

ANÁLISES ECOFISIOLÓGICAS E ANATÔMICAS EM *Byrsonima sericea* DC. (MALPIGHIACEAE) EM CONDIÇÕES CONTRASTANTES DE LUMINOSIDADE NA RESERVA BIOLÓGICA UNIÃO, RIO DE JANEIRO.

ANANDRA DE SOUZA DA SILVA

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE DARCY
RIBEIRO- UENF
CAMPOS DOS GOYTACAZES, RJ
MARÇO, 2009

ANÁLISES ECOFISIOLÓGICAS E ANATÔMICAS EM *Byrsonima sericea* DC. (MALPIGHIACEAE) EM CONDIÇÕES CONTRASTANTES DE LUMINOSIDADE NA RESERVA BIOLÓGICA UNIÃO, RIO DE JANEIRO.

Anandra de Souza da Silva

Dissertação apresentada ao Centro de Bociências e Biotecnologia, da Universidade Estadual do Norte Fluminense, como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Ecologia e Recursos Naturais.

Orientador: Prof^ª. Dr^ª. Angela Pierre Vitória
Campos dos Goytacazes – RJ
Março de 2009

ANÁLISES ECOFISIOLÓGICAS E ANATÔMICAS EM *Byrsonima sericea* DC. (MALPIGHIACEAE) EM CONDIÇÕES CONTRASTANTES DE LUMINOSIDADE NA RESERVA BIOLÓGICA UNIÃO, RIO DE JANEIRO.

Anandra de Souza da Silva

Dissertação apresentada ao Centro de Biociências e Biotecnologia, da Universidade Estadual do Norte Fluminense, como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Ecologia e Recursos Naturais.

Aprovada em 20 de Março de 2009

Comissão examinadora:

Dr. José Pires Lemos Filho (UFMG)

Dr^a. Maura Da Cunha (LBCT/UENF)

Dr. Jurandi Gonçalves Oliveira (LMGV/UENF)

Dr^a. Angela Pierre Vitória (LCA/UENF)
Orientadora

A Ailton, Marizete, Ana Carolina e Vinicios.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por permitir a minha existência e me ajudar em todas as fases ao longo deste trabalho e de modo especial:

Aos meus pais, Ailton e Marizete, pela confiança e pelo apoio, principalmente nos momentos mais difíceis na condução deste trabalho.

À minha irmã, Ana Carolina, por ser amiga e companheira em todas as horas.

Ao Vinícios, pelo amor incondicional e pela paciência comigo em todos os momentos.

Aos amigos do LCA, em especial à turma de pós-graduação em Ecologia e Recursos Naturais, pelo convívio nestes dois anos e pelos diversos momentos alegres.

Aos amigos do LBCT e à professora Maura da Cunha, pelo convívio e apoio em todos os momentos de dúvidas com as análises anatômicas.

Às técnicas do LBCT Bia e Giovana, pelo importante auxílio no laboratório, pelas dicas e sugestões importantes para este trabalho e também para a vida pessoal.

Aos técnicos de campo do LCA, Helmo, Gerson e José Vanderley, e ao motorista Noel, pela ajuda nas tarefas de campo feitas sempre com seriedade.

À prof^a. Dr^a. Angela Pierre Vitória pela orientação e apoio durante o desenvolvimento deste trabalho.

Aos alunos da professora Angela, Frederico, Luiza, Leonardo, Aline, Juliana, Douglas, pela amizade e pela ajuda nas tarefas de campo e laboratório.

À Elaine Bernini, pelas importantes dicas e sugestões na revisão deste trabalho.

Aos professores Maura Da Cunha, Jurandi Gonçalves Oliveira e José Pires Lemos Filho, por aceitarem o convite de participação na banca examinadora desta dissertação.

Ao Jurandi pela ajuda no trabalho de modo geral e à Maria Cândida Mamede pela identificação do material botânico.

Ao IBAMA/Reserva Biológica União pelo suporte logístico.

À Faperj/Uenf pela concessão da bolsa de mestrado.

Sumário

1- Introdução.....	1
1.1 - A Mata Atlântica e o processo de fragmentação	1
1.2 - Fatores que influenciam a fotossíntese	2
1.3 – Estudos ecofisiológicos.....	4
2- Objetivos.....	7
3- Material e Métodos	8
3.1- Área de estudo	8
3.2- Espécie estudada	11
3.3- Análises ecofisiológicas.....	12
3.3.1- Estimativa de clorofila total no campo	12
3.3.2- Medidas de Trocas Gasosas e suas Correlações	12
3.3.3- Acompanhamento dos Parâmetros de Emissão de Fluorescência da Clorofila <i>a</i>	13
3.3.4- Medidas da Concentração dos Pigmentos Fotossintéticos em Laboratório	14
3.4- Análise da anatomia foliar	14
3.4.1- Fixação e Desidratação	14
3.4.2- Microscopia Óptica	15
3.4.3- Quantificação da espessura do mesofilo, lâmina foliar, parênquimas (paliçádico e lacunoso) e epidermes (adaxial e abaxial)	15
3.5- Análise de dados	15
4- Resultados.....	16
5- Discussão	24
6- Conclusões.....	31
7- Referências bibliográficas.....	32

Lista de Figuras

- Figura 1. Área de estudo: Reserva Biológica União, Rio das Ostras, Casimiro de Abreu e Macaé, RJ. _____ 9
- Figura 2. Localização das áreas estudadas na Reserva Biológica União: área de sol e área de sombra. _____ 9
- Figura 3. Fotos dos locais estudados: (A) área de sol e (B) área de sombra. Setas indicam os locais onde estavam as plantas de *Byrsonima sericea* na Reserva Biológica União, RJ. _____ 10
- Figura 4. *Byrsonima sericea* DC na (A) área de sol e (B) na área de sombra na Reserva Biológica União, RJ. _____ 11
- Figura 5. Curva de resposta à luz para o ambiente de sol e de sombra obtida em Agosto de 2007 na Reserva Biológica União, RJ. _____ 16
- Figura 6. Média \pm erro padrão da assimilação fotossintética líquida de CO₂ (Pn) entre os ambientes de sol e sombra em plantas de *Byrsonima sericea* na Reserva Biológica União, RJ para os meses estudados; média mensal da pluviosidade e da temperatura durante o período estudado na Reserva Biológica União, RJ. Letras minúsculas indicam diferença estatística ($p < 0,05$) entre ambientes. _____ 17
- Figura 7. Média \pm erro padrão da assimilação fotossintética líquida de CO₂ (A), condutância estomática (B), transpiração (C) e concentração interna de CO₂ (D) entre os períodos seco e chuvoso nos ambientes de sol e sombra em plantas de *Byrsonima sericea* na Reserva Biológica União, RJ. Letras maiúsculas indicam diferença estatística entre períodos; letras minúsculas indicam diferença estatística entre ambientes ($p < 0,05$). sol sombra. _____ 18
- Figura 8. Médias obtidas com SPAD \pm desvio padrão da concentração de pigmentos verdes nas folhas de sol e de sombra em plantas de *Byrsonima sericea* na Reserva Biológica União, RJ. sol sombra. _____ 20
- Figura 9. Concentrações médias \pm erro padrão da clorofila a (clo a) (A), clorofila b (clo b) (B), carotenóides (caro) (C) e clorofilas totais (clo totais) (D); Razões médias \pm erro padrão de clorofila a/clorofila b (Clo a/Clo b) (E) e clorofilas totais/carotenóides (Clo totais/caro) (F) entre os períodos seco e chuvoso nos ambientes de sol e sombra em plantas de *Byrsonima sericea* na Reserva Biológica União, RJ. Letras maiúsculas indicam diferença estatística entre períodos; letras minúsculas indicam diferença estatística entre ambientes ($p < 0,05$). _____ 21
- Figura 10. Secções transversais de folhas de *Byrsonima sericea* expostas a diferentes intensidades luminosas na Reserva Biológica União, RJ: A, C e E (sol); B, D e F (sombra). A e B- lâmina foliar (200x); C e D- epiderme adaxial (400x); E e F- estômato na epiderme abaxial (1000x). Setas indicam a convexidade da epiderme. Epiderme adaxial (ad); Epiderme abaxial (ab); Parênquima paliçádico (pp); Parênquima lacunoso (pl); Estômato (es). _____ 23

Lista de Tabelas

Tabela 1. Caracterização das áreas de estudo. Fonte: IBAMA (2007) e Evaristo (2008) (*). _____ 10

Tabela 2. Média \pm desvio padrão para os parâmetros de fluorescência da clorofila entre os períodos seco e chuvoso nos ambientes de sol e de sombra em plantas de *Byrsonima sericea* na Reserva Biológica União, RJ. _____ 19

Tabela 3. Correlação de Pearson entre os coeficientes de dissipação não-fotoquímica (qNP, NPQ) e carotenóides (Caro); e entre fluorescência máxima (F_m) e clorofila *a* (Clo a). _____ 20

Tabela 4. Espessura média (μm) \pm erro padrão das características anatômicas das folhas de *Byrsonima sericea* nos ambientes de sol e de sombra. Ep.- epiderme. ____ 23

RESUMO

O processo de fragmentação florestal promove mudanças na composição florística dos habitats, possibilitando melhores condições para a ocorrência de espécies pioneiras. Na Reserva Biológica União, RJ, onde há talhões de plantios abandonados de eucalipto, espécies nativas vêm se estabelecendo. Entre estas, a pioneira *Byrsonima sericea* ocorre em talhões com diferentes condições de luminosidade. Estudos ecofisiológicos (trocas gasosas, fluorescência da clorofila *a* e determinação de pigmentos fotossintéticos) foram desenvolvidos com plantas desta espécie, mensalmente, durante um ano em ambos os ambientes. Características anatômicas do mesófilo foram avaliadas para as plantas dos dois ambientes, aqui chamados de ambiente de sol e sombra. Os resultados anatômicos mostraram a plasticidade das folhas que apresentaram características típicas dos ambientes onde foram formadas (sol- epiderme adaxial plana, parênquima paliçádico e lâmina foliar mais espessos; sombra- epiderme adaxial convexa e lâmina foliar menos espessa). Os resultados ecofisiológicos mostraram que não houve diferença no rendimento quântico fotoquímico entre as plantas em função do período do ano ou do ambiente. Houve variações nas trocas gasosas entre os ambientes e ao longo do ano. Durante o período seco não houve diferença nos parâmetros fotossintéticos de *B. sericea* nos ambientes de sombra apresentaram menor assimilação fotossintética que aquelas de sol. É possível que esta redução se deva à limitações na fase bioquímica, uma vez que os dados mostraram o mesmo rendimento quântico para ambos os períodos. Os resultados de pigmentos mostraram que plantas de sol apresentaram maior concentração de carotenóides independente do período do ano. Independente do ambiente, no período seco houve maior concentração de todos os pigmentos, possivelmente em virtude da menor disponibilidade hídrica dos tecidos foliares. Os resultados indicam que esta espécie apresenta plasticidade anatômica e ecofisiológica que a capacita a se ajustar a distintas condições abióticas e mostra que apenas durante o período chuvoso as plantas que habitam os ambientes mais ensolarados são fotossinteticamente mais ativas.

Palavras-chave: Mata Atlântica, trocas gasosas, fluorescência da clorofila *a*, anatomia foliar.

ABSTRACT

The process of forest fragmentation promotes changes in the floristic composition of habitats, providing better conditions for the occurrence of pioneer species. União Biological Reserve, RJ, in stands of abandoned plantations of eucalyptus, native species have been established. Among them, the pioneer *Byrsonima sericea* occurs in stands with different conditions of light. Ecophysiological studies (gas exchange, fluorescence of chlorophyll *a* and determination of photosynthetic pigments) were developed with this species plants, monthly, for a year in both environments. Anatomical characteristics of mesophyll were evaluated for the plants of two environments, here called the environment of sun and shade. The results showed that the anatomical features typical of the leaves showed characteristics were formed (sun- adaxial epidermis, palisade parenchyma and thicker leaf; shade- convex adaxial epidermis and leaf less thick). The ecophysiological results showed that there was no difference in the yield photochemical plants depending the period of year or the environment. There were variations in gas exchange between the environments and throughout the year. During the dry period there were no differences in photosynthetic parameters of *B. sericea* in an environment of sun or shade. However, for the rainy season the shade plants had lower photosynthetic assimilation of the sun. We suggest that this reduction is probably due to limitations in biochemical phase, since the data showed the same quantum yield for both periods. The pigments results showed that the sun plants had higher concentration of carotenoids independent of the period of the year. Regardless of the environment, in the dry period was higher concentration of all pigments, possibly because of lower water availability of leaf tissues. The results indicate that the species presents anatomical and ecophysiological plasticity that enables to adjust to different abiotic conditions and show that only during the rainy season the plants that inhabit the sunny environments are more photosynthetically active.

Key words: Atlantic Forest, gas exchange, chlorophyll fluorescence, leaf anatomy.

1- Introdução

1.1 - A Mata Atlântica e o processo de fragmentação

A Mata Atlântica é um bioma dotado de grande biodiversidade devido à heterogeneidade dos habitats que o compõem. Entretanto, a crescente transformação da paisagem e o rápido processo de degradação desse bioma, principalmente antrópica, vêm ameaçando esta diversidade. Atualmente a Mata Atlântica está reduzida a cerca de 7% de sua área original (Zaú, 1998; Morellato e Haddad, 2000; Myers *et al.*, 2000). Os seus remanescentes sofrem diversas pressões antrópicas e o principal resultado é a formação de fragmentos florestais.

Com a formação de fragmentos florestais acentua-se o efeito de borda causado por gradientes diferenciados de características físicas e bióticas próximos às bordas florestais (Murcia, 1995). Estes fragmentos, quando comparados às florestas contínuas, podem apresentar maior déficit de pressão de vapor, maior temperatura e luminosidade, e menor umidade do solo próximo à borda (Camargo e Kapos, 1995). Esses também exibem maior densidade e biomassa de espécies pioneiras e lianas (Young e Mitchell, 1994).

O aumento da luminosidade nos fragmentos estabelece novas condições para o estabelecimento e crescimento das espécies vegetais. A absorção de luz pelas plantas é de fundamental importância para a formação dos compostos energéticos durante o processo da fotossíntese. Alterações no regime luminoso influenciam na dinâmica da população vegetal, modulando a germinação, o crescimento vegetativo, a estrutura e composição florística (Maciel *et al.*, 2002). Além disso, o aproveitamento da energia luminosa é também importante para a distinção de grupos sucessionais (Ribeiro *et al.*, 2004) e implica em diversas adaptações como estratégias de crescimento.

Espécies pioneiras geralmente crescem e ocupam clareiras com ampla disponibilidade de recursos tais como nutrientes, água e luz. Estas espécies geralmente são intolerantes à sombra, possuem um rápido crescimento, longevidade muito curta, sementes pequenas e folhas sempre verdes (Rees *et al.*, 2001; Maciel *et al.*, 2003). Em geral, espécies pioneiras têm altas taxas

fotossintéticas e de acúmulo de biomassa, alta condutância estomática e taxa transpiratória, além de melhor eficiência do uso da água e baixa susceptibilidade à fotoinibição em comparação às espécies clímax (Nogueira *et al.*, 2004; Silvestrini *et al.*, 2007).

A intensidade e a duração da luminosidade às quais as plantas estão expostas são os principais fatores que influenciam seu crescimento e desenvolvimento. Diferenças ecofisiológicas observadas entre espécies pioneiras e clímax podem refletir características intrínsecas das espécies (Duz *et al.*, 2004; Nogueira *et al.*, 2004, Silvestrini *et al.*, 2007). Em comparação às espécies clímax, as pioneiras apresentam alta plasticidade fenotípica, folhas de vida curta, alta taxa fotossintética, além de rápido crescimento em altura e eficiente dispersão de sementes (Maciel *et al.*, 2003).

O conhecimento da classificação ecológica das espécies é importante para a promoção do aproveitamento sustentável das florestas tropicais, principalmente para o manejo florestal e recuperação de áreas degradadas. Entretanto, a maioria dos trabalhos compara dados ecofisiológicos entre espécies de estágios sucessionais distintos (pioneiras x clímax) (Nogueira *et al.*, 2004; Ribeiro *et al.*, 2005; Souza *et al.*, 2005; Silvestrini *et al.*, 2007). Poucos estudos têm sido conduzidos com plantas do mesmo grupo ecológico (p.e. pioneiras) em condições abióticas distintas, principalmente em ambientes tropicais (Dias *et al.*, 2007).

1.2 - Fatores que influenciam a fotossíntese

O estabelecimento e sobrevivência das espécies vegetais dependem fundamentalmente da dinâmica do regime luminoso. A forma, o tamanho e a localização do fragmento influenciam na quantidade de luz que chega à borda. A grande diversidade das florestas tropicais é resultado da adaptação das espécies à diversidade de ambientes, com destaque para o fator luz (Maciel *et al.*, 2003).

A luz, além de ser fonte de energia para a planta, pode atuar como fator estressante, quando em excesso, e gerar um efeito fotodestrutivo (Ort, 2001).

Quando a quantidade de energia luminosa recebida é maior que a capacidade de utilização pela fotossíntese, o aparelho fotossintético sofre o processo de fotoinibição, que pode ser definido como a inibição da fotossíntese pelo excesso de luz (Adir *et al.*, 2003).

Alguns fatores, combinados aos altos níveis de irradiância, podem contribuir para a diminuição da fotossíntese. Além da luz, o déficit hídrico reduz a fotossíntese porque afeta e limita a utilização da luz pelas plantas (Close e Davidson, 2003; Portes *et al.*, 2006). A temperatura também pode afetar o processo fotossintético de diferentes formas, principalmente na quantidade e ativação das enzimas que participam da fase bioquímica da fotossíntese (Pimentel *et al.*, 2007).

A luz pode promover alterações na organização estrutural das folhas, uma vez que estas têm a habilidade de desenvolver adaptações anatômicas em resposta a diferentes intensidades luminosas (Taiz e Zeiger, 2004; Costa *et al.*, 2007; Nery *et al.*, 2007). As folhas apresentam plasticidade de resposta em função do estágio de desenvolvimento da planta e das condições ambientais (Espírito Santo e Pugialli, 1999; Justo *et al.*, 2005).

Em ambientes sombreados, as folhas geralmente apresentam maior concentração de clorofila por unidade de massa, o que nem sempre é verificado por unidade de área. Isto resulta do investimento em moléculas do chamado complexo antena, que são excitadas pelos fótons, em detrimento das moléculas que compõem os centros de reação (Lichtenthaler e Burkart, 1999).

Mudanças na anatomia foliar também são verificadas face às condições ambientais. Uma vez que os cloroplastos contêm o aparelho fotossintético, as folhas expostas ao sol precisam ter um grande número de cloroplastos nas células do mesofilo (Pandey e Kushwaha, 2005). Estas folhas também possuem um aumento no número de camadas de células do parênquima paliádico e conseqüentemente na espessura do mesofilo (Paiva *et al.*, 2003).

1.3 – Estudos ecofisiológicos

O estudo da ecofisiologia vegetal abrange as respostas das plantas através de seus processos fisiológicos às mudanças que ocorrem no meio em que vivem (Larcher, 2000). Estudos nesta área são importantes para o entendimento da dinâmica da comunidade florestal e vêm sendo bastante utilizados como ferramentas para a compreensão de vários processos que regem as espécies vegetais (Souza *et al.*, 2004; Ribeiro *et al.*, 2005; Monteiro e Prado, 2006). Atualmente, no que diz respeito à fotossíntese, alguns parâmetros como as trocas gasosas, fluorescência da clorofila *a* e composição de pigmentos foliares têm sido muito estudados, principalmente em condições contrastantes de luminosidade (Prado *et al.*, 2004; Ribeiro *et al.*, 2004; Carvalho *et al.*, 2007).

Durante as trocas gasosas, o controle estomático é bastante dependente da umidade do ar via déficit de pressão de vapor (DPV) (Dai *et al.*, 1992). O estado de hidratação da planta influencia diretamente o processo de transpiração que, por sua vez, também governa a resposta estomática (Neto, 2003; Angelocci *et al.*, 2004).

Os efeitos de alguns fatores ambientais como temperatura, deficiência hídrica e intensidade luminosa, sobre o desempenho fotossintético das plantas podem também ser inferidos através de medições das trocas gasosas (Alvarenga *et al.*, 2003; Souza *et al.*, 2004; D'Ambrósio *et al.*, 2006).

Variações das trocas gasosas podem refletir diferentes respostas às condições ambientais (Ding *et al.*, 2006; Guo *et al.*, 2006). A avaliação das trocas gasosas sob diferentes intensidades luminosas permite investigar a atividade fotossintética das plantas. Folhas de sol e de sombra geralmente diferem quanto à taxa fotossintética, à transpiração e à condutância estomática (Lima-Júnior *et al.*, 2005; Lima-Júnior *et al.*, 2006; Dias *et al.*, 2007; Sarijeva *et al.*, 2007). Medidas de trocas gasosas, juntamente com a avaliação de outros parâmetros relacionados à fotossíntese, são bastante utilizadas principalmente quando há uma condição de estresse ambiental (Pereira *et al.*, 2000; Monnet *et al.*, 2001).

Parâmetros fisiológicos como valores de condutância estomática, capacidade fotossintética e eficiência do uso da água são variáveis importantes que podem melhor indicar a utilização de determinadas espécies em atividades de recomposição da flora ou da estrutura da vegetação (Ferreira, 2003). As respostas fotossintéticas avaliadas através de alterações nas trocas gasosas podem auxiliar na distinção de grupos sucessionais, principalmente em condições de alta irradiância (Ribeiro *et al.*, 2005). Além disso, alguns aspectos das trocas gasosas podem enfatizar relações entre características foliares e o estágio de sucessão (Nogueira *et al.*, 2004).

A análise da cinética da fluorescência da clorofila *a* fornece informações sobre a organização e funcionamento do aparelho fotossintético (Genty *et al.*, 1989), atuando como bom indicativo de estresse e demonstrando o estado de funcionamento do fotossistema II (Muller *et al.*, 2001; Adir *et al.*, 2003; Komyeyev *et al.*, 2003).

Mensurar a emissão de fluorescência é um método que vem sendo bastante utilizado na pesquisa ecofisiológica, principalmente por ser rápido, quantitativo, não-invasivo e por ser utilizado tanto no laboratório quanto no campo (Van Kooten e Snel, 1990; Lemos-Filho *et al.*, 2004; Ribeiro *et al.*, 2004). Por fornecer informações sobre o funcionamento do aparelho fotossintético, estudos sobre fluorescência da clorofila *a* também são utilizados nas inferências sobre a atividade fotossintética das espécies vegetais em condições distintas de luminosidade (Ribeiro *et al.*, 2004; Dias e Marengo, 2007).

A susceptibilidade à fotoinibição de folhas de sol e de sombra pode ser investigada através de estudos sobre fluorescência da clorofila (Bertamini *et al.*, 2004). Estes estudos também podem complementar as análises ecofisiológicas que buscam entender as respostas adaptativas das espécies em ambientes de sol e de sombra (Sarijeva *et al.*, 2007).

Os pigmentos cloroplastídicos participam ativamente da fotossíntese. A energia absorvida pelos pigmentos, quando não utilizada na forma fotoquímica, deve ser rapidamente dissipada para não danificar as membranas fotossintéticas (Taiz e Zeiger, 2004). Sob intensa irradiância, grande parte da fração de excitações no sistema antena pode ser eliminada via conversão em

calor, através da transferência de energia por ressonância, ou ainda por meio da emissão de fluorescência (Krause e Weis, 1991).

Alguns pigmentos fotossintéticos agem como fotoprotetores, participando de mecanismos de segurança, evitando danos ao aparelho fotossintético. Os carotenóides agem como fotoprotetores através da rápida dissipação dos estados excitados da clorofila. O ciclo das xantofilas possui um importante papel na dissipação de energia térmica (Guo *et al.*, 2006). Condições de intensa luminosidade são sentidas e sinalizadas pela diferença de pH na membrana do tilacóide ativando a interconversão da violaxantina em zeaxantina (Ort, 2001).

As folhas geralmente ajustam seu conteúdo de pigmentos em resposta às alterações no regime luminoso. As condições luminosas às quais as plantas estão expostas são mais importantes que sua predisposição genética na determinação do conteúdo de pigmentos (Rosevear *et al.*, 2001). Em plantas que se desenvolvem em ambientes que diferem na luminosidade (sol e sombra), é comum se observar que folhas de sol possuem altos níveis de clorofilas por unidade de área e carotenóides, refletindo, principalmente, a estrutura típica do cloroplasto que estas possuem (Lichtenthaler e Burkart, 1999; Gonçalves *et al.*, 2001; Lichtenthaler e Babani, 2007; Sarijeva *et al.*, 2007).

A maioria dos estudos ecofisiológicos abrange comparações entre plantas de estádios sucessionais diferentes (Souza *et al.*, 2005; Silvestrini *et al.*, 2007). Apesar destes estudos serem de extrema importância para o entendimento do funcionamento das espécies que compõem o ecossistema, estudos envolvendo um grupo sucessional (pioneiras) em condições abióticas distintas podem auxiliar o entendimento do efeito da fragmentação do ponto de vista adaptativo destas plantas. Tais informações são importantes para o conhecimento da dinâmica das comunidades florestais e para a manutenção dos remanescentes florestais existentes.

2- Objetivos

Considerando as hipóteses de que: 1) há variações anatômicas e fotossintéticas em função das diferentes ambientes lumínicos em trechos de floresta em distintos estágios de regeneração e que 2) ao longo do ano há maior atividade fotossintética durante o período chuvoso, independentemente das diferenças no ambiente lumínico; no presente estudo objetivou-se comparar o desempenho fotossintético e a anatomia foliar de uma espécie pioneira, *Byrsonima sericea*, em duas áreas em estágios distintos de sucessão na Reserva Biológica União. Foram estabelecidos os seguintes objetivos específicos:

- 1) Avaliar o efeito temporal no desempenho fotossintético de *B. sericea* em situações distintas de luminosidade através de medições de:
 - 1.1- Trocas gasosas (assimilação fotossintética, condutância estomática, transpiração e concentração interna de carbono);
 - 1.2- Fluorescência da clorofila *a* (eficiência quântica potencial- F_v/F_m e F_v/F_0 , taxa de transporte de elétrons aparente-ETR, coeficientes de extinção da fluorescência: fotoquímico-qP e não fotoquímico -qNP e NPQ);
 - 1.3- Pigmentos fotossintéticos (clorofilas *a* e *b*, carotenóides, clorofilas totais, razão clorofila *a/b*, razão clorofilas totais/carotenóides).

- 2) Avaliar diferenças anatômicas na lâmina foliar (sistema de revestimento e sistema fundamental) entre plantas de *B. sericea* que se desenvolveram em ambientes distintos quanto à luminosidade (sol e sombra).

3- Material e Métodos

3.1- Área de estudo

A Reserva Biológica União, criada em 1998, abrange três municípios: Rio das Ostras, Casimiro de Abreu e Macaé (Figura 1) e constitui um dos remanescentes de Mata Atlântica do estado do Rio de Janeiro. A Reserva ocupa uma área de cerca de 3100 ha, com 2400 ha de Mata Atlântica e 215 ha de plantios de eucalipto. As áreas restantes são ocupadas por estradas, linha férrea, torres de energia e comunicação, gasodutos, etc.

Parte de sua mata nativa foi retirada para a utilização como lenha para a movimentação de locomotivas. Na década de 60 iniciaram-se os plantios de eucalipto (*Eucalyptus grandis*) para a produção de lenha e carvão; na década de 70 passou-se a plantar eucalipto da espécie *Corymbia citriodora* para a produção de dormentes para a linha férrea.

O clima predominante na região é o tropical úmido, com temperatura média anual de 24°C e pluviosidade anual média de 2200 mm (baseado em dados da Reserva Biológica de Poço das Antas, localizada a 31 km da Reserva Biológica União). O período chuvoso concentra-se entre os meses de outubro e abril.

Segundo classificação do IBGE (1992) a Reserva Biológica União apresenta formações de terra baixa e submontana, sendo classificada como Floresta Ombrófila Densa.

Na Reserva, duas áreas contrastantes quanto à luminosidade foram escolhidas para o desenvolvimento deste estudo. As mesmas estão inseridas em talhões de eucalipto mapeadas e caracterizadas pelo IBAMA (IBAMA, 2007) e Evaristo (2008) (Tabela 1). Estas áreas são mencionadas neste trabalho como área de sol, próxima ao gasoduto, e área de sombra, em frente ao talhão 39 (Figuras 2 e 3). A área de sol está inserida no talhão 17 e a área de sombra no talhão 39A.



Figura 1. Área de estudo: Reserva Biológica União, Rio das Ostras, Casimiro de Abreu e Macaé, RJ.

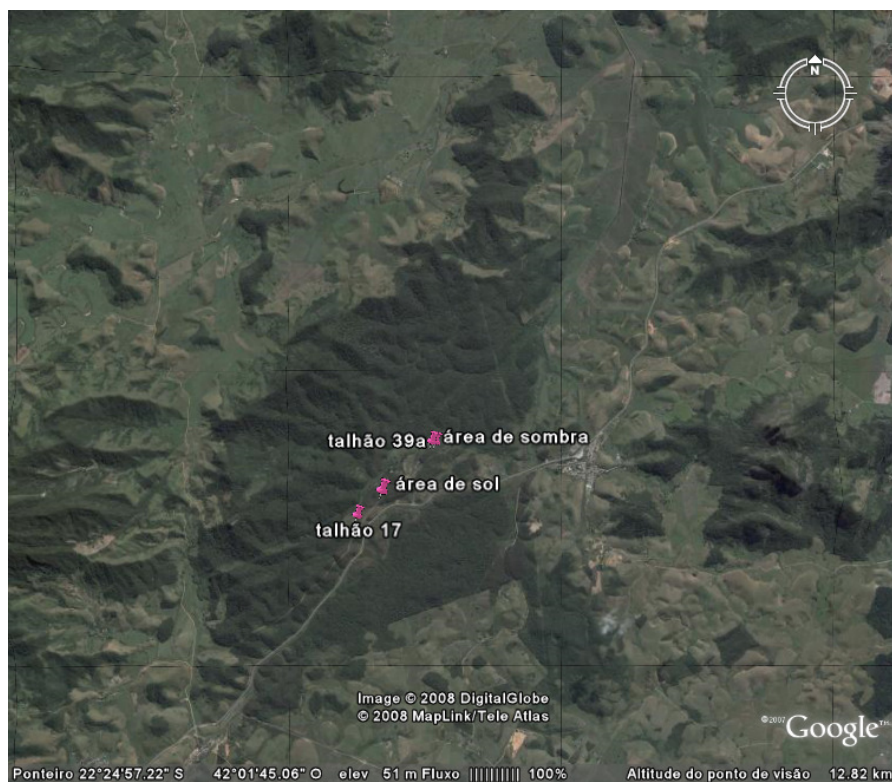


Figura 2. Localização das áreas estudadas na Reserva Biológica União: área de sol e área de sombra.

Tabela 1. Caracterização das áreas de estudo na Reserva Biológica União, RJ. Fonte: IBAMA (2007) e Evaristo (2008) (*). Radiação obtida às 12:00 ao nível da folha.

Área de estudo	Ano do plantio	Radiação ($\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$)*	Temperatura ($^{\circ}\text{C}$)*	URA (%)*	Dados Ecológicos
Talhão 17 (sol)	1967	781,0 (fev/07) 800,6 (ago/07)	39,8 (fev/07) 37,5 (ago/07)	41,5 (fev/07) 40,3 (ago/07)	Topografia levemente inclinada, solo argilo-arenoso, sub-bosque ralo
Talhão 39A (sombra)	1968	94,4 (fev/07) 184,3 (ago/07)	35,9 (fev/07) 29,5 (ago/07)	53,4 (fev/07) 47,9 (ago/07)	Topografia levemente inclinada, solo argilo-arenoso, sub-bosque freqüente



Figura 3. Fotos dos locais estudados: (A) área de sol e (B) área de sombra. Setas indicam os locais onde estavam as plantas de *B. sericea* na Reserva Biológica União, RJ.

3.2- Espécie estudada

A espécie analisada foi *Byrsonima sericea* DC (Figura 4), Malpighiaceae. Esta espécie ocorre nos estados de São Paulo, Rio de Janeiro, Minas Gerais e Goiás, principalmente em mata semidecídua e restinga litorânea. É uma planta semidecídua, heliófita e pioneira. Ocorre principalmente em capoeiras e beira de matas e capões, em terrenos argilosos e férteis, ao longo de rios e córregos. Produz anualmente abundante quantidade de sementes viáveis, prontamente disseminadas pela avifauna (Lorenzi, 1998).

Na área de sol a menor distância entre os indivíduos foi de 7,5m e a maior distância foi de 19,5m. Já na área de sombra a menor distância foi de 5m e a maior de 66m.



Figura 4. *B. sericea* DC na (A) área de sol e (B) na área de sombra na Reserva Biológica União, RJ.

3.3- Análises ecofisiológicas

As medidas descritas a seguir foram obtidas mensalmente no campo no período de agosto/2007 à agosto/2008, excetuando-se o mês de janeiro para as análises de fluorescência da clorofila *a* e os meses de janeiro e julho para as análises de trocas gasosas. Foram utilizados quatro indivíduos adultos de *B. sericea* na área de sol e cinco na área de sombra. As medições foram feitas nos quatro pontos cardeais de cada indivíduo, em quatro folhas não destacadas e completamente expandidas.

3.3.1- Estimativa de clorofila total no campo

A intensidade de cor verde está relacionada com teores de clorofila total. Para realizar estas medidas no campo, foi utilizado o medidor de clorofila portátil SPAD-502 (Minolta, Japan). Tal equipamento determina a intensidade de cor verde das folhas por meio de sensores, viabilizando uma inferência sobre o teor de clorofila total. Estas avaliações visaram padronizar a coloração das folhas que foram utilizadas para as medições das trocas gasosas e de fluorescência da clorofila *a*.

3.3.2- Medidas de Trocas Gasosas e suas Correlações

Para as medidas de trocas gasosas foi utilizado um analisador de gás carbônico no infravermelho (IRGA) portátil, de circuito fechado, modelo Ciras 2 (PP Systems, UK). A concentração de CO₂ utilizada foi de 375 $\mu\text{mol. mol}^{-1}$. As medições foram realizadas nos períodos correspondentes à máxima condutância estomática (g_s) (7:30-9:30 h). Foram avaliados os seguintes parâmetros: assimilação fotossintética (P_n), taxa de transpiração (E), condutância estomática (g_s), concentração interna de CO₂ (C_i).

Em plantas de ambos os ambientes foram feitas curvas de resposta a luz (LED, Ciras 2, PP Systems) para a determinação dos parâmetros citados

acima. Com base nestes dados a radiação utilizada foi de $1300 \mu\text{mol. m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ para ambas as áreas.

3.3.3- Acompanhamento dos Parâmetros de Emissão de Fluorescência da Clorofila *a*

As medidas de emissão de fluorescência da clorofila *a* foram realizadas próximo as 11:00 h. Foi utilizado o fluorímetro modulado portátil (FMS2 da Hansatech, UK). As medidas foram feitas na região central da superfície adaxial (evitando-se a região da nervura central) de 4 folhas por indivíduo, completamente expandidas, saudáveis (livres de necrose ou ferimentos).

Partes das folhas foram mantidas no escuro com auxílio de pinça por 30 min e após este período expostas à luz de medição (aproximadamente $6 \mu\text{mol. m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ a 660 nm), seguida por um pulso de luz actínica de alta intensidade ($10.000 \mu\text{mol. m}^{-2}.\text{s}^{-1}$), aplicada por 0,8 segundos, adaptado de Genty *et al.* (1989) e Van Kooten e Snel (1990). Foram registradas e submetidas à análise as seguintes variáveis da cinética de fluorescência da clorofila *a*: Fluorescência mínima (F_0); Fluorescência máxima (F_m); Eficiência quântica potencial (F_v/F_m); Coeficientes de extinção da fluorescência: fotoquímico (qP) e não-fotoquímico (qNP e NPQ).

Os valores são apresentados como a média dos indivíduos, sendo 4 repetições por indivíduo.

3.3.4- Medidas da Concentração dos Pigmentos Fotossintéticos em Laboratório

Após as determinações relativas às trocas gasosas e à cinética de fluorescência da clorofila *a*, discos (0,95 cm²) do limbo foliar foram retirados, cortados em tiras e colocados em frascos contendo 5 mL de DMSO (dimetilsulfóxido) envolvidos em papel alumínio (para minimizar a exposição à luz) e transportados, em caixa de isopor abrigados da luz, para o laboratório.

As determinações da concentração dos pigmentos, clorofila *a* (Clo *a*), *b* (Clo *b*) e carotenóides (Caro) foram realizadas a partir da extração com DMSO após 5 dias em contato com os discos foliares. Uma alíquota de 1,0 mL do extrato foi submetida a leituras em espectrofotômetro, nos comprimentos de onda de 480, 649 e 665 nm. Os cálculos para a determinação das concentrações dos pigmentos supracitados foram desenvolvidos de acordo com o procedimento descrito por Wellburn (1994). As concentrações de pigmentos são expressas em nmoles.cm⁻².

3.4- Análise da anatomia foliar

Para a análise e caracterização da anatomia foliar, em cada ambiente foram realizadas coletas de três folhas de três indivíduos em janeiro de 2008.

3.4.1- Fixação e Desidratação

Foram fixados no campo fragmentos do terço médio da lâmina foliar em solução de glutaraldeído 2,5%, paraformaldeído 4,0% e tampão cacodilato 0,05 M em pH 7,2. No laboratório o material foi lavado neste mesmo tampão cacodilato e foi pós-fixado em solução de tetróxido de ósmio 1% e tampão cacodilato 0,05 M, à temperatura ambiente. Após nova lavagem em tampão cacodilato 0,05 M, o material foi desidratado em série crescente de acetona (50%, 70%, 90% e 3 vezes de 100%).

3.4.2- Microscopia Óptica

Após a desidratação, o material foi submetido ao processo de infiltração no qual a acetona foi substituída gradualmente pela resina epóxi (Epon 812). As amostras em resina pura foram colocadas em formas e levadas à estufa a 65°C por 48 h para a polimerização e obtenção de blocos. No ultramicrótomo (Reichert Ultracut S) foram retirados cortes semifinos de 0,70 µm de espessura com o auxílio de faca de vidro, no sentido transversal. As secções foram coradas com azul de toluidina 1% por 1 minuto. As lâminas foram seladas com Entelan® e observadas em microscopia de campo claro (Axioplan ZEISS).

3.4.3- Quantificação da espessura do mesofilo, lâmina foliar, parênquimas (paliçádico e lacunoso) e epidermes (adaxial e abaxial)

A espessura do mesofilo, lâmina foliar, parênquima paliçádico, parênquima lacunoso, epiderme adaxial e abaxial foram calculadas a partir de secções transversais do terço médio da lâmina foliar. As imagens obtidas foram processadas e analisadas utilizando o sistema digital de processamento de imagens ANALYSIS LINK OXFORD-ZEISS. Para cada indivíduo foram examinados dois campos, sendo feitas três medidas para cada parâmetro. Isto totalizou 24 medidas para a área de sol e 30 medidas para a área de sombra. Os resultados são apresentados como média aritmética e erro padrão.

3.5- Análise de dados

O teste de Tukey ($p < 0,05$) foi utilizado como teste de médias. Análise de variância (ANOVA-One way) foi utilizada para testar a diferença nos resultados ecofisiológicos e anatômicos entre as áreas estudadas e entre os períodos seco e chuvoso (Statistica 6.0, Statsoft). Foi avaliada a correlação entre concentração de carotenóides (Caro) e coeficientes de extinção não fotoquímica (qNP e NPQ) e entre fluorescência máxima (F_m) e concentração de clorofila *a* (Clo *a*) (Correlação de Pearson).

4- Resultados

Para a determinação dos parâmetros de trocas gasosas, em ambos os ambientes, foi feita a curva de resposta à luz (Figura 5). Com base nestes dados a radiação utilizada foi de $1300 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ para ambas as áreas.

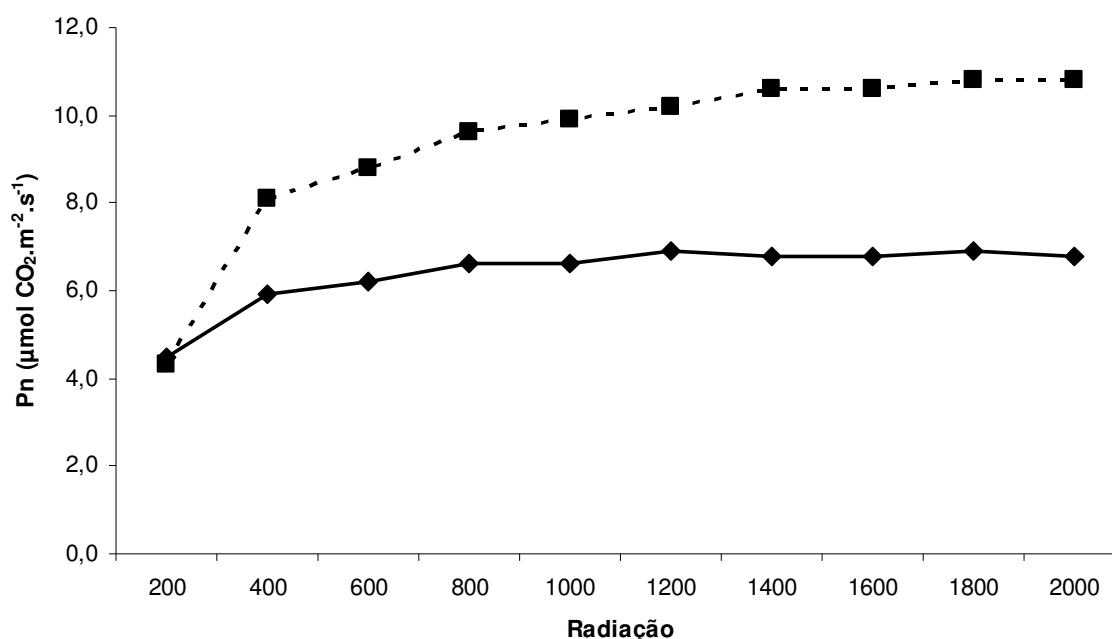


Figura 5. Curva de resposta à luz em *B. sericea* DC para o ambiente de sol (—) e de sombra (--) obtida em agosto de 2007 na Reserva Biológica União, RJ.

A figura 6 apresenta as médias mensais de assimilação fotossintética de cada área, plotadas juntamente com a distribuição da precipitação e temperatura durante os anos de 2007 e 2008 da Reserva Biológica União. A partir desta figura foi possível verificar uma tendência no desempenho fotossintético em função da precipitação anual. Desta forma, todos os dados ecofisiológicos foram agrupados em período seco (agosto/07, setembro/07, maio/08, junho/08 e agosto/08) e período chuvoso (outubro/07, novembro/07, dezembro/07, fevereiro/08, março/08 e abril/08). Vale ressaltar que entre estes períodos foram observados também períodos intermediários com características de transição destas estações: setembro e outubro/07-início da estação chuvosa; maio e junho/08- final da estação chuvosa.

No período chuvoso, bem como nos dois meses que sucederam este período, as plantas do ambiente de sol apresentaram maiores médias de assimilação fotossintética e no período seco as plantas do ambiente de sombra foram mais fotossinteticamente ativas.

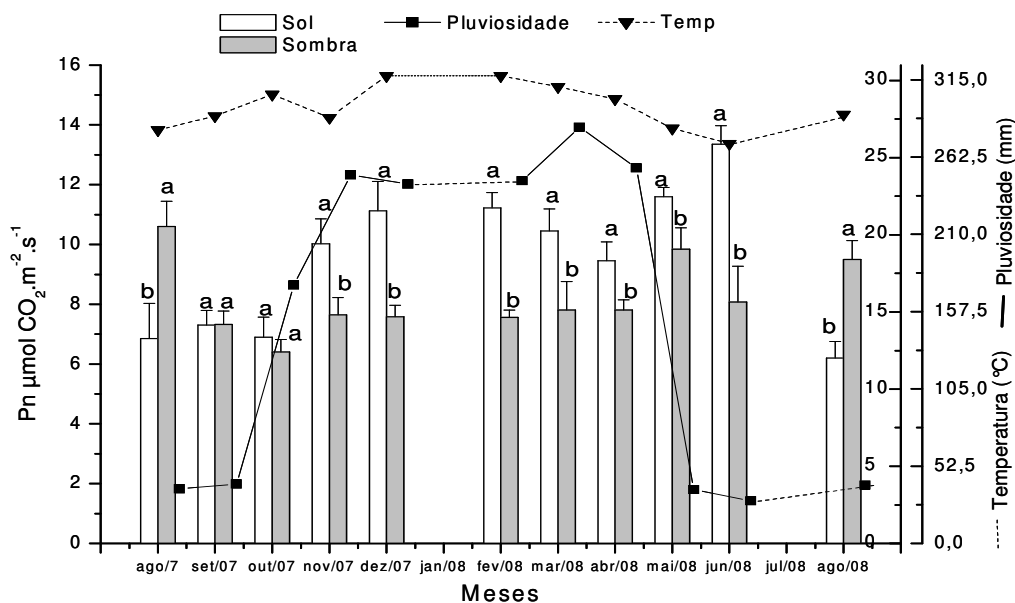


Figura 6. Média \pm erro padrão da assimilação fotossintética líquida de CO₂ (Pn) entre os ambientes de sol e sombra em plantas de *B. sericea* na Reserva Biológica União, RJ para os meses estudados; média mensal da pluviosidade e da temperatura durante o período estudado na Reserva Biológica União, RJ. Letras diferentes indicam diferença estatística pelo teste de Tukey ($p < 0,05$) entre ambientes.

Quando os dados foram agrupados em períodos seco e chuvoso, foi observado que a assimilação fotossintética foi significativamente maior para as folhas de sol do que para as folhas de sombra somente no período chuvoso (Figura 7A). Para o ambiente de sombra as folhas apresentaram menor assimilação fotossintética no período chuvoso em relação ao período seco (Figura 7A).

A condutância estomática não diferiu estatisticamente entre os ambientes em ambos os períodos, contudo, para o ambiente de sol o valor foi maior no período chuvoso (Figura 7B). Os dados de transpiração mostraram a mesma tendência que os de trocas gasosas. Entretanto, para a transpiração diferenças estatísticas foram observadas. Assim, a transpiração diferiu entre os ambientes em ambos os períodos: no período seco foi maior nas folhas de

sombra, no período chuvoso foi maior nas folhas de sol (Figura 7C). Para o ambiente de sol a transpiração foi maior no período chuvoso em relação ao período seco.

A concentração interna de CO_2 diferiu entre os ambientes em ambos os períodos, sendo sempre maior para as folhas de sombra (Figura 7D). Para ambos os ambientes foi observado que no período chuvoso houve maior concentração interna de CO_2 em relação ao período seco (Figura 7D).

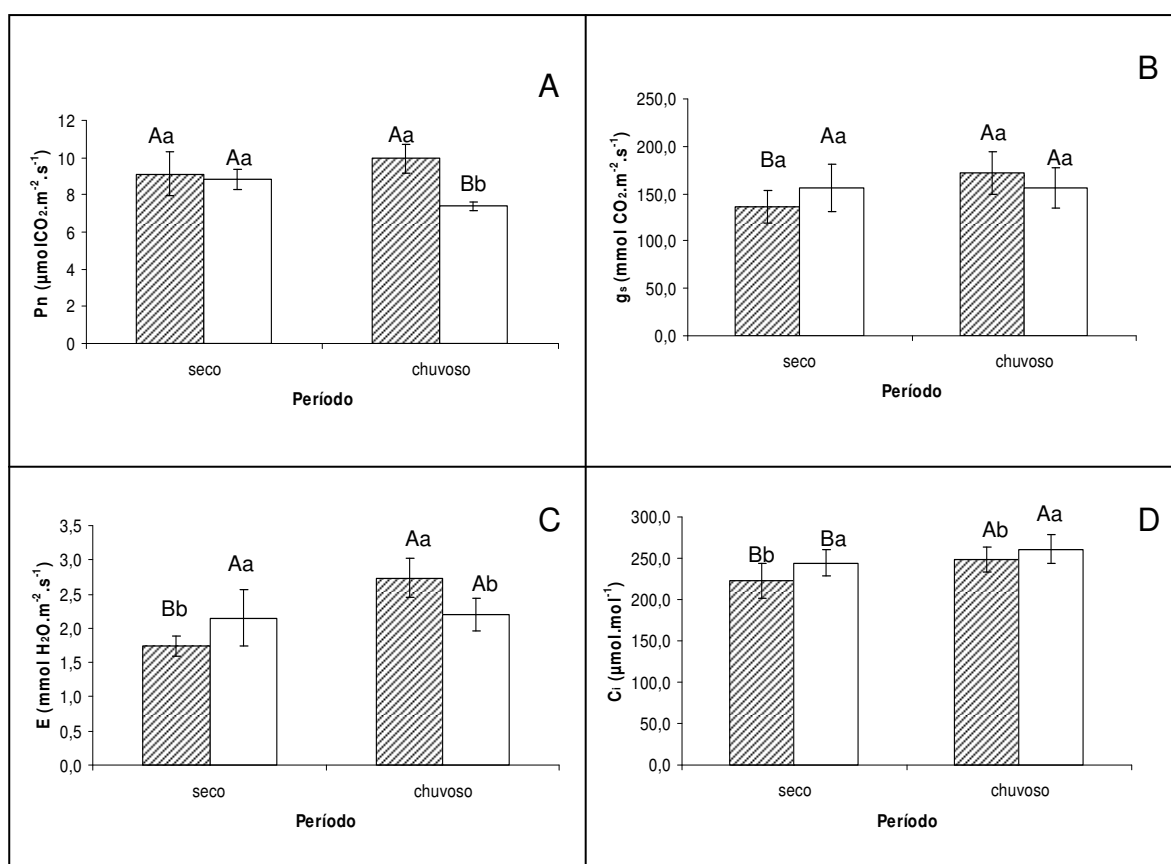


Figura 7. Média \pm erro padrão da assimilação fotossintética líquida de CO_2 (A), condutância estomática (B), transpiração (C) e concentração interna de CO_2 (D) entre os períodos seco e chuvoso nos ambientes de sol e sombra em plantas de *Byrsonima sericea* na Reserva Biológica União, RJ. Letras maiúsculas indicam diferença estatística entre períodos; letras minúsculas indicam diferença estatística pelo teste de Tukey entre ambientes ($p < 0,05$).

▨ sol □ sombra.

Os dados de fluorescência da clorofila *a* mostraram que a eficiência quântica potencial do fotossistema II (PSII), expressa pelas razões F_v/F_m e F_v/F_0 , não diferiu estatisticamente entre folhas de sol e de sombra ou entre os períodos (Tabela 2).

Assim como observado para as razões citadas acima, os coeficientes de extinção da fluorescência, qP (fotoquímico) e qNP (não fotoquímico) também não diferiram estatisticamente entre folhas de sol e sombra ou entre períodos. O NPQ (não-fotoquímico) somente diferiu entre folhas de sol e de sombra no período seco, sendo maior nas folhas de sombra (Tabela 2).

Não foi encontrada correlação entre os coeficientes de extinção não fotoquímica (qNP e NPQ) e a concentração de carotenóides (Caro) e entre fluorescência máxima (F_m) e a concentração de clorofila *a* (Clo *a*) (Tabela 3).

Tabela 2. Média \pm desvio padrão para os parâmetros de fluorescência da clorofila *a* entre os períodos seco e chuvoso nos ambientes de sol e de sombra em plantas de *B. sericea* na Reserva Biológica União, RJ. Medidas obtidas às 11:00 h.

		Seco	Chuvoso
F_v/F_m	sol	0,83 \pm 0,01 ^{Aa}	0,81 \pm 0,02 ^{Aa}
	sombra	0,83 \pm 0,01 ^{Aa}	0,81 \pm 0,03 ^{Aa}
F_v/F_0	sol	4,87 \pm 0,36 ^{Aa}	4,36 \pm 0,58 ^{Aa}
	sombra	4,86 \pm 0,26 ^{Aa}	4,52 \pm 0,78 ^{Aa}
qP	sol	0,82 \pm 0,05 ^{Aa}	0,84 \pm 0,04 ^{Aa}
	sombra	0,80 \pm 0,05 ^{Aa}	0,82 \pm 0,06 ^{Aa}
qNP	sol	0,44 \pm 0,03 ^{Aa}	0,47 \pm 0,07 ^{Aa}
	sombra	0,49 \pm 0,05 ^{Aa}	0,49 \pm 0,12 ^{Aa}
NPQ	sol	0,56 \pm 0,03 ^{Ab}	0,64 \pm 0,16 ^{Aa}
	sombra	0,69 \pm 0,12 ^{Aa}	0,72 \pm 0,28 ^{Aa}

Letras maiúsculas indicam diferença estatística entre períodos; letras minúsculas indicam diferença estatística entre ambientes ($p < 0,05$).

Tabela 3. Correlação de Pearson entre os coeficientes de dissipação não-fotoquímica (qNP, NPQ) e concentração de carotenóides (Caro); e entre fluorescência máxima (F_m) e concentração de clorofila *a* (Clo *a*).

Áreas	Correlação	Valor de r
sol	qNP x Caro	0,0021
	NPQ x Caro	-0,0311
	F_m x Clo <i>a</i>	0,0409
sombra	qNP x Caro	0,2097
	NPQ x Caro	0,1739
	F_m x Clo <i>a</i>	0,1138

A figura 8 mostra os valores obtidos com o auxílio do medidor de clorofila portátil SPAD, sendo utilizadas para as demais medições ecofisiológicas folhas cujos valores variaram entre 30 e 50 unidades.

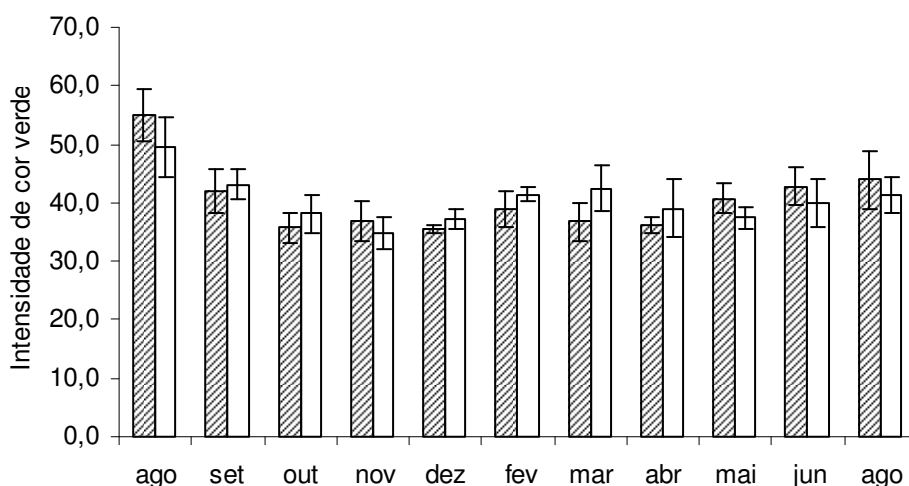


Figura 8. Médias obtidas com SPAD \pm desvio padrão da concentração de pigmentos verdes nas folhas de sol e de sombra em plantas de *Byrsonima sericea* na Reserva Biológica União, RJ. sol sombra.

As determinações de pigmentos por espectrofotometria mostraram que as concentrações de clorofila *a* e *b* e clorofilas totais não diferiram entre folhas de sol e sombra para o mesmo período: seco ou chuvoso (Figura 9 A, B e D). Entretanto, foi encontrada maior concentração de clorofilas no período seco em relação ao período chuvoso (Figura 9 A, B e D). A razão clorofila *a/b* diferiu entre as folhas de sol e de sombra somente no período chuvoso (Figura 9E), sendo maior nas folhas de sol. Carotenóides (Figura 9C) foram encontrados em

maiores concentrações nas folhas de sol em ambos os períodos, e, assim como foi verificado para as clorofilas, maiores concentrações foram verificadas no período seco.

A razão clorofilas totais/carotenóides diferiu entre sol e sombra em ambos os períodos (Figura 9F), sendo maior para as folhas de sombra que para folhas de sol. Para os dois ambientes a razão foi maior no período chuvoso.

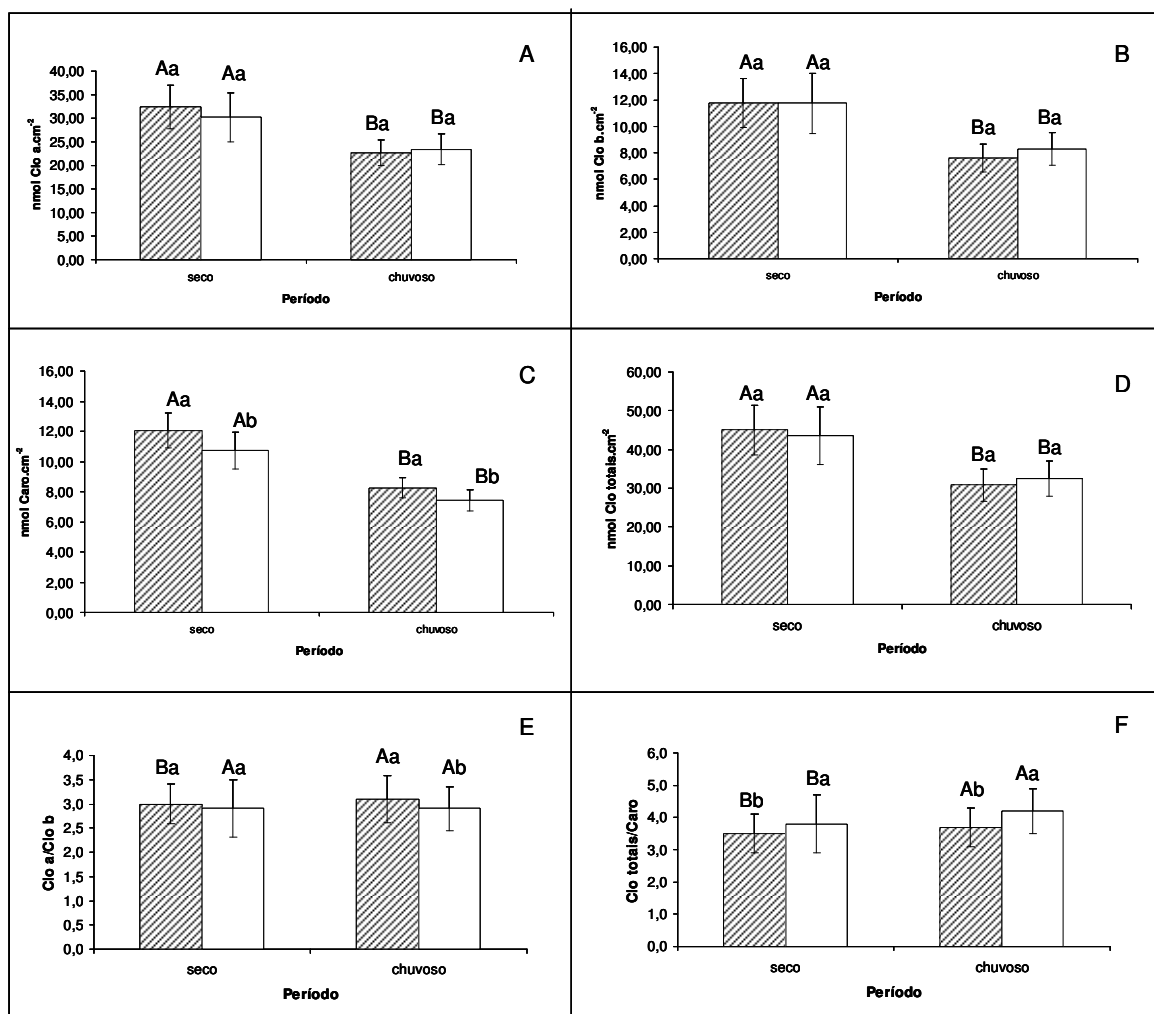


Figura 9. Concentrações médias \pm erro padrão da clorofila *a* (clo *a*) (A), clorofila *b* (clo *b*) (B), carotenóides (caro) (C) e clorofilas totais (clo totais) (D); Razões médias \pm erro padrão de clorofila *a*/clorofila *b* (Clo *a*/Clo *b*) (E) e clorofilas totais/carotenóides (Clo totais/caró) (F) entre os períodos seco e chuvoso nos ambientes de sol e sombra em plantas de *Byrsonima sericea* na Reserva Biológica União, RJ. Letras maiúsculas indicam diferença estatística entre períodos; letras minúsculas indicam diferença estatística entre ambientes ($p < 0,05$).

▨ sol □ sombra.

A figura 10 apresenta secções transversais da lâmina foliar de *B. sericea* nos ambientes de sol e de sombra. Observa-se que o mesofilo tem estrutura dorsiventral (Figura 10 A e B). O parênquima paliçádico é formado por um a dois estratos de células dispostas junto à epiderme adaxial (Figura 10 A e B). As epidermes adaxial e abaxial são compostas por uma única camada de células com formas tabulares e recobertas por cutícula (Figura 10 C, D, E e F). Os estômatos situam-se somente na epiderme abaxial, caracterizando a folha como hipoestomática (Figura 10 E e F).

As plantas de sol apresentaram lâmina foliar e mesofilo mais espessos que as plantas de sombra, o mesmo sendo verificado para os parênquimas paliçádico e lacunoso (Figura 10 A, B e Tabela 4). As folhas de sombra apresentaram as células da epiderme adaxial mais espessas que as folhas de sol (Figura 10 C, D e Tabela 4). Além disso, foi observado que as paredes periclinais externas das células epidérmicas apresentaram-se mais convexas em relação à das folhas de sol (Figura 10 C e D, setas).

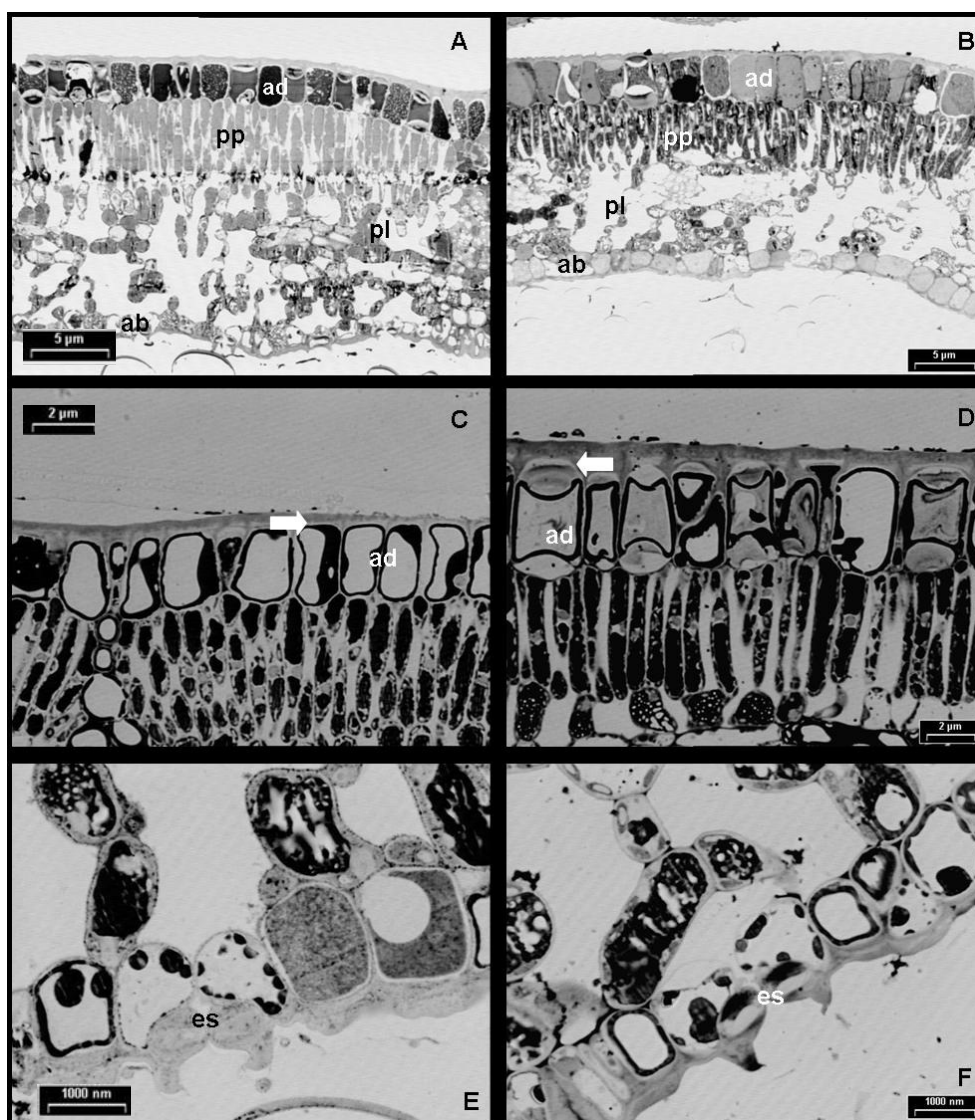


Figura 10. Seções transversais de folhas de *Byrsonima sericea* expostas a diferentes intensidades luminosas na Reserva Biológica União, RJ: A, C e E (sol); B, D e F (sombra). A e B- lâmina foliar; C e D- epiderme adaxial; E e F- estômato na epiderme abaxial. Setas indicam a convexidade da epiderme. Epiderme adaxial (ad); Epiderme abaxial (ab); Parênquima paliçádico (pp); Parênquima lacunoso (pl); Estômato (es).

Tabela 4. Espessura média (μm) \pm erro padrão das características anatômicas das folhas de *Byrsonima sericea* nos ambientes de sol e de sombra. Ep.- epiderme.

	Sol	Sombra
Lâmina	421,2 \pm 20,6 ^a	396,4 \pm 11,7 ^b
Paliçádico	157,7 \pm 12,0 ^a	139,2 \pm 7,1 ^b
Lacunoso	169,8 \pm 16,5 ^a	143,9 \pm 7,1 ^b
Ep. Adaxial	70,0 \pm 2,9 ^b	78,2 \pm 2,6 ^a
Ep. Abaxial	30,0 \pm 2,1 ^a	32,0 \pm 1,4 ^a
Mesofilo	327,5 \pm 19,8 ^a	283,1 \pm 8,8 ^b

Letras indicam diferença estatística entre ambientes ($p < 0,05$).

5- Discussão

A curva de luz fornece importante informação sobre propriedades fotossintéticas das folhas. A primeira porção da curva até o ponto de saturação é limitada pela luz e após este ponto a fotossíntese é comumente referida como limitada pelo CO₂ (Taiz e Zeiger, 2004). Com base na figura 5, o valor de 1300 $\mu\text{mol. m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ foi escolhido como sendo o ponto de saturação da fotossíntese para *B. sericea* em ambos os ambientes. Em agosto de 2007, tipicamente período seco, a curva de luz mostrou que as folhas de sombra se desempenharam melhor fotossinteticamente que as folhas de sol. *B. sericea* apresentou desempenho fotossintético diferente entre os períodos do ano: no período chuvoso as folhas de sol foram mais fotossinteticamente ativas que as folhas de sombra.

Um dos recursos mais importantes para o crescimento e reprodução das plantas é a luz. No entanto, a disponibilidade de água também interfere nestes parâmetros, uma vez que a água pode limitar a utilização da luz pelas plantas (Close e Davidson, 2003; Souza *et al.*, 2004; Portes *et al.*, 2006). Além disso, o processo de abertura e fechamento estomático está relacionado principalmente com o estado de hidratação da folha e com o déficit de pressão de vapor (DPV) (Brodribb e Holbrook, 2003; Costa e Marengo, 2007).

No período seco não houve diferença entre a assimilação fotossintética nas folhas de sol e de sombra. Entretanto, no período chuvoso a assimilação fotossintética foi maior para as folhas de sol do que para as folhas de sombra. Sarijeva *et al.* (2007), comparando a assimilação fotossintética de folhas de sol e de sombra de *Ginkgo* e *Fagus*, também encontraram maiores taxas de fotossíntese para as folhas de sol. Conforme verificado por Nogueira *et al.* (2004) e Silvestrini *et al.* (2007), espécies pioneiras apresentam altas taxas fotossintéticas principalmente em ambientes ensolarados. Além disso, durante o período chuvoso as condições hídricas favorecem o desempenho fotossintético (Prado *et al.*, 2004). O fato das folhas de sol apresentarem maior assimilação fotossintética pode ser atribuído ao tipo de cloroplasto que estas folhas possuem, adaptados à maior conversão fotoquímica, aliado à estrutura, do que os cloroplastos das folhas de sombra (Sarijeva *et al.*, 2007). Estes

cloroplastos exibem altos valores da razão clorofila *a/b* e um menor grau de empilhamento dos tilacóides em relação ao cloroplasto das folhas de sombra (Lichtenthaler e Burkart, 1999). Os dados apontam para esta maior razão clorofila *a/b* no período chuvoso (Figura 9E), o que corrobora as observações feitas por Lichtenthaler e Burkart (1999).

Os resultados mostraram que as folhas de sol se desempenharam melhor que as folhas de sombra no período chuvoso (Figura 6 e 7A) sugerindo que a água poderia ter efeito limitante nas plantas do ambiente de sol no período seco. Entretanto, no ambiente de sombra a água não parece ser o fator limitante, uma vez que estas folhas aparentemente reduziram sua assimilação fotossintética no período chuvoso em relação ao seco. Nesta condição (folha sombreada com disponibilidade hídrica) outros fatores estariam limitando a assimilação fotossintética.

Quando analisa-se a concentração interna de CO₂, observa-se que esta foi maior para as folhas de sombra, independente do período (Figura 7D). Quando se compara os períodos, no período chuvoso, para ambos os ambientes, foi maior a concentração interna de CO₂. Um fato interessante é que no período chuvoso houve aumento na concentração interna de CO₂ nas folhas de sombra e a assimilação fotossintética foi menor nestas folhas (Figura 7A e D). Isto sugere que menos CO₂ esteja sendo fixado pela fotossíntese nas folhas de sombra, indicando que há alguma limitação neste processo. Esta limitação poderá estar na fase fotoquímica ou bioquímica da fotossíntese.

Com base nos resultados de fluorescência (Tabela 2), sugerimos que não há nenhum comprometimento do aparelho fotossintético quanto à capacidade da planta em converter energia luminosa em química. Entretanto, duas possibilidades podem ser levantadas para a redução da assimilação fotossintética nas folhas de sombra: a baixa luminosidade, que poderia comprometer algum processo na fase bioquímica, como por exemplo, a ativação da Rubisco e outras enzimas; e a alta solubilidade do O₂ neste período do ano, cuja temperatura média está em torno de 30°C, sendo a temperatura média do período seco de aproximadamente 25°C (Taiz e Zeiger, 2004).

A condutância estomática e a transpiração são variáveis que estão interligadas visto que água e CO₂ compartilham a mesma rota através da abertura estomática. Para o ambiente de sol a condutância estomática e a transpiração foram menores no período seco em relação ao chuvoso, sendo que no período chuvoso as folhas de sol transpiraram mais.

Geralmente no período seco verifica-se um maior controle da abertura estomática que torna mais efetiva a manutenção do potencial hídrico foliar (Brodrribb e Holbrook, 2003; Prado *et al.*, 2004). Como no período chuvoso não há necessidade de um controle estomático tão efetivo, uma vez que não deve haver restrição hídrica tão severa quanto no período seco, as plantas de sol poderiam permanecer mais tempo com seus estômatos abertos para maior captação de CO₂.

Os resultados de fluorescência da clorofila *a* sugerem que não houve diferença quanto à eficiência quântica potencial através da relação F_v/F_m e F_v/F_0 entre as folhas de sol e de sombra, o que sugere um bom funcionamento do aparelho fotossintético no que diz respeito à fase fotoquímica da fotossíntese. Os valores encontrados para a razão F_v/F_m estão dentro da faixa (0,75-0,85) sugerida por Bolhar-Nordenkampf *et al.* (1989) como indicativo de plantas não estressadas. Já para Bjorkman e Demmig (1987) a faixa sugerida é mais estreita ($0,832 \pm 0,004$) e neste caso, a espécie estudada estaria estressada no período chuvoso. Com relação à razão F_v/F_0 nossos resultados estão de acordo com os resultados encontrados por Pereira *et al.* (2000) em condições sem estresse. Todos os outros parâmetros avaliados não dão indicativo de estresse nestas condições, o que nos leva a concordar com os dados de Bolhar-Nordenkampf *et al.* (1989) de que as plantas estudadas estariam em condições normais de funcionamento.

As espécies pioneiras, por apresentarem resposta tipicamente oportunístico, ocupam ambientes geralmente abertos com elevada variabilidade de condições ambientais tais como irradiância, disponibilidade hídrica e temperaturas do ar e do solo (Nogueira *et al.*, 2004). Neste caso, por tolerarem mais luz, apresentam também maior assimilação fotossintética que espécies climácicas (Alvarenga *et al.*, 2003; Nogueira *et al.*, 2004; Ribeiro *et al.*, 2005).

A espécie estudada é uma espécie pioneira e por isso tolerante à altas irradiancias. Assim, a redução na assimilação fotossintética das folhas de sombra pode estar relacionada também à diminuição da luminosidade neste ambiente. Isto pode ser verificado através da curva de resposta à luz juntamente com os dados de radiação obtidos por Evaristo (2008). As folhas de sombra se desempenham bem fotossinteticamente na luminosidade próxima a que ocorre naturalmente em ambientes ensolarados, sugerindo que a redução na radiação pode estar, então, afetando a assimilação fotossintética.

Souza *et al.* (2004) observaram que em plantas de *Vigna unguiculata* estressadas por redução na disponibilidade de água, a fase fotoquímica não foi afetada. Porém, a atividade fotossintética foi reduzida e os autores atribuíram este fato a redução da atividade da Rubisco. Problemas na fase bioquímica da fotossíntese também foram apontados por Gomes *et al.* (2003) em estudo com plantas de alfafa (*Medicago sativa*) sob supressão de fosfato (P_i). Estes autores observaram redução na taxa fotossintética e relacionaram-na com a etapa bioquímica da fotossíntese, uma vez que baixos níveis de P_i podem comprometer a quantidade e a atividade da Rubisco.

Outra razão para a diminuição da assimilação fotossintética nas folhas de sombra no período chuvoso pode estar relacionada à solubilidade dos gases que é dependente da temperatura. Com o aumento da temperatura, como é o caso do período chuvoso, em que a média esteve em torno de 30°C, a concentração de CO_2 diminui mais rapidamente que a do O_2 . Taiz e Zeiger (2004) citam que a 35°C a concentração de CO_2 dissolvido cai cerca de 20%, enquanto a de O_2 cai em torno de 14%. Com isso há um favorecimento da fotorrespiração em relação à fotossíntese. *B. sericea* é uma espécie C3, cuja síndrome fotossintética é amplamente conhecida pela dupla função da Rubisco (oxigenase e carboxilase). Desta forma, nas maiores temperaturas (período chuvoso), a maior solubilidade de O_2 também deve ser levada em consideração. Quando isto ocorre juntamente com menor intensidade luminosa (folha de sombra), o resultado poderia ser a diminuição da assimilação fotossintética como evidenciado em nossos dados. Além disso, o menor parênquima lacunoso encontrado nas folhas de sombra pode estar afetando as trocas gasosas, tendo em vista o menor espaço para que estas ocorram.

Com relação aos coeficientes de dissipação, qP e qNP , estes não diferiram entre as folhas de sol e de sombra, e nem entre os períodos seco e chuvoso. Contudo, NPQ no período seco foi maior nas folhas de sombra do que nas de sol. Plantas que experimentam redução na disponibilidade de água tendem a aumentar o NPQ para dissipar o excesso de energia. Isso já foi verificado para plantas de *Vigna unguiculata* (Souza *et al.*, 2004) e em plantas de *Prunus persica* (Osório *et al.*, 2006) em condições de estresse hídrico.

De maneira geral, os estudos com pigmentos mostram uma maior concentração de clorofilas em folhas de sombra quando comparadas às folhas de sol (Alvarenga *et al.*, 2003; Carvalho *et al.*, 2007; Chaves *et al.*, 2008). No entanto, a figura 9 mostra que não houve diferença entre folhas de sol e sombra para ambos os períodos. Deve ser ressaltado aqui que isto já era esperado, uma vez que o objetivo de utilização do SPAD foi padronizar a coloração das folhas para os outros estudos ecofisiológicos.

Mesmo com a utilização de espectrofotometria (Figura 9), não foram encontradas diferenças quanto à concentração das clorofilas *a* e *b* entre folhas de sol e de sombra. Entretanto, uma resposta mais bem estabelecida na literatura é a maior concentração de clorofila *b* encontrada em espécies submetidas à baixa luminosidade. Estas plantas capturam energia de diversos comprimentos de onda transferindo-a para a clorofila *a* do centro de reação que inicia o processo fotoquímico da fotossíntese, sendo este um mecanismo de adaptação a pouca luminosidade (Scalon, 2002; Rego e Possamai, 2006; Dias *et al.*, 2007). Folhas expostas ao sol respondem à alta irradiância reduzindo a porção de clorofila componente do complexo-antena (LHC), típico de plantas C_3 (Sarijeva *et al.*, 2007; Dymova e Golovko, 2007; Lichtenthaler e Babani, 2007). No entanto, Rozendaal *et al.* (2006), analisando folhas de sol e de sombra de várias espécies arbóreas tropicais, também não encontraram diferenças quanto ao conteúdo de clorofilas por unidade de área.

Entretanto, esta resposta não pode ser generalizada já que alguns dados de literatura apontam para menores concentrações de clorofilas no período seco (Munné-Bosch e Alegre, 2000; Morais *et al.*, 2007). Os resultados encontrados em nosso trabalho mostram maior concentração de todos os pigmentos no período seco. Isto sugere que possa estar ocorrendo um

acúmulo dos pigmentos nas células foliares face à menor disponibilidade hídrica neste período. De modo similar, Carvalho *et al.* (2007), analisando várias espécies de cerrado (*Qualea parviflora*, *Byrsonima coccolobifolia*, *Roupala montana*, *Sclerolobium paniculatum* e *Kielmeyera coriacea*) com diferentes estratégias fenológicas, encontraram maiores valores de concentrações de clorofila *a* e *b* no início da estação seca.

A razão clorofila *a/b* é um bom indicador de resposta da planta ao ambiente luminoso. Para a espécie estudada a razão clorofila *a/b* foi maior em folhas de sol apenas no período chuvoso (Figura 9E). Plantas de sombra tendem a apresentar menor razão clorofila *a/b* comparadas às plantas de sol em função da alta porção de clorofila atribuída ao LHC (Ishii *et al.*, 2006; Dymova e Golovko, 2007), principalmente clorofila *b*. Apesar de vários estudos terem sido conduzidos avaliando a concentração de pigmentos em relação à disponibilidade de luz, outros fatores como idade fisiológica, condições nutricionais, entre outros (Rosevear *et al.*, 2001; Wyka *et al.*, 2008), podem influenciar a resposta padrão das plantas.

Em relação aos carotenóides, muitos estudos relatam maiores concentrações destes pigmentos em folhas de sol (Munné-Bosch e Alegre, 2000; Gonçalves *et al.*, 2001; Rosevear *et al.*, 2001; Paiva *et al.*, 2003). Isto ocorre porque estes têm importante papel na dissipação do excesso de energia no sistema fotossintético (Demmig-Adams e Adams, 1992; Demmig-Adams e Adams, 1996; Tracewell *et al.*, 2001). Nossos dados estão em concordância com este padrão de resposta, uma vez que, independente do período, folhas de sol apresentaram maior concentração de carotenóides que folhas de sombra. Consequentemente, a razão clorofilas totais/ carotenóides foi sempre maior nas folhas de sombra. Isto também já foi demonstrado por outros autores (Munné-Bosch e Alegre, 2000; Behera e Choudhury, 2003).

Entre as adaptações a diferentes condições de luminosidade, alterações anatômicas são bastante descritas (Oguchi *et al.*, 2003; Paiva *et al.*, 2003; Pandey e Kushwaha, 2005). A epiderme tipicamente convexa, comum em plantas de ambientes sombreados, atua como lentes que concentram a luz. O parênquima paliçádico permite a passagem direta da luz, por isso folhas mais

expostas à luz apresentam parênquima paliçádico mais longo e folhas mais espessas (Paiva *et al.*, 2003).

Nossos resultados mostraram que folhas de sombra apresentam as células da epiderme adaxial convexas quando em comparação com as folhas de sol, que se mostram mais planas (Figura 10 C e D, setas). Isto auxiliaria o processo de captação da energia luminosa nos ambientes mais sombreados, visando potencializar a assimilação fotossintética (Taiz e Zeiger, 2004).

Além disso, outras características anatômicas como espessura do mesofilo, da lâmina foliar, epiderme adaxial e parênquimas paliçádico e lacunoso diferiram entre as folhas de sol e de sombra, refletindo as diferenças no regime luminoso. Pandey e Kushwaha (2005) avaliando a anatomia foliar de *Valeriana jatamansi* em condições contrastantes de luminosidade verificaram que folhas de sol também apresentaram o mesofilo, a lâmina foliar, epiderme adaxial e parênquima paliçádico mais espessos que as folhas de sombra.

Os resultados obtidos neste estudo mostraram a plasticidade fenotípica da espécie em questão, pois apesar de ser uma espécie pioneira, a mesma se adaptou fisiológica e anatomicamente a condições sombreadas.

6- Conclusões

- Houve variações fotossintéticas e anatômicas em *Byrsonima sericea* em função da luminosidade diferenciada entre os ambientes, confirmando a primeira hipótese proposta.
- No período chuvoso as plantas de sombra apresentaram menor assimilação fotossintética que as de sol provavelmente devido à limitações na fase bioquímica, não corroborando a segunda hipótese proposta.
- Fotoquimicamente não houve diferença de desempenho entre as plantas em função do período do ano ou do ambiente (sol e sombra).
- Plantas de sol apresentaram maior concentração de carotenóides independente do período do ano.
- Anatomicamente as folhas mostraram as características típicas dos ambientes onde foram formadas (sol- epiderme adaxial plana, parênquima paliçádico e lâmina foliar mais espessos; sombra- epiderme adaxial convexa e lâmina foliar menos espessa).

7- Referências bibliográficas

- Adir, N., Zer, H., Shochat, S., Ohad, I. 2003. Photoinhibition – a historical perspective. *Photosynthesis Research* 76: 343-370.
- Alvarenga, A.A.; Castro, E.M.; Lima Junior, E.C.; Magalhães, M.M. 2003. Effects of different light levels on the initial growth and photosynthesis of *Croton urucurana* Baill. In southeastern Brazil. *Revista Árvore*, 27(1): 53-57.
- Angelocci, L.R., Marin, F.R., Oliveira, R.F., Righi, E.Z. 2004. Transpiration, leaf diffusive conductance, and atmospheric water demand relationship in an irrigated acid lime orchard. *Brazilian Journal of Plant Physiology* 16(1): 53-64.
- Behera, R.K. & Choudhury, N.K. 2003. High irradiance-induced changes in carotenoid composition and increase in non-photochemical quenching of Chl *a* fluorescence in primary wheat leaves. *Journal of Plant Physiology*, 160: 1141-1146.
- Bertamini, M., Muthuchelian, K., Nedunchezian, N. 2004. Photoinhibition of photosynthesis in sun and shade grown leaves of grapevine (*Vitis vinifera* L.). *Photosynthetica*, 42(1): 7-14.
- Björkman, O. & Demmig, B. 1987. Photon yield of O₂ evolution and chlorophyll fluorescence characteristics at 77K among vascular plants of diverse origins. *Planta*, 170: 489-504.
- Bolhar-Nordenkamp, H.R., Long, S.P., Baker, N.R., Oquist, G., Schreiber, U., Lechner, E.G. 1989. Chlorophyll fluorescence as a probe of the photosynthetic competence of leaves in the field: a review of current instrumentation. *Functional Ecology*, 3(4): 497-514.

- Brodribb, T.J. & Holbrook, N.M. 2003. Stomatal closure during leaf dehydration, correlation with other leaf physiological traits. *Plant Physiology*, 132: 2166-2173.
- Camargo, J.L.C. & Kapos, V. 1995. Complex edge effects on soil moisture and microclimate in Central Amazonian forest. *Journal of Tropical Ecology* 11: 205-221.
- Carvalho, A.P.F., Bustamante, M.M.C., Kozovits, A.R., Asner, G.P. 2007. Variações sazonais nas concentrações de pigmentos e nutrientes em folhas de espécies de cerrado com diferentes estratégias fenológicas. *Revista Brasileira de Botânica*, 30(1): 19-27.
- Chaves, A.R.M.; Ten-Caten, A.; Pinheiro, H.A; Ribeiro, A.; Da Mata, F.M. 2008. Seasonal changes in photoprotective mechanisms of leaves from shaded and unshaded field-grown coffee (*Coffea arabica* L.) trees. *Trees*, 22: 351-361.
- Close, D.C. & Davidson, N.J. 2003. Long-term waterlogging: nutrient, gas exchange, photochemical and pigment characteristics of *Eucalyptus nitens* saplings. *Russian Journal of Plant Physiology*, 50 (6): 843-847.
- Costa, G.F. e Marengo, R.A. 2007. Fotossíntese, condutância estomática e potencial hídrico foliar em árvores jovens de andiroba (*Carapa guianensis*). *Acta Amazonica*, 37(2): 229-234.
- Costa, L.C.B., Castro, E.M., Pinto, J.E.B.P., Alves, E., Bertolucci, S.K.V., Rosal, L.F., Moreira, C.M. 2007. Aspectos da anatomia foliar de *Ocimum selloi* Benth. (Lamiaceae) em diferentes condições de qualidade de luz. *Revista Brasileira de Biociências*, 5(1): 6-8.

- Dai, Z., Edwards, G.E., Ku, M.S.B. 1992. Control of photosynthesis and stomatal conductance in *Ricinus communis* L. (Castor bean) by leaf to air vapor pressure deficit. *Plant Physiology*, 99: 1426-1434.
- D'Ambrosio, N., Arena, C., De Santo, A.V. 2006. Temperatura response of photosynthesis, excitation energy dissipation and alternative electron sinks to carbon assimilation in *Beta vulgaris* L. *Environmental and Experimental Botany*, 55: 248-257.
- Demmig-Adams, B. e Adams, W.W. 1992. Photoprotection and other responses of plants to high light stress. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*, 43: 599-626.
- Demmig-Adams, B. e Adams, W.W. 1996. The role of xanthophyll cycle carotenoids in the protection of photosynthesis. *Trends in Plant Science*, 1: 21-26.
- Dias, D.P. e Marengo, R.A. 2007. Efeito da nebulosidade nos parâmetros da fluorescência em *Mimosa guianensis* Aubl. *Revista Brasileira de Biociências*, 5(2): 54-56.
- Dias, J., Pimenta, J.A., Medri, M.E., Boeger, M.R.T., Freitas, C.T. 2007. Physiological aspects of sun and shade leaves of *Lithraea molleoides* (Vell.) Engl. (Anacardiaceae). *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 50(1): 91-99.
- Ding, L., Wang, K.J., Jiang, G.M., Li, Y.G., Jiang, C.D., Liu, M.Z., Niu, S.L., Peng, Y. 2006. Diurnal variation of gas exchange, chlorophyll fluorescence, and xanthophyll cycle components of maize hybrids released in different years. *Photosynthetica*, 44(1): 26-31.

- Duz, S.R., Siminski, A., Santos, M., Paulilo, M.T.S. 2004. Crescimento inicial de três espécies arbóreas da Floresta Atlântica em resposta à quantidade de luz. *Revista Brasileira de Botânica*, 27(3): 587-596.
- Dymova, O.V. e Golovko, T.K. 2007. Pigment apparatus in *Ajuga reptans* plants as affected by adaptation to light growth conditions. *Russian Journal of Plant Physiology*, 54(1): 39-45.
- Espírito-Santo, A. e Pugialii, H.R.L. 1999. Estudo da plasticidade anatômica foliar de *Stromanthe thalia* (Vell.) J.M.A. Braga (Marantaceae) em dois ambientes de Mata Atlântica. *Rodriguésia*, 50(76/77): 109-124.
- Evaristo, V.T. 2008. Dinâmica da comunidade e das principais populações arbustivo-arbóreas de Mata Atlântica em plantios abandonados de eucalipto (*Corymbia citriodora* (Hook.) K.D.Hill & L.A.S.Johnson). Dissertação de mestrado. Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, RJ, UENF.
- Ferreira, L.L. 2003. Fotossíntese e eficiência do uso da água em vinte espécies lenhosas tropicais sob condições de campo em um reflorestamento utilizando espécies de mata. Dissertação de mestrado. Universidade Federal de São Carlos, SP.
- Genty, B., Briantais, J-M., Baker, N.R. 1989. The relationship between the quantum yield of photosynthetic electron transport and quenching of chlorophyll fluorescence. *Biochimica and Biophysica Acta*, 990: 87-92.
- Gomes, F.T., Pereira, G.D., Borges, A.C., Mosquim, P.R. 2003. Fotossíntese em alfafa (*Medicago sativa* L.) sob supressão e ressuprimento de fosfato. *Ciência Rural*, Santa Maria, 33(5): 821-828.
- Gonçalves, J.F.C., Marengo, R.A., Vieira, G. 2001. Concentration of photosynthetic pigments and chlorophyll fluorescence of mahogany and

tonka bean under two light environments. *Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal*, 13(2): 149-157.

Guo, Y. P., Guo, D. P., Zhou, H. F., Hu, M. J. & Shen, Y. G. 2006. Photoinhibition and xanthophyll cycle activity in bayberry (*Myrica rubra*) leaves induced by high irradiance. *Photosynthetica* 44 (3): 439-446.

IBGE – Fundação Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. 1992. Manual técnico da vegetação brasileira. Rio de Janeiro: IBGE. 92p.

IBAMA – Instituto Brasileiro de Meio Ambiente e Recursos Naturais. 2007. Plano de recuperação ambiental dos eucaliptais da Reserva Biológica União. Rio de Janeiro. 142p.

Ishii, Y., Sakamoto, K., Yamanaka, N., Wang, L., Yoshikawa, K. 2006. Light acclimation of needle pigment composition in *Sabina vulgaris* seedlings under nurse plant canopy. *Journal of Arid Environments*, 67: 403-415.

Justo, C.F., Soares, A.M., Graviñanes, M.L., Castro, E.M. 2005. Plasticidade anatômica das folhas de *Xylopia brasiliensis* Sprengel (Annonaceae). *Acta Botanica Brasílica*, 19(1): 111-123.

Komyeyev, D., Holaday, S., Logan, B. 2003. Predicting the extent of photosystem 2 photoinactivation using chlorophyll *a* fluorescence parameters measured during illumination. *Plant Cell Physiology* 44: 1064-1070.

Krause, G.H. e Weis, E. 1991. Chlorophyll fluorescence and photosynthesis: The basics. *Annual Review Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 42:313-350.

Larcher, W. 2000. *Ecofisiologia vegetal*. São Carlos, São Paulo. Ed. Rima. 531p.

- Lemos-Filho, J.P., Goulart, M.F., Lovato, M.B. 2004. Chlorophyll fluorescence parameters in populations of two legume trees: *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville (Mimosoideae) and *Cassia ferruginea* (Schrad.) Schrad. ex DC. (Caesalpinoideae). *Revista Brasileira de Botânica*, 27(3): 527-532.
- Lichtenthaler, H.K. e Babani, F. 2007. Differences in pigment composition, photosynthetic rates and chlorophyll fluorescence images of sun and shade leaves of four tree species. *Plant Physiology and Biochemistry*, 45(8): 577-588.
- Lichtenthaler, H.K. e Burkart, S. 1999. Photosynthesis and high light stress. *Bulgarian Journal of Plant Physiology*, 25(3-4): 3-16.
- Lima Jr., E.C., Alvarenga, A.A., Castro, E.M., Vieira, C.V., Oliveira, H.M. 2005. Trocas gasosas, características das folhas e crescimento de plantas jovens de *Cupania vernalis* Camb. submetidas a diferentes níveis de sombreamento. *Ciência Rural*, Santa Maria, 35(5): 1092-1097.
- Lima Jr., E.C., Alvarenga, A.A., Castro, E.M., Vieira, C.V., Barbosa, J.P.R.A.D. 2006. Aspectos fisiológicos de plantas jovens de *Cupania vernalis* Camb. submetidas a diferentes níveis de sombreamento. *Revista Árvore*, 30(1): 33-41.
- Lorenzi, H. 1998. Árvores Brasileiras- manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil. 2ª Edição, Nova Odessa, SP. Editora Plantarum.
- Maciel, M.N.M., Watzlawick, L.F., Schoeninger, E.R., Yamaji, F.M. 2002. Efeito da radiação solar na dinâmica de uma floresta. *Revista Ciências Exatas e Naturais*, 4(1): 101-114.

- Maciel, M.N.M., Watzlawick, L.F., Schoeninger, E.R., Yamaji, F.M. 2003. Classificação ecológica das espécies arbóreas. *Revista Acadêmica: ciências agrárias e ambientais*, Curitiba, 1(2): 69-78.
- Monnet, F, Vaillant, N., Vernay, P., Coudret, A., Sallanon, H., Hitmi, A. 2001. Relationship between PSII activity, CO₂ fixation, and Zn, Mn and Mg contents of *Lolium perenne* under zinc stress. *Journal of Plant Physiology*, 158: 1137-1144.
- Monteiro, J.A.F. e Prado, C.H.B.A. 2006. Apparent carboxylation efficiency and relative stomatal and mesophyll limitations of photosynthesis in an evergreen cerrado species during water stress. *Photosynthetica*, 44(1): 39-45.
- Morais, R.R., Gonçalves, J.F.C., Júnior, U.M.S., Dünisch, O., Santos, A.L.W. 2007. Chloroplastid pigment contents and chlorophyll a fluorescence in Amazonian Tropical three species. *Revista Árvore*, 31(5): 959-966.
- Morellato, L.P.C. e Haddad, C.F.B. 2000. Introduction: The Brazilian Atlantic Forest. *Biotropica*, 32(4): 786-792.
- Muller, P., Li, X. P., Niyogi, K. K. 2001. Non- photochemical quenching. A response to excess light energy. *Plant Physiology* 125: 1558-1566.
- Munné-Bosch, S. e Alegre, L. 2000. The xanthophyll cycle is induced by light irrespective of water status in field-grown lavender (*Lavandula stoechas*) plants. *Physiologia Plantarum*, 108: 147-151.
- Murcia, C. 1995. Edge effects in fragmented forests: implications for conservation. *Trends in Ecology and Evolution*, 10(2): 58-62.

- Myers, N.; Mittermeier, R.A.; Mittermeier, C.G.; Fonseca, G.A.B. & Kent, J. (2000). Biodiversity hotspots for conservation priorities. *Nature* 403: 853-858.
- Nery, F.C., Alvarenga, A.A., Justo, C.F., Castro, E.M., Souza, G.S., Alves, E. 2007. Aspectos anatômicos de folhas de plantas jovens de *Calophyllum brasiliense* Cambess. submetidas a diferentes níveis de sombreamento. *Revista Brasileira de Biociências*, 5(2): 129-131.
- Neto, M.T.C. 2003. Efeito do déficit hídrico na transpiração e resistência estomática da mangueira. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 25(1): 93-95.
- Nogueira, A., Martinez, C.A., Ferreira, L.L., Prado, C.H.B.A. 2004. Photosynthesis and water use efficiency in twenty tropical tree species of differing succession status in a Brazilian reforestation. *Photosynthetica*, 42(3): 351-356.
- Oguchi, R., Hikosaka, K., Hirose, T. 2003. Does the photosynthetic light-acclimation need change in leaf anatomy? *Plant Cell and Environment*, 26: 505-512.
- Ort, D. R. 2001. When there is too much light. *Plant Physiology* 125: 29-32.
- Osório, M.L., Breia, E., Rofrigues, A., Osório, J., Le Roux, X., Daudet, F.A., Ferreira, I., Chaves, M.M. 2006. Limitations to carbon assimilation by mild drought in nectarine trees growing under field conditions. *Environmental and Experimental Botany*, 55: 235-247.
- Paiva, E.A.S., Isaías, R.M.S., Vale, F.H.A., Queiroz, C.G.S. 2003. 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*, 46(4): 617-624.

- Pandey, S. e Kushwaha, R. 2005. Leaf anatomy and photosynthetic acclimation in *Valeriana jatamansi* L. grown under high and low irradiance. *Photosynthetica*, 43(1): 85-90.
- Pereira, W.E., Siqueira, D.L., Martinez, C.A., Puiatti, M. 2000. Gas exchange and chlorophyll fluorescence in four citrus rootstocks under aluminium stress. *Journal of Plant Physiology*, 157: 513-520.
- Pimentel, C., Bernacchi, C., Long, S. 2007. Limitations to photosynthesis at different temperatures in the leaves of *Citrus limon*. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, 19(2): 141-147.
- Portes, M.T., Alves, T.H., Souza, G.M. 2006. Water deficits affects photosynthetic induction in *Bauhinia forficata* Link (Fabaceae) and *Esenbeckia leiocarpa* Engl. (Rutaceae) growing in understorey and gap conditions. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, 18(4): 491-502.
- Prado, C.H.B.A., Wenhui, Z., Rojas, M.H.C., Souza, G.M. 2004. Seasonal leaf gas exchange and water potential in a woody cerrado species community. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, 16(1): 7-16.
- Rees, M., Condit, R., Crawley, M., Palaca, S., Tilman, D. 2001. Long-term studies of vegetation dynamics. *Science*, 293: 650-655.
- Rego, G.M. e Possamai, E. 2006. Efeito do sombreamento sobre o teor de clorofila e crescimento inicial do jequitibá rosa. *Boletim de Pesquisa Florestal*, 53: 179-194.
- Ribeiro, R.V., Souza, G.M, Manzatto, A.G., Machado, E.C. & Oliveira, R.F. 2004. Chlorophyll fluorescence of tropical tree species in a semi-deciduous forest gap. *Revista Árvore*, v.28, n.1., 21-27

- Ribeiro, R.V., Souza, G.M, Oliveira, R.F. & Machado, E.C. 2005. Photosynthetic responses of tropical tree species from different successional groups under contrasting irradiance conditions. *Revista Brasileira de Botânica*, V.28, n.1, 149-161.
- Rosevear, M.J., Young, A.J., Johnson, G.N. 2001. Growth conditions are more important than species origin in determining leaf pigment content of British plant species. *Functional Ecology*, 15: 474-480.
- Rozendaal, D.M.A., Hurtado, V.H., Poorter, L. 2006. Plasticity in leaf traits of 38 tropical tree species in response to light: elationships with light demand and adult stature. *Functional Ecology*, 20: 207-216.
- Sarijeva, G., Knapp, M., Lichtenthaler, H.K. 2007. Differences in photosynthetic activity, chlorophyll and carotenoid levels, and in chlorophyll fluorescence parameters in green sun and shade leaves of *Ginkgo* and *Fagus*. *Journal of Plant Physiology*, 164: 950-955.
- Scalon, S. de P. Q.; Mussury, R. M.; Rigoni, M. R.; Veraldo, F., 2002. Crescimento inicial de mudas de espécies florestais nativas sob diferentes níveis de sombreamento. *Revista Árvore*, 26(1): 1-5.
- Silvestrini, M., Válio, I.F.M., Mattos, E.A. 2007. 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*, 30(3): 463-474.
- Souza, R.P., Machado, E.C., Silva, J.A.B., Lagoa, A.M.M.A., Silveira, J.A.G. 2004. Photosynthetic gas exchange, chlorophyll fluorescence and some associated metabolic changes in cowpea (*Vigna unguiculata*) during water stress and recovery. *Environmental and Experimental Botany*, 51: 45-56.

- Souza, G.M., Ribeiro, R.V., Oliveira, R.F., Machado, E.C. 2005. Network connectance and autonomy analyses of the photosynthetic apparatus in tropical tree species from different successional groups under contrasting irradiance conditions. *Revista Brasileira de Botânica*, 28(1): 47-59.
- Taiz, L. e Zeiger, E. 2004. *Fisiologia Vegetal*. 3ª Edição, Porto Alegre- Ed. Artmed. 719p.
- Tracewell, C.A.; Vrettos, J.S.; Bautista, J.A.; Frank, H.A.; Brudvig, G.W. 2001. Carotenoid photooxidation in photosystem II. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 385(1): 61-69.
- Van Kooten, O.; Snel, J.F.H. 1990. The use of chlorophyll fluorescence nomenclature in plant stress physiology. *Photosynthesis Research*, 25: 147-150.
- Wellburn, A. R. 1994. The spectral determination of chlorophylls a and b, as well as total carotenoids, using various solvents with spectrophotometers of different resolution. *Journal of Plant Physiology*, 144(3): 307-313.
- Wyka, T., Robakowski, P., Zytowski, R. 2008. Leaf age as a factor in anatomical and physiological acclimative responses of *Taxus baccata* L. needles to contrasting irradiance environments. *Photosynthesis Research*, 95: 87-99.
- Young, A. e Mitchell, N. 1994. Microclimate and vegetation edge effects in a fragmented podocarp-broadleaf forest in New Zealand. *Plant Ecology*, 67(1): 63-72.
- Zaú, A.S. 1998. Fragmentação da Mata Atlântica: aspectos teóricos. *Floresta e Ambiente*, 5(1): 160-170.