderada e, as facultativas de sombra (intermediárias tardias) que preferem sombreamento intenso, mas que conseguem crescer em sombreamento moderado.

Essa variedade de classificações baseadas nas estratégias de regeneração das espécies mostra a dificuldade de definição dos grupos ecológicos. Isso porque, a plasticidade apresentada pelos vegetais, faz com que as espécies possam ser incluídas em mais de um grupo ecológico (PAULA et al., 2004). A capacidade das plantas em apresentar respostas adaptativas funcionais em relação às condições ambientais através da flexibilidade de fenótipos é conhecida como plasticidade fenotípica (SULTAN, 2003; VALLADARES et al., 2006) e refere-se à amplitude de respostas possíveis dentro de um mesmo genótipo (CHAMBEL et al., 2005).

Segundo Maciel et al., (2003) as classificações ecológicas adotadas pelos diversos autores representam uma grande simplificação diante da plasticidade fenotípica das espécies tropicais em função de alterações no ambiente e, portanto, não devem ser adotadas como padrão. Diante dessas dificuldades de organização dos grupos ecológicos, estudos do comportamento das arbóreas na dinâmica florestal são extremamente importantes na manutenção da riqueza vegetal e na promoção de manejos florestais sustentáveis (MACIEL et al., 2003).

De acordo com Ribeiro et al. (2004), a distinção mais concisa entre as classes sucessionais deve levar em consideração aspectos ecofisiológicos, como, por exemplo, o crescimento do vegetal.

1. 1 - A luminosidade e o crescimento dos vegetais

Muitas características de crescimento e desenvolvimento vegetal são influenciadas durante a exposição da planta à maior intensidade de irradiância (CANNELL et al., 1987; GONÇALVES et al., 2007). O crescimento está diretamente relacionado ao incremento de massa seca e, dessa forma, condicionado à fotossíntese (LARCHER, 2006). Segundo Poorter (2001), a luz é provavelmente o fator que mais afeta a produção de biomassa nas florestas tropicais e diversos trabalhos demonstram a influência de diferentes condições de luminosidade nos parâmetros de crescimento de arbóreas de clima tropical.

Poorter (2001), em estudo com espécies arbóreas tropicais, pioneiras e secundárias, verificou que o crescimento em altura é positivamente relacionado ao ambiente luminoso e à área foliar. Souza e Válio (2003), em um experimento com quinze espécies arbóreas da Mata Atlântica em diferentes estágios sucessionais, observaram tendência das espécies de estádios iniciais de sucessão apresentarem maiores taxas de crescimento do que as espécies tardias, independentemente do ambiente ser mais ou menos iluminado. As características apresentadas pelas espécies tardias podem estar associadas com tolerância à sombra, permitindo sua manutenção sob dosséis fechados por maiores períodos de tempo. Resultados semelhantes foram verificados para outras espécies arbóreas tropicais do México (POPMA e BONGERS, 1988).

Ajustes anatômicos, também, variam de acordo com o nível de plasticidade do indivíduo em relação ao gradiente de radiação solar (GIVINISH, 1988; RÔÇAS et al., 1997; KELLY et al., 2009). Adaptações nas folhas de plantas sob alta irradiância são comumente visualizados como menor área foliar e maior densidade estomática (BOEGER et al., 2009; MATOS et al., 2009). Essas variações otimizam a sobrevivência dos vegetais por resultarem em melhor uso da radiação disponível tanto em ambientes sombreados quanto em pleno sol (ALVARENGA et al., 2003; CARVALHO et al., 2006).

Os ajustes anatômicos observados nas folhas expostas a alta irradiância podem ocorrer no sentido de minimizar os efeitos da fotoinibição que

possivelmente pode causar danos às folhas pré-existentes (YAMASHITA et al., 2000). As células epidérmicas, bem como seu revestimento hidrofóbico e a cutícula, aumentam em espessura, e conseqüentemente, dificultam a perda de água e o aumento da temperatura foliar (ASHTON e BERLYN, 1992; FERMINO JUNIOR et al., 2004; ROSSATO e KOLB, 2010; SABBI et al., 2010; CHAZDON e KAUFMANN, 1993; DICKISON, 2000; CASTRO et al., 2009).

Já nas folhas expostas a baixas intensidades de radiação solar, pode ocorrer aumento significativo de células coletoras de luz, como o parênquima esponjoso. E, também, aumento na síntese de pigmentos fotossintéticos acessórios, como a clorofila *b* e os carotenóides, intensificando a capacidade de absorção de luz no ambiente sombreado (TAIZ e ZEIGER, 2008).

1. 2 - A luminosidade e o metabolismo primário dos vegetais

Os teores de clorofila foliar e carotenóides, assim como a proporção entre as clorofilas *a* e *b*, podem variar significativamente, em função da intensidade da irradiância. (CARVALHO et al., 2006; BOEGER et al., 2009). Isso porque, enquanto as moléculas de clorofila controlam as taxas fotossintéticas através da absorção de energia luminosa, os carotenóides são capazes de dissipar o excesso de energia (BOARDMAN, 1977; DEMMIG-ADAMS et al., 1996). Assim, plantas de sol ou de sombra apresentam alterações na coloração de suas folhas, como resultado de mudanças na composição dos pigmentos cloroplastídicos que as permitam expressarem sua capacidade fotossintética (MARENCO e LOPES, 2009).

A razão entre as clorofilas *a* e *b* é amplamente utilizada na avaliação da quantidade de energia luminosa absorvida pelos complexos coletores de luz (BAOLI et al., 2005) e, segundo Lichtenthaler et al. (1981) é um indicador de adaptação a diferentes condições de disponibilidade luminosa. Essa razão é normalmente superior em folhas expostas à elevada irradiância, conforme descrito por Lichtenthaler et al. (2007). Respostas semelhantes foram verificadas em outros trabalhos com espécies arbóreas tropicais (MENGARDA et al., 2009; SOARES, 2012; PORTELA, 2012).

Como os pigmentos cloroplastídicos são os responsáveis em intermediar a captação de luz externa e utilizá-la como principal fonte de energia nas reações fotoquímicas primárias da fotossíntese, as diferentes condições de luminosidade podem manifestar alterações desses compostos, e conseqüentemente, alterar o aproveitamento na captação de luz (TAIZ e ZEIGER, 2008).

No processo fotossintético, a luz absorvida pode ser transferida para os fotossistemas ou, se houver excesso de energia, esta pode ser dissipada na forma de calor ou fluorescência (KRAUSE e WINTER, 1996; YOUNG e FRANK, 1996). Portanto, uma das formas de monitoramento da inibição ou redução na transferência de elétrons entre os fotossistemas é a fluorescência da clorofila *a* (MAXWELL e JOHNSON, 2000). Essa técnica 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 e JOHNSON, 2000; HOUTER e PONS, 2005).

De acordo com Sielewiesiuk (2002), o sombreamento induz fotodano ao Fotossistema II por interferir no complexo de quebra oxidativa da molécula da água na fase fotoquímica, formando compostos intermediários incapazes de serem oxidados pela baixa intensidade de luz. De acordo com este mesmo autor, esta baixa condição de luz reduz o número de centros de reação ativos do Fotossistema II para minimizar esse efeito desfavorável, provocando reduções drásticas na eficiência fotoquímica, e conseqüentemente, elevada fluorescência.

Já em ambientes caracterizados pela alta irradiância, a fotossíntese pode ser comprometida por meio do processo de fotoinibição, que envolve danos aos centros de reação, especialmente ao FSII, elevando os níveis de dissipação de energia em forma de fluorescência. A fotossíntese pode ser inibida, também, pela foto-oxidação, processo que envolve diretamente a degradação dos pigmentos cloroplastídicos, e conseqüentemente, morte do tecido foliar (DAMATTA e RENA, 2001).

Possivelmente, o aumento da fluorescência nas plantas é acompanhado de diminuições nas taxas de fotossíntese líquida (assimilação do CO_2), indicando baixos teores de compostos redutores formados na fase bioquímica como o ATP e o NADPH (BACARIN e MOSQUIN, 1998). Essas variações do aparato fotossintético podem ser verificadas através de análises das trocas gasosas que possibilitam mensurar a fotossíntese líquida, a transpiração foliar e a condutância estomática (LAMBERS, CHAPIN e PONS, 1997). As relações fonte: dreno que consiste na produção dos fotoassimilados e a exportação para as demais partes do corpo vegetal, não são estáticas e podem sofrer alterações em decorrência da irradiância. Essas modificações permitem a manutenção da eficiência fotossintética e, assim, a manutenção dos valores de assimilação de carbono (ROITSCH et al., 2003).

Os fatores que limitam a fotossíntese variam de acordo com a intensidade da irradiância. Plantas que se desenvolvem em ambiente sombreado investem mais em complexos coletores de luz enquanto plantas desenvolvidas em pleno sol, em proteínas do ciclo de Calvin e do transporte de elétrons. Dessa forma, variações na irradiância provocam alterações na fotossíntese líquida (A) em razão das diferenças na velocidade máxima de carboxilação da Rubisco ($V_{c\text{-máx}}$) (CUZZUOL e MILANEZ, 2012), parâmetro este que pode ser avaliado pela eficiência de carboxilação da rubisco (A/C_i) como descrito por Machado et al. (2005). Os resultados obtidos com espécies tropicais e de sombra mostram capacidade limitada em aumentar a A em ambientes sob alta irradiância devido à incapacidade de elevar a $V_{c\text{-máx}}$ (CUZZUOL e MILANEZ, 2012).

Os carboidratos, que são produtos da fotossíntese, têm as suas concentrações reguladas pelas taxas fotossintéticas (MARENCO et al., 2001) e/ou pelas condições ambientais (MARTINAZZO et al., 2007; CUZZUOL e CLIPEL, 2009). Esses compostos que podem ser utilizados com fins de reserva e de geração de energia, participam intensamente do metabolismo celular (FARRAR et al., 2000; SOUZA et al., 2005). Têm sido relacionados, também, com as características ambientais em que as plantas se estabeleceram ou com determinado tipo de estresse em pelo menos uma fase do desenvolvimento vegetal (CUZZUOL, 2003).

Reyes et al. (1996) verificaram em *Chrysalidocarpus lutescens* (Palmae) decréscimo na concentração de açúcares solúveis nas folhas, caules e raízes após 3 meses de submissão ao sombreamento intenso. Casagrande Junior et al. (1999) observaram que em caules de araçazeiro (*Psidium cattleianum* Sabine) a concentração de carboidratos solúveis totais diminuiu com o aumento do sombreamento. Frank et al., (2001) testaram a habilidade de um híbrido de noqueira (*Juglans nigra x regia*) com folhas aclimatadas na sombra e que foram expostas ao pleno sol e vice-versa e verificaram incremento no teor de carboidratos solúveis nas plantas expostas ao pleno sol e decréscimo nas plantas submetidas à sombra. Souza, De Paula e Figueiredo-Ribeiro (2004), em um estudo com a gramínea tropical *Rhynchelytrum repens*, verificaram aumento na concentração de carboidratos solúveis em plantas submetidas à plena irradiância, em relação ao sombreamento.

Açúcares solúveis como a frutose, a sacarose e a glicose podem atuar como sinalizadores de estresse e ação antioxidante contra radicais livres (PRICE et al., 2004; NISHIKAWA et al., 2005; COUÉE et al., 2006). A sacarose é o carboidrato de maior mobilidade na planta, por ser menos susceptível à ação enzimática devido às suas propriedades físicas (LAMBERS et al., 2008). Sendo assim, torna-se indutor de sinal mais efetivo em relação à glicose e frutose (KOZLOWSKI, 1991; SMEEKENS, 2000).

Mengarda et al. (2009), trabalhando com plantas jovens de pau-brasil observaram que a transferência das plantas em ambiente sombreado para o pleno sol aumentou significativamente a concentração de carboidratos solúveis, em especial da sacarose, entre 7 e 60 dias de exposição ao pleno sol. Estes autores concluíram que tais resultados demonstram que a radiação solar direta configurou-se como um estresse para o pau-brasil, principalmente no período inicial de exposição.

Nishikawa et al. (2005), estudando *Brassica oleracea* L. var. italica (brócolis), demonstraram que os níveis de sacarose podem regular a expressão de genes relacionados ao metabolismo do ácido ascórbico, que tem importante papel nos processos de defesa antioxidante. Portanto, a análise dos carboidratos solúveis e suas relações com o estresse oxidativo poderiam fornecer informações para

a melhor compreensão dos mecanismos de tolerância de arbóreas tropicais ao estresse luminoso (CUZZUOL e MILANEZ, 2012).

1. 3 - A luminosidade e o estresse oxidativo

A irradiância influencia, não apenas o processo fotossintético, como também o respiratório. Um dos produtos dessas vias metabólicas são as espécies reativas de oxigênio (ERO's) que são formas reduzidas do oxigênio molecular capazes de promover danos celulares oxidativos como o peróxido de hidrogênio (H_2O_2), o oxigênio singlete (1O_2), o radical hidroxila (OH^-) e o ânion superóxido (O_2^-) (APEL e HIRT, 2004). Sob condições adequadas de desenvolvimento, a produção destas moléculas é baixa e elas são continuamente removidas do espaço celular (HIDEG et al., 2002; MITTLER, 2002).

Perturbações fotoquímicas e respiratórias nas plantas geram, inevitavelmente, espécies reativas de oxigênio (ERO's) nas mitocôndrias, nos cloroplastos e nos peroxissomos (APEL e HIRT, 2004). Uma vez que essas ERO's são produzidas normalmente pelo metabolismo celular, essas moléculas são eliminadas por componentes de defesa oxidativa enzimáticos e não enzimáticos para proteger as células dos efeitos tóxicos (ALLEN, 1995; ALSCHER et al, 2002). Os mecanismos não enzimáticos de baixo peso molecular envolvem compostos antioxidantes tais como ácido ascórbico, glutathione, tocoferóis e outros, enquanto os mecanismos antioxidantes enzimáticos envolvem a atividade de superóxido dismutase (SOD), peroxidases (POD), peroxidase do ascorbato (APX), catalases (CAT) e outras enzimas (NOCTOR e FOYER, 1998; ASADA, 1999). A SOD catalisa a dismutação do radical superóxido (O_2^-), produzindo peróxido de hidrogênio (H_2O_2) (RANK, 1997), o qual pode ser eliminado pelas POD (MELONI et al., 2003).

O estudo de antioxidantes vem sendo utilizado para identificar possíveis estresses em plantas submetidas a condições adversas como o excesso ou baixa radiação solar (INZÉ e MONTAGU, 1995; KNIGHT e KNIGHT, 2001; APEL e HIRT, 2004; SCANDALIOS, 2005).

Burrit e Mackenzie (2003) demonstraram que plantas de *Begonia X erythrophylla* aclimatadas na sombra e que expostas a um incremento repentino da irradiância, apresentaram redução na atividade da CAT. Porém, com o passar dos dias, foi observado aumento na atividade da enzima até ultrapassar os valores das plantas mantidas em sombreamento. A atividade da APX, entretanto, se manteve superior nas plantas submetidas à alta irradiância durante todo o experimento.

Guidi et al., (2008) verificaram maior atividade da CAT em folhas de *Ligustrum vulgare* em pleno sol em relação àquelas mantidas em sombreamento. Verhoevem et al. (2005), estudando *Taxus x media* cv. Tauntonii não encontraram diferenças significativas para a atividade da APX em folhas submetidas a diferentes condições de irradiância. Para esses autores, a enzima APX pode não ter um papel importante na fotoproteção da espécie sob intensa irradiância.

Favaretto et al. (2011), investigando as repostas de enzimas antioxidantes em espécies arbóreas da floresta tropical, verificaram decréscimo da atividade da CAT em condições de maior irradiância. Os autores relacionam a diminuição da atividade da CAT a maior sensibilidade dessa enzima à alta irradiância (fotoativação). Por outro lado, esses autores não verificaram variação da atividade da APX em relação às alterações da irradiância.

Outros compostos do metabolismo secundário como os fenóis podem aumentar, significamente, em resposta a condição desfavorável de luminosidade. Essas substâncias, geralmente tem ação sinérgica com os compostos antioxidantes, quando a condição do estresse é suficiente para restringir a síntese do metabolismo primário. Dessa forma, substâncias fenólicas e flavonóides tendem a se acumular visando a defesa das plantas em condições ambientais estressantes (KARAGEORGOU et al., 2002).

Tendo em vista a importância dessas variáveis ecofisiológicas abordadas nessa revisão em relação à classificação funcional, trabalhos com nativas têm sido realizados para investigar os mecanismos fisiológicos de arbóreas tropicais quando expostas às condições luminosas contrastantes com

aplicação em programas de recuperação vegetal de áreas degradadas (ALMEIDA et al., 2005; MENGARDA et al., 2009; LIMA et al., 2010). Dentre as espécies tropicais empregadas em projetos de manejo florestal sustentável, o pau-brasil (*Caesalpinia echinata* Lam.) se apresenta como uma das arbóreas de grande interesse em pesquisas de sucessão florestal.

1. 4 - O Pau-Brasil e a luminosidade

Esta espécie foi descrita por Lamarck em 1789 (*apud* SOUZA, 1973). Pertence à família Fabaceae (Caesalpinioideae). Souza (1973) descreveu que as árvores de pau-brasil possuem troncos quase retos, ásperos, com galhos sinuosos; folhas verdes, luzentes e compostas. Podendo alcançar 20 metros de altura, com circunferência superior a 1,5 metro; as flores são amarelas provindas de uma mancha púrpura no meio, discretamente perfumadas e de agradável aspecto. Os frutos são do tipo vagem com muitos acúleos, o que originou o epíteto específico *echinus* por ser parecido a um ouriço.

De acordo com Lewis (1998), *Caesalpinia echinata* não apresenta táxons infraespecíficos, embora muitas populações mostrem diferenças marcantes no tamanho e na forma dos foliólulos, na cor da madeira e no hábito. Três diferentes morfotipos de *C. echinata* estão sendo estudados por especialistas brasileiros (LIMA et al., 2002; JUCHUM et al. 2008) e no futuro, talvez a espécie possa ser subdividida em subespécies ou variedades. O primeiro morfotipo, o mais comum, apresenta comparativamente os menores foliólulos (Figura 1) e o cerne de coloração alaranjada, sendo encontrado em muitas localidades ao longo da costa brasileira. O segundo difere pouco do primeiro, apresentando, contudo, foliólulos um pouco maiores (Figura 1) e cerne com coloração laranja avermelhado. Deste morfotipo são conhecidos apenas representantes ocorrendo nos Estados do Rio de Janeiro, Espírito Santo e interior sul da Bahia. O terceiro morfotipo apresenta foliólulos muito grandes (Figura 1) e cerne vermelho escuro, sendo encontrados naturalmente, até o momento, apenas em uma localidade na Bahia – Vale do Rio Pardo (JUCHUM et al, 2008).

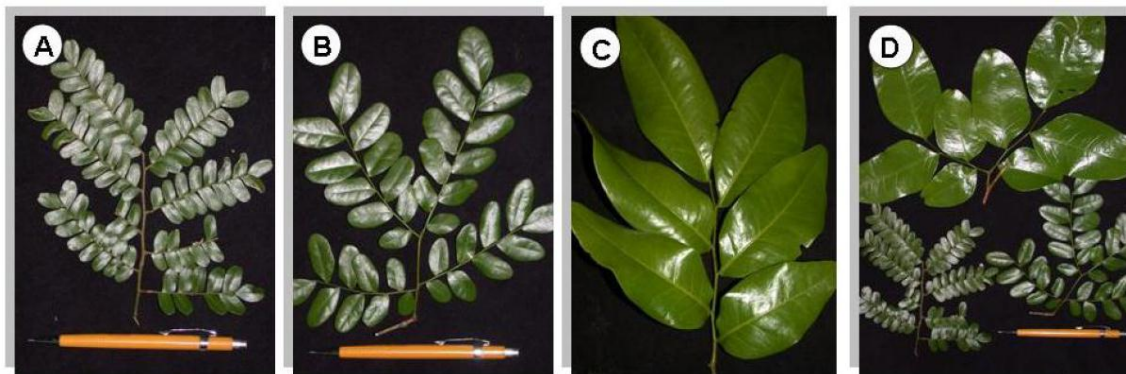


Figura 1 - Variantes da espécie *Caesalpinia echinata* Lam. A – Variante com foliólulos pequenos. B – Variante com foliólulos médios. C – Variante com foliólulos grandes. D – Comparação entre as três variantes. Figura de Juchum (2007).

As informações quanto ao comportamento ecofisiológico do pau-brasil são bastante contraditórias. Para Budowski (1965), *C. echinata* Lam. é uma espécie semi-heliófila, classificada como clímax, enquanto Lima (1992), Lorenzi (2002) e Baroni (2005) a classificam como heliófila. Rocha (2004) concluiu que a espécie tem grande capacidade de adaptação 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 à intensidade da irradiância (ZAIDAN et al., 2008).

Procurando avaliar o efeito da intensidade da irradiância no crescimento de *C. echinata* do tipo folha pequena, Mengarda et al. (2009) concluíram que o melhor desenvolvimento ocorreu em sombreamento intermediário. No entanto, embora as plantas transferidas em pleno sol tenham apresentado abscisão foliar na primeira semana, as plantas conseguiram restituir as folhas perdidas e retomou o crescimento apresentando altura, número de folhas e massa seca caulinar equivalentes aos das plantas cultivadas em sombreamento intermediário (50% de sombreamento). Em sombreamento intenso, o crescimento não foi satisfatório apresentando menores valores de massa seca

caulinar, foliar e total em relação às plantas em pleno sol indicando que *C. echinata* não seja uma espécie clímax como considerada por Budowski (1965), mas sim intermediária inicial (MENGARDA et al. 2009).

Porém, novos resultados de Mengarda et al., (2012) mostraram que o pau-brasil de folha pequena quando transferido da sombra para pleno sol apresentaram queda de folhas na primeira semana. As novas folhas emitidas apresentaram características diferentes das que caíram anteriormente, mostrando tolerância ao sol e sem sintomas de fotoinibição fotossintética. Porém, o melhor crescimento ocorreu na sombra o que levou Mengarda et al. (2012) a sugerirem que o pau Brasil seja uma espécie secundária tardia.

Mesmo com esses resultados em condições controladas, produtores de pau-brasil no Espírito Santo informaram que melhor crescimento ocorreu em pleno sol em comparação com o plantio no interior de uma floresta. No distrito de Domingos Martins, ES (20°21'49" latitude (S) e 40°39'33" longitude) árvores com 8 anos de idade cultivadas em um terreno em declive recebendo luz solar direta, apresentaram 6,60 m em altura enquanto outro lote com a mesma idade e cultivado no interior de um bosque na mesma localidade não ultrapassava 1,50 m (MENGARDA, 2010).

Em um terreno plano da Reserva Natural da Vale localizada no município de Sooretama, ES (Paralelos 19° 06 - 19° 18 de latitude sul e - entre os meridianos 39° 45 - 40 19 de longitude W Gr.), foi observado melhor crescimento de plantas de pau-brasil em pleno sol em relação à população plantada no interior de uma floresta dominada pelo Jequitibá-rosa (*Cariniana legalis* Mart. Kuntze). Nesse aspecto, as plantas em pleno sol apresentaram em média altura de 140 cm enquanto as cultivadas em sombreamento natural, 45 cm.

Em experimentos com condições controladas na Universidade Federal do Espírito Santo, foram analisadas as três variantes morfológicas foliares de *C. echinata* em pleno sol, onde apenas a variante pequena foi observada abscisão das folhas, confirmando os resultados de Mengarda et al. (2009). As variantes média e grande, demonstraram tolerantes a condição de intensa irradiação,

sem abscisões foliares e maior crescimento em relação àquelas mantidas em 80% de sombreamento (dados não publicados - Comunicação oral por Inayá Paradizo).

Esses diferentes resultados encontrados quanto ao comportamento do pau-brasil à luminosidade, podem ser explicados possivelmente pela variação morfológica desta espécie, encontrada de diferentes formas ao longo da escala continental brasileira.

Juchum et al. (2008), concluíram que existe diferenças genéticas entre as três variantes foliares e é necessário uma reconstrução taxonômica da espécie *C. echinata* em dois grupos: separando as encontradas na Bahia com morfotipo foliar grande em um táxon diferente dos outros dois morfotipos (folha média e folha pequena). Essa separação foi sugerida pela distância filogenética entre o morfotipo foliar grande e os outros dois tipos foliares.

Possivelmente, essas diferenças a nível de DNA encontradas por Juchum et al. (2008), entre esses morfotipos de *C. echinata*, possa manifestar diferentes aptidões fisiológicas desses vegetais no ambiente. Até por que, não existem publicações até o momento a respeito do comportamento fisiológico das variantes média e grande.

Devido aos escassos e contraditórios resultados publicados sobre esta espécie e as suas diferentes formas foliares encontradas, torna-se complexo uma classificação definitiva de *C. echinata* quanto ao seu grupo funcional e preferências ecológicas pela intensidade de irradiância de suas variantes foliares. O estudo do efeito da luminosidade no crescimento de *C. echinata* é de fundamental interesse tendo em vista a sua variação morfológica e importância na integração da Mata Atlântica. É necessário um estudo comparativo e aplicado em condições de campo para caracterizar as respostas ecofisiológicas desta espécie a luminosidade, fornecendo subsídios ao seu reflorestamento (ROCHA e SIMABUKURO, 2008).

1. 5 - Objetivo Geral

Considerando que o morfotipo folha pequena de *C. echinata* apresentou melhor crescimento em sombreamento intermediário como demonstrado pelos trabalhos de Mengarda et al. (2010 e 2012) e que o morfotipo folha média apresentou melhor crescimento em pleno sol em um fragmento de Mata Atlântica de tabuleiro na Reserva Natural da Vale em Sooretama, ES, foi realizado o presente trabalho tendo como objetivo central caracterizar alguns aspectos morfológicos, bioquímicos e fisiológicos do morfotipo folha média de *C. echinata* em condições de irradiância contrastante. As análises permitirão concluir qual ou quais dessas características contribuíram para o melhor desempenho do morfotipo folha média em pleno sol.

1. 6 - Objetivos Específicos

- 1) Analisar aspectos biométricos relacionados ao crescimento como altura, diâmetro do caule, área foliar unitária, bem como o teor de água na folha das populações em pleno sol e em sombreamento natural.
- 2) Analisar as características foliares anatômicas como espessura da folha, espessura dos tecidos epidérmicos, densidade estomática, espessura dos parênquimas e espessura da cutícula das populações em pleno sol e em sombreamento natural.
- 3) Determinar os teores de pigmentos cloroplastídicos (clorofila *a*, *b* e carotenóides) em pleno sol e sombreamento natural.
- 4) Analisar a eficiência fotoquímica e bioquímica da fotossíntese, através das medidas da fluorescência da clorofila e trocas gasosas nas duas condições de irradiância contrastante.
- 5) Determinar o teor de carboidratos solúveis foliares das plantas em pleno sol e em sombreamento natural.

6) Determinar a atividade de enzimas antioxidantes (peroxidase e superóxido dismutase), bem como a capacidade antioxidante total (método ABTS) em nas duas condições de irradiância citadas.

7) Determinar as concentrações de compostos fenólicos totais nas populações em pleno sol e em sombreamento natural.

2 - MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 - Área de Estudo

Este trabalho foi conduzido em um fragmento da Mata Atlântica no tabuleiro da Reserva Natural Vale situada no município de Sooretama-ES, Brasil (paralelos 19° 06' - 19° 18' de latitude sul e - entre os meridianos 39° 45' - 40° 19' de longitude W Gr.).

O plantio das mudas foi realizado em março de 2010 sem aplicação de fertilização. As análises morfológicas, fisiológicas e bioquímicas foram realizadas em fevereiro de 2012 quando as plantas apresentavam 23 meses de idade. O período amostral foi marcado por um verão bastante seco, com a precipitação e a temperatura média de 10,4 mm e 24°C, respectivamente (INMET, 2012). As análises foram realizadas no terceiro ao quarto nó de folhas completamente expandidas numa área de plantio de *C. echinata* em pleno sol (radiação fotossinteticamente ativa = RFA = 999,93 Mmol m⁻²s⁻¹) e outra no interior de um bosque onde a irradiância natural não ultrapassava 20% da irradiância em pleno sol (RFA = 191,97 Mmol m⁻²s⁻¹).

Foliólulos de 10 plantas por tratamento foram coletados, congelados em nitrogênio líquido e transportados para o Laboratório de Fisiologia Vegetal da UFES onde foram transferidos para ultrafreezer (- 80°C) para posterior análises de pigmentos, carboidratos, enzimas, fenóis e área foliar unitária.

2.2 - Crescimento

Para as análises de crescimento foram realizadas medidas de altura e diâmetro do caule de 10 plantas utilizando-se fita métrica e paquímetro digital, respectivamente. A área foliar foi realizada no laboratório com um medidor de área foliar (Area Meter, LI-COR 3100, Nebraska, USA). Com esses dados, foram calculados a massa foliar específica (MFE=MFF/AF) segundo Hunt (1982) e o teor de água ou suculência (Teor H₂O = MFF-MSF/AF), de acordo com Parida, Dias e Mittra (2004), sendo MFF = massa fresca do foliólulo; AF = área do foliólulo e MSF = massa seca do foliólulo.

2. 3 - Anatomia Foliar

Folhas do quarto nó foram coletadas e fixadas em FAA 70 (formaldeído, ácido acético e etanol 70% (v/v) durante 48 horas (JOHANSEN, 1940) e armazenadas em álcool 70% (v/v). Amostras do terço mediano do limbo, nas regiões internevural e da nervura central das folhas, foram cortadas à mão livre, utilizando-se micrótomo de mesa com lâminas de aço.

Os cortes foram corados com safrablau e as lâminas histológicas montadas com gelatina glicerínada (BUKATSCH, 1972, modificado). Para a quantificação estomática fez-se a impressão da epiderme foliar abaxial em lâmina de vidro, com éster de cianocrilato (Super Bonder®).

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. Foram utilizados 6 indivíduos de cada população. Os dados foram submetidos à análise de variância e teste Tukey ($p < 0,05$).

As observações e a documentação fotográfica foram realizadas em fotomicroscópio (Nikon, Eclipse E200, Tóquio, Japão).

2. 4 - Pigmentos Fotossintéticos

O teor de clorofila total, clorofila *a*, clorofila *b*, carotenóides e as razões clorofila *a/b* e clorofila/carotenóides foram determinados utilizando-se 4 discos (0,45 cm de diâmetro) de foliólulos de folhas do terceiro ao quarto nó completamente expandidas. Os discos foram armazenados em tubos protegidos da luz (envoltos por papel alumínio) com 7 mL de dimetilsulfóxido (DMSO), em temperatura ambiente por dois dias. As leituras da densidade ótica foram feitas em espectrofotômetro a 470, 663 e 645 nm. As determinações das concentrações foram realizadas usando as equações de Lichtenthaler (1987):

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

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

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

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

Onde:

A470 = absorvância a 470 nm; A663 = absorvância a 663 nm; A645 = absorvância a 645 nm; V = volume da amostra (mL); MF = massa fresca da amostra (g). Foram utilizados 6 indivíduos de cada população.

2.5 - Cinética de Emissão da Fluorescência Transiente ou Polifásica (OJIP)

A cinética de emissão da fluorescência foi mensurada entre 8:00 e 9:30, nos mesmos folíolos coletados para a extração de pigmentos, após aclimatização no escuro por 30 minutos com o uso de cliques foliares, período suficiente para a oxidação completa do sistema fotossintético. Em seguida, foi induzido um feixe de luz saturante de $3.000 \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ em uma área de 4 mm de diâmetro do folíolo. Os resultados foram tabulados com o software Biolyzer (Laboratório de Bioenergética, Universidade de Genebra, Suíça) para uma planilha eletrônica, onde se pode derivar uma série de parâmetros biofísicos adicionais que quantificam o comportamento do fotossistema II (FSII) e fotossistema I (FSI).

As curvas da fluorescência transiente OJIP foram normalizadas a partir da variável relativa entre os pontos O e P [$V_t = (F_t - F_0)/(F_M - F_0)$]. Obtida a fluorescência variável (V_t), calculou-se a diferença cinética entre os tratamentos ($\Delta V = V \text{ sombra} - V \text{ sol}$) de acordo com Yusuf et al. (2010).

Dentre os parâmetros do teste OJIP (STRASSER e STRASSER, 1995) foram selecionados:

- 1) o índice RC/ABS que representa a quantidade de centros de reação ativos (RC's) por energia absorvida;
- 2) os rendimentos quântico das reações fotoquímicas nos diferentes momentos em que a energia de excitação é transportada pelos fotossistemas I e II (FSI e FSII): a absorção até a redução do acceptor primário de elétrons do FSII (Q_A) ($TR_0/ABS = F_V/F_M$); o transporte de elétrons de Q_A^- até o 'pool' de

plastoquinona (PQ) [$ET_0/ABS = 1 - F_J/F_M$]; e a redução dos aceptores finais do FSI [$RE_0/ABS = 1 - F_I/F_M$].

Os grupos encontram-se destacados uns dos outros pelo fundo sombreado e a sequência de parâmetros referente à cascata de energia está indicada pelas setas (de ABS a RE_0);

3) as eficiências/probabilidades dos movimentos dos elétrons através do transportadores da cadeia de transporte de elétrons: de Q_A^- para PQ (ET_0/TR_0); de PQ reduzido para os aceptores finais do FSI (RE_0/ET_0); e a eficiência na captura de elétrons de PQ reduzido para os aceptores finais do FSI.

4) os índices de performance fotossintética: a partir da excitação até a redução dos aceptores de elétrons do intersistema (PI_{ABS}); a partir da excitação para a redução dos aceptores finais do FSI (PI_{TOTAL}).

5) o fluxo específico de dissipação da energia ao nível das clorofilas da antena, DI_0/RC , que representa a razão da dissipação total de energia de excitação não capturada nos RC's pelo número de RC's ativos.

Para as análises de fluorescência, foram utilizados 20 indivíduos de cada população.

2. 6 - Trocas Gasosas

As análises de trocas gasosas foram realizadas, juntamente com as análises de fluorescência, em sistema fechado com analisador de gases infravermelho portátil (IRGA) modelo LI-6200 (LI-COR, Inc.), utilizando concentração atmosférica de CO_2 de aproximadamente 380 ppm e temperatura ambiente/folha. Durante as análises foi utilizada fonte de luz natural, quantificada nos dois locais de coleta em RFA ($\mu mol m^{-2} s^{-1}$). Foi avaliado a assimilação fotossintética de carbono (A), condutância estomática (gs), transpiração (E) e carbono interno foliar (C_i). Foram, também, calculadas a eficiência do uso da água (A/E), eficiência intrínseca do uso da água (A/gs) e a eficiência instantânea de carboxilação (A/C_i) segundo Machado et al., (2005). Foram utilizados 20 indivíduos para cada população na amostragem.

2. 7 - Extração e Quantificação de Carboidratos Solúveis

A extração dos açúcares solúveis seguiu o método de Carvalho et al. (1998), com algumas modificações, como se segue. Amostras de 1 grama de massa fresca de foliólulos de folhas do terceiro nó completamente expandidas foram fervidas em 10 mL de etanol 80%, durante 3 minutos, para inativação enzimática. Posteriormente, as amostras foram maceradas no gral com pistilo e submetidas à extração de carboidratos solúveis em banho maria, à 80°C por 15 minutos. O extrato obtido foi centrifugado a 4500 g por 15 minutos, separando o sobrenadante. Essa última operação foi repetida mais duas vezes.

O homogeneizado foi transferido para um balão volumétrico conectado a um evaporador rotatório (QUIMIS[®], Q344B1, Diadema, Brasil), com velocidade de rotação de 30 rpm e temperatura de 40 °C para concentração das amostras até completa secagem. Ao término do procedimento de secagem, acrescentou-se água deionizada e o volume final foi acertado para 10 mL.

A quantificação da glicose, frutose, sacarose e açúcares totais solúveis foi realizada através de reações calorimétricas. A determinação dos açúcares totais solúveis seguiu o método fenol-sulfúrico conforme Dubois et al. (1956). Para isso, utilizou-se uma alíquota de 50 µL do extrato diluído em uma proporção de 1:1, acrescentou-se 450 µL de água deionizada, 0,5 mL de fenol 5% e 2,5 mL de ácido sulfúrico PA. Todas as soluções foram preparadas em triplicatas e as leituras de absorbância foram realizadas em espectrofotômetro (Genesys 10S UV-Vis, Thermo Fisher Scientific, Waltham, EUA), a 490 nm.

O teor de frutose livre e combinada foi estimado pela reação de antrona, modificada para cetoses (JERMYN, 1956). Para isso, utilizou-se uma alíquota de 50 µL do extrato, acrescentou-se 450 µL de água deionizada e 2,5 mL de solução de antrona 2%. Todas as soluções foram preparadas em duplicatas e encubadas em banho maria a 37°C por 45 minutos. As leituras de absorbância foram realizadas em espectrofotômetro (Genesys 10S UV-Vis, Thermo Fisher Scientific, Waltham, EUA), a 620 nm.

Para a dosagem do teor de sacarose foi utilizado o método de antrona, porém, degradando-se os carboidratos redutores mediante a ação do hidróxido de

potássio, como descrito por Riazi et al. (1985). Para isso, utilizou-se uma alíquota de 50 μL do extrato diluído em uma proporção de 1:1, acrescentou-se 200 μL de água deionizada, 100 μL de solução de KOH 5,4 N e 3,0 mL de solução de antrona 2%. Todas as soluções foram preparadas em duplicatas e fervidas por 10 minutos, após o acréscimo da solução de KOH e, posteriormente, fervidas por mais 5 minutos, após adição da solução de antrona. As leituras de absorvância foram realizadas em espectrofotômetro (Genesys 10S UV-Vis, Thermo Fisher Scientific, Waltham, EUA), a 620 nm.

A quantificação de glicose foi determinada utilizando-se o método enzimático de Glicose Enzimática Líquida (Doles®, Goiânia, Goiás). Para isso, identificou-se o tubo de ensaio branco, os tubos de ensaio das amostras e 3 tubos de ensaio padrão. Em todos eles adicionou-se 2 mL de reagente de cor (fornecido pelo kit), sendo que nos tubos das amostras acrescentou-se 20 μL de amostra e nos tubos padrão, 20 μL de solução padrão (também fornecida pelo kit). Os tubos foram agitados e incubados em banho maria a 37°C, por 5 minutos. As leituras de absorvância foram realizadas em espectrofotômetro (Genesys 10S UV-Vis, Thermo Fisher Scientific, Waltham, EUA), a 510 nm. Como a reação corada seguiu estritamente a lei de Beer, para a quantificação de glicose determinou-se o fator (F) ($=100/\text{média das absorvâncias padrão}$). O produto do fator (F) pelas absorvâncias das amostras correspondia a concentração de glicose em mg/dL. Os resultados foram, então, convertidos para $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ MS. Foram utilizados 6 indivíduos para cada população na amostragem.

2. 8 - Determinação de Proteínas Totais

O conteúdo proteico do extrato bruto foi determinado pelo método fotolorimétrico de acordo com Bradford (1976), utilizando-se como padrão, soro albumina bovina (1 mg mL^{-1}). Para o preparo de cada 100 mL de reagente de cor, 10 mg de Comassie Brilliant Blue G250 foram dissolvidos em 4,7 mL de etanol absoluto e, após dissolução completa, adicionou-se 10 mL de ácido fosfórico 85% (p/v), completando-se o volume para 100 mL com água deionizada. A solução obtida foi filtrada em papel de filtro, sendo acondicionada em frasco escuro.

A curva padrão foi obtida adicionando-se 5 mL do reagente de cor em seis tubos de ensaio, onde foram acrescentados 100 µL, 80 µL, 60 µL, 40 µL, 20 µL e 0 µL de água deionizada e 0 µL, 20 µL, 40 µL, 60 µL, 80 µL, 100 µL de solução de Bovine Serum Albumine (BSA), na concentração de 1mg/L, respectivamente. As amostras foram preparadas em duplicata e lidas em espectrofotômetro (Genesys 10S UV-Vis, Thermo Fisher Scientific, Waltham, EUA) a 595 nm, sendo que o tubo de ensaio contendo 5 mL de reagente de cor + 100 µL + 0 µL de BSA foi utilizado como branco. Foram utilizados 6 indivíduos para cada população.

2. 9 - Extração e Quantificação de Enzimas Antioxidantes

2. 9. 1 - Superóxido Dismutase (SOD, E.C. 1.15.1.1)

Foliólulos de folhas totalmente expandidas do terceiro ao quarto nó foram coletadas, levadas ao nitrogênio líquido e armazenadas em ultra freezer (- 80 °C) até o momento da extração. Para obtenção do extrato enzimático, foram macerados 0,4 g de massa fresca com polivinilpolipirrolidona (PVPP) 1% (p/v) que foi homogeneizado em 2 mL tampão fosfato (50 mM, pH 7,5), EDTA-Na 1 mM, NaCl 50 mM e ácido ascórbico 1 mM. O extrato foi centrifugado por 25 minutos a 15000 g à 2 °C. O sobrenadante foi separado em tubos falcon (BULBOVAS et al, 2005, adaptado) para posterior análises.

Para a dosagem da atividade da superóxido dismutase, foi preparado um coquetel do meio de reação da enzima. A metionina e a riboflavina foram preparadas no escuro e mantidas em recipientes envolvidos em papel alumínio para evitar fotoxidação. O *Nitro blue tetrazolium* (NBT) foi o último reagente a ser preparado, na hora da reação, com os mesmos cuidados para evitar fotoxidação. O coquetel foi composto de 0,5 mL de EDTA-Na₂ 0,54 mM, 0,8 mL de tampão fosfato de potássio (0,1 M, pH 7,0), 0,5 mL de metionina 0,13 m M, 0,5 mL de azul *p*-nitrotetrazólio (NBT) 0,44 mM e 0,2 mL de riboflavina 1 mM, e a solução resultante foi exposta a luz fluorescente (80 W) por 20 min. Extratos preparados seguindo o mesmo procedimento foram mantidos no escuro. A absorbância da solução foi medida em espectrofotômetro (Genesys 10S UV-

Vis) a 560 nm em ambos os tipos de extrato (iluminado e não iluminado) (BULBOVAS et al, 2005, adaptado; OSSWALD et al. 1992).

A partir dos dados de absorvância obtidos, a atividade da enzima foi dada em unidades de SOD, ou seja, a quantidade de enzima capaz de inibir em 50% a fotorredução do NBT. O cálculo foi feito da seguinte maneira:

$$\text{SOD} = (A/(a-b))^{-1}$$

Onde:

A = média das absorvâncias dos tubos sem amostra (branco do claro)

a = médias das absorvâncias dos tubos contendo as amostras

b = média das absorvâncias dos tubos contendo amostras, mantidos no escuro (branco do escuro).

Foram utilizados 6 indivíduos de cada população.

2. 9. 2 - Atividade das Peroxidasas (POD. EC. 1.11.1.7)

Foram macerados 0,3 g de foliólulos de folhas totalmente expandidas do terceiro ao quarto nó, logo em seguida, homogeneizados com tampão fosfato (0,1 M, pH 7,0) e polivinilpolipirrolidona (PVPP) 2% e o extrato centrifugado em 15.000 g, 30 min e a 2 °C. Após adição ao sobrenadante de 2 mL do tampão fosfato (0,1 M, pH 5,5), 0,3 mL de Guaiacol (1%) e 0,05 mL de peróxido de hidrogênio (0,3%), conforme descrito por Klumpp *et al.* (1989), realizou-se a leitura da absorvância em espectrofotômetro (Genesys 10S UV-Vis) a 485 nm. A absorvância do complexo H₂O₂-POD formado foi medido em dois tempos, dentro de uma faixa linear da curva de reação. O delta da absorvância (ΔE) foi dividido pelo tempo em que ambas as medidas foram registradas (aos 2,0 e 3,5 min), indicando a atividade da POD durante a redução do peróxido de hidrogênio (BULBOVAS et al., 2005, adaptado). Foram utilizados 6 indivíduos para cada população na amostragem.

2. 10 - Compostos Fenólicos Totais

As concentrações dos compostos fenólicos foram quantificadas utilizando o mesmo extrato alcoólico das análises dos carboidratos. Esta análise foi determinada usando uma equação de calibração obtida a partir da curva padrão de ácido gálico. Resumidamente, 0,02 mL de solução de extrato alcoólico foram misturadas com 0,2 mL de Folin-Ciocalteu. Após 5 minutos de reação, foram adicionados 3,23 mL de água destilada e 50 µL de carbonato de sódio e os conteúdos homogeneizados no vortex. Em seguida, a mistura foi deixada em repouso durante duas horas à temperatura ambiente de acordo com Hossain et al. (2011). As leituras foram feitas a 760 nm utilizando um espectrofotômetro (Genesys 10S UV-Vis). Foram utilizados 6 indivíduos para cada população na amostragem.

2. 11 - Capacidade Antioxidante Total (Método ABTS)

As capacidades antioxidantes totais foram quantificadas utilizando o mesmo extrato alcoólico das análises dos carboidratos. Esta análise foi mensurada pelo método proposto por Lako et al. (2007). O radical catiônico ABTS^{•+} foi feito a partir da reação de 7 mM 2,20-azinobis (3-etilbenzotiazolino-6-sulfônico) sal diamônio (ABTS) e 2,45 mM de persulfato de potássio. Em seguida, foi feita uma diluição com água destilada e o conteúdo transferido para um frasco de vidro âmbar a temperatura ambiente durante 24 horas. As leituras foram feitas com 10 mL de solução de ABTS e 5 µL de amostra alcoólica a 734 nm utilizando um espectrofotômetro (Genesys 10S UV-Vis). Para o cálculo da capacidade antioxidante total, foi realizado a calibração pela curva padrão de equivalentes de Trolox (6-Hidroxi-2,5,7,8-tetrametilchroman-2-ácido carboxílico) de acordo com Lako et al. (2007). Foram utilizados 6 indivíduos para cada população na amostragem.

2. 12 - Nutrientes Minerais

Amostras de folhas do terceiro nó completamente expandidas foram lavadas em água destilada, desidratadas em temperatura de 40 °C e conduzidas ao Laboratório de Análises de Solos e de Plantas da Universidade Federal do

Espírito Santo (UFES) – Centro de Ciências Agrárias (CCA) – Departamento De Engenharia Florestal e Madeireira situado no município de Jerônimo Monteiro, ES para as análises de nutrientes da folha das duas populações analisadas. Foi feito, também, a análise de nutrientes do solo, neste mesmo laboratório. Os métodos utilizados para estas análises são pormenorizadamente descritos em EMBRAPA (1999).

2. 13 - Análise Estatística

O delineamento experimental adotado foi inteiramente casualizado. As médias dos dados obtidos foram comparadas aplicando o teste de Tukey a nível de 5% de probabilidade pelo Programa Assistat 7.5 beta (2008), UAEG-CTRN-UFCG, Campina Grande – PB e a organização, normalização e tabulação dos dados, executados pelo programa Microsoft Office Excel (2007).

3 - RESULTADOS E DISCUSSÕES

Não foram encontradas diferenças significativas entre as duas populações quanto aos teores nutricionais foliares (Tabela 1) e do solo (Tabela 2). Esses resultados podem ser explicados pela proximidade local entre os dois tratamentos.

Tabela 1 - Concentração de nutrientes foliares de plantas jovens de pau-brasil (*Caesalpinia echinata* Lam.) em duas condições de luz diferente: pleno sol e sombreamento natural. As médias são referentes a 5 indivíduos por tratamento.

Nutrientes	N	P	K	Ca	Mg	S	Zn	Fe	Mn	Cu	B
Tratamento	dag/kg (%)						mg/kg				
Sol	a 1,76	a 0,234	a 0,788	a 0,66	a 0,138	a 0,194	a 36,88	a 51,8	a 35,8	a 5,45	a 30,8
Sombra	a 1,732	a 0,308	a 0,7	a 1,096	a 0,118	a 0,224	a 40,52	a 97,8	a 53,6	a 5,59	a 39,8

*Valores seguidos de letras iguais dentro da coluna não diferem pelo teste Tukey a 5%.

Tabela 2 - Concentração de nutrientes do solo nos locais de pleno sol e sombreamento natural. As médias são referentes a 5 pontos de coleta ao longo de toda extensão em que as plantas foram analisadas.

Nutrientes	pH	S	P	K	Na	Ca	Mg	Al	C	Fe	Mn	B
Tratamento	H ₂ O	mg/dm ³			cmol/dm ³			g/kg	mg/dm ³			
Sol	a 5,52	a 17,6	a 33,6	a 20,8	a 2,4	a 1,78	a 0,66	a 0,12	a 13,7	a 41,2	a 41,4	a 0,132
Sombra	a 5,84	a 16,8	a 29,4	a 22,4	a 3,2	a 2,2	a 0,76	a 0,1	a 16,1	a 38,6	a 42,4	a 0,18

*Valores seguidos de letras iguais dentro da coluna não diferem pelo teste Tukey a 5%.

3.1 - Crescimento

As plantas de *C. echinata* em pleno sol exibiram os maiores valores das medidas de crescimento em relação ao sombreamento natural. As plantas em pleno sol apresentaram altura média de 140 cm e 26 cm de diâmetro do caule enquanto as plantas da população cultivada em sombreamento natural apresentaram crescimento 1/3 menor com 45 cm de altura e 8 cm de diâmetro caulinar (Tabela 3). Estes resultados são amplamente relatados em literatura com espécies arbóreas (KAMALUDDIN e GRACE, 1993; SCALON et al., 2003; MARTINAZZO et al., 2007; LIMA et al., 2010). Resultados semelhantes também foram relatados por Portela (2012) trabalhando com jequitibá-branco; Soares (2012) analisando o ipê-amarelo; Souza e Válio (2003) com quinze espécies tropicais do Brasil, Craven, Gulamhussein e Berlyn (2010) utilizando *Acacia koa* e Kelly et al., (2009) com espécies arbóreas tropicais da Austrália.

Tabela 3 - Altura, diâmetro do caule, teor de água foliar, área foliar unitária (AFU) e massa foliar específica (MFE) de plantas jovens de pau-brasil (*Caesalpinia echinata* Lam.) em duas condições de luz diferente: pleno sol e sombreamento natural. As médias são referentes a 10 indivíduos por tratamento.

Tratamento	Altura	Diâmetro caule (cm)	Teor H ₂ O (mg H ₂ O cm ⁻²⁻¹)	AFU (cm ²)	MFE (mg MF cm ⁻²⁻¹)
Sol	140 a	26,0 a	0,20 a	8,25 a	0,03 a
Sombra	45 b	8,2 b	0,14 b	7,70 a	0,02 b

*Valores seguidos de letras iguais dentro da coluna não diferem pelo teste Tukey a 5%.

Os relatos sobre as preferências ecológicas de *C. echinata* em relação à luminosidade são controversos (MENGARDA et al, 2009; BUDOWSKI, 1965; CARVALHO, 1994; LORENZI, 2002). Por exemplo, árvores do foliólulo médio com 8 anos de idade cultivadas no distrito de Domingos Martins - ES (20°21'49" latitude (S) e 40°39'33" longitude), em um terreno em declive recebendo luz solar direta, 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 et al., 2009). No trabalho de Mengarda et al., (2009), mudas de *C. echinata* do morfotipo foliólulo pequeno cultivadas em casa de vegetação e submetidas ao 80 % de sombreamento apresentaram crescimento oposto ao encontrado neste trabalho e nas plantas de pau-brasil da região de Domingos Martins. No trabalho de Mengarda et al. (2009) as plantas expostas ao pleno sol apresentaram profundas injúrias foliares e abscisões. Podemos afirmar, juntamente com dados de Mengarda et al. (2012), que a espécie *C. echinata* apresenta diferentes tolerâncias a irradiância solar dependendo da sua morfologia foliar.

Souza e Válio (2003), em um experimento com plantas jovens de quinze espécies arbóreas tropicais observaram que o crescimento, em geral, foi menor em condições de sombreamento, com plantas apresentando menores valores de altura e massa seca total em relação às plantas submetidas ao sol pleno. Resultados semelhantes foram verificados para outras espécies arbóreas tropicais (POPMA e BONGERS, 1988)

Segundo Maule et al. (1995), a radiação solar pode afetar a produção e partição de biomassa para os órgãos da planta e alterar a morfologia e composição destes. A modificação no padrão de alocação de biomassa acontece no sentido de minimizar os efeitos de um fator limitante e buscar o

“equilíbrio funcional”, por meio do incremento da captura do fator que limita o crescimento (POORTER et al., 2011). Poorter e Nagel (2000) demonstraram que a maior irradiância implica em maiores taxas fotossintéticas por unidade de área foliar. Com isso, em condições de radiação solar intensa, ocorre maior crescimento do vegetal (POORTER, 1999; TOLEDO-ACEVES e SWAINE, 2008; FINI et al., 2010; KWAK et al., 2011).

No presente estudo, as plantas em pleno sol desenvolveram maior massa foliar específica (MFE) e maior teor de água foliar (Tabela 3) indicando elevado grau de esclerofilia dessa população como parte de suas estratégias adaptativas (PORTELA, 2012; LIMA et al., 2008; MENGARDA et al., 2009; KWAK et al., 2011). Maior MFE aumenta a resistência da perda de água por transpiração e evita danos fotooxidativos (PORTELA, 2012; MENDES et al., 2001; DUZ et al., 2004) e garante um bom desempenho fotossintético (NAKAZONO et al., 2001). Essa resistência é aumentada pelo menor contato entre a superfície foliar e o ambiente, o que minimiza os efeitos do aquecimento (PARKHURST e LOUCKS, 1972; FINI et al., 2010).

De acordo com Kitajima (1994) e Oguchi, Hikosaka e Hirose (2003) tais respostas morfológicas podem estar ligadas ao balanço positivo no ganho de carbono (assimilação líquida de CO_2), o que proporciona ao vegetal a manutenção do seu crescimento e a sua sobrevivência.

Não foi observada, entre as populações, diferença estatística no valor de área foliar unitária (AFU) (Tabela 3). Característica que normalmente é encontrada maior em plantas submetidas ao sombreamento, pode ser associada à menor eficiência fotossintética dessas plantas em condições de baixa intensidade luminosa, condição esta que demonstra ser insatisfatória para o cultivo da variante média foliar de *C. echinata*.

Não foram encontrados indivíduos de *C. echinata* nas duas populações com evidências de queimaduras e/ou sintomas de clorose dos foliólulos, principais sintomas morfológicos indicativos de fotoinibição da fotossíntese e oxidação da clorofila. Sendo assim, é possível afirmar que o morfotipo foliólulo médio de *C. echinata* é tolerante ao pleno sol. Essa afirmativa pode ser confirmada com o

relato de que plantas jovens de *C. echinata* morfotipo folha média não apresentarem sinais de injúrias em suas folhas quando transferidas de sombreamento intenso para pleno sol (Comunicação Oral Inayá Paradizo, 2012) diferente do morfotipo folhas pequenas em que a queimadura foi seguida de total abscisão das folhas na primeira semana de exposição ao pleno sol (MENGARDA et al. 2009). Essas diferenças levaram a supor que os morfotipos devem diferenciar quanto às estruturas anatômicas e diferenças bioquímicas e fisiológicas.

3. 2 - Anatomia Foliar

Secções transversais da lâmina foliar de *C. echinata* das plantas das duas populações mostraram epiderme uniestratificada (Figura 2 – A e B). 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 (Figura 2 – A e B). O mesofilo é dorsiventral, constituído de uma camada de parênquima paliçádico e 10 a 14 camadas celulares de parênquima lacunoso (Figura 2 – A e B). A folha é hipoestomática com estômatos do tipo paracítico.

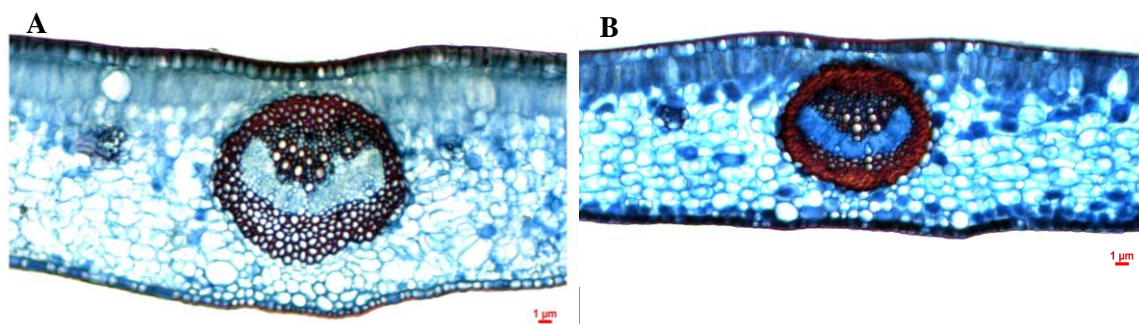


Figura 2 - Secções transversais do limbo de plantas jovens de pau-brasil (*Caesalpinia echinata* Lam.) em duas condições de luz diferente: pleno sol (A) e sombreamento natural (B). Barras vermelhas = 1 μ m.

Foi observada maior espessura do limbo nas plantas em pleno sol, possivelmente devido ao maior conteúdo de água celular. Conseqüentemente, os tecidos como epiderme adaxial e abaxial, parênquima paliçádico e lacunoso apresentaram mais espessos em pleno sol (Tabela 4 e Figura 2). Essas alterações na estrutura interna da folha sugerem melhor desempenho no processo de captura de luz através da lamina foliar (MENDES et al., 2001).

Essas características, também, foram observadas em plantas do morfotipo foliólulo pequeno quando transferidas para pleno sol (MENGARDA et al. 2012). No entanto, foi constatado que estas modificações morfológicas anatômicas não foram suficientes para melhorar o desempenho fotossintético como nas plantas exposta em sombreamento (MENGARDA et al. 2012).

Tabela 4 - Dados anatômicos quantitativos de folhas jovens de pau-brasil (*Caesalpinia echinata* Lam.) em duas condições de luz diferente: pleno sol e sombreamento natural. Valores médios das espessuras do limbo, cutícula, epiderme da face adaxial e abaxial, parênquimas paliçádico e lacunoso, diâmetro do feixe vascular e razão entre as espessuras dos parênquimas lacunoso e paliçádico (PL/PP), e densidade estomática (mm^2). As médias são referentes a 6 indivíduos por tratamento.

Variáveis Anatômicas	Tratamento	
	Sol	Sombra
Espessura (μm)		
Limbo	389,07 a	315,33 b
Cutícula	9,90 a	5,21 b
Epiderme da face adaxial	19,94 a	15,89 b
Parênquima paliçádico	93,4 a	67,23 b
Parênquima lacunoso	234,69 a	200,19 b
Epiderme da face abaxial	16,89 a	13,89 b
Diâmetro do feixe vascular	236,97 a	207,6 b
PL/PP	2,55 b	3,2 a
Densidade estomática (mm^2)	238,9 a	153,5 b

*Valores seguidos de letras iguais dentro da linha não diferem pelo teste Tukey a 5%.

Variações na espessura dos tecidos foliares em função da intensidade de irradiância são amplamente relatadas na literatura (KUBINOVÁ, 1991; ASHTON e BERLYN, 1992; PAIVA et al., 2003; LIMA JR et al., 2006; CRAVEN et al., 2010; MARCH e CLARK, 2011; SABBI et al., 2010; SILVA et al., 2010) e são associadas a mudanças estruturais para a manutenção do processo fotossintético e maior eficiência no uso da água, uma vez que aumentam as taxas fotossintéticas por unidade de área foliar (STRAUSS-DEBENEDETTI e BERLYN, 1994; ROSSATO e KOLBI, 2010).

Boeger et al. (2009), Rossatto e Kolb (2010) e Kwak et al., (2011) concluíram que o aumento da espessura do limbo nas plantas em pleno sol se deve ao aumento de suas camadas celulares parenquimáticas e epidérmicas, o que não foi encontrado neste trabalho (Figura 2). O limbo dos foliólulos de plantas em pleno sol foi maior em espessura devido ao alongamento celular dos parênquimas e células da epiderme, consequência do maior conteúdo de água foliar interno.

A razão entre parênquima lacunoso e parênquima paliçádico (PL/PP) pode ser utilizada como indicativo de otimização da captura de luz, sendo que em sombreamento essa razão é frequentemente maior que 1 (BOEGER et al., 2009). Nas folhas de *C. echinata* essa razão foi maior em pleno sol (Tabela 4) indicando, fortemente, maior eficiência na captura de luz e aproveitamento de energia.

A espessura da cutícula das plantas em pleno sol, também foi maior em relação às plantas em sombreamento natural (Tabela 4 e Figura 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 elevada irradiância, pois aumenta a resistência da transpiração cuticular, 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 cutícula e das células da epiderme da face adaxial pode desempenhar importante papel na manutenção dos níveis ótimos de temperatura foliar, mantendo a efetividade dos processos fotossintéticos em elevada irradiância (DICKISON, 2000). Cao (2000), comparando a anatomia foliar de doze arbóreas tropicais em diferentes condições de luminosidade, verificou maior espessura da cutícula nas plantas em pleno sol. Fermino-Jr (2004), também observou esse aumento em *G. opposita* exposta à irradiação intensa.

A densidade estomática foi maior nas plantas expostas ao pleno sol (Tabela 4). Este resultado também foi verificado 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 provoca maior 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. A maior irradiância, geralmente, são associadas à menor umidade relativa do ar e, conseqüentemente, a 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 fotossintetizantes, maximizando dessa forma o ganho de carbono (MARQUES et al. 2000; MENDES et al., 2001; GUREVITCH, SCHEINER e FOX, 2009). Além disso, Dickison (2000) e Fermino-Jr (2004) afirmam que espécies com folhas hipoestomáticas, 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.

Assim como na espessura dos tecidos e densidade estomática, o valor de diâmetro do feixe vascular foi maior nas plantas em pleno sol (Tabela 4). Angyalossy, Amano e Alves (2005) verificaram que exemplares de *C. echinata* adaptados a locais quentes e úmidos possuíam vasos de maior diâmetro, uma vez que a disponibilidade de água no solo e a evapotranspiração são maiores e permitem maior eficiência na condução. Soares (2012), trabalhando com plantas de ipê-amarelo (*Handroanthus chrysotrichus*) observou resultados semelhantes para as mudas expostas à irradiação intensa.

Logo, presumi-se que *C. echinata* com foliólulo médio possui alta capacidade anatômica de tolerar ambientes de intensa luz solar.

3. 3 - Pigmentos Fotossintéticos

Os teores de pigmentos apresentaram diferenças entre as duas populações (Figura 3). Os indivíduos em sombreamento natural apresentaram maior conteúdo de pigmentos cloroplastídicos (Tabela 5), tanto clorofila *a* e clorofila *b*, bem como a clorofila total e carotenóides. De acordo com Laisk et al. (2005), plantas desenvolvidas em pleno sol investem menos em complexos coletores de luz pois 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, MARENCO e MENDES 2009).



Figura 3 - Esquerda: folha de um indivíduo exposto ao sombreamento natural, evidenciando foliólulos médios de coloração verde escura. Direita: folha de um indivíduo em pleno sol com foliólulos médios com coloração verde claro. Barra = 2cm.

A maior concentração de clorofila *b* em folhas de *C. echinata* em sombreamento natural pode favorecer a absorção de fótons, uma vez que este pigmento absorve energia em comprimentos de onda superiores ao da clorofila *a* em plantas sob influência de sombreamento (GONÇALVES et al., 2001; TAIZ e ZEIGER, 2008). As razões Chl. *a/b* e Chl./Carot. não apresentaram diferenças estatísticas entre os tratamentos (Tabela 5).

Tabela 5 - Concentrações de clorofila *a*, clorofila *b*, clorofila total e carotenóides; bem como, as razões entre clorofila *a* e *b* e clorofila total e carotenóides de plantas jovens de pau-brasil (*Caesalpinia echinata* Lam.) em duas condições de luz diferente: pleno sol e sombreamento natural. As médias são referentes a 6 indivíduos por tratamento.

	Clorofila <i>a</i>	Clorofila <i>b</i>	Clorofila total (mg/ g MS)	Carotenóides	Chl. <i>a/b</i>	Chl./Carot.
Sol	1,61 b	1,11 b	2,96 b	1,23 b	1,81 a	2,87 a
Sombra	3,20 a	3,19 a	5,71 a	2,55 a	1,18 a	2,53 a

*Valores seguidos de letras iguais dentro da coluna não diferem pelo teste Tukey a 5%.

Alguns estudos indicam que em condições de sombreamento, a concentração de carotenóides nas folhas tende a ser mais elevada (LICHTENTHALER et al., 2007; LIMA et al., 2010). Isso porque, segundo Bartley e Scolnik (1995), os carotenóides poderiam absorver luz na faixa do comprimento azul (400-500nm) e transferir a energia luminosa para moléculas de clorofila dos sistemas antena e dos centros de reação, na tentativa de melhorar o desempenho fotossintético. Presumi-se que a condição sombreada não fornece um aporte energético luminoso necessário para o metabolismo da variante média de *C. echinata*.

Pode-se observar uma alocação metabólica (capacidade energética de síntese) das plantas de *C. echinata* em sombreamento natural no sentido de produzir pigmentos cloroplastídicos necessários para aumentar a faixa de captação luminosa, aumentando a capacidade de absorver luz. Dependendo da intensidade do sombreamento e/ou da baixa tolerância da espécie a esta condição, esse maior conteúdo de pigmentos para captação de luz solar não é capaz de fornecer a quantidade de energia necessária para o funcionamento fotossintético da planta (TAIZ e ZEIGER, 2008).

3.4 - Cinética de Emissão da Fluorescência Transiente ou Polifásica (OJIP)

Na figura 4 podemos observar com as curvas do teste OJIP, que permite observar informações sobre os parâmetros estruturais e funcionais, que quantificam o desempenho do aparato fotossintético na sua fase fotoquímica (STRASSER, 2004; TSIMILLI-MICHAEL, 2008). As curvas estão divididas em quatro passos, onde cada passo: O, J, I e P é, respectivamente, a fluorescência a 50 μ s, 5 ms, 30 ms e 300 ms. A fluorescência emitida entre os pontos O e J representa o acúmulo de Quinona A reduzida no Fotossistema II (LAZAR, 2004). A fluorescência emitida entre os pontos O e I representa a excitação do Fotossistema II até a redução da Plastoquinona (intersistema), e a transferência de elétrons até o lado acceptor do Fotossistema I que representa a fase I ao P (YUSUF, et al 2010). O ΔV_t (Figura 4 – B) expressa a razão dos valores alcançados pelas curvas OJIP entre os dois tratamentos, amplificando as diferenças entre uma curva e para melhor visualização (STRASSER 1995; STRASSER, 2004; STRASSER, 2007; TSIMILLI-MICHAEL, 2008).

Podemos observar aumento na emissão de fluorescência das plantas de *C. echinata* em sombreamento natural (Figura 4 – A e B). Em todas as fases podemos observar maiores níveis de fluorescência, principalmente nas fases OJI (Figura 4 – A e B).

Estes resultados podem evidenciar um dano no Fotossistema II das plantas em sombreamento, mais especificamente uma possível deficiência na capacidade da Quinona *a* de reoxidação (OUKARROUM, 2009) e um transporte de elétrons ineficiente do intersistema ao Fotossistema I.

Assim, podemos afirmar mais precisamente que a irradiância direta é mais adequada para as plantas de *C. echinata* de foliólulo médio por não apresentaram fotoinibição, como observado por Mengarda et al. (2012) utilizando mudas do morfotipo foliólulo pequeno, também em pleno sol. No presente estudo, as plantas em pleno sol apresentaram melhor rendimento fotoquímico, com melhor captação de luz no fotossistema II (FSII), transporte de elétrons pelo intersistema e aproveitamento de energia no fotossistema I (FSI).

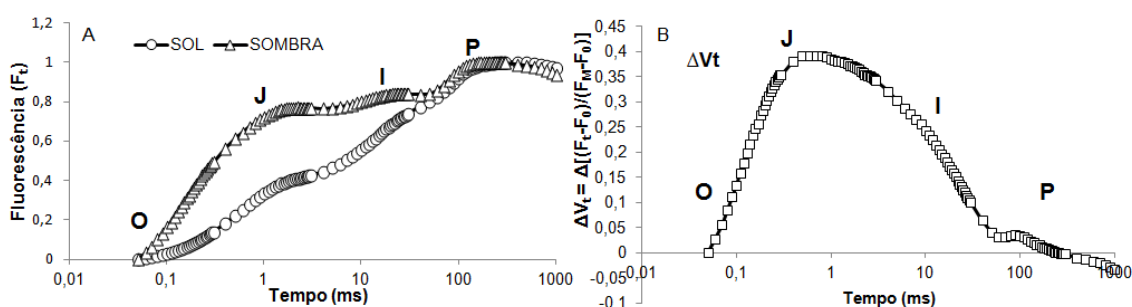


Figura 4 - (A) Cinética da Fluorescência da Clorofila *a* (curva OJIP) em folhas de plantas de *C. echinata* do morfotipo folha pequena em pleno sol (círculo) e sombreamento natural (triângulo). (B) Representa a diferença das curvas OJIP (ΔV_t) entre os valores F_t de plantas em pleno sol (círculo) e plantas em sombreamento natural (triângulo). O eixo horizontal apresenta o tempo (ms) em escala logarítmica. E as letras O, J, I e P sinalizam o momento em que cada ponto ocorre na curva. As médias são referentes a 20 indivíduos por tratamento.

Os rendimentos quânticos representados pela seta na figura 5 correspondem a parâmetros matemáticos do teste OJIP e ajudam a observar, no percurso do elétron ao longo dos fotossistemas, onde exatamente existem variações.

Na Figura 5, a densidade de centros de reação ativos do FSII (RC/ABS) e o rendimento da captura de energia ($TR_0/ABS = F_V/F_M$) foram menores nas plantas em sombreamento natural. Yusuf et al. (2010) apontam que reduções

nos valores de RC/ABS acompanhados por reduções em TR_0/ABS são reflexos da inativação de parte dos centros de reação do fotossistema. Resultados semelhantes foram observados por Souza et al. (2004) e Cunha (2010).

De acordo com Siewiesiuk et al. (2002), o sombreamento induz fotodano ao Fotossistema II por interferir no complexo de oxidação da molécula de água na fase fotoquímica, formando compostos intermediários incapazes de serem oxidados pela baixa intensidade de luz. De acordo com este mesmo autor, esta baixa condição de luz diminui o número de centros de reação ativos do Fotossistema II para minimizar esse efeito desfavorável, provocando reduções drásticas na eficiência fotoquímica, e conseqüentemente, altos níveis de fluorescência. Possivelmente, a condição de sombreamento para a variante média de *C. echinata* foi suficiente para limitar o funcionamento fotoquímico dessas plantas e aumentar a dissipação de energia.

Foi observada maior taxa de ET_0/TR_0 nas plantas em pleno sol. A probabilidade de um elétron avançar de Q_A e entrar na cadeia transportadora, ET_0/TR_0 , é considerada por Force et al., (2003) como um dos parâmetros derivados do teste OJIP mais acurados na identificação de fotoinibição do FSII. Logo, a incapacidade de transporte de elétrons apresentada pela população em sombreamento pode ser explicada pelo fotodano ao FSII e o baixa densidade de centros de reação ativos (SIELEWIESIUK et al., 2002).

O índice que demonstra a eficiência ou probabilidade do movimento dos elétrons da plastoquinona reduzida para os aceptores finais do FSI (RE_0/ET_0) foi maior nas plantas em sombreamento (Figura 5). Aumentar o rendimento e a eficiência do movimento dos elétrons na fase final da etapa fotoquímica pode ser uma estratégia fotoquímica das plantas de sombra para compensar o baixo rendimento durante a fase de captação de luz no FS II e continuamente seu transporte de elétrons ao longo da cadeia transportadora. Como a luz vermelho-distante é mais abundante em ambientes sombrios, e a sua absorção é principalmente pelo FSI, possibilitou as plantas em sombreamento aumentar os rendimentos de transporte de elétrons para fase final fotoquímica, e conseqüentemente, tornou possível manter um melhor balanço do fluxo de energia por meio dos fotossistemas (MELIS, 1996).

O índice de *performance* (PI) é considerado um indicador de vitalidade da planta (MEHTA, 2010) e vem sendo muito usado e discutido nas investigações fisiológicas dos vegetais (STRASSER et al., 2010). Os autores consideram dois índices de *performance* potenciais: um parcial (PI_{ABS}), da conservação de energia absorvida pelo FSII até a redução dos aceptores de elétrons do inter-sistema; e um total (PI_{TOTAL}), da conservação da energia absorvida pelo FSII até a redução dos aceptores finais do FSI. Como já foi dito, o baixo rendimento fotoquímico do fotossistema II nas plantas em sombreamento provoca redução drástica no PI_{ABS} (Figura 5), parâmetro que não agrupa o aproveitamento de luz e o rendimento do fotossistema I.

O índice de *performance* total (PI_{TOTAL}), parâmetro considerado como o mais sensível do teste OJIP (STRASSER et al., 2007; ZUBEK et al., 2009), evidencia que o desempenho das reações fotoquímicas em toda a extensão dos FSII e FSI, por onde a energia de excitação é transportada, foi mantido em altos níveis nas plantas em pleno sol (Figura 5). Mesmo com a leve tentativa de aumento do rendimento do FSI nas plantas em sombreamento, as suas condições fotoquímicas foram inferiores.

Para Gonçalves et al. (2010), a análise conjunta de TR_0/ABS (F_V/F_M) e PI_{TOTAL} 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. Possivelmente, o decréscimo nas taxas de fluorescência das plantas em pleno sol é acompanhado de elevação nas taxas de fotossíntese líquida (assimilação do CO_2), indicando a utilização, na fase bioquímica, do ATP e do NADPH produzidos na fase fotoquímica (BACARIN e MOSQUIN, 1998). Ou seja, um melhor desempenho fotoquímico da população exposta ao pleno sol pode explicar a maior taxa de fotossíntese líquida dessas plantas como mostrado na tabela 6.

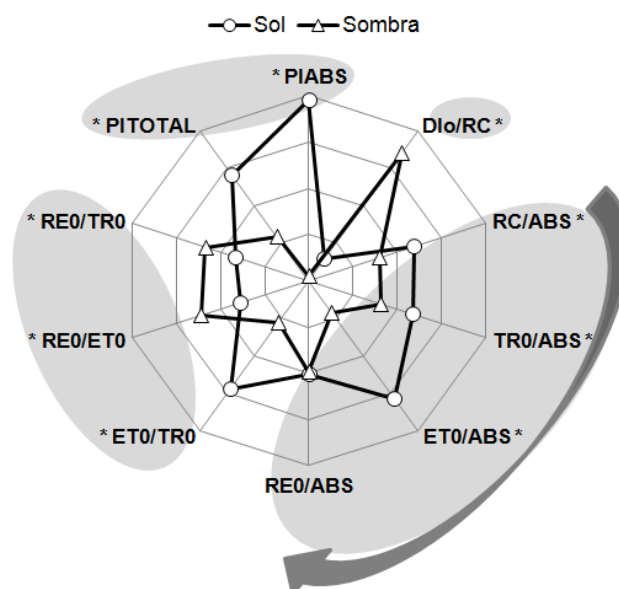


Figura 5 - Parâmetros da fotossíntese deduzidos a partir do teste OJIP para a análise da fluorescência transiente em folhas de plantas jovens de pau-brasil (*Caesalpinia echinata* Lam.) em duas condições de luz diferente: pleno sol (círculo) e sombreamento natural (triângulo). Avaliadas sob a perspectiva de dez parâmetros organizados e separados em quatro grupos: índices de desempenho, dissipação de elétrons por centro de reação ativo, cascata de rendimento quântico (indicada pela seta) e movimento dos elétrons pelos fotossistemas. Para cada parâmetro as médias foram normalizadas usando como referência a média das médias como unidade. As médias são referentes a 20 indivíduos por tratamento e as diferenças significativas entre os tratamentos (5% de probabilidade, teste de Tukey) são indicadas pelo asterisco.

3. 5 - Trocas Gasosas

Na tabela 6, observa-se diferença estatística em todas as variáveis relacionadas às trocas gasosas que foram maiores em pleno sol. As plantas em pleno sol apresentaram maior capacidade de assimilação de carbono (A) em relação às de sombreamento. Quanto maior a capacidade da planta em transferir a energia dos elétrons ejetados das moléculas dos pigmentos para a formação dos compostos redutores NADPH, ATP e Ferridoxina reduzida (eficiência na fase fotoquímica), maior a capacidade de assimilação do CO_2 na fase bioquímica da fotossíntese (ROHÁČEK, 2002; BAKER, 2008).

A maior condutância estomática (g_s) favoreceu maiores entrada de CO_2 nas câmaras subestomáticas das folhas das plantas em pleno sol (Tabela 6). Amaral et al. (2006) e Machado et.al. (2010) acrescentam que, como os estômatos constituem as principais vias de trocas gasosas entre as folhas e o meio externo, o aumento na resistência difusiva estomática pode ocasionar

redução na fotossíntese líquida (A), o que foi observado nas plantas em sombreamento (Tabela 6).

Não houve diferença estatística na temperatura foliar entre as plantas em pleno sol e sombreamento (Tabela 6). A intensa atividade transpiratória (E) das plantas em pleno sol contribuiu para manter a temperatura foliar estável.

Mesmo apresentando valores altos de E (perda de água devido à alta irradiância) as plantas em pleno sol assimilaram altas concentrações de carbono (A) o que refletiu em um balanço nos valores de eficiência no uso da água (A/E). Nogueira et al. (2004) e Silva et al. (2010), estudando arbóreas tropicais verificaram que as espécies pioneiras crescendo em ambientes altamente iluminados apresentam maior A/E do que as espécies sucessionais tardias. De fato, resultado similar também ocorreu na A/g_s (Tabela 6) demonstrando que o melhor aproveitamento do uso da água pela população exposta ao pleno sol sugere que *C. echinata* morfotipo foliar médio seja uma variante da espécie tolerante ao pleno sol.

A atividade bioquímica da fotossíntese pode ser avaliada, também, por A/C_i (eficiência aparente de carboxilação) segundo Farquhar e Sharkey (1982) e Zhang (2001). A razão A/C_i foi menor nas plantas em sombreamento. Na figura 5, as plantas em sombreamento apresentaram menor eficiência fotoquímica por centro de reação ativo, conseqüentemente maiores taxas de fluorescência. O menor aproveitamento fotoquímico e a elevada taxa de C_i pode explicar a queda na eficiência aparente de carboxilação (A/C_i) em sombreamento (Tabela 6). Possivelmente, a fotossíntese líquida das plantas de *C. echinata* desse morfotipo em sombreamento esteja sendo prejudicada pela elevada atividade respiratória celular, conforme relatado por Silvestrini et al. (2007) e Portela (2012) trabalhando com espécies da Mata Atlântica.

Tabela 6 - Temperatura ambiente e foliar; variação de carbono ambiente-folha (ΔCO_2) e carbono interno subestomático (C_i); radiação fotossinteticamente ativa (RFA), taxa de transpiração (E), condutância estomática (g_s) e fotossíntese (A). Bem como as razões: eficiência do uso de água (A/E) e eficiência intrínseca do uso de água (A/G_s) e eficiência aparente de carboxilação (A/C_i). As medidas foram realizadas em plantas jovens de pau-brasil (*Caesalpinia echinata* Lam.) em duas condições de luz diferente: pleno sol e sombreamento natural. As médias são referentes a 20 indivíduos por tratamento.

Variáveis fisiológicas	T. Amb.	T. Foliar	ΔCO_2	C_i	RFA	E	G_s	A	A/E	A/G_s	A/C_i
Tratamento	°C		(ppm)		(mmol.m ⁻² .s ⁻¹)						
Sol	32,85 a	31,99 a	21,03 a	310,37 b	999,93 a	7,46 a	1,05 a	6,99 a	0,94 a	6,66 b	0,02 a
Sombra	31,61 a	30,44 a	6,82 b	322,7 a	191,97 b	4,92 b	0,2 b	2,25 b	0,45 b	11,25 a	0,007 b

*Valores seguidos de letras iguais dentro da coluna não diferem pelo teste Tukey a 5%.

3. 6 - Carboidratos Solúveis

Alterações em A podem refletir em mudanças na composição e concentração de açúcares solúveis que estão diretamente relacionados com o metabolismo e crescimento vegetal. Assim, plantas sob influência de variações na intensidade de irradiância podem apresentar alterações nas concentrações de açúcares totais solúveis como a glicose, frutose e sacarose (MARENCO et al., 2001; GUIDE et al., 2008). Segundo Marenco et al. (2001), ambientes mais iluminados beneficiam o aumento da fotossíntese e, portanto, a produção de carboidratos. Isso poderia explicar as maiores concentrações de açúcar total solúvel, frutose e glicose nas folhas das plantas de *C. echinata* expostas ao pleno sol (Figura 6). Em estudos sobre a relação entre luminosidade e teor de açúcares, Martinazzo et al. (2007), também, verificaram maiores concentrações dos carboidratos não estruturais em *Eugenia uniflora* quando submetidas ao pleno sol.

Quando o vegetal entra em crescimento ativo, o metabolismo de carboidratos se torna mais intenso (BORBA, SCARPARE FILHO e KLUGE, 2005). Sendo assim, a maior concentração de carboidratos totais nas folhas das plantas em pleno sol (Figura 6) pode ter ocorrido devido ao crescimento ativo dessas plantas. Somado a isso, a regulação osmótica exercida pelos açúcares solúveis confere uma exigência hídrica para os tecidos foliares, protegendo-os contra a perda de água, manutenção do potencial hídrico e também auxiliando no processo de alongamento celular (entrada de água para o interior das células). Essa possibilidade pode ser confirmada com os resultados apresentados na

Tabela 3, onde se pode observar maior teor de água nos folíolos da população em pleno sol.

As variações dos carboidratos podem indicar que, além do papel de reserva, estes compostos estejam relacionados aos mecanismos adaptativos em resposta ao estresse, como observado por Mengarda et al. (2012) em plantas de *C. echinata* expostas ao pleno sol. Sendo assim, os valores semelhantes de sacarose (único açúcar que não apresentou diferenças entre as duas populações) pode ser explicado pelo aspecto protetor deste açúcar em uma provável situação de estresse por falta de luz (Figura 6).

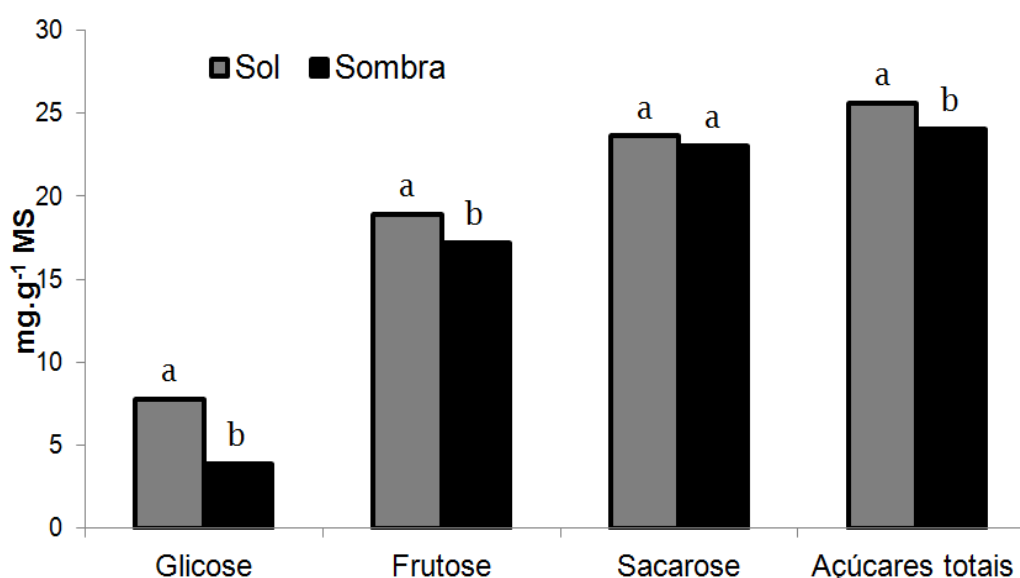


Figura 6 - Concentração foliar de carboidratos solúveis em folhas de plantas de *C. echinata* em pleno sol e sombreamento natural. As médias são referentes a 6 indivíduos por tratamento. Valores indicados com letras iguais não diferem pelo teste Tukey a 5%.

3. 7 - Compostos Antioxidantes

O sombreamento estimulou a maior presença de teores de enzimas antioxidativas, fenóis e a capacidade antioxidativa (Tabela 7).

A menor atividade de enzimas antioxidantes em da população de *C echinata* em pleno sol já foram anteriormente relatados para outras espécies arbóreas tropicais (MISHRA et al, 1993; BURRIT e MACKENZIE, 2003; MARCHESE et al., 2008; VULETA e TUCIC, 2009). Essa resposta, também, foi verificada para arbóreas pioneiras por Favaretto et al., (2011), cuja atividade enzimática aumentou com a redução da irradiância.

Em virtude do desequilíbrio entre absorção de luz, utilização da energia radiante e assimilação do carbono, presume-se que tenha ocorrido um excesso na atividade fotorrespiratória das plantas de *C. echinata* em sombreamento na tentativa de evitar a formação de espécies reativas de oxigênio (ERO's) pelos compostos redutores formados na fase fotoquímica da fotossíntese (ASADA, 1999; ORT e BAKER 2002). Como não foram observados danos oxidativos nas plantas em sombreamento, tais como aparecimento de áreas cloróticas e/ou necróticas, o quadro de estresse oxidativo pode estar sendo impedido pelo alto teor de componentes de defesa enzimáticos (POD e SOD) e não enzimáticos (quantificados pelo método ABTS) para proteger as células dos efeitos tóxicos desses radicais livres (ALLEN, 1995; ALSCHER et al, 2002).

Foi observado maior atividade na expressão da SOD na população de *C. echinata* em sombreamento natural (Tabela 7). Baixas intensidades de luz em *Posidonia oceanica*, espécie pioneira, aumentou a expressão de SOD como demonstrado por Mazzuca et al. (2009). Este resultado foi verificado, também, por Zhang et al. (2011) trabalhando com pepino.

Como descrito por Kuskoski et al. (2005), o ensaio ABTS^{•+} quantifica a capacidade antioxidativa não enzimática de uma amostra, sendo ela de natureza hidrofílica e/ou lipofílica. Logo, o maior investimento na capacidade antioxidativa das plantas de sombra deste estudo (Tabela 7) pode explicar o baixo crescimento das mesmas, ou seja, o baixo teor de compostos redutores finais fotoquímicos produzidos está sendo consumido na produção de componentes específicos do sistema antioxidante (metabolismo secundário) (FAVARETTO et al., 2011). Isso o torna mais eficiente e decisivo na tolerância ao sombreamento, e conseqüentemente, resultando em menor produção de ERO's, de modo a limitar a ocorrência de danos celulares.

Além disso, a enzima POD catalisa a oxidação de auxina, um hormônio vegetal que atua como uma molécula reguladora do crescimento (SITBON et al., 1999), causando diminuição nas concentrações deste hormônio resultando plantas de porte limitado semelhante às plantas de *C. echinata* em sombreamento natural (Tabela 3). Por conseguinte, a atividade da POD no sombreamento de *C. echinata* contribuiu para a restrição na expansão celular como observado por

Sofo et al. (2004) trabalhando com o sombreamento nas mudas de oliveira (*Olea europaea*) no sul da Itália.

Além da atividade das enzimas relacionadas à produção de ERO's, no presente estudo também foi constatado maiores teores de compostos fenólicos totais nas plantas em sombreamento natural (Tabela 7). Karageorgou et al. (2002) trabalhando com *Dittrichia viscosa*, espécie nativa do Mediterrâneo, também encontraram maiores teores de fenóis no sombreamento. Essas substâncias geralmente se manifestam nos vegetais, sinergicamente aos compostos antioxidantes, quando a condição do estresse é suficiente para restringir a síntese do metabolismo primário, e com isso, substâncias fenólicas e flavonóides acumulam na tentativa de defesa dessas plantas à condição adversa (KARAGEORGOU et al., 2002).

Esses resultados com *C. echinata* podem ser explicados pela hipótese de equilíbrio de Herms e Mattson (1992). De acordo com esta hipótese, a condição ambiental favorável (luz adequada, água, nutrientes e etc.) induz o crescimento pela síntese de proteínas participantes do metabolismo primário, que favorece a polimerização de carbono, e conseqüentemente, a síntese carboidratos complexos estruturais. Quando a luz, água e nutrientes são limitantes, a força de dreno para a síntese de proteínas é enfraquecida, permitindo o carbono simples, excedente da fotossíntese, ser direcionado para a formação de compostos menos complexos como os fenóis e flavonóides.

Na verdade, em ambiente natural, as respostas antioxidativas de plantas às variações abióticas são induzidas por mecanismos similares que resultam em adaptações de maior ou menor incidência luminosa (BULBOVAS et al. 2005). Isso porque fatores ambientais extremos levam ao aumento das concentrações das espécies reativas de oxigênio, e, conseqüentemente, estimulam do mesmo modo os antioxidantes (BRAY et al., 2000, KUK et al., 2003).

Tabela 7 - Valores médios para peroxidases, superóxido dismutase, teores de fenóis totais e capacidade antioxidante total (ABTS) das plantas de *C. echinata* em pleno sol e sombreamento natural. As médias são referentes a 6 indivíduos por tratamento.

Antioxidantes	POD	SOD	Fénois totais	ABTS
Tratamento	$\Delta E \text{ min g}^{-1}$	Unid. SOD g^{-1}	mg EAG/g MS	mM TROLOX/g MS
Sol	8,42 b	25,45 b	4,12 b	10,86 b
Sombra	13,04 a	93,93 a	6,57 a	17,52 a

*Valores seguidos de letras iguais dentro da coluna não diferem pelo teste Tukey a 5%.

4 - CONCLUSÕES E CONSIDERAÇÕES FINAIS

A maior eficiência na captura de energia luminosa, seguida de melhor aproveitamento fotoquímico e melhor fixação do CO₂ das plantas em pleno sol refletiu em maior concentração de açúcares solúveis. Conseqüentemente, a altura e diâmetro do caule foi três vezes maior nas plantas em pleno sol em relação à população cultivada em sombreamento natural. A energia que deveria estar sendo utilizada nas reações fotoquímicas e/ou bioquímicas das plantas em sombreamento foi, em sua maior parte, dissipada como calor, reemitida como fluorescência ou translocada para produção de compostos de defesa antioxidativa do metabolismo secundário.

A morfologia anatômica e os teores de pigmentos fotossintéticos das plantas em pleno sol, também, indicam forte tolerância desta espécie à intensa irradiância. Sendo assim, o morfotipo de *C. echinata* foliólulo médio apresenta características de espécie pioneira ou planta de sol (obrigatória de sol) diferentemente da variante de foliólulo pequeno considerada por Mengarda et al. (2009 e 2012) uma planta secundária (obrigatória de sombra). Logo, as diferenças entre as variantes do pau-brasil citadas na introdução abrangem não somente um caráter morfológico foliar, mas também ecofisiológico em relação à disponibilidade de irradiância.

Juchum et al. (2008), concluíram que é necessário uma reconstrução taxonômica da espécie *C. echinata*. Essa separação foi sugerida pelas diferenças genéticas encontradas entre as espécies com morfotipos foliares diferentes, distanciando-as filogeneticamente. A divergência genética dos morfotipos de *C. echinata* provavelmente explica as diferenças na tolerância dessa espécie à intensidade de irradiância encontradas neste trabalho em relação às folhas pequenas publicados anteriormente por Mengarda et al. (2010 e 2012).

Logo, os diferentes resultados morfofisiológicos das variantes de *C. echinata* em condições de irradiância contrastante sustenta a proposta de Juchum et al. (2008) em separar em táxons para os diferentes morfotipos de foliólulos desta espécie. Sugere-se o estudo caracterizando e comparando a ecofisiologia de

C. echinata com foliólulo grande em baixa e intensa irradiância em comparação com os morfotipos foliólulos pequeno e médio com a mesma idade e mesmas condições experimentais. Os resultados gerados com essa proposta poderia dá maior suporte na tentativa de estruturar uma nova classificação sucessional ecológica para *C. echinata* e seus possíveis táxons sub-específicos fundamentais para um bom programa de gestão e reflorestamento com o pau-brasil.

5 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

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.

ALLEN, R.D. Dissection of oxidative stress tolerance using transgenic plants. **Plant Physiology**. 107, 1049–1054. 1995.

ALMEIDA, S. M. Z.; SOARES, A. M.; CASTRO, E. M.; VIEIRA, C. V.; GAJEGO, E. B. Alterações morfológicas e alocação de biomassa em plantas jovens de espécies florestais sob diferentes condições de sombreamento. **Revista Ciência Rural**, v. 35, n. 1, p. 63, 2005.

ALSCHER, R.G., Erturk, N., Heath, L.S. Role of superoxide dismutase (SODs) in controlling oxidative stress in plants. **Journal of Experimental Botany**. 53, 1331–1341. 2002.

ALVARENGA, A. A.; CASTRO, E. M. de.; LIMA JUNIOR, E. C.; MAGALHÃES, M. M. Effects of different light levels on the initial growth and photosynthesis of *Croton urucurana* Baill. in southeastern Brazil. **Revista Árvore**. v. 27, n. 1, p. 53-57, 2003.

AMANO, E. Pau-brasil, madeira e casca: formação, desenvolvimento e estrutura. **Tese de doutorado**. Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo. São Paulo. 2007.

AMARAL, J. A. T.; RENA, A. B.; AMARAL, J. F. T. Crescimento vegetativo sazonal do cafeeiro e suas relações com fotoperíodo, frutificação, resistência estomática e fotossíntese. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. v. 41, n. 3, p. 377-384, 2006.

ANGYALOSSY, V.; AMANO, E.; ALVES, E. S. Madeiras utilizadas na fabricação de arcos para instrumentos de corda: aspectos anatômicos. **Acta Botanica Brasilica**. v. 19, n. 4, p. 819-834, 2005.

APEL, K.; HIRT, H. Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and signal transduction. **Annual Review of Plant Biology**. v. 55, p. 373-399, 2004.

ASADA, K. The water–water cycle in chloroplasts: scavenging of active oxygens and dissipation of excess photons. **Annual Review of Plant Biology**. Plant Mol. Biol. 50, 601–639. 1999.

ASHTON, P. M. S.; BERLYN, G. P. Leaf adaptation of some *Shorea* species to sun and shade. **New Phytologist**. v.121, p. 587-596, 1992.

BACARIN, M. A.; MOSQUIM, P. R. Relação entre a fixaçãodedinitrogênio e a fotossíntese líquida de dois genótipos de *Phaseolus vulgaris* L. de produtividade contrastante. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Brasília, v. 10, n. 2, p. 157-160, ago. 1998.

BAKER, B. Chlorophyll Fluorescence: A Probe of Photosynthesis In Vivo. **Annual Review of Plant Biology**, Boca Raton, v.59, p.89-113, 2008.

BAOLI, D.; YANWEI, L.; CHUNYING, Y.; CHUNYANG, L. Morphological and physiological plasticity of woody plant in response to high light and low light. Chin. **Journal of Applied and Environmental Biology**. v. 11, n. 2, p. 238-245, 2005.

BARONI, A. M. Caracterização do sistema fotossintético em folhas de plantas jovens de *Caesalpinia echinata* Lam. (pau-brasil). 67 f. **Dissertação de Mestrado**, Pós-Graduação em Biodiversidade Vegetal e Meio Ambiente, Instituto de Botânica, São Paulo. 2005.

BARTLEY, G. E.; SCOLNIK, P. A. Plant Carotenoids: Pigments for Photoprotection, Visual Attraction, and Human Health. **The Plant Cell**, v. 7, p. 1027-1038, 1995.

BOARDMAN, N. K. Comparative photosynthesis of sun and shade plants. **Annual Review of Plant Physiology**, v. 28, p. 355-377, 1977.

BOEGER, M. R. T.; ESPÍNDOLA JÚNIOR, A.; MACARI JÚNIOR, A.; REISSMANN, C. B.; ALVES, A. C. A.; RICKLI, F. L. Variação estrutural foliar de

espécies medicinais em consórcio com erva-mate, sob diferentes intensidades luminosas. **Floresta**, v. 39, n. 1, p. 215-225, 2009.

BORBA M. R.; SCARPARE FILHO, J. A., KLUGE, R. A. Teores de carboidratos em pessegueiros submetidos a diferentes intensidades de poda verde em clima tropical. **Revista Brasileira de Fruticultura**. v. 27(1):68-72. 2005.

BRADFORD, M.M. A rapid and sensitive method for the quantifications of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analitical Biochemistry**, v. 72, p.248-254, 1976.

BRAY, E. A., BAILEY-SERRES, J.; WERETILNYK, E. Responses to abiotic stresses. *In Biochemistry & Molecular Biology of Plants* (B.B. Buchanan, W. Gruissen, & R.L. Jones, eds.). **American Society of Plant Physiologists**, New York, p.1158-1203, 2000.

BUDOWSKI, A. Distribution of tropical rain forest species in the light of. Successional progress. **Turrialba**, v. 15, p. 40-42, 1965.

BUKATSCH, F. Bemerkungen zur doppelfärbung astrablau-safranin. **Mikrokosmos**, v. 6, p. 255, 1972.

BULBOVAS P., RINALDI, M. C. S., DELITTI, W. B. C., Domingos M. Variação sazonal em antioxidantes em folhas de plantas jovens de *Caesalpinia echinata* Lam. (pau-brasil). **Revista Brasileira de Botânica**. vol. 28 nº 4. 2005.

BURRIT, D. J.; MACKENZIE, S. Antioxidant metabolism during acclimation of *Begonia X erythrophylla* to high light levels. **Annals of Botany**, v. 91, p. 783-794, 2003.

CANNELL, M.G.R., MILNE, R., SHEPPARD, L.J., Unsworth, M.H. Radiation interception and productivity of willow. **Journal of Applied Ecology**, v. 24, 261–278, 1987.

CAO, K. F. Leaf anatomy and chlorophyll content of twelve woody species in contrasting light conditions in a Bornean heath forest. **Canadian Journal of Botany**. 78:1245-1253. 2000.

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

CARVALHO, M. A. M. de.; PINTO, M. M.; FIGUEIREDO-RIBEIRO, R. de C. L. Inulin production by *Vernonia herbacea* as influenced by mineral fertilization and time of harvest. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 21, n. 3, 1998.

CARVALHO, N. O. S.; PELACANI, C. S.; RODRIGUES, M. O. S.; CREPALDI, I.C. Crescimento inicial de plantas de licuri (*Syagrus coronata* (Mart.) Becc.) em diferentes níveis de luminosidade. **Revista Árvore**, v. 30, n. 3, p. 351-357, 2006.

CASAGRANDE JUNIOR, J. G.; BIANCHI, V. J.; STRELOW, E. Z.; BACARIN, M. A.; FASCHINELLO, J. C. Influência do sombreamento sobre os teores de carboidratos e fenóis em estacas semilenhosas de araçazeiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 34, n. 12, p. 2219-2223, 1999.

CASTRO, E. M.; PEREIRA, F. J.; PAIVA, R. Histologia vegetal: Estrutura e função de órgãos vegetativos. Lavras: UFLA, 2009.

CHAMBEL, M. R.; CLIMENT, J.; VALLADARES, F. Phenotypic plasticity: a useful framework for understanding adaptation in forest species. **Investigación Agraria**, v. 14, n. 3, p. 334-344, 2005.

CHAVES FILHO, J. T.; STACCIARINI-SERAPHIN, E. Alteração no potencial osmótico e teor de carboidratos solúveis em plantas jovens de lobeira (*Solanum lycocarpum* St.-Hil.) em resposta ao estresse hídrico. **Revista Brasileira de Botânica**. v. 24(2): 199-204. 2001.

CHAZDON, R. L.; KAUFMANN, S. Plasticity of Leaf Anatomy of Two Rain Forest Shrubs in Relation to Photosynthetic Light Acclimation. **Functional Ecology**, v. 7, n. 4, p. 385-394, 1993.

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.

COUÉE, I.; SULMON, C.; GOUESBET, G.; AMRANI, A. E. Involvement of soluble sugars in reactive oxygen species balance and responses to oxidative stress in plants. **Journal of Experimental Botany**, v. 57, n. 3, p. 449–459, 2006.

CRAVEN, D.; GULAMHUSSEIN, S.; BERLYN, G. P. Physiological and anatomical responses of *Acacia koa* (Gray) seedlings to varying light and drought conditions. **Environmental and Experimental Botany**, v. 60, p. 205-213, 2010.

CUNHA, J. T. Comportamento fotoquímico do abacaxizeiro submetido a diferentes níveis de déficit hídrico. 2010. 23 f. **Monografia de Graduação em Ciências Biológicas**, Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória. 2010.

CUZZUOL, G. R. Nutrição mineral no crescimento e no metabolismo de carboidratos solúveis em *Vernonia herbacae* (VELL.) RUSBY. **Tese de Doutorado**. Universidade Estadual de Campinas – São Paulo, 189 p. 2003.

CUZZUOL, G. R. F.; CLIPPEL, J. K. Aspectos ecofisiológicos de *Sinningia aghensis* Chautems em condições de campo. **Hoehnea**, v. 36, n. 1, p: 73-81, 2009.

CUZZUOL, G. R. F.; MILANEZ, C. R. D. Morphological and Physiological Adjustments in Juvenile Tropical Trees Under Constrasting Sunlight Irradiance. In: Mohammad Mahdi Najafpour. (Org.). *Photosynthesis - Fundamental Aspects*. Rijeka: InTech - Open Access Publisher, v. 1, p. 501-518. 2012.

DaMATTA, F.M.; RENA, A.B. Tolerância do café à seca. *In*: ZAMBOLIM, L. (Ed.). *Tecnologias de Produção de Café com Qualidade*. Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, pp. 65-100, 2001.

DEMMIG-ADAMS, B.; GILMORE, A. M.; ADAMSON III, W. W. In vivo functions of carotenoids in higher plants. **The FASEB Journal**, v. 10, p. 403-412, 1996.

DIAS, D. P.; MARENCO, R. A. Fotossíntese e fotoinibição em mogno e acariquara em função da luminosidade e temperatura foliar. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. v. 42:305-311. 2007.

DIAS-TAGLIACOZZO, G. M. et al. Fructan and water suppression in intact and fragmented rhizophores of Vernonia herbaceae. **Brazilian Archives of Biology and Technology**. v. 47:363-373. 2004.

DICKISON, W. C. Integrative Plant anatomy. San Diego: Harcourt Academic Press, 2000.

DUBOIS, M.; GILES, K. A.; HAMILTON, J. K. Colorimetric method for determination of sugars, and related substances. **Analytical Chemistry**, v. 28, n. 3, p. 350-356, 1956.

DUZ S.R., SIMINSKI A., SANTOS M., PAULILO M.T.S. Crescimento inicial de três espécies de arbóreas da floresta atlântica em resposta a variação na quantidade de luz. **Revista Brasileira de Botânica**. v. 27: 587-596. 2004.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. Centro Nacional de Pesquisa de Solos. Sistema Brasileiro de Classificação de Solos. Brasília: Embrapa, 412 p. 1999.

FARQUHAR, G. D.; SHARKEY, T. D. Stomatal conductance and photosynthesis. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, Palo Alto, v. 33, p. 317-345. 1982.

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

FAVARETTO, V. F. et al. Differential responses of antioxidant enzymes in pioneer and late-successional tropical tree species grown under sun and shade conditions. **Environmental and Experimental Botany**. v.70; p. 20–28, 2011.

FERMINO-JR, P. C. P. 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. 2004.

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, p. 58-66. 2008.

FINI, A.; FERRINI, F.; FRANGI, P.; AMOROSO, G.; GIORDANO, C. Growth, leaf gas Exchange and leaf anatomy of three ornamental shrubs grown under different light intensities. **European Journal of Horticultural Science**, v. 75, n. 3, p. 111-117, 2010.

FORCE, L.; CRITCHLEY, C.; VAN RENSEN, J. J. S. New fluorescence parameters for monitoring photosynthesis in plants. **Photosynthesis Research**, v. 78, p.17-33, 2003.

FRANK, E.; LE ROUX, X.; MILLARD, P.; DREYER, E.; JAOUEN, G.; SAINT-JOANIS, B.; WENDLER, R. Changes in total leaf nitrogen and partitioning of leaf nitrogen drive photosynthetic acclimation to light in fully developed walnut leaves. **Plant, Cell and Environment**, v. 24, p. 1279-1288, 2001.

FUNDAÇÃO SOS MATA ATLÂNTICA. Atlas da evolução dos remanescentes florestais e ecossistemas associados no domínio da Mata Atlântica no período 1990-1995, São Paulo, 2002.

GAJEGO, E. B. et al. Crescimento de plantas jovens de *Maclura tinctoria* e *Hymenaea courbaril* em diferentes condições de sombreamento. In: CONGRESSO NACIONAL DE FISILOGIA, 8., Ilhéus-BA. CDROM. 6-029. 2001.

GIVINISH, T. J. Adaptation to sun and shade: a whole-plant perspective. **Australian Journal of Plant Physiology**, v. 15, p. 63-92, 1988.

GONÇALVES, E. R.; FERREIRA, V. M.; SILVA, J. V.; ENDRES, L.; BARBOSA, T. P.; DUARTE, W. G. Trocas gasosas e fluorescência da clorofila *a* em variedades de cana-de-açúcar submetidas à deficiência hídrica. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.14, p.378–386, 2010.

GONÇALVES, J. F. C.; MARENCO, R. A.; VIEIRA, G. Concentration of photosynthetic pigments and chlorophyll fluorescence of mahogany and tonka

bean under two light environments. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v. 13, n. 2, p. 149-157, 2001.

GONÇALVES, J. F. C.; SANTOS JÚNIOR, U. M.; NINA JÚNIOR, A. R.; CHEVREUIL, L. R. Energetic flux and performance index in copaiba (*Copaifera multijuga* Hayne) and mahogany (*Swietenia macrophylla* King) seedlings grown under two irradiance environments. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, v. 19, n. 3, p. 171-184, 2007.

GUIDI, L.; DEGL'INNOCENTI, E.; REMORINI, D.; MASSAI, R.; TATTINI, M. Interactions of water stress and solar irradiance on the physiology and biochemistry of *Ligustrum vulgare*. **Tree physiology**, v. 28, p. 873-883, 2008.

GUREVITCH, J.; SCHEINER, S. M.; FOX, G. A. **Ecologia Vegetal**. Artmed, Porto Alegre. 2009.

HARTSHORN, G. S. Neotropical forest dynamics. **Biotropica**, v. 12, p. 23-30, 1980.

HAVIR, E.; MCHALE, N. A. A Regulation of Catalase Activity in Leaves of *Nicotiana sylvestris* by High CO₂. **Plant Physiology**, v.89, n.3, p.952-957, 1989.

HERMS, D. A.; MATTSON, W. J. The dilemma of plants: to grow or to defend. **Review of Biology**. v. 67: 283–335, 1992.

HIDEG, E.; BARTA, C.; KÁLAI, T.; VASS, I.; HIDEG, K.; ASADA, K. Detection of singlet oxygen sensors in leaves under stress by photoinhibition or UV radiation. **Plant and Cell Physiology**, v. 43, n. 10, p. 1154-1164, 2002.

HOSSAIN, M. A.; RAHMAN, S. M. M. Total phenolics, flavonoids and antioxidant activity of tropical fruit pineapple. **Food Research International**. v.44, 672–676, 2011.

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

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

INMET - Instituto Nacional de Meteorologia. Boletim agroclimatológico mensal. <http://www.inmet.gov.br>, 2012.

INZÉ, D.; MONTAGU, M. V. Oxidative stress in plants. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 6, p. 153-158, 1995.

JERMYN, M. A. A new method for the determination of ketohexoses in presence of aldohexoses. **Nature**, v. 177, p. 38-39. 1956.

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

JUCHUM, F. S. Análise filogenética da variantes formológicas foliares de *Caesalpinia echinata* Lam. (Pau-Brasil) na região sul baiana com bases em sequências de DNA. **Dissertação de Mestrado**. Universidade Estadual de Santa Cruz. p. 103. Ilhéus-BA. 2007.

JUCHUM, F. S. et al. Phylogenetic relationships among morphotypes of *Caesalpinia echinata* Lam. (Caesalpinioideae: Leguminosae) evidenced by trnL intron sequences. **Naturwissenschaften**. v. 95, p.1085–1091. 2008.

KAMALUDDIN, M.; GRACE, J. Growth and photosynthesis of tropical forest tree seedlings (*Bischofia javanica* Blume) as influenced by a change in light availability. **Tree Physiology**, v. 13, p. 189-201, 1993.

KARAGEORGOU, P.; LEVIZOU, E.; MANETAS, Y. The influence of drought, shade and availability of mineral nutrients on exudate phenolics of *Dittrichia viscosa*. **Flora**. v.197, p. 285–289, 2002.

KELLY, J.; JOSE, S.; NICHOLS, J. D.; BRISTOW, M. Growth and physiological response of six Australian rainforest tree species to a light gradient. *Forest Ecology and Management*, v. 257, n. 1, p. 287-293, 2009.

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 e Hall, p. 559-595, 1996.

KITAJIMA, K. Relative importance of photosynthetic traits and allocation patterns as correlates of seedling shade tolerance of 13 tropical trees. **Oecologia** 98:419-428. 1994.

KLICH, M. G. Leaf variations in *Elaeagnus angustifolia* related to environmental heterogeneity. **Environmental and Experimental Botany**, v. 44, p. 171-183, 2000.

KLUMPP, G., GUDERIAN, R. e KÜPERS, K. Peroxidase und Superoxiddismutase- Aktivität sowie Prolingehalte von Fichtennadeln nach Belastung mit O₃, SO₂ und NO₂. **European Journal of Forest Pathology** 19:84-97. 1989.

KNIGHT, H.; KNIGHT, M. R. Abiotic stress signaling pathways: specificity and cross-talk. **Trends in Plant Science**, v. 6, n. 6, p. 262-267, 2001.

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.

KOSHIBA, T. Cytosolic ascorbate peroxidase in seedlings and leaves of maize (*Zea mays*). **Plant and Cell Physiology**, v. 34, n. 05, p. 713-721, 1993.

KOZLOWSKI, T.T.; KRAMER, P. J.; PALLARDY, S. G. The physiological ecology of woody plants. San Diego: Academic Press, 1991.

KRAUSE, G. H.; WINTER, K. Photoinhibition of photosynthesis in plants growing in natural tropical forest gaps: a chlorophyll fluorescence study. **Acta Botânica**, v. 109, n. 6, p. 456-462, 1996.

KUBINOVÁ, L. Stomata and mesophyll characteristics of barley leaf as affected by light: stereological analysis. **Journal of Experimental Botany**, v. 42, n. 241, p. 995-1001, 1991.

KUK, Y. I., SHIN, J. S., BURGOS, N. R., HWANG, T. E., HAN, O., CHO, B. H., JUNG, S.Y., GUH, J.O. Antioxidative enzymes offer protection from chilling damage in rice plants. **Crop Science** 43:2109-2117. 2003.

KUSKOSKI, E.M.; ASUERO, A.G.; TRONCOSO, A.M.; MANCINI-FILHO, J.; FETT, R. Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.25, n.4, p.726-732, 2005.

KWAK, M. J.; LEE, S. H.; WOO, S. Y. Growth and anatomical characteristics of different water and light intensities on a cork oak (*Quercus suber* L.) seedlings. **African Journal of Biotechnology**, v. 10, n. 53, p. 10964-10979, 2011.

LAISK, A.; EICHELMANN, H.; OJA, V.; RASULOV, B.; PADU, E.; BICHELE, I.; PETTAI, H.; KULL, O. Adjustment of leaf photosynthesis to shade in a natural canopy: rate parameters. **Plant Cell Environment**. 28:375-388. 2005.

LAKO, J. et al. Phytochemical flavonols, carotenoids and the antioxidant properties of a wide selection of Fijian fruit, vegetables and other readily available foods. **Food Chemistry**. v.101/1727–1741. 2007.

LAMBERS, H.; CHAPIM III, F. S.; PONS, T. L. **Plant physiological ecology**. 2 ed. Berlin: Springer, 2008.

LARCHER, W. *Ecofisiologia vegetal*. São Carlos: RiMa, 2006.

LAZAR, D. The O-K-J-I-P chlorophyll a fluorescence transient: Theory and experiments” .62p. **Habilitation Thesis**. 2004.

LEWIS, G. P. *Caesalpinia*, a revision of the Poincianella-Erythrostemon group. **Royal Botanic Gardens**, Kew, UK. 1998.

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

LICHTENTHALER, H. K.; AC, A.; MAREK, M. V.; KALINA, J.; URBAN, O. Differences in pigment composition, photosynthetic rates and chlorophyll fluorescence images of sun and shade leaves of four tree species. **Plant physiology and biochemistry**, v. 45, p. 577-588. 2007.

LICHTENTHALER, H. K.; BUSCHMANN, C.; DOLL, M.; FIETZ, H. J.; BACH, T.; KOZEL, U.; MEIER, D.; RAHMSDORF, U. Photosynthetic activity, chloroplast ultrastructure, and leaf characteristics of high-light and low-light plants and of sun and shade leaves. **Photosynthesis Research**, v. 2, p. 115-141, 1981.

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

LIMA JR, E. C.; ALVARENGA, A. A.; CASTRO, E. M.; VIEIRA, C. V.; BARBOSA, J. P. R. A. D. Aspectos fisiológicos de plantas jovens de *Cupania vernalis* Camb. Submetidas a diferentes níveis de sombreamento. **R. Árvore**, Viçosa-MG, v. 30, n. 1, p. 33-41, 2006.

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**, p. 23-38. 1992.

LIMA, H.C., LEWIS, G.P., BUENO, E. Pau-Brasil. In: Bueno E et al (ed) Pau-brasil: uma biografia. Axis Mundi, São Paulo, p. 39–76, 2002.

LIMA, M. A. O.; MIELKE, M. S.; LAVINSKY, A. O.; FRANÇA, S.; ALMEIDA, A. F.; GOMES, F. P. Crescimento e plasticidade fenotípica de três espécies arbóreas com uso potencial em sistemas agroflorestais. *Sci. For.*, Piracicaba, v. 38, n. 87, p. 527-534, 2010.

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

LÜTTGE, U. *Physiological Ecology of Tropical Plants*. Berlin: Springer-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, Daniela Favero São Pedro et al . Efeito da baixa temperatura noturna e do porta-enxerto na variação diurna das trocas gasosas e na atividade fotoquímica de laranjeira 'Valência'. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 32, n. 2, June 2010 .

MACHADO, E. C.; SCHMIDT, P. T.; MEDINA, C. L.; RIBEIRO, R. V. Respostas da fotossíntese de três espécies de citros a fatores ambientais. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 40, n. 12, p. 1161-1170, 2005.

MACIEL, M. N. M.; WATZLAWICK, L. F.; SCHOENINGER, E. R.; YAMAJI, F. M. Classificação ecológica das espécies arbóreas. **Revista Acadêmica: ciências agrárias e ambientais**, v. 1, n. 2, p. 69-78, 2003.

MAGALHÃES, N. S.; MARENCO, R. A.; MENDES, K. R. Aclimação de mudas de acariquara à alta irradiância. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. 44:687-694. 2009.

MARCH, R. H.; CLARK, L. G. Sun-shade variation in bamboo (Poaceae: Bambusoideae) leaves. *Telopea*, v. 13, n. 1-2, p. 93-104. 2011.

MARCHESE, J. A.; MATTANA, R. S.; MING, L. C.; BROETTO, F.; VENDRAMINI, P. F.; MORAES, R. M. Irradiance stress responses of gas exchange and antioxidant enzyme contents in pariparoba [*Pothomorphe umbellata* (L.) Miq.] plants. **Photosynthetica**, v. 46, n. 4, p. 501-505, 2008.

MARENCO, R. A.; GOLÇALVES, J. F. C.; VIEIRA, G. Leaf gas exchange and carbohydrates in tropical trees differing in successional status in two light environments in central Amazonia. **Tree Physiology**, v. 21, p. 1311-1318, 2001.

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

MARQUES, A. R. et al. Variations in leaf characteristics of two species of *Miconia* in the Brazilian cerrado under different light intensities. **Tropical Ecology** 41:47-60, 2000.

MARTINAZZO, E. G.; ANESE, S.; WANDSCHEER, A. C. D.; PASTORINI, H. Efeito do sombreamento sobre o crescimento inicial e teor de clorofila foliar de *Eugenia uniflora* Linn (pitanga) – família Myrtaceae. **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v. 5, supl. 2, p. 162-164, 2007.

MATOS, F. S.; MOREIRA, C. V.; MISSIO, R. F.; DIAS, L. A. S. Caracterização fisiológica de mudas de *Jatropha curcas* L. produzidas em diferentes níveis de irradiância. **Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas**, v. 3, n. 1, p. 126-134, 2009.

MAULE, H. G.; ANDREWS, M.; MORTON, J. D.; JONES, A. V.; DALY, G. T. Sun/shade acclimation and nitrogen nutrition of *Tradescantia fluminensis*, a problem weed in New Zealand native forest remnants. **New Zealand Journal of Ecology**, v. 19, n. 1, p. 35-46, 1995.

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

MAZZUCA, S., SPADAFORA, A., FILADORO, D., VANNINI, C., MARSONI, M., COZZA, R., BRACALE, M., PANGARO, T., INNOCENTI, A.M. Seagrass light acclimation: 2-DE protein analysis in *Posidonia* leaves grown in chronic low light conditions. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**. 374, 113–122. 2009.

MEHTA, P.; JAJOO, A.; MATHUR, S.; BHARTI, S. Chlorophyll a fluorescence study revealing effects of high salt stress on Photosystem II in wheat leaves. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 48, p. 16-20. 2010.

MELIS, A. Excitation energy transfer: Functional and dynamic aspects of Lhc (cab) proteins. In *Oxygenic Photosynthesis: The light Reactions*, D. R. Ort and C. F. Yocum, eds., Kluwer, Dordrecht, Netherlands, pp. 523-538. 1996.

MELLO-FILHO, L.E. A floresta Atlântica. In: MONTEIRO, S.; KAZ, L. (Coord.) *Floresta Atlântica/textos científicos*. Rio de Janeiro: Edições Alumbamento, 1991/1992. p.17-21.

MELONI, D.A., Oliva, M.A., Martinez, C.A., Cambraia, J. Photosynthesis and activity of superoxide dismutase, peroxidase and glutathione reductase in cotton under salt stress. **Environment Experimental Botany**. 49, 69–76. 2003.

MENDES M.M., GAZARINI L.C., RODRIGUES M.L. Acclimation of *Myrtus communis* to contrasting mediterranean light environments - effects on structure and chemical composition of foliage and plant water relations. **Environment Experimental Botany**. 45:165 - 178. 2001.

MENDES, F. S. et al. Níveis de prolina e carboidratos solúveis totais em folhas de mogno (*Swietenia macrophylla* King R.A) induzidas ao estresse hídrico e reidratação. **Revista Brasileira de Biociências**. v. 5(2):939-941. 2007.

MENGARDA, L. H. G. et al. Morphological and physiological adjustments of brazilwood (*Caesalpinia echinata* Lam.) to direct solar radiation. **Brazilian Journal of Plant Physiology**. v. 24. n.3, 2012.

MENGARDA, L. H. G. Respostas morfofisiológicas de plantas jovens de pau-brasil (*Caesalpinia echinata* lam., Leguminosae) à radiação solar. 2010. 97 f. **Dissertação de Mestrado**, Pós-Graduação em Biologia Vegetal, Departamento Botânica, Vitória. 2010.

MENGARDA, L. H. G.; SOUZA, R. L. F.; CAMPOSTRINI, E.; REIS, F. O.; VENDRAME, W. A.; CUZZUOL R. R. F. Light as an indicator of ecological succession in brazilwood (*Caesalpinia echinata* Lam.). **Brazilian Journal of Plant Physiology**. v. 21:55 - 64. 2009.

MISHRA, N. P.; MISHRA, R. K.; SINGHAL, G. S. Changes in the activities of anti-oxidant enzymes during exposure of Intact wheat leaves to strong visible light at different temperatures in the presence of protein synthesis inhibitors. **Plant Physiology**. v. 102, 903-910, 1993.

MITTLER, R. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. **Trends in Plant in Science**, v. 9, p. 405-410, 2002.

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.

MYERS, N.; MITTERMEIER, R. A.; MITTERMEIER, C. G.; DA FONSECA, G. A. B.; KENT, J. Biodiversity hotspots for conservation priorities. **Nature**, London, v. 403, p. 853- 858, 2000.

NAKANO, Y.; ASADA, K. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplast. **Plant Cell Physiology**. v.22, p. 867-880, 1981.

NAKAZONO, E. M. et al. Crescimento inicial de *Euterpe edulis* Mart. em diferentes regimes de luz. **Revista Brasileira de Botânica**. v. 24(2):173-179. 2001.

NISHIKAWA, F.; KATO, M.; HYODO, H.; IKOMA, Y.; SUGIURA, M.; YANO, M. Effect of sucrose on ascorbate level and expression of genes involved in the ascorbate biosynthesis and recycling pathway in harvested broccoli florets. **Journal of Experimental Botany**, v. 56, n. 409, p. 65–72, 2005.

NOCTOR, G.; FOYER, C. H. Ascorbate and glutathione: keeping active oxygen under control. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Biology**, v. 49, p. 249-279, 1998.

NOGUEIRA, A.; MARTINEZ, C. A.; FERREIRA, L. L.; PRADO, C. H. B. A. Photosynthesis and water use efficiency in twenty tropical tree species of differing succession status in a Brazilian reforestation. **Photosynthetica** 42:351-356. 2004.

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.

OGUCHI, R.; HIROSAKA, K.; HISOSE, T. Does the photosynthetic light-acclimation need change in leaf anatomy? **Plant Cell Environment**. v. 26:505-512. 2003.

OGUCHI, R.; HIROSAKA, K.; HISOSE, T. Leaf anatomy as a constraint for photosynthetic acclimation: differential responses in leaf anatomy to increasing growth irradiance among three deciduous trees. **Plant Cell Environment** 28:916-927. 2005.

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.

ORT D.R., BAKER N. R. A photoprotective role for O₂ as an alternative electron sink in photosynthesis? *Curr. Opin. Plant Biol.*, 5, 193-198, 2002.

OSSWALD, W.F., KRAUS, R., HIPPELI, S., BENZ, B., VOLPERT, R. e ELSTNER, E.F. 1992. Comparison of the enzymatic activities of dehydroascorbic acid reductase, glutathione reductase, catalase, peroxidase and superoxide dismutase of healthy and damaged spruce needles (*Picea abies* (L.) Karst). **Plant Physiology** 139:742-748.

OUKARROUM, A.; SCHANSKER, G.; STRASSER, R.J. Drought stress effects on photosystem I content and photosystem II thermotolerance analyzed using Chl a fluorescence kinetics in barley varieties differing in their drought tolerance. **Physiologia Plantarum**, v. 137, p. 188-199. 2009.

PAIVA, E. A. S.; ISAIAS, R. M. S.; VALE, F. H. A.; QUEIROZ, C. G. S. The influence of light intensity on anatomical structure and pigment contents of *Tradescantia pallida* (Rose) Hunt. cv. *Purpurea Boom* (Commelinaceae) leaves. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 46, n. 4, p. 617-624, 2003.

PARIDA, A. K., DIAS, A. B., MITTRA, B. Effects of salt on growth, ion accumulation, photosynthesis and leaf anatomy of the mangrove, *Bruguiera parviflora*. **Trees** 18:167-174. 2004.

PARKHURST, D. F.; LOUCKS, O. L. Optimal leaf size in relation to environment. **The Journal of Ecology**, v. 60, n. 2, p. 505-537, 1972.

PAULA, A.; SILVA, A. F.; MARCO JÚNIOR, P.; SANTOS, F. A. M.; SOUZA, A. L. Sucessão ecológica da vegetação arbórea em uma Floresta Estacional

Semidecidual, Viçosa, MG, Brasil. **Acta Botânica Brasílica**, v. 18, n. 3, p. 407-423, 2004.

PEIXOTO, P.H.P.; CAMBRAIA, J.; SANT'ANNA, R.; MOSQUIN, P.R.; MOREIRA, M.A. Aluminium effects on lipid peroxidation and on the activities of enzymes of oxidative metabolism in sorghum. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v.11, n.3, p.137-143, 1999.

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.

POORTER, H.; NAGEL, O. The role of biomass allocation in the growth response of plants to different levels of light, CO₂, nutrients and water: a quantitative review. **Australian Journal of Plant Physiology**. v. 27, p. 595-607, 2000.

POORTER, H.; NIKLAS, K. J.; REICH, P. B.; OLEKSYN, J.; POOT, P.; MOMMER, L. Biomass allocation to leaves, stems and roots: meta-analyses of interspecific variation and environmental control. **New Phytologist**, p. 1-21, 2011.

POORTER, L. Growth responses of 15 rain-forest tree species to a light gradient: the relative importance of morphological and physiological traits. **Functional Ecology**, v. 13, p. 396-410, 1999.

POORTER, L. Light-dependent changes in biomass allocation and their importance for growth fo rain forest tree species. **Functional Ecology**, v. 15, p. 113-123, 2001.

POPMA, J.; BONGERS, F. The effect of canopy gaps on growth and morphology of seedlings of rain forest species. **Oecologia**, Berlin, v. 75, p. 625-632, 1988.

PORTELA, F. C. S. Influência da irradiância na fisiologia e anatomia de *Carinina legalis* e *Cariniana estrellensis*. 110 f. **Dissertação de Mestrado**, Pós-Graduação em Biologia Vegetal, Departamento Botânica, Vitória. 2012.

PRICE, J.; LAXMI, A.; MARTIN, S. K. S.; JANG, J. C. Global transcription profiling reveals multiple sugar signal transduction mechanisms in Arabidopsis. **The Plant Cell**, v. 16, p. 2128–2150, 2004.

RANK, B. Oxidative stress response and photosystem efficiency in trees of urban areas. **Photosynthetica** 33:467-481. 1997.

REYES, T.; NELL, T. A.; BARRETT, J. E.; CONOVER, C. A. Testing the light acclimatization potential of *Chrysalidocarpus lutescens* Wendl. **Horticultural Science**, v. 31, n. 7, p. 1203-1206, 1996.

RIAZI, A.; MATSUDA, K.; ARSLAN, A. Water-stress induced changes in concentrations of proline and other solutes in growing regions of young barley leaves. **Journal of Experimental Botany**, v. 36, n. 11, p. 1716-1725, 1985.

RIAZI, A.; MATSUDA, K.; ARSLAN, A. Water-stress induced changes in concentrations of proline and other solutes in growing regions of young barley leaves. **Journal of Experimental Botany**, v. 36, n. 11, p. 1716-1725, 1985.

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

RÔÇAS, G.; BARROS, C. F.; SCARANO, F. R. Leaf anatomy plasticity of *Alchornea triplinervia* (Euphorbiaceae) under distinct light regimes in a Brazilian montane Atlantic rain forest. **Trees**, v. 11, p. 469-473, 1997.

ROCHA, Y. T. Ibirapitanga: história, distribuição geográfica e conservação do paubrasil (*Caesalpinia echinata* Lam., Leguminosae) do descobrimento à atualidade. 2004. **Tese de Doutorado**, Universidade de São Paulo, São Paulo. 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, p. 102-113. 2008.

ROHÁČEK, K. Chlorophyll fluorescence parameters: the definition, photosynthetic meaning, and mutual relationship. **Photosynthetica**, Prague, v.40, n.1, p.13-29, 2002.

ROITSCH, T.; BALIBREA, M.E.; HOFMANN, M.; PROELS, R.; SINHA, A.K. Extracellular invertases: metabolic enzyme and metabolic protein. **Journal of Experimental Botany**, v. 54, n. 382, p. 513-524, 2003.

ROSSATO, D. R.; KOLB, R. M. *Gochnatia polymorpha* (Less.) Cabrera (Asteraceae) changes in leaf structure due to differences in light and edaphic conditions. **Acta Botanica Brasilica**. v. 24, n. 3, p. 605-612, 2010.

ROUT, N.P., SHAW, B.P. Salt tolerance in aquatic macrophytes: possible involvement of the antioxidative enzymes. **Plant Science**, v. 160, n. 3, p. 415–423, 2001.

ROVER JÚNIOR, L.; HÖEHR, N. F.; VELLASCO, A. P. Sistema antioxidante envolvendo o ciclo metabólico da glutatona associado a métodos eletroanalíticos na avaliação do estresse oxidativo. *Química Nova*, v. 24, n. 1, p. 112-119, 2001.

SABBI, L. B. C.; ÂNGELO, A. C.; BOEGER, M. R. Influência da luminosidade nos aspectos morfoanatômicos e fisiológicos de folhas de *Schinus terebinthifolius* Raddi (Anacardiaceae) implantadas em duas áreas com diferentes graus de sucessão, nas margens do Reservatório Iraí, Paraná, Brasil. *IHERINGIA, Sér. Bot.*, Porto Alegre, v. 65, n. 2, p. 171-181, 2010.

SANTIAGO, E.J.A. et al. Aspectos da anatomia foliar da pimenta-longa (*piper hipidinerium* C.DC.) sob diferentes condições de luminosidade. **Ciência e Agrotecnologia**. v. 25(5):1035-1042, 2001.

SCALON, S. P. Q.; MUSSURY, R. M.; RIGONI, M. R.; FILHO, H. S. Crescimento inicial de mudas de *Bombacopsis glabra* (Pasq.) A. Robyns sob condição de sombreamento. **Revista Árvore**, v. 27, n. 6, p. 753-758, 2003.

SCANDALIOS, J. G. Oxidative stress: molecular perception and transduction of signals triggering antioxidant gene defenses. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 38, p. 995-1014, 2005.

SCHLUTER U., et. al. Photosynthetic performance of an Arabidopsis mutant with elevated stomatal density (sdd1-1) under different light regimes. **Journal of Experimental Botany**. v. 54(383):867-874. 2003.

SIELEWIESIUK, J. Why there are photodamages to photosystem II at low light intensities. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 24, 399–406. 2002.

SILVA, A. S.; OLIVEIRA, J. G.; CUNHA, M.; VITÓRIA, A. P. Photosynthetic performance and anatomical adaptations in *Byrsonima sericea* DC. under contrasting light conditions in a remnant of the Atlantic Forest. **Brazilian Society of Plant Physiology**, v. 22, n. 4, p. 245-254, 2010.

SILVA, B. M. S.; LIMA, J. D.; DANTAS, V. A. V.; MORAES, W. S.; SABONARO, D. Z. Efeito da luz no crescimento de mudas de *Hymenaea parvifolia* Huber. **Revista Árvore**, v. 31, n. 6, p. 1019-1026, 2007.

SILVESTRINI, M.; VÁLIO, I. F. M.; MATTOS, E. A. Photosynthesis and carbon gain under contrasting light levels in seedlings of a pioneer and a climax tree from a Brazilian Semideciduous Tropical Forest. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 30, n. 3, p. 463-474, 2007.

SITBON F., HENNION S., LITTLE C.H.A., SUNDBERG B., Enhanced ethylene production and peroxidase activity in IAA-overproducing transgenic tobacco plants is associated with increased lignin content and altered lignin composition, **Plant Science**. v.141, p.165–173, 1999.

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

SOARES, M. G. Plasticidade de plantas jovens de *Handroanthus chrysotrichus* (Mart. ex DC.) Mattos (Bignoniaceae) em resposta a radiação solar. 2012. 92 f. **Dissertação de Mestrado**, Pós-Graduação em Biologia Vegetal, Departamento Botânica, Vitória. 2012.

SOFO, A. et al. Effects of different irradiance levels on some antioxidant enzymes and on malondialdehyde content during rewatering in olive tree. **Plant Science**. v. 166, p.293–302, 2004.

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, O. M. F. Pau-brasil – esse ilustre desconhecido. *Revista do Departamento de Cultura, Secretaria de Estado de Educação e Cultura, Governo do Estado de Pernambuco* 7: 63 71. 1973.

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.

SOUZA, R.P.; MACHADO, E.C.; SILVA, J.A.B.; LAGOA, A.M.M.A.; SILVEIRA, J.A.G. Photosynthetic gas exchange, chlorophyll fluorescence and some associated metabolic changes in cowpea (*Vigna unguiculata*) during water stress and Recovery. **Environmental and Experimental Botany**, v. 51, p. 45-56, 2004.

STITT, M.; LILLEY, R.M.C.; GERHARDT, R.; HELDT, H.W. Metabolite levels in specific cells and subcellular compartments of plant leaves. **Methods in Enzymology**. v.174, p. 518-552, 1989.

STRASSER, R. J. A. Srivastava, Govindjee, Polyphasic chlorophyll a fluorescence transient in plants and cyanobacteria, **Photochemical Photobiology**. 61 (1995) 32–42.

STRASSER, R. J.; SRIVASTA, A.; TSIMILLI-MICHAEL, M. Analysis of the fluorescence transient. In: PAPAGEORGIU, G.; GOVINDJEE (Eds.). Chlorophyll fluorescence: A Signature of Photosynthesis, **Advances in Photosynthesis and Respiration Series**, v. 19, p. 321–362, 2004.

STRASSER, R. J.; STRASSER, R. J. Measuring fast fluorescence transients to address environmental questions: the JIP test. In: MATHIS, P.

Photosynthesis: from light to biosphere. Netherlands: Kluwer Academic Publisher. cap. 5, p.977-980,1995.

STRASSER, R. J.; TSIMILLI-MICHAEL, M.; DANGRE, D.; RAI, M. Biophysical phenomics reveals functional building blocks of plants systems biology: a case study for the evaluation of the impact of Mycorrhization with *Piriformosporaindica*. In: VARMA, A.; OELMÜLER, R. (Eds.). **Advanced Techniques in Soil Microbiology. Soil Biology**, p. 319–341, 2007.

STRASSER, R.J.; TSIMILLI-MICHAEL, M.; QIANG, S.; GOLTSEV, V. Simultaneous in vivo recording of prompt and delayed fluorescence and 820-nm reflection changes during drying and after rehydration of the resurrection plant *Haberlearthodopsis*. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1797, p. 1313–1326, 2010.

STRAUSS-DEBENEDETTI, S.; BERLYN, G. P. Leaf anatomical responses to light in life tropical Moraceae of different successional status. **American Journal of Botany**, v. 81, n. 12, p. 1582-1591, 1994.

SULTAN, S. E. Phenotypic plasticity in plants: a case study in ecological development. **Evolution & Development**, v. 5, n. 1, p. 25-33, 2003.

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

TOLEDO-ACEVES, T.; SWAINE, M. D. Biomass allocation and photosynthetic responses of lianas and pioneer tree seedlings to light. **Acta oecologica**, v. 34, p. 38-49, 2008.

TSIMILLI-MICHAEL, M.; STRASSER, R. J. In vivo assessment of stress impact on plants' vitality: applications in detecting and evaluating the beneficial role of Mycorrhization on host plants. In: VARMA, A (Ed). Mycorrhiza: State of the art, genetics and molecular biology, eco-function, biotechnology, eco-physiology, structure and systematics. 3. ed., p. 679–703, 2008.

VALLADARES, F.; SANCHEZ-GOMEZ, D.; ZAVALA, M. A. Quantitative estimation of phenotypic plasticity: bridging the gap between the evolutionary concept and its ecological applications. **Journal of Ecology**, v. 94, p. 1103-1116, 2006.

VERHOEVEN, A. S.; SWANBERG, A.; THAO, M.; WHITEMAN, J. Seasonal changes in leaf antioxidant systems and xanthophylls cycle characteristics in *Taxus X media* growing in sun and shade. **Physiologia Plantarum**, v. 123, p. 428-434, 2005.

VOGELMANN, T. C. Plant tissue optics. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**. v. 44, p. 231-251, 1993.

VOGELMANN, T. C.; MARTIN, G. The functional significance of palisade tissue: penetration of directional versus diffuse light. **Plant, Cell and Environment**, v. 16, p. 65-72, 1993.

VULETA, A.; TUCIC, B. Thermal dependence of the antioxidant enzymes superoxide dismutase, catalase, and peroxidase in foliage of *Iris pumila* L. Arch. Biol. Sci., Belgrade, v. 61, n. 3, p. 441-446, 2009.

WALTERS, M. B.; KRUGER, E. L.; REICH, P. B. Growth, biomass distribution and CO₂ exchange of northern hardwood seedlings in high and low light: relationships with successional status and shade tolerance. **Oecologia**, v. 94, p. 7-16, 1993.

WÜRTH, M. K. R. et al. Non-structural carbohydrates pools in a tropical forest. **Oecologia** 143:11-24. 2005.

YAMASHITA, N.; ISHIDA, A.; KUSHIMA, H.; TANAKA, N. Acclimation to sudden increase in light favoring an invasive over native trees in subtropical islands, Japan. **Oecologia**, v. 125, p. 412-419, 2000.

YOUNG, A. L.; FRANK, H. A. Energy transfer reactions involving carotenoids: quenching of chlorophyll fluorescence. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 36, n. 1, p. 3-15, 1996.

YUSUF, M. A.; KUMAR, D.; RAJWANSHI R.; STRASSER, R. J.; TSIMILLI-MICHAEL, M.; GOVINDJEE; SARIN, N. B. Overexpression of γ -tocopherol methyl transferase gene in *Brassica juncea* plants alleviates abiotic stress: Physiological and chlorophyll a fluorescence measurements. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1797, p. 1428-1438, 2010.

ZAIDAN, L. B. P. et al. Crescimento e propagação de plantas de pau-brasil. In:

ZHANG, S.; LI, Q.; MA, K.; CHEN, L. Temperature-dependent gas exchange and stomatal/non-stomatal limitation to CO₂ assimilation of *Quercus liaotungensis* under midday high irradiance. **Photosynthetica**, v.39, p.383-388, 2001.

ZHANG, X. et al. Exogenous hydrogen peroxide influences antioxidant enzyme activity and lipid peroxidation in cucumber leaves at low light. **Scientia Horticulturae**. v.129; p. 656–662, 2011.

ZUBEK, S.; TURNAU, K.; TSIMILLI-MICHAEL, M.; STRASSER, R. J. Response of endangered plant species to inoculation with arbuscular mycorrhizal fungi and soil bacteria. **Mycorrhiza**, v. 19, p. 113–123, 2009.