

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
CURSO DE AGRONOMIA
DEPARTAMENTO DE BOTÂNICA**

**Grau de aclimação de plantas de *Euterpe edulis*
transferidas de baixa para alta luminosidade.**

MARIA CLARA DA COSTA



O. 282.802-1

UFSC-BU

Relatório de Estágio apresentado como um dos requisitos para a conclusão do Curso de Agronomia do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Santa Catarina.

Florianópolis, fevereiro de 1997.

R 165

Ex.1

1385-82

IDENTIFICAÇÃO

**Título: Grau de aclimação de plantas de Euterpe edulis
(palmiteiro) transferidas de baixa para alta luminosidade**

Acadêmica: Maria Clara da Costa
Nº matrícula: 9128624 - 7

Área: Fisiologia Vegetal

Orientador: Profª. Maria Terezinha Silveira Paulilo

**Local de Estágio: Departamento de Botânica/UFSC - Laboratório de
Fisiologia Vegetal**

Período: 05 de agosto a 05 de setembro de 1996.

**A Deus que se faz presente em todos os momentos da
minha vida,**

**Ao meu noivo Carlos , com amor e carinho, pelo tempo
passado ao meu lado.**

À minha família, pelo apoio e dedicação,

**À Tere, minha orientadora, pela firmeza e pelo belo
exemplo de profissional,**

**Aos meus amigos do laboratório pelo companheirismo e
amizade.**

SUMÁRIO

I - INTRODUÇÃO	5
II - ATIVIDADES REALIZADAS.....	7
1. Obtenção das plantas através da germinação de sementes.....	7
2. Crescimento de mudas sob baixa luminosidade e alta luminosidade.....	7
3. Extração e dosagem do teor de RUBISCO.....	8
3.1 Extração da enzima	8
3.2 Dosagem do teor de RUBISCO.....	9
4. Anatomia Foliar.....	10
5. Determinação de Clorofila.....	13
6. Determinação de Peso Seco e Área Foliar.....	14
7. Taxas de crescimento.....	14
8. Número de Amostras e Análise Estatística.....	15
III - RESULTADOS	16
1. Peso seco e área foliar.....	16
1.1 Plantas com 155 dias de idade.....	16
1.2 Plantas com 217 dias de idade.....	17
2. Nível de Clorofila.....	18
3. Anatomia Foliar.....	19
4. Dosagem do teor de RUBISCO.....	19
5. Taxas de Crescimento.....	20
IV - DISCUSSÃO.....	26
V - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	29

I - INTRODUÇÃO

O Estágio de conclusão de curso foi realizado no Laboratório de Fisiologia Vegetal do Horto Botânico da Universidade Federal de Santa Catarina, sob orientação da professora Maria Terezinha Silveira Paulilo.

O período de estágio foi de 05 de agosto a 05 de setembro de 1996, dando continuidade aos trabalhos do projeto de iniciação científica do CNPq. No decorrer do estágio procurou-se estudar a capacidade de aclimatação à luz de plântulas de palmitero (*Euterpe edulis*) durante seus estágios iniciais de crescimento, visando obter conhecimentos para sua reintrodução antrópica na Floresta Tropical Atlântica.

Para isto, neste período foram desenvolvidas atividades relacionadas à análise do crescimento de plantas, tais como, determinação de peso seco, área foliar, taxa de assimilação líquida (TAL), taxa de crescimento relativo (TCR) e razão de área foliar (RAF) e também técnicas para determinação dos teores de Rubisco e clorofila, e de anatomia foliar.

O palmitero (*Euterpe edulis*), foi a espécie utilizada para o estudo, uma vez que vem sofrendo intensa ação extrativista, devido ao seu alto valor econômico como alimento, o que tem comprometido a sua regeneração natural (Reis *et al.*, 1991). Entretanto, a reintrodução antrópica da espécie, de ocorrência natural em ambientes sombreados (Klein, 1980), requer conhecimento sobre o comportamento da mesma em relação à sua capacidade de aclimatação à variação de luz. Isto porque luz é um dos mais importantes fatores ambientais que regulam o crescimento de plantas (Osmond e Chow, 1988). Durante a vida de um vegetal, as folhas estão sujeitas a incidências que variam com as horas do dia, com as estações do ano, com a movimentação de copas, ou devido à queda de outros vegetais ao redor. Assim, é vantajoso para uma espécie vegetal que as folhas possam

adaptar-se rapidamente à variação de luminosidade para melhor utilização da energia luminosa (Besford, 1990).

As plantas adaptam-se à disponibilidade de luz regulando a anatomia foliar e todo o aparato fotossintético para poder atingir em cada condição de luz o máximo rendimento fotossintético (Anderson, 1986). As modificações em relação ao aparato fotossintético costumam ser modificações na proporção de clorofilas “a” e “b”, nos complexos protéicos de transporte eletrônico e nas enzimas de fixação de gás carbônico (Anderson, 1986).

Respostas anatômicas e do aparato fotossintético à variação de luminosidade são bem conhecidas para plantas herbáceas (Boardman, 1977; Bjorkman, 1981), entretanto o potencial de adaptação a luz para espécies lenhosas não é bem conhecida (Langenhein *et al.*, 1984), sendo que os trabalhos já desenvolvidos mostram que arbóreas variam grandemente na sua capacidade de adaptação à luz (Thompson *et al.*, 1992). Além disto, há diferenças no grau de adaptação à luz se a espécie foi crescida sob uma quantidade uniforme de luz, diferente daquela de seu ambiente natural ou se, por outro lado, a espécie inicia seu crescimento numa determinada quantidade de luz e posteriormente é submetida a uma luminosidade diferente (Strauss-Debenedetti e Bazzaz, 1991). No primeiro caso utiliza-se a expressão adaptação à luz, e, no segundo caso, aclimatação à luz (Strauss-Debenedetti e Bazzaz, 1991).

II - ATIVIDADES REALIZADAS.

Para o estudo da capacidade de aclimação à luz de plantas de palmiteiro (*Euterpe edulis*) foram desenvolvidas as seguintes atividades:

1. Obtenção das plantas através da germinação de sementes.

Frutos de palmiteiro (*E. edulis*) foram coletados, em maio de 1995, em seis diferentes árvores localizadas na região de Floresta Atlântica do estado de Santa Catarina e estocadas a 5°C até o início dos experimentos. Os frutos foram despulpados através de fricção manual e as sementes foram colocadas para germinar em caixas de madeira contendo areia lavada. As caixas contendo as sementes foram colocadas em casa de vegetação. A irrigação, com água de torneira, foi feita duas ou mais vezes por semana, dependendo da necessidade.

2. Crescimento de mudas sob baixa luminosidade e alta luminosidade.

Em 17/10/95 plântulas de *E. edulis* com cerca de 2,5 cm de epicótilo (esporão), provindas da germinação de sementes, foram plantadas em sacos plásticos de 20x7 cm, contendo substrato preparado da seguinte forma: Peneirou-se dois carrinhos-de-mão de uma mistura contendo argila, adubo orgânico e areia na proporção de 1:1:0,5 e acrescentou-se 1,2 quilos de adubo mineral NPK (fórmula comercial 5-20-10).

Dois lotes de 100 sacos foram inicialmente colocados sob caixa de 1m³ (1m x 1m x 1m), confeccionada com tela sombrite com 96% de sombreamento (57,36 μmol de fótons.m⁻².s⁻¹) Para obtermos o sombreamento desejado foi necessário recobrir a caixa duas vezes com sombrite de sombreamento de 80%. Os sombreamentos foram medidos com quantômetro LI-COR LI-250. As plantas permaneceram neste sombreamento até dia 01/02/96 (107 dias de idade) quando foram divididas em três lotes e transferidas para diferentes sombreamentos. O 1º lote permaneceu no sombreamento de 96% (57,36 μmol de fótons.m⁻².s⁻¹), o 2º lote foi transferido para sombreamento de 79% (215,67 μmol de fótons.m⁻².s⁻¹) e o 3º lote foi transferido para sombreamento de 74% (264,37 μmol de fótons.m⁻².s⁻¹), permanecendo nestes sombreamentos até o fim do experimento (217 dias de idade).

3. Extração e dosagem do teor de Ribulose bifosfato carboxilase-oxigenase (RUBISCO).

3.1 Extração da enzima

De três diferentes plantas foram extraídos discos da porção mediana das pinas, da mais nova folha de *E. edulis*, já com expansão completa, perfazendo 50 mg. Os discos foram macerados em 1,2 ml de meio de extração o extrato foi centrifugado por cinco minutos a 11000g e o sobrenadante utilizado para dosagem de Rubisco.

O meio de extração foi composto de: 10mM de Tris-HCl (hidróximetil aminoetano - ácido clorídrico) a pH 7,6; 1,5mM de EDTA (ácido etileno diamino tetraacético dissódico); 5 mM de DDT (ditietreitol); 10% de glicerol e 2,5% de Tween 20, adaptado de Weidner e Kraus (1987).

3.2 Dosagem do teor de RUBISCO.

A proteína Rubisco foi separada por eletroforese em gel de poliacrilamida a 15% mais SDS (dodecil sulfato de sódio), adaptado de Besford (1990). O sobrenadante utilizado para determinação de Rubisco foi misturado ao tampão de amostra 4 vezes concentrado composto de: SDS 8%; glicerol 40%; mercaptoetanol 20%; tris-HCL (hidróximetil aminoetano - ácido clorídrico) 0,25 M - pH 6,8; azul de bromofenol 0,02% na proporção de 1 de sobrenadante para 0,5 de tampão de amostra e então aquecido por 5 minutos em água fervente.

A corrida pelo gel deu-se à voltagem constante de 100 V por aproximadamente 1 hora. O gel de concentração foi composto de: Acrilamida 30% - 0,50ml; Bis-acrilamida 1% - 0,50ml; Tris-HCl (hidróximetil aminoetano - ácido clorídrico) 0,5 M pH 6,8 - 1,25ml; H₂O bidestilada 2,68ml; SDS (dodecil sulfato de sódio) 10% - 50 μ l; Persulfato de amônio 1,5% - 50 μ l e TEMED (tetrametiletilenediamino) -5 μ l. O gel de separação foi composto de: Acrilamida 30% - 5ml; Bis-acrilamida 1% - 0,87ml; Tris-HCl HCL (hidróximetil aminoetano - ácido clorídrico) 1,5 M pH 8,7 - 2,50ml; H₂O bidestilada 1,50ml; SDS (dodecil sulfato de sódio) 10% - 100 μ l; Persulfato de amônio 1,5% - 100 μ l e TEMED (tetrametiletilenediamino) -10 μ l. O tampão de corrida utilizado foi composto de: Tris (hidróximetil aminoetano) 0,025 M; glicina 0,192 M e SDS (dodecil sulfato de sódio) 0,1%. Junto com a Rubisco correu-se um padrão de proteínas (marcadores com proteínas de peso molecular conhecido). A quantidade relativa da enzima foi determinada utilizando-se coloração com Coomassie-blue (Coomassie-blue R-250, 0,25%; metanol, ácido acético e água, na proporção de 5:1:5). Após a coloração o gel foi descorado com sucessivas incubações em solução de metanol, ácido acético e água na proporção de 5:1:5.

Depois de descorado o gel foi posto para secar envolto em papel celofane e reservado para posterior análise.

4. Anatomia Foliar.

Foram coletadas folhas de 3 plantas dos tratamentos de 74% e 96% de sombreamento, utilizando-se a última folha totalmente expandida de cada indivíduo e retirando-se a penúltima pina do lado esquerdo (com a bainha da folha voltada para o coletor). Nestas plantas foram observadas a espessura do mesófilo foliar e da folha.

Para isto, dividiu-se transversalmente a lâmina foliar em três partes: terço inferior, terço médio e terço superior. Para a análise da anatomia utilizou-se somente o terço médio das folhas, o qual foi então dividido em seguimentos de aproximadamente 0,5 cm.

Em seguida submeteu-se os cortes ao processo de desidratação com álcool butílico, passagem em xilol e inclusão em parafina, segundo Johansen (1940), da seguinte forma:

SOLUÇÃO	TEMPO
¹ FAA 70°	24 horas
Álcool butílico 70°	24 horas
Álcool butílico 80°	3 horas
Álcool butílico 90°	15 horas
Álcool butílico 100°	2 horas

¹ FAA - 5ml de formoldeído, 5ml ácido acético glacial, 90ml álcool.

Álcool butílico 100° x Xilol (3:1)	5 horas
Álcool butílico 100° x Xilol (1:1)	1 hora
Álcool butílico 100° x Xilol (1:3)	1 hora
Xilol 1	15 horas
Xilol 2	1 hora

Após a passagem pela série de álcool butílico e xilol colocaram-se os cortes em estufa a 70° C e foi substituindo-se aos poucos o xilol por parafina até a inclusão total de parafina. Em seguida emblocou-se o material e com auxílio de um micrótomo procedeu-se ao corte do material emblocado na espessura de 13 µm.

Os cortes foram colados nas lâminas com adesivo de Haupt e colocados para secar em estufa branda (≅ 45°) por um período de 5 horas. Após este período as lâminas ficaram secando a temperatura ambiente por mais 24 horas.

Os cortes foram então desparafinizados e corados com safranina e astra blau, segundo Johansen (1940), da seguinte maneira:

SOLUÇÃO	TEMPO
Xilol 1	30 minutos
Xilol 2	15 minutos
Xilol/Álcool etílico (1:1)	01 minuto
Álcool etílico 100°	01 minuto
Álcool etílico 100°	01 minuto
Álcool etílico 90°	01 minuto

Álcool etílico 80°	01 minuto
Álcool etílico 70°	01 minuto
Álcool etílico 60°	01 minuto
Álcool etílico 50°	01 minuto
² Safranina	30 minutos
água destilada	lavar
³ Astra Blau	5 minutos
Álcool etílico 50°	1 minuto
Álcool etílico 60°	1 minuto
Álcool etílico 70°	1 minuto
Álcool etílico 80°	1 minuto
Álcool etílico 90°	1 minuto
Álcool etílico 96°	1 minuto
Álcool etílico 100°	1 minuto
Álcool etílico/ Xilol (1:1)	1 minuto
Xilol	1 minuto
Xilol diafanizador	15 minutos

Após a passagem pela série de coloração foi feita a montagem do corte em lâmina e lamínula, vedando-se com permount e levando-se as lâminas para secar a temperatura ambiente por 48 horas.

² Safranina - 6g de safranina em pó + 600ml etanol 50°

³ Astra Blau - 1g de astra blau, 2g ácido tartárico, 5ml formoldeído e 95 ml H₂O destilada.

As lâminas prontas foram então analisadas, sendo que as observações foram feitas com o auxílio de microscópio ótico Carls Zeiss Jena - Laboral 4 e Câmara clara A8 x 11.

5. Determinação de Clorofila.

A determinação de clorofila foi feita segundo Hiscox & Israelstam (1979).

50 mg de folhas frescas foram colocadas em tubos de ensaio contendo 7 ml de Dimetil-Sulfóxido (DMSO). Os tubos com as amostras foram colocados por 10 horas em estufa a 65^o C, para a retirada da clorofila. Após esse período, os 7 ml de DMSO com clorofila foram transferidos para tubos graduados completando-se o volume para 10 ml. Os tubos de ensaio foram agitados e alíquotas dessa solução foram utilizadas para medir o teor de clorofila em espectrofotômetro no comprimento de ondas de 663 nm para a clorofila "a" e 645 nm para a clorofila "b". O teor de clorofila (Cl.) foi calculado a partir da seguinte fórmula:

$$\text{Cl.a} = \{ [12,7 \times (A_{663})] - [2,69 \times (A_{645})] \} \times \text{Vol(ml)} \div [\text{peso(mg)} \times 1000]$$

$$\text{Cl.b} = \{ [22,9 \times (A_{645})] - [4,68 \times (A_{663})] \} \times \text{Vol(ml)} \div [\text{peso(mg)} \times 1000]$$

$$\text{Cl. total} = \text{Clorofila 'a'} + \text{Clorofila 'b'}$$

onde: A = absorvância.

6. Determinação de Peso Seco e Área Foliar.

Para determinar-se a área foliar desenhou-se os contornos das lâminas foliares em papel. Após estes contornos serem recortados e pesados, cortaram-se áreas conhecidas do mesmo papel e fez-se uma regra de três simples entre pesos dos contornos (pc), pesos de áreas conhecidas (pa) e área conhecida do papel (ap), da seguinte forma, segundo Benincasa (1988).

$$\frac{pa}{pc} = \frac{ap}{AF} \quad \therefore \quad AF = \frac{pc \cdot ap}{pa}$$

O peso seco de semente, raiz, caule⁴ e folhas, foi obtido colocando-se as plantas em estufa a 80° por um período de 72 horas e posteriormente pesadas em balança analítica.

7. Taxas de crescimento.

Através de duas coletas com medição de peso seco e área foliar, a taxa média de crescimento relativo (TCR), a taxa média de assimilação líquida (TAL) e a razão média da área foliar (RAF) foram calculadas através das seguintes equações:

$$TCR = (\ln P_2 - \ln P_1) \div (T_2 - T_1)$$

$$TAL = [(P_2 - P_1) \div (T_2 - T_1)] \times [(\ln A_2 - \ln A_1) \div (A_2 - A_1)]$$

$$RAF = (A_1 \div P_1) + (A_2 - P_2) \div 2$$

⁴ Caule = Retirando-se a raiz e as folhas, sem pecíolo, o restante foi considerado como caule.

Onde : P representa o peso, T representa o tempo e A representa a área foliar (Hunt, 1982).

8. Número de Amostras e Análise Estatística.

Para as medidas de peso seco e área foliar foram utilizadas nove plantas por tratamento, para as de clorofila e anatomia foliar foram utilizadas três plantas por tratamento, para a medição da Rubisco, folhas de 3 plantas diferentes foram picadas, misturadas e 50mg desta mistura foram utilizadas para as dosagens.

Para as medidas de espessura do mesófilo foliar e distância entre as epidermes adaxial e abaxial foram utilizadas 3 plantas de cada tratamento testado, sendo que de cada planta foram tomadas medidas de 5 cortes e de cada corte 5 medidas em locais distintos.

O número de repetições de medidas da altura das células da epiderme adaxial foi dado pela fórmula:

$$N = \frac{t^2 \cdot \delta^2}{(0,1 \cdot \bar{x})^2}$$

onde: $t^2 = 4,2436$ "Student t", valor obtido de tabela para n-1 graus de liberdade para 95% de confiabilidade, δ^2 - desvio padrão de 10 células medidas, \bar{x} - média de 10 células medidas.

As médias foram comparadas através de análise de variância seguida de teste TUKEY para comparação de mais de 2 médias e teste de Student para comparação de duas médias, segundo Snedecor (1962).

III - RESULTADOS

1. Peso seco e área foliar.

1.1 Plantas com 155 dias de idade.

Plantas transferidas de baixa para alta luminosidade não apresentaram diferenças significativas no peso seco de sementes e peso seco de caules (Tabela 1).

No peso seco da parte aérea (caule + folhas), quando comparamos plantas dos tratamentos com 96% e 79% de sombreamento, não observou-se diferenças significativas, entretanto quando comparamos plantas dos tratamentos com 96% e 74% de sombreamento observou-se que o peso seco da parte aérea do tratamento com 74% é maior que o do tratamento com 96% de sombreamento, mas não se observa diferenças significativas quando comparamos plantas dos tratamentos com 79% e 74% de sombreamento (Tabela 1). Sendo as diferenças no peso seco da parte aérea devido a diferenças no peso das folhas.

No peso seco total quando comparamos plantas dos tratamentos com 79% e 74% de sombreamento, não observou-se diferenças significativas, entretanto plantas do tratamento com 96% de sombreamento diferem significativamente no peso seco total de plantas dos tratamentos com 74% e 79% de sombreamento, sendo que as plantas do tratamento com 96% de sombreamento apresentam menor peso seco (Tabela 1).

Analisando-se o peso seco da raiz, observou-se que raízes de plantas sob 96% de sombreamento apresentaram o menor peso, e raízes de plantas

sob 79% e 74% de sombreamento não apresentaram diferença significativa entre si (Tabela 1).

A razão raiz : parte aérea foi aumentando com o aumento da luminosidade (Tabela 2). Significando maior distribuição de biomassa para raiz e menor para a parte aérea sob maior luminosidade.

Não foi observada diferença significativa de área foliar entre os diversos tratamentos (Tabela 3).

1.2 Plantas com 217 dias de idade.

Plantas transferidas de baixa para alta luminosidade não apresentaram diferenças significativas no peso seco de sementes (Tabela 1).

Com relação ao peso seco da raiz, observou-se que raízes de plantas sob 96% de sombreamento apresentaram o menor peso seco, diferindo dos tratamentos com 79% e 74% de sombreamento sendo que o peso seco das raízes de plantas sob 79% e 74% de sombreamento não apresentaram diferença significativa entre si (Tabela 1).

Analisando-se o peso seco do caule, observou-se que caules de plantas sob 96% de sombreamento apresentaram o menor peso seco, diferindo dos tratamentos com 79% e 74% de sombreamento sendo que o peso seco dos caules de plantas sob 79% e 74% de sombreamento não apresentaram diferença significativa entre si (Tabela 1).

O peso seco de folhas de plantas sob 96% de sombreamento foi o menor peso seco observado, diferindo dos tratamentos com 79% e 74% de sombreamento, sendo que o peso seco das folhas de plantas sob 79% e 74% de sombreamento não apresentaram diferença significativa entre si (Tabela 1).

No peso seco da parte aérea (caule + folhas), observamos diferenças significativas entre os tratamentos. Plantas do tratamento com 96% de sombreamento apresentaram menor peso seco, plantas do tratamento com 74% de sombreamento apresentaram o maior peso seco e plantas do tratamento com 79% de sombreamento apresentaram peso seco da parte aérea intermediário entre os tratamentos de 74% e 96%. (Tabela 1).

No peso seco total observamos diferenças significativas entre os tratamentos. Plantas do tratamento com 96% de sombreamento apresentaram menor peso seco total, plantas do tratamento com 74% de sombreamento apresentaram o maior peso seco total e plantas do tratamento com 79% de sombreamento apresentaram peso seco da parte aérea intermediário entre os tratamentos de 74% e 96%. (Tabela 1).

A razão raiz : parte aérea aumentou com o aumento da luminosidade, entretanto com o aumento de 79% para 74% de luminosidade não observamos diferenças significativas, sendo estas diferenças só observadas quando comparamos o tratamento de 96% de sombreamento com os demais tratamentos (Tabela 2).

Analisando-se a área foliar, observou-se que plantas sob 96% de sombreamento apresentaram a menor área foliar, diferindo dos tratamentos com 79% e 74% de sombreamento, sendo que a área foliar de plantas sob 79% e 74% de sombreamento não apresentaram diferença significativa entre si (Tabela 03).

2. Nível de Clorofila.

Todos os tratamentos apresentaram diferenças significativas entre si (Tabela 4). Os níveis de clorofila **a**, **b** e total aumentaram de acordo com a diminuição da intensidade da luz, ou seja, plantas do tratamento com maior

sombreamento (96%) apresentaram os maiores níveis de clorofila **a**, **b** e total, plantas do tratamento com menor sombreamento (74%) apresentaram menores níveis de clorofila **a**, **b** e total. Plantas do tratamento com 79% de sombreamento apresentaram níveis de clorofila **a**, **b** e total intermediários entre os níveis dos tratamentos de 74% e 96% de corte luz.

3. Anatomia Foliar.

Diferenças significativas foram observadas na espessura do mesófilo foliar em plantas sob diferentes níveis de sombreamento. Plantas crescidas sob sombreamento artificial de 96% de sombreamento apresentaram espessura do mesófilo foliar menor que plantas sob sombreamento de 74% de sombreamento.

A espessura foliar também apresentou diferenças significativas, sendo que nas plantas crescidas sob 96% de sombreamento esta espessura foi menor que em plantas crescidas sob sombreamento de 74%. A diferença na espessura da folha se deu pela diferença de espessura no mesófilo foliar, pois a altura das epidermes não apresentou diferença significativa (Tabela 8).

4. Dosagem do teor de RUBISCO.

Observa-se pela Figura 1 que extrato de folhas de plantas de *E. edulis* crescidos sob maior sombreamento apresentam maior quantidade de Rubisco, apresentando banda levemente mais escura (linha 2) que extratos de folhas de *E. edulis* crescidos sob menor sombreamento, onde percebe-se banda mais clara (linha 3).

5. Taxas de Crescimento.

Plantas crescidas sob sombreamento de 96% de sombreamento apresentaram menor taxa de crescimento relativo (TCR) que plantas crescidas sob sombreamento de 79% e 74%. Já as plantas dos tratamentos de 79% e 74% de sombreamento não diferiram estatisticamente entre si no valor de TCR (Tabela 5).

Plantas crescidas sob sombreamento de 96% de sombreamento apresentaram menor taxa de assimilação líquida (TAL) que plantas crescidas sob sombreamento de 79% e 74%. Já as plantas dos tratamentos de 79% e 74% de sombreamento não diferiram estatisticamente entre si no valor de TAL (Tabela 6).

Em relação à razão de área foliar (RAF), não foram observadas diferenças significativas nos diversos tratamentos testados (Tabela 7).

Tabela 1. Peso seco de plantas de *Euterpe edulis* com 155 e 217 dias de idade, transferidas de baixa para alta luminosidade aos 107 dias de idade.

Peso Seco (mg)						
Plantas com 155 dias de idade						
Sombreamento	Total	Raiz	Semente	Caule	Folhas	Parte Aérea
96%	483,89 a	131,33 a	130,33 a	144,33 a	208,22 a	352,56 a
Desvio padrão	72,25	33,73	33,97	28,74	24,52	44,09
C.V.	14,93	25,69	26,07	19,91	11,77	12,51
79%	650,67 ab	199,33 b	161,44 a	192,89 a	258,44 ab	451,33 ab
Desvio padrão	170,67	51,22	34,81	68,50	64,44	124,87
C.V.	26,23	25,69	21,56	35,51	24,93	27,67
74%	702,00 b	226,67 b	164,22 a	207,89 a	267,44 b	475,33 b
Desvio padrão	148,94	53,70	31,63	56,23	44,53	99,31
C.V.	21,22	23,69	19,26	27,05	16,65	20,89
Plantas com 217 dias de idade						
Sombreamento	Total	Raiz	Semente	Caule	Folhas	Parte Aérea
96%	735,67 a	173,56 a	126,50 a	212,44 a	349,67 a	562,11 a
Desvio padrão	117,11	22,77	33,50	43,70	66,34	102,59
C.V.	15,92	13,12	26,48	20,57	18,97	18,25
79%	1.314,00 b	403,44 b	154,89 a	364,22 b	546,33 b	910,56 b
Desvio padrão	162,23	79,29	33,14	59,36	54,06	94,00
C.V.	12,35	19,65	21,40	16,30	9,89	10,32
74%	1.666,22 c	497,00 b	158,56 a	446,11 b	723,11 c	1.169,22 c
Desvio padrão	406,55	164,92	44,81	98,85	172,72	260,42
C.V.	24,40	33,18	28,26	22,16	23,89	22,27

Média de 9 plantas.

Médias precedidas pela mesma letra, na vertical, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Tabela 2. Razão raiz : parte aérea de plantas de *Euterpe edulis* com 155 e 217 dias de idade, transferidas de baixa para alta luminosidade aos 107 dias de idade.

Razão raiz:parte aérea			
Plantas com 155 dias de idade			
Sombreamento	R:PA	Desvio Padrão	Coefficiente Variação
96%	0,37 a	0,07	18,57
79%	0,45 ab	0,06	14,48
74%	0,48 b	0,06	13,15
Plantas com 217 dias de idade			
Sombreamento	R:PA	Desvio Padrão	Coefficiente Variação
96%	0,32 a	0,05	16,50
79%	0,44 b	0,06	14,43
74%	0,42 b	0,10	22,97

Média de 9 plantas.

Médias precedidas pela mesma letra, na vertical, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Tabela 3. Área foliar de plantas de *Euterpe edulis* com 155 e 217 dias de idade, transferidas de baixa para alta luminosidade aos 107 dias de idade.

Área Foliar (cm²)			
Plantas com 155 dias de idade			
Sombreamento	Área foliar	Desvio Padrão	Coefficiente Variação
96%	70,60 a	18,84	26,68
79%	79,14 a	22,10	27,93
74%	81,03 a	13,38	16,51
Plantas com 217 dias de idade			
Sombreamento	Área foliar	Desvio Padrão	Coefficiente Variação
96%	98,97 a	30,08	30,40
79%	139,24 b	18,34	13,17
74%	157,41 b	29,36	18,65

Média de 9 plantas.

Médias precedidas pela mesma letra, na vertical, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Tabela 4. Níveis de Clorofila a, b, total e razão clorofila a : clorofila b em plantas de *Euterpe edulis* com 189 dias de idade, transferidas de baixa para alta luminosidade aos 107 dias de idade.

µg clorofila/ mg de peso fresco				
Sombreamento	Clorofila a	Clorofila b	Clorofila Total	Cl.a/Cl.b
96%	2,24 a	3,56 a	5,80 a	0,63 a
Desvio padrão	0,10	0,13	0,24	0,81
C.V.	4,85	3,78	4,18	1,28
79%	1,83 b	2,71 b	4,54 b	0,68 a
Desvio padrão	0,03	0,06	0,07	0,54
C.V.	1,82	2,30	1,60	0,79
74%	1,44 c	2,32 c	3,77 c	0,62 a
Desvio padrão	0,06	0,06	0,04	1,02
C.V.	4,81	2,92	1,08	1,65

Média de 3 plantas.

Médias precedidas pela mesma letra, na vertical, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Tabela 5. Taxa de crescimento relativo (TCR) de plantas de *Euterpe edulis*, crescidas sob sombreamento artificial por 217 dias.

Sombreamento	TCR (mg . d⁻¹)
96%	0,007782 a
79%	0,120661 b
74%	0,123966 b

Média de 9 plantas.

As médias seguidas da mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

Tabela 6. Taxa de assimilação líquida (TAL) de plantas de *Euterpe edulis* crescidas sob sombreamento artificial por 217 dias..

Sombreamento	TAL (mg . cm ² .d ⁻¹)
96%	0,0578574 a
79%	0,1068742 b
74%	0,1210794 b

Média de 9 plantas.

As médias seguidas da mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

Tabela 7. Razão da área foliar (RAF) de plantas de *Euterpe edulis* crescidas sob sombreamento artificial por 217 dias..

Sombreamento	RAF (cm ² . mg ⁻¹)
96%	0,1135167 a
79%	0,1275638 a
74%	0,1483526 a

Média de 9 plantas.

As médias seguidas da mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

Tabela 8. Espessura do mesófilo foliar e espessura das folhas de *Euterpe edulis* crescidas sob sombreamento artificial de 74% e 96% de corte de luz.

Variáveis	96% de sombreamento			74% de sombreamento		
	Média (µm)	Desvio Padrão	Coefficiente de Variação(%)	Média (µm)	Desvio Padrão	Coefficiente de Variação(%)
Espessura do Mesófilo	44,55 a	6,31	14,07	54,69 b	8,23	14,95
espessura das folhas	56,43 a	6,41	10,97	67,32 b	7,99	11,79

Média de 75 observações.

Médias seguidas de mesma letra, na horizontal, não diferem estatisticamente entre si pelo teste "t".

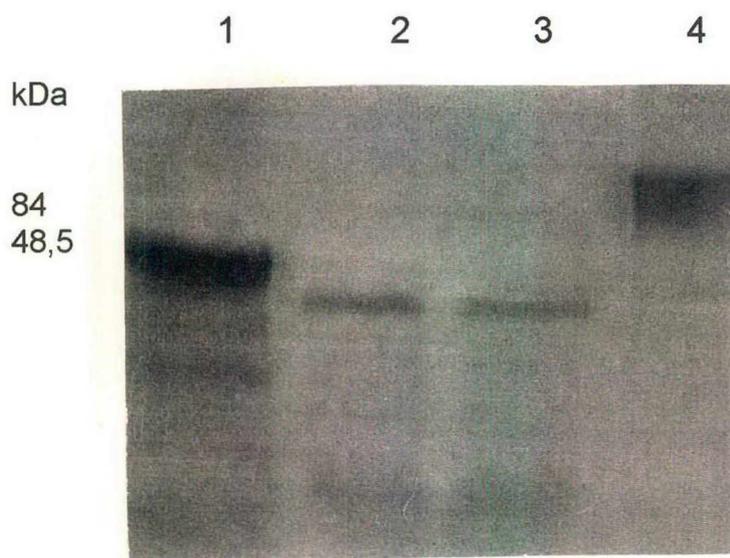


Figura 1. Detecção, após cromatografia em gel de poliacrilamida SDS, da maior sub-unidade de RUBISCO extraída de 50mg de folhas de *E. edulis*. **Linha 1:** marcador de peso molecular de 48,5 KDa (Fumarase); **Linha 2:** Rubisco extraída de folhas de plantas crescidas sob sombreamento artificial de 96% de corte de luz; **Linha 3:** Rubisco extraída de folhas de plantas crescidas sob sombreamento de 74% de corte de luz; **Linha 4:** marcador de peso molecular de 84 KDa (Frutose-6-phosphato Kinase).

IV - DISCUSSÃO

Plântulas de *E. edulis* transferidas de baixa para alta luminosidade mostraram-se aclimatar ao aumento de luminosidade, ou seja, aumentaram a produção de matéria seca com o aumento de luminosidade. Esta aclimação foi mais evidente quando as plântulas crescidas sob sombreamento de 96% de sombreamento foram transferidas para sombreamento de 74% de sombreamento. Isto porque sob sombreamento de 79%, a parte aérea respondeu pouco ao aumento de luminosidade. Embora este resultado possa ser devido ao alto desvio padrão da amostra analisada.

A raiz cresceu proporcionalmente mais que a parte aérea com o aumento de luminosidade, levando a um aumento da relação raiz:parte aérea com o aumento de luminosidade. Este resultado concorda com os trabalhos de Chapim (1980), que dizem que a distribuição de biomassa parece variar no sentido de favorecer o crescimento do órgão vegetal cuja aquisição de recursos está sendo mais limitante. Não há dúvida que sob sombreamento de 96%, o fator mais limitante é a luz, tendo, neste caso, a distribuição de biomassa favorecido mais a parte aérea que sob sombreamento de 74%.

A área foliar não mostrou ser sensível ao aumento de luminosidade. Estes dados estão concordes com dados de outros experimentos com *E. edulis*, onde a área foliar também não variou com a luminosidade, nem com o aumento de nutrição mineral (Venturi e Paulilo, dados não publicados).

O maior crescimento das plântulas sob maior luminosidade foi reflexo da maior taxa de crescimento relativo.

A taxa de crescimento relativo (TCR) é dependente da taxa de assimilação líquida (TAL), que mede a eficiência fotossintética da planta, bem como da razão de área foliar (RAF), que mede a eficiência da planta na

produção de área fotossintetizante (Hunt, 1982). Sob maior luminosidade a TCR foi maior porque a TAL foi maior, ou seja, houve maior eficiência fotossintética sob maior luminosidade. Já a RAF praticamente não se alterou com a variação de luminosidade.

A TCR de *E. edulis*, que é uma espécie que se estabelece mais tarde na sucessão florestal (Klein, 1980), mesmo sob maior luminosidade, foi bem mais baixa que a de outras espécies que se estabelecem mais cedo nesta sucessão, como *Colubrina glandulosa*, *Alchornea triplinervia* (Feuser e Paulilo 1995) e *Rapanea ferruginea* (Paulilo *et al.*, dados não publicados). Estes dados confirmam os de Yamazoe (1973), os quais indicam lento crescimento para *E. edulis* nos estágios iniciais de crescimento e também confirmam os de Piña-Rodrigues *et al.* (1990) que reportam taxas menores de crescimento para espécies que se estabelecem mais tarde na sucessão florestal.

Com o aumento de luminosidade houve diminuição do teor de clorofila total, mas não houve alteração na proporção de clorofila a em relação à clorofila b, como costuma ocorrer em plantas que apresentam plasticidade ao aumento de luminosidade.

Embora o teor de Rubisco costume ser maior sob maior luminosidade (Givnish, 1988; Paulilo *et al.*, 1994), em *E. edulis* este fato não foi verificado, parecendo, ao contrário, que plântulas sob menor luminosidade apresentam o teor de Rubisco levemente mais alto. Entretanto, devido à tênue diferença encontrada entre o teor de Rubisco em plantas sob maior e menor luminosidade, é arriscado concluir-se que o nível de luminosidade utilizado neste experimento, tenha alterado o teor de Rubisco nas plantas testadas.

Plantas de *E. edulis* responderam anatomicamente à variação de luminosidade, apresentando menor espessura foliar sob menor luminosidade. Estes dados estão concordes com a aclimatação à luz em outras espécies, que também apresentam diminuição de espessura foliar

com diminuição de luminosidade (Boardman, 1977; Björkman, 1981; Givnish, 1988).

O comportamento de espécies vegetais arbóreas florestais à variação de luminosidade não é ainda tão bem determinado como o é para herbáceas (Thompson *et al.*, 1992), apresentando as espécies arbóreas grande variação na sua capacidade de responder à variação de luminosidade. Vários trabalhos têm correlacionado, entretanto, esta variação na plasticidade de resposta à variação de luminosidade aos estágios sucessionais a que a espécie pertence, sendo que espécies que ocupam os primeiros estágios secessionais da floresta têm apresentado maior plasticidade de resposta ao aumento de luminosidade que espécies que ocupam estágios sucessionais mais tardios (Bazzaz e Carlson, 1982; Straus-Debenedetti e Bazzaz, 1991; Ashton e Berlyn, 1992; Thompson *et al.*, 1992).

E. edulis não apresenta resposta de aclimatação à luz quando a luminosidade varia entre 20% a 70% em relação à luz solar plena (Nakazono e Paulilo, 1996), entretanto quando a luminosidade passa de 4% (96% de sombreamento) para 26% da luz solar plena (74% de sombreamento) a espécie mostra aclimatação ao aumento de luminosidade, mostrando maior crescimento, menor teor de clorofila, maior atividade fotossintética e maior espessura do mesófilo, onde estão as estruturas relacionadas à fotossíntese. No entanto, como *E. edulis* só mostra responder à variação de luminosidade quando esta é abaixo de 20% da luz solar, não respondendo quando a luminosidade varia entre 20% a 70% da luz solar plena, estes dados estão de acordo com aqueles encontrados para espécies sucessionais de estágios mais tardios, como é o caso de *E. edulis*.

V - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDERSON, I.M. (1986). Photoregulation of the composition, function and structure of thylakoid membranes. *Annu Rev.Plant. Physiol.* 37,93-136.

ASHTON, P.M.S. & BERLYN, G.P. 1992. Leaf adaptations of some *Shorea* species to sun and shade. *New Physiology.* 121: 587-596.

BAZZAZ, F.A. & CARLSON, R.W. 1982. Photosynthetic Acclimation to Variability in the Light Environment of Early and Late Successional Plants. *Oecologia (Berl).* 54: 313-316.

BENINCASA, M.M.P. 1988. Análise de crescimento de plantas (noções básicas). FCAV-UNESP. Jaboticabal, SP.

BESFORD, R.T. 1990. The greenhouse effect: acclimation of plants growing in high CO₂, relative changes in Calvin cycle enzymes. *Plant Physiol.* 136: 458-463.

BJÖRKMAN, O. (1981). Responses to different quantum flux densities. In 'Physiological Plant Ecology. I. Responses to the Physical Environment'. (Eds O.L. Lange, P.S. Nobel, C.B. Osmond and H. Ziegler) *Encycl Plant Physiol New Ser.*, Vol. 12A, pp. 57-107.(Springer-Verlag: New York).

BOARDMAN, N. K. 1977. Comparative Photosynthesis of sun and shade plants. *Ann. Rev. Plant Physiology.* 28: 355-77.

- CHAPIN, F.S. 1980. The mineral nutrition of wild plants. *Ann. Rev. Ecol. Syst.*, 11:233-260.
- FEUSER, S. & PAULILO, M.T.S 1995. Fatores determinantes da taxa de crescimento relativo em espécies arbóreas de floresta. XLVI Congresso Nacional de Botânica. Resumos. Ribeirão Preto. SP. pg. 146.
- GIVNISH, T.J. 1988. Adaptation to sun and shade: a whole perspective. *Aust. J. Plant Physiol.* 15: 63-92.
- HISCOX, J.D. & ISRAELSTAN, G.F. 1979. A method for extration of chlorophyll from leaf without maceration. *Can J. Bot.* 57: 1332-1334.
- HUNT, R. 1982. *Plant growth curves: The functional approach to plant growth analysis.* Edward Arnold (Publishers) Limited, London.
- JOHANSEN, P. A. 1940. *Plant Microtechnique.* New York. Mc Graw Hill Book Company Inc. 523p.
- KLEIN, A.M. 1980. Ecologia da flora e vegetação do Vale do Itajaí. *Sellowia.* 32: 165-389.
- LANGENHEIN, J.H.; OSMOND, C.B.; BROOKS. A.; FERRAR, P.J. 1984. Photosynthetic responses to light in seedlings of selected Amazonian and Australian rainforest tree apecies. *Oecologia* 63: 215-224.

- NAKAZONO, E.M.; PAULILO, M.T.S. 1996. Crescimento de *Euterpe edulis* sob diferentes níveis de luminosidade. XLVII Congresso Nacional de Botânica. Nova Friburgo.
- OSMOND, C. B. & CHOW, W. S. 1988. Ecology of Photosynthesis in the Sun and Shade: Summary and Prognostications. Australian Journal Plant Physiology. 107--122.
- PAULILO, M.T.S.; BESFORD, R.T. & WILKINS, D. 1994. Rubisco and Pep Carboxilase responses to changing irradiance in a Brazilian Cerrado tree species, *Qualea grandiflora* Mart. (Vochysiaceae). Tree Physiology 14: 165-177.
- PIÑA-RODRIGUES, F.M.C.; COSTA, L.C. & REIS, A. 1990. Estratégia de estabelecimento de espécies arbóreas e manejo de florestas tropicais. Anais do 6º Congresso Florestal Brasileiro. Campos do Jordão - SP. 676-684.
- REIS, A.; REIS, M.S. & FANTINI, A.C. 1991. O palmito como um modelo de manejo em redimento sustentado. Higiene alimentar. 5: 27-31.
- SNEDECOR, G.W. 1962. Statistical methods. The Iowa University Press. Iowa.
- STRAUSS-DEBENEDETTI, S. & BAZZAZ, F. A. 1991. Plasticity and acclimation to light in tropical Moraceae of different sucessional positions. Oecologia 87:377-387.

THOMPSON, W. A.; HUANG, L. K. & KRIEDEMANN, P. E. 1992. Photosynthetic Response to Light and Nutrients in Sun-tolerant and Shadetolerant Rainforest Trees. II. Leaf Gas Exchange and Component Processes of Photosynthesis. Australian Journal of Plant Physiology 19: 19-42.

WEIDNER, M. & KRAUS, M. 1987. Ribulose-1,5 bisphosphate carboxylase activity and influence of an pollution in spruce. Physiol. Plant. 70: 664-672.

YAMAZOE, G. 1973. Observações preliminares sobre a cultura de *Euterpe edulis* Mart. Boletim técnico do Instituto Florestal 6:17-22.