

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ  
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA COMPARADA

**TAYSI PEREIRA FIRMINO**

**Crescimento de plantas jovens de pau d'algo (*Galesia integrifolia*)  
cultivadas em diferentes níveis de luminosidade e regime hídrico**

Maringá  
2016

TAYSI PEREIRA FIRMINO

**Crescimento de plantas jovens de pau d'algo (*Galesia integrifolia*)  
cultivadas em diferentes níveis de luminosidade e regime hídrico**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Comparada do Centro de Ciências Biológicas da Universidade Estadual de Maringá, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Biologia das Interações Orgânicas.

**Orientadora:** Profa. Dra. Lindamir Hernandez Pastorini

**Co-Orientadora:** Profa. Dra. Rosilaine Carrenho

Maringá  
2016

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)  
(Biblioteca Central - UEM, Maringá – PR., Brasil)

F525c Firmino, Taysi Pereira  
Crescimento de plantas jovens de pau d'algo  
(*Galesia integrifolia*) cultivadas em diferentes  
níveis de luminosidade e regime hídrico/Taysi  
Pereira Firmino. -- Maringá, 2016.  
117 f. : il. color., figs., tabs.

Orientador: Prof. Dr.a. Lindamir Hernandez  
Pastorini.  
Coorientadora: Dr.a. Rosilaine Carrenho.  
Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual de  
Maringá, Centro de Ciências Biológicas, Programa de  
Pós-Graduação em Biologia Comparada, 2016.

1. Ecofisiologia. 2. Pau d'algo. 3. Estresse  
hídrico. 4. Crescimento. 5. Respostas Fisiológicas.  
6. Anatomia da folha. 7. Plasticidade. 8.  
Sombreamento. I. Pastorini, Lindamir Hernandez,  
orient. II. Carrenho, Rosilaine, coorient. III.  
Universidade Estadual de Maringá. Centro de Ciências  
Biológicas. Programa de Pós-Graduação em Biologia  
Comparada. III. Título.

CDD 22. ed.581.7

JLM-001928

# FOLHA DE APROVAÇÃO

TAYSI PEREIRA FIRMINO

## **Crescimento de plantas jovens de pau d'algo (*Galesia integrifolia*) cultivadas em diferentes níveis de luminosidade e regime hídrico**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Biologia Comparada do Centro de Ciências Biológicas da Universidade Estadual de Maringá, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Biologia das Interações Orgânicas pela Comissão Julgadora composta pelos membros:

### COMISSÃO JULGADORA

---

Profa. Dra. Lindamir Hernandez Pastorini  
Universidade Estadual de Maringá (Presidente)

---

Profa. Dra. Maria Regina Torres Boeger  
Universidade Federal do Paraná

---

Profa. Dra. Mariza Barion Romagnolo  
Universidade Estadual de Maringá

Aprovada em: 23/02/2016

Local da defesa: Sala 121, Bloco G80, campus da Universidade Estadual de Maringá

## **DEDICATÓRIA**

Aos meus pais Alecio e Marineide e ao meu esposo Paulo Cesar pelo incentivo e apoio em todas as minhas escolhas e decisões.

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus, por ser o Criador de todas as coisas, e com Seu amor incondicional prover a persistência necessária para contornar todos os obstáculos e concluir mais uma etapa da minha formação profissional.

Aos meus pais Alecio e Marineide e meu irmão Luan, pelo amor e apoio demonstrado nas horas difíceis.

Ao meu esposo Paulo Cesar pelo amor, paciência e companheirismo demonstrado diariamente.

A minha orientadora Profa Lindamir, pela motivação, apoio, amizade, compreensão nos momentos difíceis, por todo o conhecimento transmitido durante o curso e por ter orientado meu trabalho de forma profissional e materna.

A profa. Rosilaine pela atenção e preciosa ajuda dada na coorientação deste trabalho.

Ao professor Souza por compartilhar seu vasto conhecimento elucidando questões importantes e a profa Mariza pela amizade e apoio na coleta de material.

A Universidade Estadual de Maringá em especial ao Programa de Pós-graduação em Biologia Comparada por tornar possível a realização do Mestrado, e aos professores que contribuíram para a minha formação.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e a Fundação Araucária pelo suporte financeiro e financiamento da pesquisa.

As minhas queridas amigas: Carol, Renata e Kariny, por compartilhar diariamente a rotina de trabalho em laboratório, sempre com profissionalismo e bom humor. Aos amigos Gabriel, Vanessa, Nara, Priscila e Bruno que sempre estenderam a mão nos momentos em que precisei.

Aos queridos amigos Nelson e Seu Júlio pelo apoio e amizade ao longo destes dois anos.

A Estela, secretária do PGB, pelo empenho em nos auxiliar em questões burocráticas nestes dois anos de pesquisa.

Enfim, dedico esta dissertação a todos os que direta ou indiretamente fizeram parte desta caminhada, tornando possível a realização deste trabalho.

Muito obrigada!

## **Crescimento de plantas jovens de pau d'algo (*Gallesia integrifolia*) cultivadas em diferentes níveis de luminosidade e regime hídrico**

### **RESUMO**

Este trabalho teve como objetivo avaliar as repostas morfológicas e fisiológicas das plantas de *Gallesia integrifolia* (Spreng.) Harms. submetidas à diferentes níveis de luminosidade e regime hídrico. *Gallesia integrifolia* é uma árvore nativa do Brasil, pertencente à família Phytolaccaceae e conhecida popularmente como pau-d'algo, caracteriza-se por esta espécie exalar cheiro de alho em dias de alta umidade relativa do ar. Os experimentos foram conduzidos em casa de vegetação do Departamento de Biologia da Universidade Estadual de Maringá entre os meses de setembro de 2014 a fevereiro de 2015. O estudo do crescimento inicial de mudas foi feito pelo método destrutivo, em intervalos de 30 dias para cada análise, durante 90 dias após o início do tratamento de estresse hídrico, em seis ambientes diferentes, sendo três níveis de luz (sob luz sem sombrite, sob 50% e 80% de sombreamento) e dois regimes hídricos (plantas irrigadas diariamente e plantas irrigadas apenas duas vezes por semana). Os resultados obtidos indicam que a luz foi o fator que apresentou maior efeito sobre o crescimento das plantas. No início das avaliações, aos 30 dias, a interação dos fatores luz e disponibilidade hídrica afetou a massa seca da raiz, massa seca total e todas as razões de massa seca das plantas sob 80% de sombreamento. Aos 90 dias, a interação dos fatores de variação afetaram a massa seca do caule, da parte aérea e o diâmetro do coleto, que foram menores nas plantas sob 80% de sombreamento. A interação entre luz e disponibilidade hídrica resultou em aumento da razão de área foliar e área foliar específica das plantas sob 80% de sombreamento. A associação micorrízica das plantas jovens de pau d'algo favoreceu o estabelecimento, mesmo em plantas sob restrição hídrica. Também foram realizadas avaliações ecofisiológicas (fotossíntese, fluorescência da clorofila a e conteúdo de pigmentos fotossintéticos), assim como, a quantificação de carboidratos solúveis totais e amido). Pode-se observar que aos 30 dias após o início do período de estresse hídrico, a concentração de carboidratos solúveis totais presentes nas folhas de pau d'algo não apresentaram diferenças significativas entre todos os tratamentos analisados. A maior concentração de amido foi encontrada nas folhas de plantas mantidas sob 50%água, 80%água, 80%stress e SS+água. Já o teor de clorofila total foi maior nas folhas do terceiro nó e folhas cotiledonares de plantas sob 80% de sombreamento. Aos 30 dias a condutância estomática foi menor em plantas sob 80%stress, diferindo das plantas sob 50%água, sendo que aos 90 dias não foram observadas diferenças significativas para todos os parâmetros de fotossíntese analisados. Aos 30 dias a eficiência quântica potencial do fotossistema II foi menor para as plantas sob maior disponibilidade de luz, independente da disponibilidade hídrica, não diferindo entre os tratamentos aos 90 dias. Foram avaliadas também, as características anatômicas das folhas e raízes nos diferentes ambientes. As plantas de pau d'algo apresentaram folhas dorsiventrals com epiderme unisseriada em ambas as faces, glabra e hipostomática. A espessura total da folha aumentou com o aumento do nível de luminosidade independente do fator estresse. O índice de plasticidade mostrou diferença entre a plasticidade mensurada em condições de luz sem estresse e com estresse, sendo que folhas desenvolvidas sob estresse apresentaram menores valores de plasticidade, o que pode estar associado aos custos de manutenção da plasticidade, considerando que em condições estressantes, fenótipos inadequados podem emergir, tornando a plasticidade mal adaptativa. As raízes de pau d'algo não apresentaram diferenças significativas em suas características

anatômicas em todos os tratamentos analisados. Pode-se observar que estas raízes possuem crescimento diferente do padrão descrito para a maioria das espécies, denominado como anômalo, apresentando variantes cambiais.

**Palavras-chave:** Ecofisiologia. Estresse hídrico. Pau d'álho. Plasticidade. Sombreamento.



## **Growth of young plants of pau d'algo (*Gallesia integrifolia*) cultivated at different levels of luminosity and water regime**

### **ABSTRACT**

Responses morphological and physiological of *Gallesia integrifolia* (Spreng.) Harms. plants submitted to several levels of luminosity and water regime are evaluated. *Gallesia integrifolia*, popularly known as pau d'algo in Brazil, belongs to the Phytolaccaceae family and is native in Brazil. It is characterized by a strong smell of garlic in days with high air humidity. Experiments were conducted at the vegetation greenhouse of the Department of Biology of the Universidade Estadual de Maringá, Maringá PR Brazil, between September 2014 and February 2015. Study on the initial growth of seedlings was undertaken at 30 days intervals for each assay, with 30, 60 and 90 days after the start of the water stress treatment, at six different places, with three light levels (full light; with 50% and 80% shade) and two hydric regimes (plants irrigated daily and plants irrigated only twice a week). Results showed that light was the factor with the greatest effect on plant growth. At the start of the evaluations (30 days), the interaction light and water availability influenced the dry matter of the root, total dry matter and all ratios of plant dry matter under 80% shading. At 90 days, the interaction of variation factors influenced the dry matter of the stem, aerial part and the diameter of the root-stem segment, which were lower in plants under 80% of shading. Light and water availability interaction increased the ratio between the leaf area and the specific leaf area of the plants under 80% shading. The mycorrhizal association of young *Gallesia integrifolia* plants favored their establishment even in plants with water restrictions. Physiological evaluations (photosynthesis, chlorophyll-a fluorescence, quantification of photosynthetic pigments and non-structured carbohydrates) were also performed. The concentration of total soluble carbohydrates in the *Gallesia integrifolia* leaves did not show any significant difference after 30 days from the start of the water stress period among treatments. The highest starch concentration rate occurred in plant leaves under 50%water, 80%water, 80%stress and SS+water. Highest starch rate in plants under 50%stress, 80%water, 80%stress and SS+water occurred in the stem, whereas in plants under SS+stress the highest starch rate occurred in the stem and in the root. Total chlorophyll rates were highest in leaves of the third node and cotyledons under greater shading. On the 30th day, stomata conductance was lowest in plants under 80%stress and differed from plants under 50%water. Further, on the 90th day, significant differences were not detected for all photosynthesis parameters. On the 30th day, potential quantity efficiency of photosystem II was lowest for plants under a greater light availability, regardless of hydric availability. On the 90th day, there was no difference between treatments. On the 90th day, the anatomical characteristics of leaves and roots at different sites were assessed. *Gallesia integrifolia* plants provided dorsiventral leaves with uniseriate, glabrous and hypostomatic epidermis at both surfaces. Total leaf thickness was greater with increased light levels, regardless of stress. Plasticity index proved to be different between the measured plasticity under light without and with stress. Leaves developed under stress had lower values in plasticity rates perhaps due to costs in plasticity maintenance. Under stress conditions, inadequate phenotypes may emerge with badly adapted plasticity. The roots of the *Gallesia integrifolia* plant did not reveal any significant difference in their anatomical features in all analyzed treatments. Roots have a different growth type from the pattern described above for most species, called anomalous, with changing variants.

**Keywords:** Physiology. Water stress. Pau d'algo. Plasticity. Shading.

# LISTA DE FIGURAS

## CAPÍTULO 1

<b>Figura 1.</b> Colonização micorrízica aos 30, 60 e 90 dias .....	58
---	----

## CAPÍTULO 2

<b>Figura 1.</b> Teor de Carboidratos Solúveis aos 30 e 90 dias .....	89
<b>Figura 2.</b> Teor de Amido aos 30 e 90 dias .....	90
<b>Figura 3.</b> Teor de Clorofila a e b de folhas do 2º nó aos 30, 60 e 90 dias.....	91
<b>Figura 4.</b> Teor de Clorofila total e razão a e b de folhas do 2º nó aos 30, 60 e 90 dias...	92
<b>Figura 5.</b> Teor de Clorofila a e b de folhas cotiledonares aos 30, 60 e 90 dias .....	93
<b>Figura 6.</b> Teor de Clorofila total e razão a e b de folhas cotiledonares aos 30, 60 e 90....	94

## CAPÍTULO 3

<b>Figura 1.</b> Características anatômicas foliares de <i>Gallesia integrifolia</i> .....	113
--	-----

# LISTA DE QUADROS

## CAPÍTULO 1

**Quadro 1.** Resultado da análise bifatorial correspondendo ao efeito da luz e disponibilidade hídrica e sua interação sobre os parâmetros de crescimento aos 30 dias 54

**Quadro 2.** Resultado da análise bifatorial, correspondendo ao efeito da luz e disponibilidade hídrica e sua interação sobre os parâmetros de crescimento aos 60 dias 55

**Quadro 3.** Resultado da análise bifatorial, correspondendo ao efeito da luz e disponibilidade hídrica e sua interação sobre os parâmetros de crescimento aos 90 dias 56

## LISTA DE TABELAS

### CAPÍTULO 1

<b>Tabela 1.</b> Parâmetros de crescimento de <i>Gallesia integrifolia</i> aos 30 dias .....	50
<b>Tabela 2.</b> Parâmetros de crescimento de <i>Gallesia integrifolia</i> aos 60 dias .....	51
<b>Tabela 3.</b> Parâmetros de crescimento de <i>Gallesia integrifolia</i> aos 90 dias .....	52

### CAPÍTULO 2

<b>Tabela 1.</b> Dados de Fotossíntese aos 30 dias .....	96
<b>Tabela 2.</b> Dados de Fotossíntese aos 90 dias .....	96
<b>Tabela 3.</b> Dados de Fluorescência aos 30 dias .....	97
<b>Tabela 4.</b> Dados de Fluorescência aos 90 dias .....	97

### CAPÍTULO 3

<b>Tabela 1.</b> Valores de <i>P</i> e IPF referente as folhas de <i>Gallesia integrifolia</i> .....	115
--	-----

## SUMÁRIO

<b>INTRODUÇÃO GERAL</b> .....	14
Referências .....	20
<b>1. CAPÍTULO 1</b> .....	24
<b>CRESCIMENTO E COLONIZAÇÃO MICORRÍZICA DE PLANTAS JOVENS DE <i>Gallesia integrifolia</i> (SPRENG.) HARMS.</b> .....	24
Abstract .....	26
<b>1.1 Introdução</b> .....	27
<b>1.2 Material e Métodos</b> .....	30
<b>1.3 Resultados e Discussão</b> .....	34
<b>1.4 Referências</b> .....	45
Tabelas .....	49
Quadros .....	53
Figura .....	57
<b>2. CAPÍTULO 2</b> .....	59
<b>RESPOSTAS FISIOLÓGICAS DE <i>Gallesia integrifolia</i> (SPRENG.) HARMS. CULTIVADA EM DIFERENTES CONDIÇÕES DE LUMINOSIDADE E REGIME HÍDRICO</b> .....	59
Abstract .....	61
<b>2.1 Introdução</b> .....	62
<b>2.2 Material e Métodos</b> .....	65
2.2.1 Coleta do material botânico e condução do experimento em casa de vegetação...	65
<b>2.3 Avaliação dos Parâmetros Fisiológicos</b> .....	66
2.3.1 Quantificação dos Carboidratos Não Estruturais .....	66
2.3.2 Quantificação dos teores de carboidratos solúveis totais .....	67
2.3.3 Quantificação dos teores de Amido .....	67
2.3.4 Quantificação dos pigmentos fotossintéticos .....	68
2.3.5 Fotossíntese – Análise das variáveis de trocas gasosas .....	69
2.3.6 Determinação da fluorescência da clorofila <i>a</i> .....	69
2.3.7 Análise estatística .....	70
<b>2.4 Resultados</b> .....	70
2.4.1 Carboidratos Solúveis .....	70

2.4.2 Amido .....	71
2.4.3 Teor de clorofila das folhas do 2º nó .....	72
2.4.4 Clorofila Folhas cotiledonares .....	73
2.4.5 Fotossíntese .....	74
2.4.6 Fluorescência .....	74
<b>2.5 Discussão .....</b>	<b>75</b>
<b>2.6 Referências .....</b>	<b>84</b>
Figuras .....	88
Tabelas .....	95
Anexo .....	98
<b>3. CAPÍTULO 3 .....</b>	<b>99</b>
<b>ANATOMIA DE FOLHA E RAIZ DE <i>Gallesia integrifolia</i> (SPRENG.) HARMS. CULTIVADA EM DIFERENTES CONDIÇÕES DE LUMINOSIDADE E DISPONIBILIDADE HÍDRICA .....</b>	<b>99</b>
Abstract .....	101
<b>3.1 Introdução .....</b>	<b>102</b>
<b>3.2 Material e Métodos .....</b>	<b>103</b>
3.2.1 Área de estudo .....	103
3.2.2 Coleta de material botânico e condução do experimento.....	104
3.2.3 Análise anatômica .....	104
3.2.4 Análise dos dados .....	105
<b>3.3 Resultados .....</b>	<b>106</b>
<b>3.4 Discussão .....</b>	<b>107</b>
<b>3.5 Referências .....</b>	<b>109</b>
Figura .....	112
Tabela .....	114
Anexo .....	116
<b>Conclusão Geral .....</b>	<b>117</b>

## INTRODUÇÃO GERAL

A exploração de recursos naturais, principalmente de espécies arbóreas vem se intensificando de tal forma, que hoje é prioridade a conservação dos poucos remanescentes existentes e a restauração de áreas degradadas. A produção de mudas de espécies florestais nativas é etapa importante neste processo, o que pode contribuir para a recomposição de áreas degradadas. De acordo com Delarmelina et al. (2014) a produção de mudas com o intuito de recuperar áreas impactadas possui grande importância, devido a intensa devastação das florestas nativas, principalmente, devido à expansão urbana e das fronteiras agropecuárias.

A plântula é extremamente vulnerável a perturbações provocadas por fatores abióticos e bióticos, tais como clima, competições intra e interespecíficas, além da ação antrópica (FERREIRA et al., 2001; PIRES et al., 2012). No início do desenvolvimento, as plântulas possuem limitado sistema radicial e a capacidade de exploração do solo em busca de água e nutrientes minerais é um fator que interfere na competitividade dos indivíduos, favorecendo ou dificultando o recrutamento das plantas co-ocorrentes. Este recrutamento está diretamente relacionado com o crescimento das raízes, estratégias de captação de nutrientes e com as condições (luminosidade, fertilidade do solo) do sítio onde a plântula se fixou (FERREIRA; BORGHETTI, 2004).

Lima et al. (2012) afirmam que um dos principais problemas de produtores de muda de espécies florestais é identificar quais fatores vão influenciar no desenvolvimento e sobrevivência da planta no campo.

Um dos principais fatores ambientais que pode influenciar no crescimento e desenvolvimento do vegetal é a luz, por ser fonte primária na produção de energia, por meio da fotossíntese (CAMPOS; UCHIDA, 2002; DOUSSEAU et al., 2007). A eficiência do crescimento das plantas pode estar relacionada à sua capacidade de se adaptar a diferentes níveis de luz, enquanto plântula, pois modificações nos níveis de luminosidade podem acarretar diferentes respostas das plantas em suas características fisiológicas, bioquímicas, anatômicas e de crescimento (CARVALHO et al., 2006).

As espécies arbóreas variam na sua capacidade de responder a alterações na disponibilidade de luz. Assim vários trabalhos relacionam os efeitos do sombreamento sobre o crescimento dos vegetais, como os estudados por Schwantes et al. (2013) que avaliaram o desenvolvimento inicial de mudas da espécie pau d'alto em ambientes com diferentes luminosidades, concluindo que para se ter um bom desenvolvimento inicial, as mudas devem ser conduzidas com 50 a 75% de intensidade luminosa.

A disponibilidade hídrica é outro fator importante para o crescimento e desenvolvimento das plantas. Em situação de baixa disponibilidade de água no solo, as plantas reduzem a perda de água, ao reduzir a condutância estomática. Para favorecer a turgescência celular em condições de estresse hídrico, ocorrem ajustes no metabolismo celular, por exemplo, via o acúmulo de substâncias orgânicas, como a prolina, o que contribui para a osmorregulação (SILVA et al., 2004).

Castro Neto (2003) afirma que o déficit hídrico é um dos fatores que limita a abertura dos estômatos, afetando o processo fotossintético. De acordo com Amaral et al. (2006), como os estômatos constituem as principais vias de trocas gasosas entre as folhas e o meio externo, o aumento na resistência difusiva estomática pode ocasionar redução na fotossíntese líquida.

Quando as plantas são expostas, seja a estresse biótico ou abiótico, ocorrem alterações no estado funcional das membranas dos tilacóides nos cloroplastos, que provocam mudanças nas características dos sinais de fluorescência, os quais podem ser quantificados nas folhas (BAKER; ROSENQVST, 2004).

A folha é o principal órgão fotossintético e segundo Lima et al. (2012), a área foliar é uma das principais características na avaliação do crescimento do vegetal. De acordo com Larcher (2000) o aumento da área foliar da planta mostra a habilidade da espécie em utilizar a radiação fotossinteticamente ativa e alocar os fotoassimilados em resposta a um ambiente particular de luminosidade. Segundo Lambers e Poorter (1992) a razão de área foliar (RAF = área foliar/ massa seca total da planta) varia em função da área foliar específica (AFE = área foliar/ massa seca foliar). Estes parâmetros são relativamente sensíveis às mudanças ambientais, embora os incrementos na RAF sejam mais consequências do incremento da AFE do que da massa das folhas, já que os valores da AFE são mais sensíveis às alterações da irradiância.

As plantas e os microrganismos formam diversos tipos de interações simbióticas que variam do parasitismo ao mutualismo. As raízes das plantas podem se associar a fungos do Filo Glomeromycota, formando micorrizas arbusculares, que são associações simbióticas mutualistas que ocorrem em mais de 80 % das plantas vasculares (SMITH; READ, 1997). Essa associação é representada como simbiótica, pelo fato dos organismos co-existirem em um mesmo ambiente físico, raiz e solo, onde ambos os simbiontes são beneficiados pela associação, pois a planta supre o fungo com energia para crescimento e manutenção via produtos fotossintéticos, enquanto o fungo provê a planta com água e nutrientes (BERBARA et al., 2006).

De acordo com Berbara et al. (2006) a simbiose é possível porque o fungo produz hifas intra e extra-radulares capazes de absorver elementos minerais do solo e transferi-los ao



ambiente radicial, onde são absorvidos. No córtex radicial ocorre a troca bidirecional principalmente em uma estrutura similar a um haustório chamado de arbúsculo, que são estruturas formadas através da interação de hifas de fungos micorrízicos e a plasmalema de algumas células do córtex. (BERBARA et al., 2006). Ainda segundo os autores, as hifas extraradiciais, são mais eficientes que as próprias raízes na captura de nutrientes, devido suas estruturas extremamente longas e finas.

Smith e Read (1997) afirmam que as plantas podem ser classificadas quanto à sua dependência micorrízica em facultativas, obrigatórias ou não-micorrízicas. Nas espécies vegetais classificadas como facultativas, a disponibilidade de nutrientes no solo é alta e as plantas não necessitam de FMA, somente vai se beneficiar da simbiose em situações nas quais a fertilidade do solo é baixa. As plantas consideradas micorrízicas obrigatórias, não crescem sem a associação com os FMAs mesmo em solos com teores frequentes de disponibilidade de nutrientes. A planta se torna incapaz de absorver P. Já as plantas que não necessitam de FMAs apresentam sistema radicial bem desenvolvido, com muitas raízes finas e pelos radiculares, e são chamadas de não micorrízicas (BERBARA et al., 2006).

Os benefícios da associação micorrízica arbuscular sobre o desenvolvimento inicial de plantas nativas dependerão da somatória de características morfológicas e fisiológicas que contribuem para a fixação destas no ambiente, seja por promover o crescimento ou por aumentar a competitividade por recursos. A associação micorrízica confere à planta maior tolerância a estresses ambientais, tanto bióticas quanto abióticas (MOREIRA; SIQUEIRA, 2002), como maior tolerância ao estresse hídrico (BELTRANO; RONCO, 2008).

Os FMAs promovem ainda maior absorção de nutrientes, principalmente de fósforo, como também de outros íons (LIU et al., 2007), o que pode contribuir para o melhor estabelecimento das plântulas no ambiente terrestre. Então, a planta é beneficiada pelo aumento da absorção de água e nutrientes, principalmente de fósforo, através das hifas fúngicas e, em troca, fornece fotoassimilados (SIQUEIRA et al., 1988).

As reservas das sementes podem representar um fator importante para a formação e manutenção das micorrizas nas fases iniciais de desenvolvimento da plântula, pois fornecem nutrientes e reservas energéticas, favorecendo o crescimento destas, independentemente da associação micorrízica (ALLSON; STOCK, 1995). Estudos recentes com plantas arbóreas brasileiras mostram que a colonização micorrízica arbuscular e a responsividade da planta aos FMA são menores nas espécies clímaxes, formadoras de sementes grandes, do que nas espécies pioneiras, cujas sementes são pequenas (SIQUEIRA et al., 1998; ZANGARO et al., 2000). Espécies clímaxes tendem a persistir por longos períodos de tempo na mata, sem associar-se

aos FMA; no entanto, aumentam o investimento na associação micorrízica, quando as reservas das sementes são esgotadas e, assim, a associação passa a ter maior importância para a aquisição de nutrientes (ZANGARO et al., 2000).

Estudos prévios não publicados demonstraram a dependência da associação micorrízica de plantas de pau d'álho em altas concentrações de fósforo no solo, não havendo o crescimento das plantas em solo esterilizado.

Apesar da importância e diversidade da flora brasileira, o conhecimento sobre a influência dos fatores ambientais no balanço de carbono em espécies nativas ainda é limitado (MATTOS, 1998). Evidências de que espécies tolerantes a sombra estocam mais carboidratos do que as que crescem em um ambiente iluminado foi relatado por Lusk e Piper (2007).

A energia estocada em raízes e caules existe principalmente como carboidratos não estruturais, mencionados como amido e açúcares simples. No entanto, pouco se sabe sobre o estoque desses carboidratos nos caules e raízes das plântulas em seu primeiro ano, nem sua função relativa em determinar diferenças na tolerância ao sombreamento, estresse e coexistência entre espécies (MYERS; KITAJIMA, 2007).

Martinazzo et al. (2007) observaram aumento dos teores de amido em plantas de *Eugenia uniflora* L. mantidas sob sombreamento. Segundo os autores, o aumento do teor de amido nas mudas sombreadas, possibilita que, quando as mesmas forem submetidas a níveis maiores de luminosidade, tenham maior capacidade de enraizamento e resistência a condições adversas, já que o amido atua como substância de reserva.

Os pigmentos fotossintéticos são essenciais para o desenvolvimento das plantas, pois são responsáveis pela captura da energia solar incidente, necessária para a fotossíntese e produção de biomassa. Desta forma a quantificação da clorofila pode determinar o estado fisiológico da planta e estimar a sua produtividade (FERRI, 2004) e adaptabilidade aos diferentes ambientes. Rego e Possamar (2006) também afirmam que os teores de clorofila e carotenóides nas folhas são utilizados para estimar o potencial fotossintético das plantas, pela sua ligação direta com a absorção e transferência de energia luminosa e ao crescimento e à adaptação a diversos ambientes. Os autores observaram que níveis elevados de sombreamento proporcionaram maiores teores de clorofila a, b e total, em mudas de jequitibá-rosa. Pouco são os estudos referentes à quantificação do teor de clorofila e partição de fotoassimilados em plantas nativas, havendo, portanto a necessidade da realização de pesquisas nessa área.

Segundo Larcher (2000) a capacidade fotossintética é uma característica intrínseca de cada espécie vegetal, sendo que as trocas gasosas mudam durante o ciclo do desenvolvimento do indivíduo e dependem do curso anual e até mesmo do curso diário das condições ambientais,

como a luz e a temperatura em torno do vegetal. Hall et al. (1993) mencionam que existem quatro fatores relacionados à fotossíntese que influenciam no incremento da biomassa: a quantidade de luz incidente, que é determinada pelo clima; a proporção da luz interceptada pelas organelas, que depende da estrutura e da cor das partes que formam a planta; a eficiência da conversão da luz interceptada pelas organelas, que é determinada diretamente pelos processos fotossintéticos, expressando a relação direta entre a produtividade e a fotossíntese e a perda de biomassa pela respiração, com finalidade de manter e formar constantemente novos tecidos. Essas adaptações influenciam a planta como um todo.

Os estudos de fluorescência da clorofila a também são importantes pra esclarecer os efeitos das condições osmóticas e hídricas sobre a eficiência fotossintética nas plantas. Lindon et al. (1999) afirmam que a diminuição da eficiência fotossintética, causada por fatores estomáticos ou não-estomáticos, provoca redução no potencial de crescimento dos vegetais.

A plasticidade fenotípica, ou seja, a capacidade de um determinado genótipo de produzir diferentes fenótipos em resposta ao ambiente (AGRAWAL, 2001; LUSK et al., 2008) permite a aclimatação dos organismos a distintas condições do ambiente (DICKISON, 2000).

De acordo com Lima Junior et al. (2005), a plasticidade adaptativa das espécies às diferentes condições de radiação solar, depende do ajuste de seu aparelho fotossintético, para garantir maior eficiência na conversão da energia radiante em carboidratos e, conseqüentemente, em maior crescimento.

As folhas são os órgãos mais plásticos das plantas (DICKSON, 2000; VALLADARES e NIINEMETS, 2008), manifestando esse potencial plástico desde muito cedo (NASCIMENTO et al., 2015). A disponibilidade de luz é muito variável em ambientes florestais, constituindo um fator limitante ao crescimento de plântulas e indivíduos jovens de determinadas espécies (CLARK; CLARK 1992; THÉRY 2001, VALLADARES; NIINEMETS, 2008). Em resposta a essas distintas condições de luz, as folhas frequentemente apresentam respostas plásticas que permitem sua aclimatação (KLICH 2000; RICHARDSON et al. 2001; ROZENDAAL et al. 2006).

Lima et al. (2010) menciona que estudos sobre a adaptação das espécies arbóreas à diferentes condições de luz no seu ambiente de crescimento são importantes para contribuir com o desenvolvimento de técnicas de plantio e manejo de mudas dessas espécies na perspectiva de múltiplos usos da floresta.

*Gallesia integrifolia* (Spreng) Harms, pertencente à família Phytolaccaceae, é conhecida popularmente como pau d'alho, guararema ou ibirarema. Ocorre desde a Bahia até o Paraná, sendo característica da Floresta Semidecídua e da bacia do Paraná. É uma planta que

pode atingir de 15 a 30 metros de altura, com folhas glabras e coriáceas. É perenifólia, heliófita, seletiva higrófila, ocorrendo em terrenos profundos, úmidos e de alta fertilidade. Uma característica desta planta é que exala cheiro de alho, que é sentido em dias com alta umidade relativa do ar (LORENZI, 2000). É uma espécie indicada para reflorestamento e recuperação de áreas degradadas por apresentar crescimento rápido e auxiliar na regeneração natural, devido à intensa produção e dispersão de frutos anemocóricos (DEMUNER et al. 2004; BARBOSA; SANTOS-JUNIOR, 2006). Portanto este estudo avaliou os parâmetros de crescimento, micorrização, respostas fisiológicas e características anatômicas de plantas jovens de *Gallesia integrifolia* submetidas a diferentes níveis de sombreamento e regime hídrico.

## REFERÊNCIAS

- AGRAWAL A. A. Phenotypic Plasticity in the Interactions and Evolution of Species. **Science**, v. 294, p. 321-326, 2001.
- ALLSOPP, N.; STOCK, W. D. Relationship between seed reserves, seedling growth and mycorrhizal responses in 14 related shrubs (Rosidae) from a low - nutrient environment. **Functional Ecology**, v. 9, p. 248-254, 1995.
- AMARAL, J. A. T.; RENA, A. B.; AMARAL, J. F. T. Crescimento vegetativo sazonal do cafeeiro e suas relações com fotoperíodo, frutificação, resistência estomática e fotossíntese. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 41, n. 3, p. 377-384, 2006.
- BAKER, N. R.; ROSENQVST, E. Applications of chlorophyll fluorescence can improve crop production strategies: an examination of future possibilities. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 55, p. 1607-1621, 2004.
- BELTRANO, J.; RONCO, M.G. Improved tolerance of wheat plants (*Triticum aestivum* L.) to drought stress and rewatering by the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus claroides*: Effect on growth and cell membrane stability. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, v. 20, n. 1, p. 29-37, 2008.
- BERBARA, R. L. L.; SOUZA, F. A.; FONSECA, H. M. A. C. **Nutrição Mineral de Plantas**, Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, Viçosa, 432p. 2006.
- BARBOSA, J. M.; SANTOS-JUNIOR, N. A. Produção e tecnologia de sementes aplicadas à recuperação de áreas degradadas. In: **Manual para recuperação de áreas degradadas em matas ciliares do Estado de São Paulo**. São Paulo: Instituto de Botânica, p.78-87, 2006.
- CAMPOS, M. A. A.; UCHIDA, T. Influência do sombreamento no crescimento de mudas de três espécies amazônicas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 37, n. 3, p. 281-288, 2002.
- CARVALHO, N. O. S.; PELACANI, C. R.; RODRIGUES, M. O. R.; CREPALDI, I. C. Crescimento inicial de plantas de licuri (*Syagrus coronata*(Mart.) Becc.) em diferentes níveis de luminosidade. **Revista Árvore**, v. 30, n. 3, p. 351-357, 2006.
- CASTRO NETO, M. T. Efeito do déficit hídrico na transpiração e resistência estomática da mangueira. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 25, n. 1, p. 23-95, 2003.
- CLARK, D. A.; CLARK, D. B. Life history diversity of canopy and emergent trees in a neotropical rain forest. **Ecological Monographs**, v. 62, p. 315-344, 1992.
- DELARMELINA, W. M.; CALDEIRA, M. V. W.; FARIA, J. C. T.; GONÇALVES, E. O.; ROCHA, R. L. F. Diferentes substratos para a produção de mudas de *Sesbania virgata*. **Floresta Ambiente**, v. 21, n. 2, p. 224-233, 2014.

- DEMUNER, V. G.; HEBLING, S. A.; DAGUSTINHO, D. M. Efeito do sombreamento no crescimento inicial de *Gallesia integrifolia* (Spreng.) Harms. **Boletim do Museu de Biologia Mello Leitão**, v. 17, p. 45–55, 2004.
- DICKISON, W. C. **Integrative Plant Anatomy**. USA, Academic Press. 533p. 2000.
- DOUSSEAU, S.; ALVARENGA, A. A.; SANTOS, M DE, O. ARANTES, L DE, O. Influência de Diferentes Condições de Sombreamento sobre o Crescimento de *Tapirira guianensis* Alb. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 5, n. 2, p. 477-479, 2007.
- FERREIRA, R. A.; ALVARENGA, B. S.; CLÁUDIO, D. A.; MATOS, M. M. Morfologia de frutos, sementes, plântulas e plantas jovens de *Dimorphandra mollis* Benth. – favaveira (Leguminosae-Caesalpinioideae). São Paulo, **Revista Brasileira de Botânica**, v.24, n.3, p. 303-309, 2001.
- FERREIRA, A. G.; BORGHETTI, F. **Germinação: do básico ao aplicado**. Porto Alegre: Arned. 2004.
- FERRI, C. P. Narrow band spectral indexes for chlorophyll determination in soybean canopies. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, v. 16, n.3, p. 131-136. 2004.
- GIANOLI, E.; VALLADARES, F. Studing phenotypic plasticity: the advantages of a broad approach. **Biological Journal of the Linnean Society**, v. 105, p. 1-7, 2012.
- HALL, D. O.; SCURLOCK, J. M.; BOLHÀR-NORDENKAMPF, H. R.; LEEGOOD, R. C.; LONG, S. P. **Photosynthesis and production in a changing environment**. A field and laboratory manual, Chapman & Hall, London. 1993.
- KLICH M. G. Leaf variations in *Elaeagnus angustifolia* related to environmental heterogeneity. **Environmental and Experimental Botany**, v. 44, p. 171-183. 2000.
- LAMBERS, H.; POORTER, H. Inherent variation in growth rate between higher plants: a search for physiological causes and ecological consequences. **Advances Ecology Research**, v. 23, p. 187-261. 1992.
- LARCHER, W. **Ecofisiologia Vegetal**: São Carlos, Rima, 2000.
- LIMA JUNIOR, É. C.; ALVARENGA, A. A.; CASTRO, E. M.; VIEIRA, C. V.; OLIVEIRA, H. M. Trocas gasosas, características das folhas e crescimento de plantas jovens de *Cupania vernalis* Camb. submetidas a diferentes níveis de sombreamento. **Ciência Rural**, v. 35, n. 5, p. 1092-1097, 2005.
- LIMA, M. A. O.; MIELKE, M. S.; LAVINSKY, A. O.; FRANÇA, S.; ALMEIDA A. A. F.; GOMES, F.P. Crescimento e plasticidade fenotípica de três espécies arbóreas com uso potencial em sistemas agroflorestais. **Scientia Forestalis**, v. 38, p. 527-534, 2010.

- LIMA, R. T.; SOUZA P, J. O. P; RODRIGUES, J. C.; LIMA, M. J. A. Modelos para estimativa da área foliar da mangueira utilizando medidas lineares. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 34, n. 4, 2012.
- LINDON, F. C.; RAMALHO, J. C.; BARREIRO, M. G.; LAURIANO, J. A. Modulation of photosystem 2 reactions mediated by aluminium toxicity in *Zea Mays*. **Photosynthetica**, v. 34, n. 1, p. 151-156, 1999.
- LIU, J.; MALDONADO-MENDOZA, I.; LOPEZ-MEYER, M.; CHEUNG, F.; TOWN, C. D.; HARRISON, M. J. Arbuscular mycorrhizal symbiosis is accompanied by local and systemic alterations in gene expression and an increase in disease resistance in the shoots. **The Plant Journal**. v. 50, p. 529-544, 2007.
- LORENZI, H. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**. V.1. 3ªed. Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum, 2000.
- LUSK, C. H.; PIPER, F. I. Seedling size influences relationships of shade tolerance with carbohydrate – storage patterns in a temperate rain forest. **Functional Ecology**, v. 21, p. 78-86, 2007.
- LUSK, C. H.; REICH, P. B.; MONTGOMERY, R. A.; ACKERLY, D. D.; CAVENDER-BARES, J. Why are evergreen leaves so contrary about shade? **Trends in Ecology & Evolution**, v. 23, p. 299-303, 2008.
- MARTINAZZO, E. G.; ANESE, S.; WANDSCHEER, A. C. D.; PASTORINI, L. H. Efeito do Sombreamento sobre os Teores de Carboidratos Não-estruturais de *Eugenia uniflora* L. (Pitanga) - Myrtaceae. **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v. 5, supl. 2, p. 168-170, 2007.
- MATTOS, E. A. Perspectives comparative ecophysiology of some brasilian vegetation types: leaf CO<sub>2</sub> and H<sub>2</sub>O gas exchange, chlorophyll a fluorescence and carbon isotope discrimination. In.: Scarano, F.R. & Franco, A.C. (Eds). Ecophysiological strategies of xerophytic and amphibious plants em the neotropics. **Series Oecologia Brasiliensis**. v. 4, p. 1-22, 1998.
- MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O. **Micorrizas. In: Microbiologia e bioquímica do solo**. Lavras, UFLA, 2002.
- MYERS, J. A.; KITAJIMA, K. Carbohydrate storage enhances seedling shade and stress tolerance in a neotropical forest. **Journal of Ecology**, v. 95, p. 383-395, 2007.
- NASCIMENTO, K. C.; PASTORINI, L. H.; ROMAGNOLO, M. B.; SOUZA, L. A. Do *Eugenia hiemalis* seedling leaves under different light conditions develop phenotypic plasticity? **Plant Ecology**, v. 216, p. 1571-1581, 2015.
- PIRES, L. A.; CARDOSO, V. J. M.; RODRIGUES, R. R.; JOLY, C. A. Sobrevivência e crescimento inicial de *Ocotea pulchella* (Lauraceae) em uma floresta de restinga da Ilha do Cardoso, SP. **Rodriguésia**, v. 63, n. 4, p. 763-774, 2012.

- REGO, G. M.; POSSAMAR, E. Efeito do Sombreamento sobre o Teor de Clorofila e Crescimento Inicial do Jequitibá-rosa. **Boletim de Pesquisa Florestal**, n. 53, p. 179-194, 2006.
- RICHARDSON, A. D.; ASHTON, P. M. S.; BERLYN, G. P.; MCGRODDY, M. E.; CAMERON, I. R. Within-crown foliar plasticity of western hemlock, *Tsuga heterophylla*, in relation to stand age. **Annals of Botany**, v. 88, p. 1007-1015, 2001.
- ROZENDAAL, D. M. A.; HURTADO, V. H.; POORTER, L. Plasticity in leaf traits of 38 tropical tree species in response to light; relationships with light demand and adult stature. **Functional Ecology**, v. 20, p. 207-216, 2006.
- SCHWANTES, D.; FILHO, H. S.; KLEIN, J.; MEZZALIRA, E.; GUIMARÃES, VF. Desenvolvimento de plantas jovens de *Galesia integrifolia* submetidas a diferentes níveis de luminosidade. **Cultivando o saber**, v. 6, n. 2, p. 67-73, 2013.
- SILVA, E. C.; NOGUEIRA, R. J. M. C.; NETO, A. D. A.; BRITO, J. Z.; CABRAL, E. L. Aspectos ecofisiológicos de dez espécies em uma área de caatinga no município de Cabaceiras, Paraíba, Brasil. *Iheringia*, **Série Botânica**, v. 59, n. 2, p. 201-205, 2004.
- SIQUEIRA, J. O.; CARNEIRO, M. A. C.; CURI, N.; SILVA, S. C. da; DAVIDE, A. C. Mycorrhizal colonization and mycotrophic growth of native woody species as related to successional groups in southeastern Brasil. **Forest Ecology and Management**, v. 107, p. 241-252, 1998.
- SMITH, S. E.; READ, D. J. **Mycorrhizal symbiosis**. London, Academic Press. 1997.
- THÉRY M. Forest light and its influence on habitat selection. **Plant Ecology**, 153:251-261, 2001.
- VALLADARES, F.; NIINEMETS, U. Shade tolerance, a key plant feature of complex nature and consequences. **Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics**, v. 39, p. 237-257, 2008.
- ZANGARO, W.; BONONI, V. L. R.; TRUFEM, S. F. B. Mycorrhizal dependency, inoculum potential and habitat preference of native woody species in South Brazil. **Journal of Tropical Ecology**, v. 16, p. 603-622, 2000.



## CAPÍTULO 1

### **CRESCIMENTO E COLONIZAÇÃO MICORRÍZICA DE PLANTAS JOVENS DE *Gallesia integrifolia* (SPRENG.) HARMS.**

Artigo Elaborado e formatado  
conforme as normas para  
publicação científica no  
periódico Acta Botânica  
Brasilica.

**ARTIGO ORIGINAL****CRESCIMENTO DE PLANTAS JOVENS DE *Galesia integrifolia* (SPRENG.)  
HARMS.**

Taysi Pereira Firmino<sup>1</sup>, Caroline Barbeiro<sup>2</sup>, Mariza Barion Romagnolo<sup>2</sup>, Rosilaine Carrenho<sup>1,2</sup>, Lindamir Hernandez Pastorini<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Curso de Pós-Graduação em Biologia Comparada, Universidade Estadual de Maringá, Maringá, Paraná, Brasil. taysi\_in@hotmail.com

<sup>2</sup>Centro de Ciências Biológicas - UEM, Departamento de Botânica, Laboratório de Fisiologia Vegetal, Maringá, PR, Brasil.

**CRESCIMENTO E COLONIZAÇÃO MICORRÍZICA DE PLANTAS JOVENS DE *Gallesia integrifolia* (SPRENG.) HARMS. CULTIVADAS EM DIFERENTES NÍVEIS DE LUMINOSIDADE E REGIME HÍDRICO**

**ABSTRACT**

(Growth and mycorrhizal colonization of young *Gallesia integrifolia* (Spreng.) Harms. plants cultivated in different light levels and water regime). Fruits were collected at the Ecology Station of Caiuá in September 2014 to analyze the growth parameters of young *Gallesia integrifolia* plants maintained in different light and water stress levels and to evaluate plants' response to mycorrhizal factors. Assays were performed in a greenhouse under three light levels (light without any shade; with 50% and 80% shade) and two hydric regimes (plants irrigated daily and plants irrigated only twice a week). Results showed that light had the greatest effect on plant growth. At the start of evaluation (30 days), the interaction of light and water availability affected the dry mass of the root, total dry mass and all ratios of dry mass of plants under 80% shading. On the 90th day, the interaction of variation factors affected the dry mass of the stem, aerial part and the diameter of the root-stem segment which had a lower rate in plants with 80% shading. The interaction between light and water availability caused an increase in the ratio of the foliar area and the specific foliar area of the plant under 80% shading. The mycorrhizal association of the *Gallesia integrifolia* plants provided the establishment of the plants even under water restrictions.

**Keywords:** foliar area, light, mycorrhizal association, shading, water stress.

## **CRESCIMENTO E COLONIZAÇÃO MICORRÍZICA DE PLANTAS JOVENS DE *Galesia integrifolia* (SPRENG.) HARMS. CULTIVADAS EM DIFERENTES NÍVEIS DE LUMINOSIDADE E REGIME HÍDRICO**

### **1.1 INTRODUÇÃO**

O período de desenvolvimento inicial de uma planta é considerado crítico no ciclo de vida de muitas espécies de plantas, podendo levar a espécie à extinção, se ocorrer algum problema no processo adaptativo (Amo-Rodrigues & Gomez-Pompa 1979). Devido a isto, muitos estudos sobre plântulas têm sido desenvolvidos por pesquisadores, principalmente aqueles relacionados à sua morfologia e à germinação de sementes, as quais fornecem subsídios úteis para os trabalhos em viveiros, para o armazenamento de sementes e na regeneração de florestas (Souza & Oliveira 2004).

A análise do crescimento funcional pode ser particularmente interessante para quantificar o período de dependência das reservas da semente, nitrogênio e fósforo em relação ao estabelecimento da simbiose micorrízica (Kitajima 2002).

O uso de espécies florestais nativas para enriquecimento de matas e recuperação de áreas degradadas é ainda dificultado, devido a carência de informações sobre as condições ideais de produção de mudas dessas espécies (Santos *et al.* 2013). Além disso, existem diversos fatores que podem influenciar no crescimento e desenvolvimento de uma planta, como a disponibilidade de nutrientes, luz e água (Sasaki & Felipe 1992), entre outros.

Muitas variáveis de crescimento são utilizadas para avaliar o comportamento das mudas de espécies florestais em relação à condição luminosa, sendo que, esse crescimento pode ser medido em termos de mudança de massa fresca, durante um determinado período. No entanto, Taiz e Zeiger (2013) afirmam que a massa fresca de plantas crescendo no solo, oscila em resposta às alterações da disponibilidade hídrica, sendo que em tais situações, as medições da massa seca são mais apropriadas.

A disponibilidade de luz em ambientes florestais é um dos fatores que influencia o desenvolvimento das plantas nestes ambientes. Modificações nos níveis de luz podem provocar diferentes respostas das plantas em suas características fisiológicas, bioquímicas, anatômicas e de crescimento (Carvalho *et al.* 2006). A luz influencia, portanto no crescimento das plantas, por ser fonte primária na produção de energia, por meio da fotossíntese (Campos & Uchida 2002; Dousseau *et al.* 2007).

De acordo com Silva *et al.* (2007) e Carom *et al.* (2010) a eficiência do crescimento das plantas está relacionada à habilidade de se adaptar a diferentes níveis de luminosidade do ambiente, enquanto plântula. Em resposta das plantas a esse fator, as espécies podem ser classificadas em dois grandes grupos: espécies pioneiras e espécies clímax ou não pioneiras (Swaine & Whitmore 1988).

Outro fator importante no crescimento e desenvolvimento das plantas é a disponibilidade hídrica. Segundo Santos & Carlesso (1998) as culturas de plantas cultivadas em todo o mundo são afetadas pela ocorrência de déficit hídrico. A deficiência hídrica provoca alterações no comportamento das plantas cuja irreversibilidade pode depender do genótipo da planta, do tempo de duração, da severidade do déficit e do estágio de desenvolvimento da planta (Santos & Carlesso 1998).

Fernández *et al.* (1996) afirmam que a área foliar é considerada um importante fator da produção, determinando o uso da água pelas plantas, mas seu potencial de produtividade é rigorosamente inibido quando exposta a déficit hídrico. Além disso, a área foliar é considerada um importante fator do ponto de vista fisiológico por descrever a alocação da biomassa da folha por unidade de área (Poorter & Garnier 1999), constituindo uma das principais características na avaliação do crescimento do vegetal (Lima *et al.* 2012). De acordo com Larcher (2000) o aumento da área foliar da planta assegura a habilidade da

espécie em utilizar a radiação fotossinteticamente ativa, e alocar os fotoassimilados em resposta a um ambiente particular de luz.

As plantas e os microrganismos formam diversos tipos de interações simbióticas as quais podem variar do parasitismo ao mutualismo. As raízes podem se associar a fungos do Filo Glomeromycota, formando as micorrizas arbusculares, que são associações simbióticas mutualistas que ocorrem em mais de 80 % das plantas vasculares (Smith & Read 1997). Essa associação é representada como simbiótica, devido os organismos co-existirem em um mesmo ambiente físico, raiz e solo, onde a planta supre o fungo com energia para crescimento e manutenção via produtos fotossintéticos, enquanto o fungo provê a planta com água e nutrientes, ou seja, ambos os simbiossomas se beneficiam desta associação (Berbara *et al.* 2006).

A associação micorrízica confere à planta maior tolerância a estresses ambientais, tanto bióticas quanto abióticas (Moreira & Siqueira 2002) como maior tolerância ao estresse hídrico (Beltrano & Ronco 2008). Os FMA promovem ainda maior absorção de nutrientes, principalmente de fósforo, como também de outros íons (Liu *et al.* 2007), o que pode contribuir para o melhor estabelecimento das plântulas no ambiente terrestre. Então, a planta é beneficiada pelo aumento da absorção de água e nutrientes, principalmente do fósforo, através das hifas fúngicas e, em troca, fornece fotoassimilados (Siqueira 1988).

De acordo com Lorenzi (2000) *Gallesia integrifolia*, Phytolaccaceae, conhecida como pau d'algo, guararema ou ibirarema, ocorre desde a Bahia até o Paraná, sendo característica da Floresta Semidecídua e da bacia do Paraná. É uma planta que pode atingir de 15 a 30 metros de altura, com folhas glabras e coriáceas. É perenifólia, heliófita, seletiva higrófila, ocorrendo em terrenos profundos, úmidos e de alta fertilidade. Uma característica desta planta é que exala cheiro de alho, que é sentido em dia com alta umidade relativa do ar.

Considerando que estudos prévios não publicados demonstraram a dependência da associação micorrízica de plantas de pau d'algo em maiores concentrações de fósforo no

solo, não havendo o crescimento das plantas em solo esterilizado, ainda existem outras variáveis importantes, que podem restringir o sucesso da planta no ambiente, como a disponibilidade de luz e água.

Assim, objetivou-se aprimorar a pesquisa sobre esta espécie, avaliando os parâmetros de crescimento e colonização micorrízica das plantas mantidas em diferentes condições de luminosidade e disponibilidade hídrica.

## 1.2 MATERIAL E MÉTODOS

Sâmaras de *Gallesia integrifolia* de coloração parda foram colhidas de cinco árvores matrizes localizadas na Estação Ecológica do Caiuá, em agosto de 2014. Esta unidade de conservação localizada no município de Diamante do Norte, noroeste do PR, (52° 49' a 52° 53' W e 22° 34' a 22° 37' S) apresenta altitude que varia de 240 a 380 m (IAP 1997). A cobertura vegetal da região pertence ao Bioma Mata Atlântica, e a Floresta Estacional Semidecidual.

As sâmaras foram levadas ao laboratório de Fisiologia Vegetal da Universidade Estadual de Maringá, onde foram processadas, retirando-se a expansão alada e obtendo-se a semente.

Inicialmente o solo foi preparado para o cultivo das plantas, sendo seco ao ar livre, peneirado para retirada da matéria orgânica particulada e adubado com P300 (mg.dm<sup>-3</sup> solo). Foram utilizados 180 vasos, os quais receberam 1 kg de substrato cada.

Os experimentos foram conduzidos de setembro de 2014 a fevereiro de 2015, no jardim didático do Departamento de Biologia (DBI), da Universidade Estadual de Maringá (UEM), Município de Maringá.

As sementes de *G. integrifolia* foram semeadas em 180 vasos, sendo que cada vaso recebeu cinco sementes e após a emergência, foi mantida apenas uma plântula por vaso.

Os vasos foram mantidos nos seguintes tratamentos em casa de vegetação: três níveis de luz (sob luz sem sombrite e sob 50% e 80% de sombreamento), e dois regimes hídricos (plantas irrigadas todos os dias e plantas irrigadas somente duas vezes por semana). Para os testes nos diferentes níveis de luz, as plantas foram mantidas no jardim didático do (DBI), onde para o tratamento em luz plena não receberam cobertura com sombrite, enquanto que para os tratamentos de sombreamento, as plantas foram mantidas sob cobertura de sombrite de acordo com o índice de sombreamento indicado. Após, essas plantas foram divididas para o tratamento de plantas irrigadas diariamente e plantas irrigadas apenas duas vezes por semana. Foram realizadas medições de luz com um luxímetro, sendo padronizadas da mesma forma para todas as condições, sendo efetuadas durante três dias nos horários de 10h, 12h e 16h e tomados três valores em intervalos de 30 segundos, sobre a bancada, à altura de 70 cm do nível do solo.

Sessenta dias após a diferenciação do primeiro eófilo, iniciou-se o tratamento de estresse hídrico, onde metade das plantas recebiam diariamente 50 ml de água, enquanto as plantas submetidas ao estresse recebiam a mesma quantidade apenas duas vezes por semana. Assim, as plantas de *G. integrifolia* foram submetidas aos tratamentos: sem sombrite e irrigadas diariamente (SS+água), sem sombrite irrigadas duas vezes por semana (SS+stress), 50% de sombreamento e irrigadas diariamente (50%+água), 50% de sombreamento e irrigadas duas vezes por semana (50%+stress), 80% de sombreamento e irrigadas diariamente (80%+água) e 80% de sombreamento e irrigadas duas vezes por semana (80%+stress).

A avaliação do crescimento foi realizada em três períodos: aos 30, 60 e 90 dias após o início do período de estresse (DIH), sendo escolhidas aleatoriamente 10 plantas de cada tratamento (sendo utilizadas cinco para avaliação da colonização micorrízica e cinco para determinação da matéria seca e demais parâmetros de crescimento), totalizando 60 plantas avaliadas por período de amostragem. Para retirada das plantas, sem que estas fossem



danificadas, os sacos foram rompidos verticalmente e a terra removida com água corrente, para evitar a perda de fragmentos da raiz. Foram consideradas as medidas das seguintes variáveis morfológicas: altura (H) comprimento da raiz primária (CR), diâmetro do coleto (DC), massa seca das folhas (MSF), massa seca do caule (MSC), massa seca da raiz (MSR), massa seca da parte aérea (MSPA), massa seca total (MST), contagem do número de folhas (NF) e área foliar (AF) aos 30, 60 e 90 dias após o início do período de estresse. Calculou-se, também a razão entre massa seca da raiz/massa seca da parte aérea (MSR/MSPA), massa seca da raiz/massa seca total (MSR/MST), massa seca das folhas/massa seca total (MSF/MST), massa seca do caule/massa seca total (MSC/MST), massa seca da parte aérea/massa seca total (MSPA/MST).

A altura e o comprimento da raiz foram determinados com o auxílio de uma régua graduada em milímetros. Para a medida do diâmetro do coleto foi utilizado um paquímetro digital. A altura da planta foi considerada desde o colo até o ápice da planta. Depois de realizadas as medições, para as avaliações de massa, as plantas foram separadas em raiz, caule e folhas e colocadas em embalagem de papel com identificação, sendo em seguida submetidas à secagem em estufa a 60°C, durante 7 dias. As determinações da matéria seca dos diferentes órgãos foram obtidas em balança analítica de precisão modelo MARK/M214Ai.

O número de folhas foi obtido através da contagem direta das folhas totalmente expandidas de cada planta.

Para a análise da área foliar (AF) foram utilizadas cinco plantas de cada tratamento, estas foram levadas ao laboratório de Fisiologia Vegetal da UEM, onde as folhas completamente expandidas de cada indivíduo foram digitalizadas em scanner, e os valores de área foliar foram determinados através das medidas efetuadas pelo Programa Image Pro Plus. Outros parâmetros de crescimento foram obtidos como: área foliar específica (AFE), razão de área foliar (RAF), razão altura/massa seca da parte aérea (H/MSPA) e Razão Altura/Diâmetro

Coletor (H/DC). A área foliar específica (AFE) foi determinada a partir da razão entre os valores da área foliar (AF) expressos em cm<sup>2</sup> e a massa seca das folhas (MSF) expressos em g. A razão de área foliar (RAF) foi determinada a partir dos valores de área foliar (AF) e massa seca total da planta (MST). A razão Altura/Diâmetro do coletor foi obtida através dos valores da altura da planta (H) e diâmetro do coletor (DC).

Para avaliação da colonização radicial por fungos micorrízicos arbusculares, cinco plantas de cada tratamento foram coletadas aleatoriamente em cada período. As raízes foram lavadas em água corrente para retirada do substrato aderido, e conservadas em etanol a 50%. Posteriormente foram lavadas em água corrente novamente e levadas ao banho-maria em tubos preenchidos com KOH 10%, para clareamento do córtex. Depois foram novamente lavadas em água de torneira e acidificadas com HCl 5%. Após, foram coradas com azul de tripano, em banho-maria, segundo a metodologia descrita por Phillip & Hayman (1970). As raízes foram armazenadas em vidros contendo solução conservante até a data da análise. A avaliação da colonização radicial foi realizada sob microscópio estereoscópio, segundo metodologia descrita por Giovannetti & Mosse (1980). Houve casos onde o clareamento foi insuficiente para a observação do córtex radicial, então as raízes foram montadas em lâminas e observadas em microscópio óptico e a quantificação da colonização seguiu os critérios estabelecidos por Trouvelot, Kough & Gianinazzi-Pearson (1986).

O experimento seguiu um fatorial (3x2) sendo três níveis de luminosidade (50% e 80% de sombreamento e sem sombreamento – SS) e dois níveis de disponibilidade hídrica (plantas irrigadas todos os dias e plantas irrigadas duas vezes por semana). Os parâmetros de crescimento (H, CR, NF, MSF, MSC, MSR, MST, MSPA, DC, AF) e as razões (MSR/MSPA, MSR/MST, MSF/MST, MSC/MST, MSPA/MST, RAF, AFE, H/MSPA e H/DC) foram submetidos à análise de variância ANOVA e comparados pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

### 1.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

As avaliações dos parâmetros de crescimento são apresentados nas tabelas 1, 2 e 3 e o efeito dos níveis de luz e disponibilidade hídrica e sua interação é apresentado nos quadros 1, 2 e 3 para as três épocas de análise.

De modo geral, a luz foi o fator que mais influenciou o crescimento das plantas nas três épocas de análise (Quadro 1, 2 e 3 e Tabela 1, 2 e 3). Aos 30 DIH observou-se interação entre o fator luz e disponibilidade de água em relação aos parâmetros MSR, MST, MSR/MSPA, MSR/MST, MSF/MST, MSC/MST e MSPA/MST, enquanto que aos 90 DIH ocorreu interação para os parâmetros MSC, MSPA, DC, MSC/MST, AF, RAF e AFE. Já aos 60 DIH não observou-se interação dos fatores de variação em relação aos parâmetros de crescimento.

As mudas de *G. integrifolia* apresentaram variações de crescimento, quando submetidas aos três diferentes níveis de luz e regime hídrico. A emergência das plântulas, se iniciou a partir do sétimo dia após a semeadura. Em geral, aos 30 dias após o início do tratamento hídrico (DIH) não houve diferença significativa em relação à altura da parte aérea (H), em todos os tratamentos (Tab. 1). No entanto, aos 60 e 90 DIH foi observado efeito da luz e da disponibilidade hídrica no crescimento da parte aérea (Quadro 2 e 3 e Tabela 2 e 3), onde de plantas submetidas a 50% de sombreamento e irrigadas diariamente apresentaram maior altura, em relação as que estavam sob tratamento sem sombrite, em ambas condições de regime hídrico. Resultados semelhantes foram observados com *Tabebuia heptaphylla*, quando cultivadas à 50% de luminosidade apresentando maior crescimento em altura do que as plantas submetidas a pleno sol e sombra natural (Siebeneichler *et al.* 2008).

Demuner *et al.* (2004) verificaram em plantas de *G. integrifolia*, que a partir de 60 dias ocorreu uma elevação da altura em plantas submetidas a 45 e 90% de sombreamento, enquanto as plantas que estavam sob pleno sol tinha um crescimento significativamente

menor. Aos 90 DIH verificou-se maior H para as plantas sob 50%+água (33,82 cm) e 80%+água (29,66 cm), sendo a menor altura encontrada no tratamento SS+stress (19,34 cm), (Tab. 3).

Com relação ao comprimento da raiz (CR) e ao número de folhas (NF) não foram encontradas diferenças significativas entre os tratamentos nos três períodos de avaliação das amostras (Tabs. 1, 2 e 3).

Aos 30 dias após o início do tratamento hídrico, as plantas mantidas sob 50% sombreamento e sem sombrite apresentaram valor de massa seca foliar (MSF) superior a 40% em relação a massa seca das folhas de plantas mantidas sob 80% de sombreamento, tanto irrigadas diariamente quanto às irrigadas duas vezes por semana. Aos 60 e 90 DIH, considerando os mesmos tratamentos, a MSF foi superior a 50 e 80% da MSF de plantas sob 80% de sombreamento. Isto é confirmado pelo efeito da luz sobre a MSF como apresentado nos Quadros 2 e 3. Resultados similares foram encontrados por Siebeneichler *et al.* (2008) em *Tabebuia heptaphylla*, onde os maiores valores de massa seca das folhas foram observados nas plantas a pleno sol e com 50% de luminosidade, diferindo significativamente das plantas sob sombra natural. Costa *et al.* (2011) também verificaram em seu estudo com *Jatropha curcas*, que em plantas submetidas à 50% de sombreamento ocorreu maior acúmulo de massa seca de folhas e massa seca total.

Em relação à maior massa seca do caule (MSC) houve interação entre o efeito da luz e a disponibilidade hídrica aos 90 DIH (Quadro 3). Assim, considerando as plantas irrigadas todos os dias, a maior MSC foi verificada nos tratamentos 50%+água e a menor no tratamento 80%+água. Já para as plantas mantidas sob irrigação duas vezes por semana, a maior MSC foi encontrada para as plantas sob 50%stress e SS+stress. Comparando as plantas sob a mesma condição de luz e diferentes disponibilidades hídricas, a maior MSC foi encontrada nas plantas irrigadas diariamente (Tabela 3). Assim, observou-se o efeito negativo da menor

disponibilidade hídrica sobre a MSC e o efeito da luz, sendo que o tratamento 80% de sombreamento influenciou negativamente esse parâmetro. De acordo com Larcher (2000), as plantas quando estão em maior nível de luminosidade, aumentam sua taxa fotossintética, isto faz com que ocorra um incremento no teor de carboidratos nas folhas, caule e raiz, o que influencia na elevação da massa seca. Fonseca *et al.* (2002) também verificaram efeito linear decrescente na massa seca do caule de plantas de *Trema micrantha* mantidas sob sombreamento.

Quanto à massa seca da raiz (MSR), aos 30 DIH houve interação entre o efeito da luz e disponibilidade hídrica (Quadro 1), sendo que as plantas mantidas sob tratamento sem sombrite e sob estresse (SS+stress) apresentaram maior massa em relação aos demais tratamentos (Tab. 1), isto devido a alterações de crescimento da planta, ocorrendo maior investimento em massa da raiz, possibilitando maior sucesso na obtenção de água, já que estava em condição de alta luminosidade e déficit hídrico. Aos 60 e 90 DIH não houve interação entre as fontes de variação, somente efeito da luz, verificando-se que as plantas submetidas a 50% de sombreamento e sem sombrite, em ambas condições hídricas, obtiveram valor de MSR superior a 300% aos encontrados para plantas sob 80% de sombreamento (Tabelas 2 e 3). Resultado semelhante foi observado por Silva *et al.* (2007), em plantas de *Hymenaea parvifolia*, onde estas quando foram expostas a maior intensidade luminosa apresentaram maior acúmulo de massa seca na raiz, permitindo uma maior absorção de água e nutrientes, estratégia utilizada pela planta para suportar altas taxas de transpiração e fotossíntese.

A maior massa seca total (MST), aos 30 dias, apresentou interação entre os fatores luz e disponibilidade hídrica, onde as plantas sem sombrite e 50%+água apresentaram maior MST. Considerando somente a disponibilidade hídrica verificou-se diferença entre os tratamentos SS+água e SS+stress, sendo a maior MST no tratamento SS+stress (Tabela 1). Já

aos 60 e 90 DIH não houve interação entre os fatores de variação. Segundo Cruz (2006) quanto maior for o valor da MST, melhor será a qualidade da muda. Felfili *et al.* (1999) também observaram maior produção de matéria seca total nas plantas de *S. paniculatum* mantidas sob 50% de sombreamento e a pleno sol, enquanto as mudas submetidas ao maior nível de sombreamento (70 e 90%) apresentaram as menores médias de biomassa. Siebeneichler *et al.* (2008), também observaram que a luminosidade promoveu diferença no acúmulo de massa seca total em plantas de *Tabebuia heptaphylla*, onde a condição de 50% de luminosidade apresentou tendência de maior acúmulo de biomassa total, seguido da condição de sol pleno, diferindo estatisticamente apenas das plantas expostas à ambiente sob sombra natural. Os resultados obtidos no presente trabalho indicam que, aos 30 dias, *G. integrifolia* demonstra maior acúmulo de massa em ambiente sob maior disponibilidade de luz.

Neste estudo, as plantas de pau d'algo mantidas sob 80% de sombreamento apresentaram, em todas as épocas, as menores médias de massa seca foliar (MSF), massa seca do caule (MSC), massa seca da raiz (MSR) e conseqüentemente a menor massa seca total (MST) em todos os períodos de análise. Freitas *et al.* (2012), constatou que plantas de *Sclerolobium paniculatum* submetidas a pleno sol apresentaram maior massa seca das folhas, caule, raiz e total, sendo que em todos os parâmetros avaliados apresentaram incrementos de massa com o aumento da luminosidade. Feijó *et al.* (2009) observaram maior crescimento de plântulas de *G. integrifolia* quando estas foram mantidas sob 25 e 50% de sombreamento. No entanto, os autores observaram redução significativa do crescimento quando as plântulas de pau-d'algo estavam sob 75% de sombreamento, o que também foi verificado no presente estudo, sob 80% de sombreamento, onde foram encontrados os menores valores para os parâmetros de crescimento, como menor massa seca do caule e da parte aérea e menor diâmetro do coleto aos 90 DIH (Tab. 3).

Segundo, Scalon *et al.* (2002) o diâmetro do coleto (DC) é um parâmetro muito importante na avaliação do potencial de sobrevivência e crescimento da muda após o plantio. De acordo com a análise bifatorial, não houve interação dos fatores de variação sobre o diâmetro do coleto das plantas de pau d'álho aos 30 e 60 DIH, ocorrendo apenas efeito da luz aos 30 dias e de ambos aos 60 dias. Aos 90 DIH houve interação entre o fator luz e disponibilidade hídrica sobre o parâmetro DC, sendo o menor valor encontrado nas plantas sob 80% de sombreamento, independente da disponibilidade hídrica. Esta redução do diâmetro do coleto verificada nas plantas submetidas a 80% de sombreamento, independente da disponibilidade hídrica também foi observado por Ferreira *et al.* (2012) para plantas de Fabaceae arbóreas, quando mantidas sob sombreamento. Segundo Reis (1991), plantas com maior diâmetro apresentam melhores condições de sobrevivência por apresentarem maior capacidade de formação e crescimento de novas raízes. Assim o maior valor de diâmetro do coleto observado em plantas mantidas sob 50%+agua, SS+agua e SS+stress pode indicar maior taxa de sobrevivência após o plantio (Sturion & Iede 1982).

Demuner *et al.* (2004) também constataram que o maior diâmetro do coleto de plantas de *G. integrifolia*, foram encontradas no tratamento 45% de sombreamento. Felfili *et al.* (1999) observaram que plântulas de *Sclerolobium paniculatum*, apresentaram maior diâmetro do coleto quando submetidas a 50% de sombreamento e Siebeneichler *et al.* (2008) avaliando a espécie *Tabebuia heptaphylla* observaram redução no diâmetro do coleto em plantas submetidas ao aumento de sombreamento.

Em relação à massa seca da parte aérea (MSPA), aos 90 DIH, este parâmetro foi significativamente maior para as plantas sob 50%+agua, seguido das plantas SS+agua (Tab. 3), ocorrendo interação significativa entre luz e disponibilidade hídrica (Quadro 3). Aos 30 e 60 DIH não houve interação entre as fontes de variação. Resultado semelhante foi observado por Santos *et al.* (2013) em mudas de *Caesalpinia ferrea*, que também apresentaram maior

massa seca da parte aérea quando submetidas a ambientes com 50% de luminosidade. A menor MSPA foi observada nos tratamentos submetidos a 80% de sombreamento, não diferindo significativamente entre as plantas irrigadas diariamente e as que estavam em estado de estresse hídrico (Tab. 3). De acordo com Gomes & Paiva (2006), os maiores valores de massa seca da parte aérea representam mudas mais lignificadas e rústicas, capazes de obter maior sucesso em ambientes que apresentam condições desfavoráveis, considerando que a MSPA indica a rusticidade de uma muda.

Aos 30 dias, as maiores médias para a relação massa seca da parte aérea/massa seca total (MSPA/MST), foram observadas nos dois tratamentos sob 80% de sombreamento. O menor valor de MSPA/MST foi encontrado nas plantas expostas ao maior nível de luz em condições de estresse hídrico (Tab. 1), o que pode estar relacionado ao maior investimento na MSR e MSF. Aos 60 e 90 DIH não ocorreu interação entre luz e disponibilidade hídrica sobre a MSPA/MST. A maior razão MSPA/MST encontrada nas plantas de pau d'alho, submetidas a 80% de sombreamento reflete o maior investimento das plantas no crescimento em altura, com menor massa de suas folhas e raízes, no início do crescimento.

Aos 30 dias, a razão massa seca da raiz/massa seca total (MSR/MSPA) foi maior para as plantas sob 50%+água em relação às plantas sob 80% e sem sombreamento, e mesma condição hídrica. Já para as plantas sob restrição hídrica, a maior razão MSR/MST foi encontrada nas plantas SS+stress. Comparando as plantas sob a mesma condição de luz observou-se maior MSR/MST nas plantas sob SS+stress, enquanto para os demais tratamentos não houve diferença significativa. Aos 60 e 90 dias não houve interação entre as fontes de variação. Conceição & Dias-Filho (2013) observaram que a razão de massa seca da raiz de *Sclerolobium paniculatum*, produzidas sob 25% e 50% de sombreamento, também apresentaram as maiores médias.



Resultado semelhante também foi encontrado por Siebeneichler *et al.* (2008), em plantas de *Tabebuia heptaphylla*, testadas em três condições de luminosidade (pleno sol, 50% de luz e sombra natural), onde os autores verificaram que esta relação raiz/parte aérea não diferiu significativamente entre os níveis de luminosidade (50% e pleno sol), diferenciando apenas das plantas submetidas a condição de sombra natural. Os autores acreditam que esta razão mais elevada em plantas de ambientes iluminados indica maior alocação de fotoassimilados no sistema radicular. Claussen (1996) e Carvalho *et al.* (2006) explicam esta distribuição da biomassa entre raiz e parte aérea e suas implicações ecológicas relatando que a mais alta razão raiz/parte aérea e a menor razão de área foliar em plantas de ambientes mais iluminados indicam que a biomassa foi distribuída mais para as raízes, do que para os órgãos fotossintetizantes, permitindo maior absorção de água e nutrientes, estratégia esta que garantiria maior capacidade para suportar as maiores taxas de fotossíntese e transpiração que ocorre nos ambientes mais expostos ao sol. Illenseer & Paulilo (2002) também verificaram em plantas jovens de *Euterpes edulis* Mart. maior razão raiz/parte aérea em plantas mantidas sob maior irradiância.

Em relação à razão massa seca foliar/massa seca total (MSF/MST), a maior média foi encontrada nos tratamentos sob 80% de sombreamento, aos 30 dias. Os demais tratamentos, não diferiram entre si. Esses resultados podem estar relacionados à menor massa seca total encontrada nas plantas sob 80% sombreamento, refletindo na redução da razão MSF/MST. Demuner *et al.* (2004), estudando a razão massa seca foliar de *G. integrifolia*, observaram que plantas mantidas a pleno sol apresentaram menor massa seca foliar, quando comparadas às plantas mantidas em ambientes sombreados, concluindo que essas plântulas quando submetidas à exposição solar por um longo período de tempo, podem sofrer grandes danos.

A razão massa seca do caule/massa seca total (MSC/MST), aos 30 e 90 dias, sofreu interação significativa entre luz e disponibilidade hídrica. Considerando, aos 30 DIH, as

plantas sob irrigação diária, a maior MSC/MST foi encontrada nas plantas sob SS+água, enquanto que para as plantas sob estresse a maior MSC/MST foi observada nas plantas sob 50%+stress e a menor sob SS+stress (Tab. 1). Aos 90 DIH, comparando as plantas sob a mesma condição hídrica, a maior MSC/MST foi encontrada nas plantas sob 50%+água (Tab. 3).

Aos 30 e 60 dias não houve interação das fontes de variação sobre a AF. Já aos 90 DIH observou-se maior AF para as plantas sob 50%+água, 50%+stress e 80%+água. Isto indica o efeito da luz sobre o incremento da área foliar, aumentando as chances de captura de luz e área fotossintetizante. Ainda aos 90 DIH, as plantas sob 80%+stress, SS+água e SS+stress apresentaram menor AF, o que pode estar associado ao efeito da disponibilidade hídrica. Resultado semelhante foi encontrado por Siebeneichler *et al.* (2008) onde verificaram que há tendência de maior expansão da área foliar das plantas em ambientes com 50% de luminosidade e sombra natural do que em pleno sol. Os autores afirmam que esta expansão faz com que ocorra à habilidade da espécie em utilizar a radiação fotossinteticamente ativa e alocar os seus fotoassimilados.

A razão de área foliar (RAF) e a área foliar específica (AFE), aos 90 DIH, foram maiores para as plantas sob 80% de sombreamento, que foi estabelecido pela interação significativa entre o fator luz e disponibilidade hídrica (Tabela 3 e Quadro 3). A razão RAF indica o investimento da planta em área foliar considerando a massa seca da total da planta, o que foi determinado pela maior AF para as plantas sob 80%+água e redução da MST. Larcher (2000) afirma que plantas submetidas ao sombreamento tendem a expandir o limbo foliar, aumentando a área de captação de luz. A razão AFE reflete o investimento em AF considerando a massa seca foliar, o que também está relacionado à maior AF para as plantas sob 80% sombreamento e valor reduzido da MSF. Isto pode indicar modificações morfológicas nas folhas, com redução da espessura foliar. De acordo com Pinzón-Torres &

Schiavinato (2008), espécies que apresentam alto AFE apresentam baixa densidade do tecido foliar, produzindo folhas com pouca biomassa. Assim, alterações nos parâmetros associados ao RAF, AFE e MSF/MST revelam capacidade de adaptação das folhas às diferentes condições de luminosidade, o que no presente trabalho foi significativamente observado aos 90 DIH.

Os fatores de variação, luz e disponibilidade hídrica, não apresentaram interação sobre os parâmetros H/MSPA e H/DC, nas três épocas de análise. No entanto, obteve-se efeito da luz sobre essas razões (Quadro 1, 2 e 3), verificando-se maiores valores de H/MSPA nas plantas sob 80% de sombreamento, sendo superiores a 50% aos 30 dias e 80% aos 60 e 90 dias quando comparadas aos demais tratamentos (50% sombreamento e sem sombreamento). O mesmo observou-se para H/DC, onde aos 90 dias, os valores para as plantas sob 80% de sombreamento são no mínimo 40% superiores aos demais tratamentos. Resultado similar foi encontrado por Fonseca *et al.* (2002) onde plantas de *Trema micranta* (L.) Blume, apresentaram maior relação H/DC quando expostas ao maior nível de sombreamento. Os autores acreditam que este resultado se deve ao incremento da parte aérea e redução do diâmetro do coleto nesta condição de sombra, o que também foi observado no presente estudo para *G. integrifolia*, onde os menores valores de DC foi encontrado nas plantas sob 80% de sombreamento. A razão H/MSPA indica o investimento da planta em altura considerando a massa seca total alocada para a parte aérea. Apesar de não ter sido demonstrado a interação dos fatores de variação, pode-se observar o efeito significativo da luz sobre este parâmetro e associado aos valores obtidos para MSC, MSR e MST, verificou-se que as plantas mantidas sob 80% de sombreamento apresentaram menor investimento em massa seca da raiz, total e do caule. Considerando que aos 90 DIH as plantas não diferiram significativamente em relação à altura, e as plantas sob 80%+agua apresentaram menor MSC e redução da MSC/MST, apesar desta razão não diferir dos tratamentos 50%+stress, SS+agua e SS+stress.

A associação micorrízica arbuscular em plantas jovens de *G. integrifolia* foi observada em todos os tratamentos, sendo que aos 30 dias após o início do tratamento hídrico, a maior porcentagem de colonização foi encontrada em plantas mantidas sob SS+água e SS+stress e em plantas sob o tratamento de 50%+água (Figura 1). Aos 60 dias houve um decréscimo dos segmentos colonizados, sendo que, as plantas mantidas em SS+água e 50%+stress apresentaram as maiores taxas de colonização, e aos 90 dias os maiores valores de colonização foram encontrados em plantas sob SS+stress e 50%+stress. Os menores valores foram observados em plantas mantidas sob 80% de sombreamento, tanto irrigadas diariamente quanto sob estresse (Fig. 1). O que pode estar associado à redução da massa seca da raiz de plantas mantidas sob o maior nível de sombreamento. A maior parte dos estudos que avalia a influência positiva da micorrização sobre as plantas adota a produção de biomassa como variável resposta (Braghirolli *et al.* 2012).

Segundo Moratelli *et al.* (2007) plantas sob estresse hídrico apresentam maior razão raiz/parte aérea, quando colonizadas por fungos nativos. Isto foi observado, aos 30 DIH, onde as plantas SS+stress apresentaram maior MSR/MSPA quando comparadas às plantas sob SS+água (Tab. 1), o que pode ter garantido o estabelecimento inicial destas plantas.

De acordo com Smith & Gianinazzi-Pearson (1988) as condições edafoclimáticas, influenciam na interação entre FMA e uma espécie vegetal. No presente estudo, observou-se que os diferentes níveis de luminosidade afetaram significativamente a porcentagem de colonização nas plantas submetidas ao maior nível de sombreamento. Moratelli *et al.* (2007) observaram que a intensidade de luz afetou consideravelmente a colonização micorrízica em plantas de *Tabebuia avellanadae* inoculadas com FMA selecionados e nativos. De acordo com Gehring (2003) a intensidade da luz é um dos fatores que provocam interferências na associação FMA e a planta. Entry *et al.* (2002) acrescentam que a disponibilidade de água é um outro fator limitante para esta associação. Em *G. integrifolia*, observou-se que plantas

mantidas sob estresse hídrico não tiveram suas associações afetadas, esta capacidade da planta em se adequar as variações da disponibilidade de recursos e associar-se com fungos micorrízicos arbusculares (FMA) favorece o estabelecimento das plantas em ambientes limitantes em água e luz (Hurst *et al.* 2002). De acordo com Cooper (1984) uma colonização de 20% a 30% é o mínimo necessário para provocar respostas fisiológicas pela micorrização.

Em geral, os resultados obtidos no presente estudo demonstraram que a luz foi o fator que apresentou maior efeito sobre o crescimento das plantas.

Assim, de acordo com os parâmetros de crescimento analisados, as plantas de *G. integrifolia* apresentaram melhor desempenho, quando mantidas sob 50%+água e SS+água, mas demonstraram capacidade de adaptação sob maiores níveis de sombreamento e restrição hídrica. Isto pode estar relacionado a sua ampla distribuição, e sendo por vezes considerada pioneira ou secundária.

A associação micorrízica das plantas jovens de pau d'alho foi afetada pelo tratamento 80% de sombreamento, no entanto, propiciou o estabelecimento das plantas, mesmo sob restrição hídrica.

## 1.4 REFERÊNCIAS

- Amo-Rodrigues S, Gomez-Pompa. 1979. Clave para plântulas y estados juveniles de espécies primárias de una selva alta perinnifolia em Vera cruz, México. *Biotropica* 4: 58-108.
- Beltrano J, Ronco MG. 2008. Improved tolerance of wheat plants (*Triticumaestivum* L.) to drought stress and rewatering by the ar-buscularmycorrhizal fungus *Glomusclaroideum*: Effect on growth and cell membrane stability. *Brazilian Journal of Plant Physiology* 20: 29-37.
- Barbara RLL, Souza FA, Fonseca HMA. 2006. *Nutrição Mineral de Plantas*, Viçosa, Sociedade Brasileira de Ciência do Solo.
- Braghirolli FL, Sgrott AF, Percador R, Uhlmann A, Stürmer SL. 2012. Fungos micorrízicos arbusculares na recuperação de florestas ciliares e fixação de carbono no solo. *Revista Brasileira de Ciência do Solo* 36: 733-743.
- Campos MAA; Uchida T. 2002. Influência do sombreamento no crescimento de mudas de três espécies amazônicas. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 37: 281-288.
- Carvalho NOS, Pelacani CR, Rodrigues MOR, Crepaldi IC. 2006. Crescimento inicial de plantas de licuri (*Syagrusc coronata*(Mart.) Becc.) em diferentes níveis de luminosidade. *Revista Árvore* 30: 351-357.
- Claussen JW. 1996. Acclimation abilities of tree tropical rainforest seedlings to an increase in light intensity. *Forest Ecology and Management* 80: 245-255.
- Conceição AC, Dias-Filho MB. 2013. Níveis de sombreamento para produção de mudas de taxi-branco (*Sclerolobium paniculatum* Vogel) *Revista do Instituto Florestal* 25: 151-161.
- Cooper KM. 1984. Physiology of VA mycorrhizal associations. In: POWELL, C.L. & BAGYARAJ, D.J. (Eds). *VA mycorrhiza*. Boca Raton, CRC Press, p. 55-86.
- Costa JL, Lima RP, Silva ALL, Scheidt GN, Erasmo EAL. 2011. Crescimento inicial de plantas de pinhão manso em função do sombreamento no município de Gurupi-TO. *Journal of Biotechnology and Biodiversity* 2: 43-47.
- Cruz CAF. 2006. Efeito da adubação nitrogenada na produção de mudas de Sete-Cascas *Samanea inopinata* (Harms) Ducke. *Revista Árvore* 30: 537-546.
- Demuner VG, Hebling AS, Dagustinho DM. 2004. Efeito do sombreamento no crescimento inicial de *Gallesia integrifolia* (Spreng.) Harms. *Bol. Mus. Biol. Mello Leitão* 17: 45-55.
- Dousseau S, Alvarenga AA, Santos MO, Arantes LO. 2007. Influência de Diferentes Condições de Sombreamento sobre o Crescimento de *Tapiriraguianensis* Alb. *Revista Brasileira de Biociências* 5: 477-479.
- Feijo NSA, Mielke MS, Gomes FP, França S, Lavinsky AO. 2009. Growth and photosynthetic responses of *Gallesia integrifolia* (Spreng.) Harms and *Schinus terebinthifolius* Raddi seedlings in dense shade. *Agroforest System* 77:49-58.

- Felfili JM, Hilgbert LF, Franco AC, Sousa-Silva JC, Resende AV, Nogueira MVP. 1999. Comportamento de plântulas de *Sclerolobium paniculatum* Vog. Var. *rubiginosum* (TUL.) Benth. sob diferentes níveis de sombreamento, em viveiro. *Revista Brasileira de Botânica* 22: 297-301.
- Fernández CJ, McInnes KJ, Cothren JT. 1996. Water status and leaf area production in water- and nitrogen-stressed cotton. *Crop Science*, Madison, p.1224-1233.
- Ferreira WN, Zandavalli RB, Bezerra AME, Medeiros Filho S. 2012. Crescimento inicial de *Piptadenia stipulacea* (Benth.) Ducke (Mimosaceae) e *Anadenanthera colubrina* (Vell.) Brenan var. *cebil* (Griseb.) Altshul (Mimosaceae) sob diferentes níveis de sombreamento. *Acta Botanica Brasilica* 26: 408-414.
- Fonseca EP, Valéri SV, Miglioranza E, Fonseca NAN, Couto L. 2002. Padrão de qualidade de mudas de *Trema micrantha*(L.) Blume, produzidas sob diferentes períodos de sombreamento. *Revista Árvore* 26: 515-523.
- Freitas GA, Melo AV, Pereira MAB, Andrade CAO, Lucena GN, Silva RR. 2012. Influência do sombreamento na qualidade de mudas de *Sclerolobium paniculatum* Vogel para recuperação de área degradada. *Journal of Biotechnology and Biodiversity* 3: 5-12.
- Entry JA, Rygielwicz PT, Watrud LS, Donnelly PK, 2002. Influence of adverse soil conditions on the formation and function of arbuscular mycorrhizas. *Advances in Environmental Research* 7:123-138.
- Gehring CA. 2003. Growth responses to arbuscular mycorrhiza e by rain forest seedlings vary with light intensity and tree species. *Plant Ecology* 167:127-139.
- Gianinazzi S, Gianinazzi-Pearson V. 1992. Cytology, histochemistry and immunocytochemistry as tools for studying structure and function in endomycorrhiza. In: *Methods in Microbiology* 24: 109-139.
- Giovanetti M, Mosse B. 1980. An evaluation of techniques for measuring vesicular–arbuscular mycorrhizal infection in roots. *New Phytologist* 84: 489–500.
- Gomes JM, Paiva HN. Viveiros florestais: propagação sexuada. 3. Ed. Viçosa: UFV; 2006.
- Hurst SE, Turnbull MH, Norton DA. 2002. The effect of plant light environment on mycorrhizal colonization in field-grown seedlings of podocarp-angiosperm forest tree species. *New Zealand Journal of Botany* 40: 65-72.
- Illenseer R, Paulilo MTS. 2002. Crescimento e eficiência na utilização de nutrientes em plantas jovens de *Euterpe edulis* Mart. sob dois níveis de irradiância, nitrogênio e fósforo. *Acta Botânica Brasilica* 16: 385-394.
- Kitajima K. 2002. Do shade-tolerant tropical tree seedlings depend longer on seed reserves? Functional growth analysis of three Bignoniaceae species. *Functional Ecology* 16:433–444.
- Larcher W. 2000. *Ecofisiologia Vegetal*: São Carlos, Rima.

- Lima RT, Souza PJOP, Rodrigues JC, Lima MJA. 2012. Modelos para estimativa da área foliar da mangueira utilizando medidas lineares. *Revista Brasileira de Fruticultura* 34: 974-980.
- Liu J, Maldonado-Mendoza I, Lopez-Meyer M, Cheung F, Town CD, Harrison MJ. 2007. Arbuscular mycorrhizal symbiosis is accompanied by local and systemic alterations in gene expression and an increase in disease resistance in the shoots. *The Plant Journal* 50: 529-544.
- Lorenzi H. 2000. Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil. Vol.1. 2ªed. Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum.
- Moratelli EM, Costa MD, Lovato PE, Santos M, Paulilo MTS. 2007. Efeito da disponibilidade de água e de luz na colonização micorrízica e no crescimento de *Tabebuia avellanedae* Lorentz exGriseb. (Bignoniaceae) *Revista Árvore* 31: 555-566.
- Moreira FMS, Siqueira JO. 2002. Micorrizas. In: *Microbiologia e bioquímica do solo*. Lavras, UFLA.
- Phillips JM, Hayman DS. 1970. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. *New Phytologist* 124: 481-488.
- Pinzón-Torres JA, Schiavinato MA. 2008. Crescimento, eficiência fotossintética e eficiência do uso da água em quatro espécies de leguminosas arbóreas tropicais. *Hoehnea* 35:395-404.
- Poorter H, Garnier E. 1999. Ecological significance of inherent variation in relative growth rate and its components. *In Hand book of functional Plant Ecology*, p. 81-120.
- Reis GG. 1991. Crescimento e ponto de compensação lumínico em mudas de espécie florestais nativas submetidas a diferentes níveis de sombreamento. *Revista Árvore*, Viçosa, 18: 103-111.
- Santos LW, Coelho MFB, Azevedo RAB. 2013. Qualidade de mudas de pau-ferro produzidas em diferentes substratos e condições de luz. *Pesquisa Florestal Brasileira* 33: 151-158.
- Santos RF, Carlesso R. 1998. Déficit hídrico e os processos morfológico e fisiológico das plantas. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental* 2: 287-294.
- Sasaki RM, Felipe GM. 1992. Remoção dos cotilédones e desenvolvimento inicial de *Dalbergia miscolobium*. *Revista Brasileira de Botânica* 15: 5-16.
- Scalon SPQ, Mussury RM, Rigoni MR, Filho HS. 2002. Crescimento inicial de mudas de espécies florestais nativas sob diferentes níveis de sombreamento. *Revista Árvore* 26: 1-5.
- Siebeneichler SC, Freitas GA, SILVA RR, ADORIAN GC, CAPELLARI D. 2008. Características morfofisiológicas em plantas de *Tabebuia heptaphylla* (vell.) Tol. em condições de luminosidade. *Acta Amazônica* 38: 467-472.
- Silva BMS, Lima JD, Danta VAV, Moraes WS, Sabonaro DZ. 2007. Efeito da luz no crescimento de mudas de *Hymenaea parvifolia* Huber. *Revista Árvore* 30: 166-169.



Smith SE, Read DJ. 1997. Mycorrhizal symbiosis. London, Academic Press.

Smith SE, GIANINAZZI-PEARSON V. 1988. Physiological interactions between symbionts in vesicular-arbuscular mycorrhizal plants. Annual Review Plant Physiology Plant Molecular Biology 39: 221-244

Siqueira JO, Carneiro MAC, Curi N, Silva SC, DAVIDE AC. 1988. Mycorrhizal colonization and mycotrophic growth of native woody species as related to successional groups in southeastern Brasil. Forest Ecology and Management 107:241-252.

Souza, LA, Oliveira JHG. 2004. Morfologia e anatomia das plântulas de *Tabebuia avellanedae* Lor. Ex Griseb e *T. chrysotricha* (Mart. exDc.) Standl. (Bignoniaceae). Acta Scientiarum. Biological Sciences 26: 217-226.

Sturion JA, Iede ET. 1982. Influência da profundidade de semeadura, cobertura do canteiro e sombreamento, na formação de mudas de *Ocotea porosa* (Ness) Liberato Barroso (Imbuia). Silvicultura 7: 513-516.

Swaine MD, Whitmore TC. 1988. On the definition of ecological species groups in tropical rain forests. Vegetatio 75: 81-86.

Taiz L, Zeiger E. 2013. Fisiologia Vegetal, 5. ed. Artmed, Porto Alegre.

Trouvelot, A, Kough JL, Gianinazzi-Pearson V. 1986. Mesure du taux de mycorrhization VA d'un système racinaire: recherche de méthodes d'estimation ayant une signification fonctionnelle. In: Gianinazzi, S.; Gianinazzi-Pearson, V. (Ed.). Mycorrhizes: physiologie et génétique. Dijon: Inra. p. 217-220.

## **Tabelas**

**Tabela 1.** Altura (H), comprimento da raiz (CR), número de folhas (NF), massa seca das folhas (MSF), massa seca do caule (MSC), massa seca da raiz (MSR), razão massa seca da raiz/massa seca parte aérea (MSR/MSPA), razão massa seca da raiz/massa seca total (MSR/MST), razão massa seca da folha/massa seca total (MSF/MST), razão massa seca do caule/massa seca total (MSC/MST), razão massa seca da parte aérea/massa seca total (MSPA/MST), massa seca total (MST), massa seca da parte aérea (MSPA), diâmetro do coleto (DC), área foliar (AF), razão de área foliar (RAF), área foliar específica (AFE), razão altura/massa seca da parte aérea (H/MSPA) e razão altura/diâmetro do coleto (H/DC) de plantas de *Galesia integrifolia* obtidas 30 dias após início do tratamento hídrico, e mantidas em casa de vegetação sem sombrite (SS) e sob 50% e 80% de sombreamento.

Parâmetros	50%+agua	50%+stress	80%+agua	80%+stress	SS+agua	SS+stress
H (cm)	20.20 aA*	17.80 aA	17.34 aA	16.62 aA	17.92 aA	18.58 aA
CR (cm)	21.16 aA	22.36 aA	20.12 aA	17.06 aA	20.62 aA	16.30 aA
NF	9.40 aA	9.20 aA	9.20 aA	10.00 aA	10.00 aA	11.80 aA
MSF (g)	0.40 aA	0.31 aA	0.22 aA	0.23 aA	0.40 aA	0.51 aA
MSC (g)	0.33 aA	0.22 aA	0.10 aA	0.09 aA	0.36 aA	0.27 aA
MSR (g)	0.43 bA	0.39 bA	0.09 cA	0.08 cA	0.34 bB	1.31 aA
MSPA (g)	0.72 aA	0.52 aA	0.32 aA	0.32 aA	0.76 aA	0.78 aA
MST (g)	1.16 aA	0.92 bA	0.41 cA	0.40 cA	1.03 aB	2.09 aA
MSR/MSPA	0.60 aA	0.74 bA	0.28 bA	0.27 bA	0.38 bB	1.68 aA
MSR/MST	0.37 aA	0.42 bA	0.21 bA	0.20 cA	0.26 aB	0.60 aA
MSF/MST	0.34 bA	0.33 bA	0.55 aA	0.58 aA	0.39 bA	0.25 bB
MSC/MST	0.28 bA	0.24 aA	0.23 bA	0.21 bA	0.35 aA	0.15 cB
MSPA/MST	0.63 bA	0.58 bA	0.79 aA	0.80 aA	0.74 aA	0.40 cB
DC (mm)	3.94 aA	3.46 aA	2.68 aA	2.40 aA	4.10 aA	3.82 aA
AF (cm <sup>2</sup> )	16.39 aA	13.66 aA	15.02 aA	14.71 aA	12.75 aA	15.32 aA
RAF (cm <sup>2</sup> g <sup>-1</sup> )	14.33 aA	15.46 aA	37.78 aA	36.82 aA	12.53 aA	8.28 aA
AFE (cm <sup>2</sup> g <sup>-1</sup> )	42.15 aA	46.35 aA	67.49 aA	63.46 aA	32.45 aA	33.45 aA
H/MSPA (cm g <sup>-1</sup> )	29.59 aA	35.51 aA	53.69 aA	53.31 aA	24.15 aA	27.77 aA
H/DC (cm mm <sup>-1</sup> )	5.20 aA	5.24 aA	6.56 aA	7.03 aA	4.74 aA	4.85 aA

\*Letras iguais não diferem pelo Teste de Tukey a 5%. Letras minúsculas comparando tratamento sombreamento (50% e 80%) e sem sombrite (SS), na mesma condição hídrica. Letras maiúsculas comparando plantas irrigadas diariamente (água) e irrigadas duas vezes por semana (stress), na mesma condição de luz.

**Tabela 2.** Altura (H), comprimento da raiz (CR), número de folhas (NF), massa seca das folhas (MSF), massa seca do caule (MSC), massa seca da raiz (MSR), razão massa seca da raiz/massa seca parte aérea (MSR/MSPA), razão massa seca da raiz/massa seca total (MSR/MST), razão massa seca da folha/massa seca total (MSF/MST), razão massa seca do caule/massa seca total (MSC/MST), razão massa seca da parte aérea/massa seca total (MSPA/MST), massa seca total (MST), massa seca da parte aérea (MSPA), diâmetro do coleto (DC), área foliar (AF), razão de área foliar (RAF), área foliar específica (AFE), razão altura/massa seca da parte aérea (H/MSPA) e razão altura/diâmetro do coleto (H/DC) de plantas de *Galesia integrifolia* obtidas 60 dias após início do tratamento hídrico, e mantidas em casa de vegetação sem sombrite (SS) e sob 50% e 80% de sombreamento.

Parâmetros	50%+agua	50%+stress	80%+agua	80%+stress	SS+agua	SS+stress
H (cm)	31.52 aA*	25.20 aA	26.64 aA	24.26 aA	22.00 aA	21.66 aA
CR (cm)	24.64 aA	23.38 aA	20.16 aA	22.86 aA	19.94 aA	22.32 aA
NF	17.00 aA	15.00 aA	14.40 aA	13.40 aA	14.40 aA	16.00 aA
MSF (g)	0.71 aA	0.58 aA	0.38 aA	0.31 aA	0.64 aA	0.56 aA
MSC (g)	0.62 aA	0.44 aA	0.22 aA	0.17 aA	0.63 aA	0.46 aA
MSR (g)	0.73 aA	0.92 aA	0.18 aA	0.15 aA	0.71 aA	0.61 aA
MSR/MSPA	0.54 aA	0.88 aA	0.30 aA	0.30 aA	0.55 aA	0.60 aA
MSR/MST	0.34 aA	0.45 aA	0.23 aA	0.23 aA	0.35 aA	0.37 aA
MSF/MST	0.35 aA	0.31 aA	0.49 aA	0.50 aA	0.32 aA	0.35 aA
MSC/MST	0.30 aA	0.23 aA	0.28 aA	0.27 aA	0.32 aA	0.28 aA
MSPA/MST	0.66 aA	0.54 aA	0.77 aA	0.77 aA	0.65 aA	0.63 aA
MST (g)	2.07 aA	1.94 aA	0.78 aA	0.63 aA	1.98 aA	1.62 aA
MSPA (g)	1.33 aA	1.03 aA	0.60 aA	0.48 aA	1.27 aA	1.01 aA
DC (mm)	5.00 aA	4.40 aA	3.40 aA	3.00 aA	5.40 aA	5.00 aA
AF (cm <sup>2</sup> )	18.51 aA	17.19 aA	16.09 aA	15.66 aA	13.20 aA	13.49 aA
RAF (cm <sup>2</sup> g <sup>-1</sup> )	9.20 aA	9.46 aA	21.49 aA	25.76 aA	6.60 aA	8.83 aA
AFE (cm <sup>2</sup> g <sup>-1</sup> )	25.89 aA	30.09 aA	43.82 aA	50.25 aA	20.41 aA	24.96 aA
H/MSPA (cm g <sup>-1</sup> )	23.64 aA	25.25 aA	46.54 aA	51.09 aA	17.73 aA	21.81 aA
H/DC (cm mm <sup>-1</sup> )	6.30 aA	5.94 aA	8.01 aA	8.09 aA	4.11 aA	4.33 aA

\*Letras iguais não diferem pelo Teste de Tukey a 5%. Letras minúsculas comparando tratamento sombreamento (50% e 80%) e sem sombrite (SS), na mesma condição hídrica. Letras maiúsculas comparando plantas irrigadas diariamente (água) e irrigadas duas vezes por semana (stress), na mesma condição de luz.

**Tabela 3.** Altura (H), comprimento da raiz (CR), número de folhas (NF), massa seca das folhas (MSF), massa seca do caule (MSC), massa seca da raiz (MSR), razão massa seca da raiz/massa seca parte aérea (MSR/MSPA), razão massa seca da raiz/massa seca total (MSR/MST), razão massa seca da folha/massa seca total (MSF/MST), razão massa seca do caule/massa seca total (MSC/MST), razão massa seca da parte aérea/massa seca total (MSPA/MST), massa seca total (MST), massa seca da parte aérea (MSPA), diâmetro do coleto (DC), área foliar (AF), razão de área foliar (RAF), área foliar específica (AFE), razão altura/massa seca da parte aérea (H/MSPA) e razão altura/diâmetro do coleto (H/DC) de plantas de *Gallesia integrifolia* obtidas 90 dias após início do tratamento hídrico, e mantidas em casa de vegetação sem sombrite (SS) e sob 50% e 80% de sombreamento.

Parâmetros	50%+agua	50%+stress	80%+agua	80%+stress	SS+agua	SS+stress
H (cm)	33.82 aA*	23.92 aA	29.66 aA	24.62 aA	25.16aA	19.34 aA
CR (cm)	21.30 aA	22.17 aA	22.20 aA	16.60 aA	19.26aA	16.16 aA
NF	19.40 aA	15.40 aA	16.60 aA	16.40 aA	21.00aA	18.00 aA
MSF (g)	0.87 aA	0.72 aA	0.49 aA	0.41 aA	0.80 aA	0.62 aA
MSC (g)	1.11 aA	0.66 aB	0.29 cA	0.31 bA	0.82 bA	0.57 aB
MSR (g)	1.10 aA	0.84 aA	0.27 aA	0.22 aA	1.24 aA	0.90 aA
MSR/MSPA	0.55 aA	0.59 aA	0.34 aA	0.31 aA	0.76 aA	0.75 aA
MSR/MST	0.35 aA	0.36 aA	0.25 aA	0.23 aA	0.42 aA	0.43 aA
MSF/MST	0.29 aA	0.32 aA	0.47 aA	0.44 aA	0.29 aA	0.30 aA
MSC/MST	0.36 aA	0.26 bB	0.28 bA	0.33 aA	0.30 bA	0.27 bA
MSPA/MST	0.65 aA	0.56 aA	0.75 aA	0.77 aA	0.58 aA	0.57 aA
MST (g)	3.09 aA	2.22 aA	1.06 aA	0.94 aA	2.86 aA	2.09 aA
MSPA (g)	1.98 aA	1.38 aB	0.79 cA	0.72 bA	1.61 bA	1.20 aB
DC (mm)	6.00 aA	4.5 bB	3.80 cA	3.40 cA	5.60 aA	5.60 aA
AF (cm <sup>2</sup> )	19.96 aA	21.36 aA	19.77 aA	13.13 bB	11.04bA	10.46 bA
RAF (cm <sup>2</sup> g <sup>-1</sup> )	6.63 bA	8.56 bA	19.04 aA	14.08 aB	3.99 cA	5.02 cA
AFE (cm <sup>2</sup> g <sup>-1</sup> )	22.98 bA	30.38 aA	40.40 aA	32.07 aA	13.82cA	16.85 bA
H/MSPA (cm g <sup>-1</sup> )	17.24 aA	17.38 aA	37.87 aA	34.41 aA	15.65aA	16.30 aA
H/DC (cm mm <sup>-1</sup> )	5.64 aA	5.40 aA	7.90 aA	7.43 aA	4.51 aA	3.51 aA

\*Letras iguais não diferem pelo Teste de Tukey a 5%. Letras minúsculas comparando tratamento sombreamento (50% e 80%) e sem sombrite (SS), na mesma condição hídrica. Letras maiúsculas comparando plantas irrigadas diariamente (água) e irrigadas duas vezes por semana (stress), na mesma condição de luz.

## **Quadros**

**Quadro 1.** Resultado da análise bifatorial correspondendo ao efeito da luz e disponibilidade hídrica e sua interação sobre os parâmetros de crescimento de *Gallesia integrifolia* aos 30 dias ( $p \leq 0.05$  indica que os resultados são significativamente diferentes e são representados por \*). ns = não significativo e SD=desvio padrão

Parâmetros/Fontes de variação	Luz (L)	Disponibilidade hídrica (W)	LxW	SD
H	ns	ns	ns	1.76
CR	ns	ns	ns	4.27
NF	ns	ns	ns	2.17
MSF	*	ns	ns	0.11
MSC	*	*	ns	0.08
MSR	*	*	*	0.32
MSPA	*	ns	ns	0.15
MST	*	ns	*	0.41
DC	*	ns	ns	0.59
MSR/MSPA	*	*	*	0.33
MSR/MST	*	*	*	0.08
MSF/MST	*	ns	*	0.06
MSC/MST	ns	*	*	0.05
MSPA/MST	*	*	*	0.08
AF	ns	ns	ns	2.57
RAF	*	ns	ns	4.72
AFE	*	ns	ns	7.58
H/MSPA	*	ns	ns	7.45
H/DC	*	ns	ns	1.09

**Quadro 2.** Resultado da análise bifatorial, correspondendo ao efeito da luz e disponibilidade hídrica e sua interação sobre os parâmetros de crescimento de *Gallesia integrifolia* aos 60 dias ( $p \leq 0.05$  indica que os resultados são significativamente diferentes e são representados por \*). ns=não significativo e SD=desvio padrão

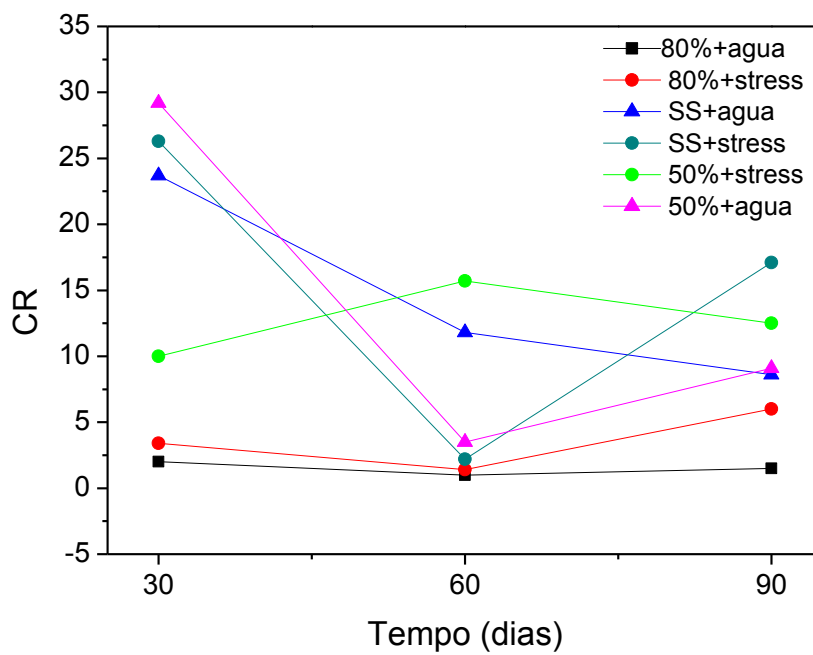
Parâmetros/Fontes de variação	Luz (L)	Disponibilidade hídrica (W)	LxW	SD
H	*	*	ns	2.73
CR	ns	ns	ns	4.83
NF	ns	ns	ns	1.91
MSF	*	*	ns	0.09
MSC	*	*	ns	0.11
MSR	*	ns	ns	0.24
MSPA	*	*	ns	0.18
MST	*	ns	ns	0.41
DC	*	*	ns	0.48
MSR/MSPA	*	*	ns	0.17
MSR/MST	*	*	ns	0.06
MSF/MST	*	ns	ns	0.06
MSC/MST	ns	*	ns	0.04
MSPA/MST	*	ns	ns	0.06
AF	*	ns	ns	2.70
RAF	*	ns	ns	4.32
AFE	*	*	ns	6.09
H/MSPA	*	ns	ns	5.91
H/DC	*	ns	ns	0.99



**Quadro 3.** Resultado da análise bifatorial, correspondendo ao efeito da luz e disponibilidade hídrica e sua interação sobre os parâmetros de crescimento de *Gallesia integrifolia* aos 90 dias ( $p \leq 0.05$  indica que os resultados são significativamente diferentes e são representados por \*). ns= não significativo e SD=desvio padrão

Parâmetros/Fontes de variação	Luz (L)	Disponibilidade hídrica (W)	LxW	SD
H	*	*	ns	2.85
CR	ns	ns	ns	4.16
NF	*	*	ns	2.51
MSF	*	*	ns	0.07
MSC	*	*	*	0.13
MSR	*	ns	ns	0.34
MSPA	*	*	*	0.16
MST	*	*	ns	0.42
DC	*	*	*	0.47
MSR/MSPA	*	*	ns	0.25
MSR/MST	*	ns	ns	0.07
MSF/MST	*	ns	ns	0.05
MSC/MST	ns	ns	*	0.04
MSPA/MST	*	ns	ns	0.07
AF	*	*	*	1.98
RAF	*	ns	*	2.21
AFE	*	ns	*	3.99
H/MSPA	*	ns	ns	2.75
H/DC	*	ns	ns	1.06

**Figura**



**Figura 1.** Colonização micorrízica (CR) – (%) nos três períodos de avaliação, aos 30, 60 e 90 dias após o início do tratamento hídrico.

## CAPÍTULO 2

### **RESPOSTAS FISIOLÓGICAS DE *Gallesia integrifolia* (SPRENG.) HARMS. CULTIVADA EM DIFERENTES CONDIÇÕES DE LUMINOSIDADE E REGIME HÍDRICO**

Artigo Elaborado e formatado  
conforme as normas para  
publicação científica no periódico  
Acta Botânica Brasilica.

**ARTIGO ORIGINAL****RESPOSTAS FISIOLÓGICAS DE *Galesia integrifolia* (SPRENG.) HARMS.**

Taysi Pereira Firmino<sup>1</sup>, Caroline Barbeiro<sup>2</sup>, Bruno Reis<sup>2</sup>, Mariza Barion Romagnolo<sup>2</sup>,  
Rosilaine Carrenho<sup>1,2</sup>, Lindamir Hernandez Pastorini<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Curso de Pós-Graduação em Biologia Comparada, Universidade Estadual de Maringá,  
Maringá, Paraná, Brasil. taysi\_in@hotmail.com

<sup>2</sup>Centro de Ciências Biológicas - UEM, Departamento de Botânica, Laboratório de Fisiologia  
Vegetal, Maringá, PR, Brasil.

**Respostas fisiológicas de *Gallesia integrifolia* (Spreng.) Harms. cultivada em diferentes condições de luminosidade e regime hídrico**

**ABSTRACT**

(Physiological responses of *Gallesia integrifolia* (Spreng.) Harms. cultivated under different luminosity and water regime conditions). Shading effects and water stress on the physiological responses of *Gallesia integrifolia* plants are evaluated. Concentrations of total soluble carbohydrates and starch, photosynthetic pigment rates, gas exchange and chlorophyll-a fluorescence of *Gallesia integrifolia* were quantified under three light levels (light without any shade; with 50% and 80% shade) and two hydric regimes (plants irrigated daily and plants irrigated only twice a week). Results showed that on the 30th day after the start of the water stress period, the concentration of total soluble carbohydrates in the leaves of *Gallesia integrifolia* did not have any significant difference among the treatments analyzed, whereas on the 90th day the soluble carbohydrate rates were higher in plant roots under 50%water and 80%water. On the 30th day, there was a greater concentration of starch in plant leaves under 50%water, 80%water, 80%stress and SS+water, whereas at the 90th day a greater concentration of starch occurred in plant roots under 50%water and 80%water. When photosynthetic pigments are taken into account, total chlorophyll rate was higher in leaves of the third node and in cotyledon leaves of plants under shading. On the 30th day, stomata conductance was lower in plants under 80%stress, and differed from plants under 50%water. On the 90th day, there were no significant difference for all photosynthesis parameters under analysis. On the 30th day, potential quantity efficiency of photosystem II was lowest for plants under a greater light availability, regardless of hydric availability, with no difference among treatments after 90 days.

**Keywords:** carbohydrates, chlorophyll, fluorescence, photosynthesis, starch.

## **Respostas fisiológicas de *Galesia integrifolia* (Spreng.) Harms. cultivada em diferentes condições de luminosidade e regime hídrico**

### **2.1 INTRODUÇÃO**

Um dos principais fatores ambientais que pode influenciar no crescimento e desenvolvimento do vegetal é a luz, por ser fonte primária na produção de energia, por meio da fotossíntese (Campos & Uchida 2002; Dousseau *et al.* 2007).

As plantas quando são expostas a estresse biótico ou abiótico podem apresentar alterações no estado funcional das membranas dos tilacóides dos cloroplastos, provocando mudanças nas características dos sinais de fluorescência, os quais podem ser quantificados nas folhas (Baker & Rosenqvist 2004). Em situação de baixa disponibilidade de água no solo, também ocorrem alterações, pois as plantas reduzem a perda de água, ao reduzir a condutância estomática. Para favorecer a turgescência celular em condições de estresse hídrico, ocorrem ajustes no metabolismo celular, por exemplo, via o acúmulo de substâncias orgânicas, como a prolina, o que contribui para a osmorregulação (Silva *et al.* 2004).

Castro Neto (2003) afirma que o déficit hídrico é um dos fatores que limita a abertura dos estômatos, afetando o processo fotossintético. De acordo com Amaral *et al.* (2006), como os estômatos constituem as principais vias de trocas gasosas entre as folhas e o meio externo, o aumento na resistência difusiva estomática pode ocasionar redução na fotossíntese líquida. Dessa maneira, diferentes níveis de luminosidade e regime hídrico causam mudanças fisiológicas e morfológicas na planta e o sucesso de sua adaptação a essas variáveis ambientais está relacionado às características genéticas e sua interação com o próprio ambiente (Resende *et al.* 2011).

Apesar da importância e diversidade da flora brasileira, o conhecimento sobre a influência dos fatores ambientais no balanço de carbono em espécies nativas ainda é limitado

(Mattos 1998). O balanço de alocação de carbono entre estoque e crescimento pode ter uma importante função na tolerância ao sombreamento (Kitajima 1994; Kobe 1997). Evidências de que espécies tolerantes a sombra estocam mais carboidratos do que as que crescem em um ambiente mais iluminado foi relatado por Lusk & Piper (2007).

A energia estocada em caules e raízes existe principalmente como carboidratos não estruturais, tipicamente mencionados como amido e açúcares simples. Entre os carboidratos não estruturais, o amido é um dos principais compostos de reserva das plantas. Em células vegetais, o amido é armazenado na forma de grânulos insolúveis em água que são localizados em organelas especiais (Amaral *et al.* 2007). A utilização de amido ou de açúcares solúveis é variável, dependendo da espécie, podendo ser durante a germinação ou no estágio de plântula, constituindo a mobilização das reservas (Pontes *et al.* 2002).

Compostos de carbono (amido e sacarose) são provenientes da fotossíntese e requer a difusão do CO<sub>2</sub> para o interior da folha. A partir dos estômatos, o CO<sub>2</sub> difunde através dos espaços intercelulares até as células do mesofilo, entrando no cloroplasto onde em combinação com a RuBP (ribulose-1,5-bisfosfato) forma 3-PGA, sendo esta reação catalisada pela RUBISCO. Ao final do ciclo fotossintético de redução do carbono ocorre a formação de uma triose fosfato (Hassiotou *et al.* 2009). Assim, a formação de sacarose do citosol ou de amido no cloroplasto depende da triose fosfato gerada no Ciclo C<sub>3</sub>, enquanto o amido presente em órgãos não fotossintetizantes, como caules e raízes depende da translocação de açúcares solúveis pelo floema até esses órgãos. A conversão de açúcares solúveis em amido nos amiloplastos ocorre através de uma série de reações, sendo que a principal enzima envolvida é a ADPGPPase (Buchanan *et al.* 2015; Taiz & Zeiger 2013).

Os pigmentos fotossintéticos são responsáveis pela captura da energia solar incidente, necessária para a fotossíntese e produção de biomassa por este motivo são essenciais para o desenvolvimento das plantas. Desta forma, a quantificação da clorofila pode determinar o



estado fisiológico da planta e estimar a sua produtividade (Ferri 2004) e adaptabilidade aos diferentes ambientes.

*Gallesia integrifolia* (Spreng.) Harms, pertencente à família Phytolaccaceae, conhecida como pau d'alho, guararema ou ibirarema, ocorre desde a Bahia até o Paraná, sendo característica da Floresta Semidecídua e da bacia do Paraná. É classificada como perenifólia, heliófita, seletiva higrófila, podendo atingir até 30 metros de altura, ocorrendo em terrenos profundos, úmidos e de alta fertilidade. Uma característica desta planta é que exala cheiro de alho, que é sentido em dias com alta umidade relativa do ar (Lorenzi 2000).

Estudos sobre o crescimento e respostas fotossintéticas de *G. integrifolia* sob diferentes níveis de luz foram realizados por Demuner *et al.* (2004), Nogueira *et al.* (2004) e Feijó *et al.* (2009). No entanto, faltam estudos relacionados às respostas de *G. integrifolia* sob diferentes níveis de luz e disponibilidade hídrica e como esses fatores podem interferir no acúmulo de carboidratos não estruturais, no teor de clorofila e variáveis fotossintéticas e de fluorescência.

Considerando que *G. integrifolia* ocorre em diversas condições de luz, do interior à borda das formações florestais, sendo caracterizada por alguns autores como uma planta pioneira, enquanto outros autores a classificam como secundária (Demuner *et al.* 2004; Nogueira *et al.* 2004) foram testadas as seguintes hipóteses: 1. As diferentes condições de luz e disponibilidade hídrica irão interferir nas concentrações de amido e de carboidratos solúveis totais da raiz, caule e folhas de pau d'alho, nas duas épocas de avaliação. 2. O sombreamento e a menor disponibilidade hídrica afetarão a atividade fotossintética e teor de clorofila das plantas.

## 2.2 MATERIAL E MÉTODOS

### 2.2.1 Coleta do material botânico e condução do experimento em casa de vegetação

Sâmaras de *G. integrifolia* de coloração parda foram colhidas de cinco árvores matrizes localizadas na Estação Ecológica do Caiuá, em agosto de 2014. A Estação Ecológica do Caiuá localiza-se no município de Diamante do Norte, noroeste do PR, situada a coordenadas aproximadas entre 52° 49' a 52° 53' W e 22° 34' a 22° 37' S e altitude que varia de 240 a 380 m de acordo com IAP (1997).

As sâmaras foram levadas ao laboratório de Fisiologia Vegetal da Universidade Estadual de Maringá, onde foram processadas, retirando-se a expansão alada e obtendo-se a semente.

Inicialmente o solo foi preparado para o cultivo das plantas, sendo seco ao ar livre, peneirado para retirada da matéria orgânica particulada e adubado com P300 (mg.dm<sup>-3</sup> solo). Foram utilizados 180 vasos, os quais receberam 1 kg de substrato cada.

Os experimentos foram conduzidos de setembro de 2014 a fevereiro de 2015, no jardim didático do Departamento de Biologia (DBI), da Universidade Estadual de Maringá (UEM), município de Maringá.

As sementes de *G. integrifolia* foram semeadas em 180 vasos contendo 1 kg de substrato cada, sendo que cada vaso recebeu cinco sementes, após a emergência, foi mantida apenas uma plântula por vaso.

Os vasos foram mantidos nos seguintes tratamentos em casa de vegetação: três níveis de luz (sob luz sem sombrite e sob 50% e 80% de sombreamento), e dois regimes hídricos (plantas irrigadas todos os dias e plantas irrigadas somente duas vezes por semana). Para os testes nos diferentes níveis de luz, as plantas foram mantidas no jardim didático do Departamento de Biologia da Universidade Estadual de Maringá, onde para o tratamento em luz plena não receberam cobertura com sombrite, enquanto que para os tratamentos de sombreamento, as plantas foram mantidas sob cobertura de sombrite de acordo com o índice

de sombreamento indicado. Após, essas plantas foram divididas para o tratamento de plantas irrigadas diariamente e plantas irrigadas apenas duas vezes por semana. Foram realizadas medições de luz com um luxímetro, sendo padronizadas da mesma forma para todas as condições, sendo efetuadas durante três dias nos horários de 10h, 12h e 16h e tomados três valores em intervalos de 30 segundos, sobre a bancada, à altura de 70 cm do nível do solo.

Sessenta dias após a diferenciação do primeiro eófilo, iniciou-se o tratamento de estresse hídrico, onde parte das plantas recebiam diariamente 50 ml de água, enquanto as plantas submetidas ao estresse recebiam a mesma quantidade apenas duas vezes por semana. Assim, as plantas de *G. integrifolia* foram submetidas aos tratamentos: sem sombrite e irrigadas diariamente (SS+água), sem sombrite irrigadas duas vezes por semana (SS+stress), 50% de sombreamento e irrigadas diariamente (50%+água), 50% de sombreamento e irrigadas duas vezes por semana (50%+stress), 80% de sombreamento e irrigadas diariamente (80%+água) e 80% de sombreamento e irrigadas duas vezes por semana (80%+stress).

## **2.3 Avaliação dos Parâmetros Fisiológicos**

### **2.3.1 Quantificação dos Carboidratos Não Estruturais**

Para a avaliação dos carboidratos não estruturais, foram quantificados os teores de amido e carboidratos solúveis totais. Dessa forma, três amostras de cada tratamento foram coletadas aos 30 e 90 dias após o início do período de estresse hídrico. Estas foram mantidas em estufa a 60°C por sete dias. Após foram separadas em raiz, caule e folha, em seguida determinou-se o peso seco (100 mg aos 30 dias e 200 mg aos 90 dias), a seguir foram colocadas em etanol 80% quente e armazenadas em geladeira.

### **2.3.2 Quantificação dos teores de carboidratos solúveis totais:**

As amostras obtidas da raiz, caule e folha, de cada tratamento, foram trituradas para a obtenção do extrato alcoólico, o qual foi evaporado e adicionado água, obtendo-se o extrato aquoso, a partir do qual se determinou os teores dos compostos solúveis. Os teores de carboidratos solúveis totais foram determinados através de reações com antrona (Clegg 1956). A leitura foi realizada em espectrofotômetro (spectrophotometer shimadzu UV-1201) à 620 nm.

Para extratos que apresentavam pigmentos, como caule e folha, foi necessário o processo prévio de despigmentação, feito em funil de separação utilizando clorofórmio e água destilada, foi necessário repetir o procedimento por quatro vezes. Em seguida foi realizada a evaporação destas amostras e posteriormente a quantificação.

Ao resíduo da centrifugação realizou-se a hidrólise ácida para determinação dos teores de amido, segundo o método descrito por McCready *et al.* (1950).

### **2.3.3 Quantificação dos teores de Amido**

Do resíduo obtido na extração dos carboidratos solúveis, o material foi ressuspenso em 5,5 ml de ácido perclórico a 30% e colocado em repouso por 20 min, com agitação ocasional, em seguida adicionou-se 10 ml de água destilada o qual foi centrifugado a 3.000 rpm, durante 8 minutos. Coletou-se o sobrenadante em proveta de 50 ml e o mesmo procedimento foi repetido por mais duas vezes. Os sobrenadantes foram coletados e combinados, completando o volume com água destilada, e o resíduo, descartado. A concentração de amido, em ml, foi obtida de acordo com a metodologia de McCready *et al.* (1950) por espectrofotometria (Spectrophotometer Shimadzu UV-1201) e a leitura da absorbância realizada em 620 nm.

### 2.3.4 Quantificação dos pigmentos fotossintéticos

Foram quantificados os teores de pigmentos fotossintéticos (clorofila a, b, total e razão a/b), a partir de folhas totalmente expandidas de plantas jovens de *G. integrifolia*, mantidas sob os seguintes tratamentos em casa de vegetação: três níveis de luz (sob luz sem sombrite e sob 50% e 80% de sombreamento), e dois regimes hídricos (plantas irrigadas todos os dias e plantas irrigadas somente duas vezes por semana).

Para a análise, foram coletadas as folhas completamente expandidas do segundo nó, de cinco indivíduos de cada tratamento, e obtido amostra de aproximadamente 100 mg cada, aos 30, 60 e 90 dias, após o início do período de estresse hídrico. As folhas foram coletadas sempre no mesmo horário de acordo com metodologia descrita por Carvalho *et al.* (2007). A quantificação dos teores de clorofila a e b foi de acordo com Arnon (1949), onde as amostras depois de pesadas, foram trituradas com acetona 80% e depois filtradas, usando papel filtro tipo 10 (sempre em provetas graduadas envolvidas com papel alumínio, para manter a solução protegida da luz). Em seguida foi realizada a leitura em 663 nm ( $A_{663}$ ) e 645 nm ( $A_{645}$ ) em espectrofotômetro (spectrophotometer shimadzu UV-1201). Os teores de clorofila foram calculados a partir das seguintes fórmulas:

$$Cl\ a = \{ [ 0,0289 \times (A_{645}) ] - [0,004671 \times (A_{663}) ] \} \times Vol(ml)/[peso(g)]\}$$

$$Cl\ b = \{ [ 0,0127 \times (A_{663}) ] - [0,00263 \times (A_{645}) ] \} \times Vol(ml)/[peso(g)]\}$$

$$Cl\ total = \{ [0,008029 \times (A_{663})] + [0,02026 \times (A_{645})] \times Vol(ml)/peso(g)\}$$

$$Cl\ a/b = Cl\ a / Cl\ b$$

Onde:

A= absorvância no comprimento de onda indicado

Cl a=clorofila a

Cl b= clorofila b

Vol=volume final do extrato clorofila - acetona

Peso = matéria fresca em gramas do material vegetal utilizado

Para a quantificação da clorofila a, b e total e a determinação da razão clorofila a/clorofila b das folhas cotiledonares foi realizado o mesmo procedimento como descrito acima.

### **2.3.5 Fotossíntese – Análise das variáveis de trocas gasosas**

O experimento foi conduzido no jardim didático do Departamento de Biologia da UEM, onde as variáveis de trocas gasosas das plantas de *G. integrifolia* foram feitas com o auxílio do analisador de gás infravermelho (IRGA, Analytical Development Company (ADC), modelo LCI Pro, Hoddesdon, UK). Foram avaliadas as variáveis: assimilação líquida de CO<sub>2</sub> (A,  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ), condutância estomática (gs,  $\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ), transpiração (E,  $\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) e concentração intercelular de CO<sub>2</sub> (Ci,  $\mu\text{mol mol}^{-1}$ ). A irradiância da fonte de luz acoplada foi 1000  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ . Através dos dados de A, gs, E e Ci, foi obtida a assimilação imediata/instantânea de CO<sub>2</sub> através da razão A/Ci, a eficiência intrínseca do uso da água (A/gs), eficiência do uso da água (A/E), e relação transpiração/condutância estomática (E/gs). As análises de trocas gasosas foram realizadas sempre na porção mediana de duas folhas mais jovens completamente expandidas e não destacadas de cada planta, entre 7 e 11h da manhã, período de maior taxa de assimilação líquida de CO<sub>2</sub> (A) (Morigana *et al.* 2002).

### **2.3.6 Determinação da fluorescência da clorofila a**

Os valores de fluorescência mínima (Fo), fluorescência máxima (Fm) e o rendimento quântico máximo do PSII (Fv/Fm) foram obtidos com a utilização de fluorímetro portátil de luz modulada (Opti-Sciences, modelo OS1-FL, Hudson, USA). As determinações de fluorescência da clorofila a adaptadas ao escuro foram medidas após a aclimação das folhas ao escuro (~ 5 min) com auxílio de presilhas de plástico.

### **2.3.7 Análise estatística**

O delineamento experimental foi em bloco casualizado, sendo quatro repetições para a determinação das variáveis fotossintéticas e de fluorescência e cinco repetições para a quantificação da clorofila. As variáveis fotossintéticas de fluorescência foram analisadas aos 30 e 90 dias após o início do período de estresse hídrico, enquanto a quantificação da clorofila ocorreu aos 30, 60 e 90 DIH. Todos os resultados foram submetidos à análise bifatorial e comparados pelo Teste de Tukey a 5% de significância, utilizando o pacote estatístico Statistica 7.0.

## **2.4 RESULTADOS**

### **2.4.1 Carboidratos Solúveis**

Os fatores de variação luz e disponibilidade hídrica não afetaram a concentração de carboidratos solúveis das folhas de pau d'alho, aos 30 DIH, pois não foram encontradas diferenças significativas para as plantas mantidas sob os diferentes tratamentos, durante esse período (Fig. 1A). Comparando cada órgão entre os tratamentos, o caule de plantas sob 50%+agua, 50%+stress, 80%+agua, SS+agua e SS+stress apresentaram os maiores teores de carboidratos solúveis. Considerando a raiz, os maiores teores de carboidratos solúveis foram encontrados nos tratamentos 80%+stress, SS+agua e SS+stress. Durante este período comparando o teor de carboidratos solúveis na folha, caule e raiz em cada tratamento, observou-se maior teor de carboidratos solúveis no caule de plantas sob 50% de sombreamento independente da condição hídrica e sob 80%+agua e SS+agua (Fig. 1A).

Aos 90 dias, comparando os órgãos folha, caule e raiz, em cada tratamento, separadamente, observou-se que nas plantas sob 50%+agua e 80%+agua, o maior teor de carboidratos solúveis totais foi encontrado na raiz. Para as plantas mantidas sob 50%stress e SS+stress, os maiores teores foram encontrados na folha e caule. Enquanto as plantas sob

80%stress e SS+agua os maiores teores de carboidratos solúveis foram observados no caule. Nesse mesmo período, comparando os órgãos entre os diferentes tratamentos verificou-se que as folhas de plantas sob 50%+agua apresentaram maior teor de carboidratos solúveis, enquanto no caule de plantas sob 50%+stress, 80%stress, SS+agua e SS+stress ocorreu o maior teor de carboidratos solúveis. Comparando a raiz nos diferentes tratamentos, observou-se maior teor de carboidratos solúveis na raiz de plantas sob 50%+agua e 80%+agua (Fig. 1B).

#### 2.4.2 Amido

Aos 30 dias observou-se maior concentração de amido nas folhas de plantas mantidas sob 50%+agua, 80%+agua, 80%+stress e SS+agua, enquanto os tratamentos 50%+stress e SS+stress apresentaram as menores médias (Fig. 2A).

Em relação ao caule, observou-se que aos 30 dias houve maior concentração de amido nas plantas submetidas aos tratamentos 80%+agua e 80%+stress, enquanto que o teor de amido da raiz não apresentou diferença significativa entre os tratamentos (Fig. 2A).

Ainda considerando a análise aos 30 dias, comparando o teor de amido na folha, caule e raiz em cada tratamento, separadamente, não foi encontrada diferença significativa entre os órgãos das plantas sob 50%+agua. Para as plantas sob 50%+stress, 80%+agua, 80%+stress e SS+agua o maior teor de amido foi encontrado no caule, enquanto que nas plantas sob SS+stress o maior teor de amido foi verificado no caule e raiz (Fig. 2A).

As fontes de variação de luz e disponibilidade hídrica não apresentaram interação sobre os teores de amido presente nas folhas, caule e raiz de plantas de *G. integrifolia* mantidas sob 50%+stress, 80%+stress, SS+agua e SS+stress, aos 90 DIH. No entanto, ainda aos 90 DIH, comparando o teor de amido na raiz, este foi significativamente maior quando as



plantas foram mantidas sob 50%+agua e 80%+agua. O teor de amido nessas raízes também foi superior aos dos demais tratamentos (Fig. 2B).

### **2.4.3 Teor de clorofila das folhas do 2º nó**

Aos 30 dias, as plantas mantidas sob 80% de sombreamento, independente da disponibilidade hídrica apresentaram maior teor de clorofila a. Já aos 60 e 90 dias, os maiores teores de clorofila a foi observado somente nas plantas sob 80%+agua (Fig. 3A).

Comparando o teor de clorofila a, entre as épocas de coleta verificou-se maior teor de clorofila a aos 60 dias para as plantas sob 80%+agua, enquanto que para as plantas sob 50%stress, o maior teor de clorofila foi observado aos 90 dias (Fig. 3A).

Em relação ao teor de clorofila b, também foi verificado maior teor para as plantas sob 80% de sombreamento, aos 30 dias, independentemente se irrigadas todos os dias ou somente duas vezes por semana. Aos 60 e 90 dias também observou-se maior teor de clorofila b para as plantas sob 80%+agua (Fig. 3B).

Considerando o teor de clorofila b, comparando o mesmo tratamento entre as épocas, para as plantas sob 50%+stress o maior teor de clorofila b foi encontrado aos 60 e 90 dias. Os demais tratamentos não apresentaram diferença significativa no teor de clorofila b entre as épocas (Fig. 3B).

Comparando o teor de clorofila total entre os tratamentos, em cada época, separadamente, as plantas sob 80% de sombreamento, independente da disponibilidade hídrica, apresentaram o maior teor de clorofila total, enquanto que aos 60 e 90 dias somente as plantas sob 80%+agua obtiveram o maior teor de clorofila total (Fig. 4A).

Considerando o teor de clorofila total entre as épocas, as plantas sob 50%+stress apresentaram valores significativamente superiores aos 60 e 90 dias, enquanto que para as plantas sob 80%+agua o maior teor de clorofila total foi observado aos 60 dias. O teor de

clorofila total para os demais tratamentos não foram estabelecidas diferenças significativas (Fig. 4A).

A razão de clorofila a/b em *G. integrifolia* foi maior nos tratamentos 50%+agua e SS+agua, aos 30 dias. Aos 60 dias a razão foi maior para as plantas sob SS+agua (Fig. 4B). Comparando os tratamentos entre as épocas, a maior razão foi encontrada aos 30 e 90 dias para as plantas sob 50%+stress e as plantas sob SS+stress obtiveram maior razão aos 90 dias (Fig. 4B).

#### **2.4.4 Clorofila Folhas cotiledonares**

A contribuição das folhas cotiledonares em relação ao desempenho fisiológico foi observado nas três épocas de análise, através da quantificação dos pigmentos fotossintéticos, clorofila a, b e total.

Assim, aos 30 dias, o mais elevado teor de clorofila a presentes nas folhas cotiledonares de *G. integrifolia*, foi observado nas plantas mantidas sob 80%+stress, sendo que os demais tratamentos não diferiram entre si (Fig. 5A). Como foi observado para as folhas do segundo nó, o teor de clorofila b nas folhas cotiledonares também foi maior no tratamento 80%+agua, seguida de 80%+stress. O tratamento SS+agua e SS+stress apresentaram os menores valores de clorofila a e b nas três e duas épocas de coleta, respectivamente (Fig. 5A e 5B). Aos 60 e 90 dias, os teores de clorofila a e b das folhas cotiledonares de pau d'alto foram maiores nas plantas mantidas sob 80%+agua.

O mesmo se repetiu para o teor de clorofila total que foi maior nas folhas cotiledonares de plantas sob sombreamento, neste caso independente da disponibilidade hídrica (Fig. 6A).

Já a razão clorofila a/b, foi maior nos tratamentos 50%+agua e SS+agua, aos 30 dias, sendo que os demais tratamentos não diferiram significativamente entre si (Fig. 6B). Aos 60

dias a maior razão foi encontrada nas folhas cotiledonares de plantas sob SS+água, enquanto aos 90 dias não foram encontradas diferenças significativas na razão clorofila a/b de folhas cotiledonares nos diferentes tratamentos.

#### **2.4.5 Fotossíntese**

As variáveis taxa de assimilação líquida de CO<sub>2</sub> (A), concentração intercelular de CO<sub>2</sub> (C<sub>i</sub>), transpiração (E), relação assimilação imediata/instantânea de CO<sub>2</sub> (A/C<sub>i</sub>), a relação transpiração/condutância estomática (E/g<sub>s</sub>) e a eficiência do uso da água (A/E) não apresentaram diferenças significativas entre todos os tratamentos analisados, aos 30 DIH, demonstrando que a disponibilidade hídrica e a luz não apresentaram efeito sobre esses parâmetros fotossintéticos

Considerando a condutância estomática (g<sub>s</sub>), aos 30 DIH esta foi menor em plantas sob 80%stress, diferindo das plantas sob 50%+água (Tab. 1). Enquanto que no mesmo período, a relação eficiência intrínseca do uso da água (A/G<sub>s</sub>) foi maior para as plantas sob 80%stress, diferindo dos tratamentos 50%+água, 50%+stress, SS+água e SS+stress (Tab. 1).

Não foram observadas diferenças significativas para todos os parâmetros analisados aos 90 dias após o início do período de estresse (Tab. 2).

#### **2.4.6 Fluorescência**

Aos 30 dias a fluorescência mínima em estado adaptado a luz (F<sub>o</sub>') não apresentou diferença significativa entre os tratamentos. Enquanto a fluorescência máxima em estado adaptado a luz (F<sub>m</sub>') foi menor para as plantas sob tratamento sem sombreamento, independente da disponibilidade hídrica. A eficiência quântica efetiva do FSII (Yield) foi significativamente maior para as plantas sob 80% de sombreamento (Tab. 3).

Ainda aos 30 dias, sob escuro, a fluorescência mínima ( $F_o$ ) foi maior para as plantas sob 50%+água e 50%+stress, enquanto os demais tratamentos apresentaram as menores médias e não diferiram entre si. Os maiores valores para fluorescência máxima ( $F_m$ ) e eficiência quântica potencial do fotossistema II ( $F_v/F_m$ ) foram obtidos nos tratamentos sob 80% de sombreamento, tanto irrigadas diariamente como para as irrigadas duas vezes por semana (Tab. 3).

Aos 90 dias a fluorescência da clorofila a em estado adaptado à luz, não foram encontradas diferenças significativas para os parâmetros  $F_m'$  e Yield, entre todos os tratamentos analisados. Entretanto, para a variável  $F_o'$  o valor foi significativamente superior no tratamento 80%+água em comparação aos encontrados para os tratamentos 50%+stress e SS+stress (Tab. 4).

A fluorescência mínima da clorofila a (escuro) foi maior nas plantas submetidas ao tratamento 50%+água, diferindo significativamente do tratamento SS+água e SS+stress. A fluorescência máxima ( $F_m$ ) foi maior sob 80%+água, que diferiu do tratamento sem sombreamento. A razão  $F_v/F_m$ , não apresentou diferenças significativas entre todos os tratamentos, aos 90 dias (Tab. 4).

## 2.5 DISCUSSÃO

O maior teor de carboidratos solúveis totais no caule de plantas sob 50% de sombreamento e 80%+água aos 30 DIH, nas plantas sob sombreamento e estresse hídrico e nas mantidas sem sombrite aos 90 DIH evidenciaram a maior alocação de assimilados para este órgão. O'Brien *et al.* (2015) relatam que uma alta concentração de carboidratos não estruturais no caule podem sugerir incapacidade de mover esses açúcares do caule ou também pode ser resultado de um alta exigência de carboidratos no caule. Os autores ainda verificaram que a concentração maior de carboidratos não estruturais no caule foi particularmente

importante para resistência à seca em espécies lenhosas, especialmente açúcares solúveis, sugerindo que os carboidratos não estruturais tem importante papel na manutenção das funções básicas, com função osmorreguladora e/ou de manutenção do turgor celular.

Melo *et al.* (2007) verificaram que folhas de *Setaria anceps* apresentaram diminuição no conteúdo de açúcares solúveis totais, açúcares redutores e amido, após as plantas estarem sob condições de restrição hídrica por onze dias. A queda na concentração de amido, não acompanhada pelo aumento nos teores de açúcares solúveis, é um indicativo de consumo destes açúcares para a manutenção da sobrevivência das plantas (Melo *et al.* 2007). Silva *et al.* (2010) estudando *Phaseolus lunatus* L, verificaram que as folhas de ambientes a pleno sol apresentaram as maiores concentrações de carboidratos solúveis, quando comparadas com as folhas sob sombreamento. Casagrande Junior *et al.* (1999) observaram que o maior nível de sombreamento diminui a concentração de carboidratos solúveis em caules de *Psidium cattleyanum*.

O maior teor de carboidratos solúveis totais na raiz auxilia na redução do potencial hídrico da planta, aumentando a capacidade de obtenção de água. Essa estratégia é utilizada pelas plantas que apresentam capacidade de ajuste osmótico quando mantidas em solo com restrição hídrica (Buchanan *et al.* 2015). Considerando o início do crescimento das plantas de *G. integrifolia*, ou seja, aos 30 DIH, o maior teor de carboidratos solúveis totais presente na raiz das plantas sob SS+stress, 80%+stress e SS+agua pode ter garantido o estabelecimento das plantas, aumentando a eficiência na absorção de água.

O'Brien *et al.* (2015) sugerem que ajustes na morfologia foliar e alocação de recursos são os fatores mais importantes para manutenção da taxa de crescimento em resposta ao déficit hídrico do solo e que a espécie com maior capacidade de expressar plasticidade para essas características demandam maior concentração de açúcares solúveis para resistência à seca.

Magalhães Filho (2008) observaram, em plantas de laranjeiras ‘Valência’, que o teor de carboidratos foi menor em raiz, caule e folhas de plantas sob deficiência hídrica.

Segundo Myers & Kitajima (2007) em um estudo com espécies florestais, verificaram que o armazenamento de carbono pode aumentar a tolerância a estresses no sub-bosque das florestas, através do provimento de um maior tempo para aclimatação. O que foi observado para *G. integrifolia*, com acúmulo de carboidratos solúveis no caule e na raiz, em condições de sombreamento e menor disponibilidade hídrica.

Alguns autores também relataram uma diminuição da concentração de carboidratos solúveis em resposta ao sombreamento. No entanto, Souza *et al.* (2010) não encontraram alterações significativas para a concentração de carboidratos em função de diferentes intensidades luminosas para quatro espécies da Floresta Atlântica.

Casagrande Junior *et al.* (1999) verificaram que o aumento do sombreamento provocou elevação dos teores de amido nas folhas e tendência à elevação destes no caule, em plantas de *Psidium cattleyanum*. A tolerância ao sombreamento tem sido correlacionada com o aumento dos carboidratos de reserva. Lusk & Piper (2007) verificaram aumento do conteúdo de carboidratos não estruturais no caule de plantas arbóreas mais jovens e mais tolerantes ao sombreamento. Quanto à concentração de amido na raiz, pôde-se observar que aos 30 dias não foi encontrada diferença significativa entre os tratamentos, em contrapartida, aos 90 dias, observou-se maior concentração de amido nas raízes de plantas sob 50%+agua e 80%+agua. Lusk & Piper (2007) também verificaram maior concentração de amido em plantas mais velhas.

O armazenamento é um processo fundamental que permite aos organismos atender à demanda variável de recursos durante o seu desenvolvimento e as flutuações ambientais na oferta de recursos. Armazenamento de carboidratos não estruturais (NSC), tais como amido e açúcares ou de outros compostos de carbonos (C) compostos que podem ser mobilizados, são

pontos críticos para a sobrevivência sob estresse e perturbação, particularmente para árvores de vida longa (Palacio *et al.* 2014).

Neste estudo, as plantas de *G. integrifolia* mantidas sob maior nível de sombreamento apresentaram os maiores teores de clorofila a, b e total. Lima Junior *et al.* (2005) estudando *Cupania vernalis*, verificaram que o menor valor de clorofila b, foi encontrado em plantas a pleno sol. O fato de se encontrar maior acúmulo de clorofila em níveis mais sombreados pode ser devido ao efeito compensatório da espécie a menor quantidade de radiação disponível. Rego & Possamar (2006) também observaram que níveis elevados de sombreamento proporcionaram maiores teores de clorofila a, b e total, em mudas de jequitibá-rosa.

De acordo com Scalon *et al.* (2002) o aumento da clorofila b nas folhas submetidas à baixa luminosidade é uma característica importante, porque ela capta a energia de outros comprimentos de onda e a transfere para a clorofila a, que efetivamente atua nas reações fotoquímicas da fotossíntese representando um mecanismo de adaptação à condição de menor intensidade de luz.

De acordo com Angel & Poggiani (1991) a relação clorofila a/b, de uma maneira geral tende a diminuir com a redução da intensidade luminosa, devido uma maior proporção relativa de clorofila b em ambiente sombreado, fato que ocorre devido a esta clorofila ser degradada mais lentamente, em plantas de sombra, do que a clorofila a. Fato que foi observado para *G. integrifolia* onde a maior razão clorofila a/b foi encontrada no tratamento SS+agua. A relação clorofila a/b também está relacionada diretamente com a capacidade das plantas em maximizar a captura de luz em condições de maior sombreamento (Dousseau *et al.* 2007). O que também pode ser sugerido no presente trabalho para as plantas sob 80% de sombreamento, onde foram encontrados os maiores teores de clorofila a, b e total.

Almeida *et al.* (2005) estudando a espécie pioneira *Acacia mangium* (Leguminosae), observou que a relação clorofila a/b, foi maior nas plantas cultivadas a pleno sol, do que sob

sombreamento. O que também foi observado para *G. integrifolia* aos 30 e 60 dias para as plantas mantidas sob SS+água.

Kitajima (2002) considera que plantas tolerantes à sombra dependem da reserva das sementes por um período maior de tempo e que plantas com cotilédones fotossintéticos, como encontrado em *Tabebuia rosea*, respondem à disponibilidade inicial de luz. Isto confirma os resultados obtidos para o teor de clorofila nos cotilédones foliáceos de *G. integrifolia* no presente trabalho, onde se observou maior teor de clorofila a, b e total para os cotilédones de plantas sob sombreamento e os menores teores nas plantas sem sombreamento.

Comparando numericamente o teor de clorofila a, b e total de folhas expandidas e das cotiledonares de *G. integrifolia* verifica-se maior valor de clorofila para as folhas verdadeiras. Zheng *et al.* (2011) constataram que o teor de clorofila das folhas cotiledonares de *Ricinus communis* começavam a reduzir a medida que o teor de clorofila das folhas primárias aumentavam.

Os cloroplastos de folhas de sombra possuem menor conteúdo de proteínas no estroma, incluindo a Rubisco (principal proteína presente nas plantas), e também menor proporção de proteínas de transporte de elétrons. Isto indica, que as folhas de sombra investem mais energia na produção de pigmentos coletores de luz, os quais permitem a absorção e utilização de praticamente toda a luz que atinge a folha.

Em relação aos parâmetros fotossintéticos, aos 30 e 90 dias, não foram encontradas diferenças significativas entre os tratamentos em relação à assimilação líquida de CO<sub>2</sub> (A). Estudos realizados por Feijó *et al.* (2009) com *G. integrifolia* demonstraram aumento da taxa de assimilação líquida sob maior irradiância, ou seja, a maior taxa fotossintética líquida foi obtida para as plantas mantidas sem sombreamento em casa de vegetação. Os valores obtidos no presente trabalho para a taxa de assimilação líquida (A), também foram inferiores aos relatados por Nogueira *et al.* (2004) também em plantas de *G. integrifolia*. Entretanto, os



valores obtidos, aos 30 DIH, para as variáveis transpiração (E) e condutância estomática (gs) foram próximos aos discutidos por estes autores. Resultado diferente também foi encontrado por Lima *et al.* (2006) onde plantas cultivadas sob 50 e 70% de sombreamento apresentaram menores taxas de fotossíntese líquida quando comparadas com os demais tratamentos avaliados. Os autores também verificaram que plantas submetidas a 70% de sombreamento foram as que exibiram menor condutância estomática em relação às cultivadas sob maiores intensidades luminosas o que foi observado para *G. integrifolia*, onde se observou menor (gs) aos 30 dias para as plantas sob 80%+stress, sugerindo o efeito da restrição hídrica sobre a condutância estomática. Campelo *et al.* (2015) estudando as trocas gasosas do fotossistema II em seis espécies florestais em função do suprimento de água no solo, observou que as reduções de condutância estomática fez com que a maioria das espécies estudadas promovessem o fechamento estomático para diminuir a perda de água quando expostas a condições de baixa disponibilidade hídrica.

Alvarenga *et al.* (2003) verificaram em *Croton urucurana*, uma espécie pioneira, que as maiores taxas fotossintéticas ocorreram em plantas jovens cultivadas em níveis mais elevados de irradiância (30% e a pleno sol). De acordo com Valladares & Niinemets (2008) devido ao incremento da quantidade de enzimas e maior condutância estomática, as folhas desenvolvidas a pleno sol, geralmente, são mais espessas e têm maior capacidade fotossintética por unidade de área, do que folhas submetidas ao sombreamento, o que foi verificado no presente estudo, pois a maior condutância estomática foi encontrada nas plantas sob 50%+agua, não diferindo estatisticamente dos tratamentos 50%+stress, 80%+agua, SS+agua e SS+stress.

Lima Junior *et al.* (2006) perceberam que em níveis mais elevados de sombreamento as folhas de *Cupania vernalis*, apresentavam maiores espaços intercelulares e menores espessuras de parede favorecendo, assim, maior condutância interna de CO<sub>2</sub> e maior

distribuição interna de CO<sub>2</sub> nas folhas dessas plantas. Apesar de não terem sido encontradas diferenças estatísticas entre os tratamentos para os parâmetros C<sub>i</sub> e A/C<sub>i</sub> nas duas épocas de análise pode-se inferir que alterações anatômicas das plantas sob sombreamento propiciariam maior capacidade no aproveitamento do CO<sub>2</sub>, ocasionando a ausência de diferença entre os tratamentos em relação à capacidade fotossintética. O que também é corroborado pelo maior valor de eficiência intrínseca do uso da água (A/g<sub>s</sub>) obtido pelas plantas sob 80%stress.

Lima *et al.* (2006) estudando espécies de *Eucalyptus*, verificaram que plantas submetidas à estresse hídrico reduziram a condutância estomática, a fotossíntese e as taxas de transpiração em todas as espécies de *Eucalyptus* avaliadas. Os autores ainda relatam que a taxa fotossintética do *E. phaeotrica* permaneceu alta mesmo após o quarto dia do estresse hídrico, e o estresse também aumentou a fotoinibição da fotossíntese, medida por fluorescência da clorofila, que variou entre as espécies, assim como em relação à concentração de CO<sub>2</sub>.

Baker & Rosenqvist (2004) mencionam que F<sub>o</sub> evidencia a fluorescência quando a quinona receptora primária de elétrons (QA) do fotossistema II (PSII) está totalmente oxidada e o centro de reação (P680) está aberto, indicando iminência à ativação das reações fotoquímicas, enquanto a intensidade máxima de fluorescência (F<sub>m</sub>) denota o estado em que os centros de reações do PSII são incapazes de aumentar as reações fotoquímicas, e a fluorescência atingiu sua capacidade máxima, evidenciando a condição reduzida de toda quinona (QA) pelos elétrons transferidos a partir do P680.

Os resultados obtidos para as variáveis de fluorescência, possivelmente indicam que as plantas de pau d'alto tiveram a capacidade de alterar seus fotossistemas e se adaptaram para sobreviver em ambos ambientes, com diferentes níveis de luminosidade e regime hídrico.

Os resultados de F<sub>m</sub> obtidos para *G. integrifolia* são semelhantes aos encontrados por Dias & Marengo (2007) analisando os efeitos da luminosidade e temperatura na fotossíntese em mogno (*Swietenia macrophylla*) e acariquara (*Minquartia guianensis*) onde verificaram

que os valores de (Fm) foram reduzidos com o aumento da luminosidade. De acordo com Demmig-Adams & Adams (1992) a redução de Fm tem sido atribuída à dissipação não-fotoquímica principalmente por meio do ciclo da xantofila, em que a violaxantina é convertida em zeaxantina. Onde o excesso de energia absorvida pela folha é drenado para carotenóides do ciclo da xantofila que a dissipa na forma de calor, o que protege o fotossistema II contra possíveis danos oxidativos causados pela radiação solar plena (Dias & Marengo 2007).

A eficiência quântica efetiva do FSII (Yield) (claro) e a eficiência quântica potencial do fotossistema II (Fv/Fm) (escuro) foram maiores nos tratamentos mais sombreados (80%+agua e 80%+stress), aos 30 dias, enquanto os demais tratamentos não diferiram entre si. Tang *et al.* (2015) estudando condições ideais de luminosidade para mudas de *Torreya grandis*, verificaram que as condições 50% de sombreamento e pleno sol reduziram a eficiência fotoquímica máxima, a taxa fotossintética e o teor de clorofila, quando comparadas com as plantas que estavam em nível maior de sombreamento. A eficiência quântica foi maior em plantas que estavam sob sombra, devido à atividade fotossintética ter sido maior na sombra do que no sol. Neste caso, como para *G. integrifolia* a eficiência quântica também foi verificada para as plantas sob maior nível de sombreamento, isto pode ter determinado a eficiência fotossintéticas destas plantas, não reduzindo os parâmetros fotossintéticos.

Esposti (2013) observou aos 15 dias após o início do tratamento de restrição hídrica que plantas de *Handroanthus chrysotrichus* reduziram a eficiência quântica potencial do fotossistema II (Fv/Fm) enquanto que a espécie *Cariniana estrellensis*, que estava nas mesmas condições, não apresentaram alterações por consequência deste parâmetro, ou seja, dependendo da espécie pode ocorrer ou não alterações significativas.

A razão Fv/Fm é o principal parâmetro utilizado na avaliação dos danos ao sistema fotossintético, o qual indica a eficiência fotoquímica do fotossistema II (PSII). Baker &

Rosenqvst (2004) citam que  $F_v/F_m$  também tem sido utilizada para detectar perturbações no sistema fotossintético causadas por estresses ambientais e bióticos. A eficiência quântica efetiva, indica qual a proporção de luz que foi absorvida pela clorofila associada ao FSII utilizada em atividade fotoquímica, informando a quantidade de elétrons transportados sendo um indicativo da fotossíntese (Baker & Rosenqvst 2004).

A razão  $F_v/F_m$  foi menor para as plantas sob maior disponibilidade de luz, independente da disponibilidade hídrica, aos 30 dias, não diferindo entre os tratamentos aos 90 dias. Resultado semelhante foi observado por Melo *et al.* (2007) onde verificaram que plantas de *Setaria* e *Paspalo* submetidas às condições de deficiência hídrica não apresentaram variação na relação  $F_v/F_m$ , o que de acordo com os autores, é um indicativo de que a eficiência fotossintética do fotossistema II não foi influenciada pela restrição de água, o que pode ser considerado um indicativo de adaptabilidade destas espécies às condições de déficit hídrico por esta condição não causar danos ao fotossistemas.

De modo geral, *G. integrifolia* apresentou capacidade de adaptação aos níveis de luz e disponibilidade hídrica, o que também foi relatado por Feijó *et al.* (2009) em relação à adaptação desta espécie à condições de denso sombreamento.

A plasticidade demonstrada por *G. integrifolia* favoreceu a sua adaptação às diferentes condições a que foi exposta, não interferindo significativamente nas variáveis fotossintéticas. Além disso, a capacidade de alocação dos carboidratos não estruturais confirma essa capacidade de adaptação às condições de sombreamento e disponibilidade hídrica.

## 2.6 REFERÊNCIAS

- Almeida SMZ, Soares AM, Castro EM, Vieira CV, Gajego EB. 2005. Alterações morfológicas e alocação de biomassa em plantas jovens de espécies florestais sob diferentes condições de sombreamento. *Ciência Rural* 35: 62- 68.
- Alvarenga AA, Castro EM, Lima-Junior EC, Magalhães MM. 2003. Effects of different light levels on the initial growth and photosynthesis of *Croton urucurana* Baill. In southeastern Brazil. *Revista Árvore* 27: 53-57.
- Amaral JAT, Rena AB, Amaral JFT. 2006. Crescimento vegetativo sazonal do cafeeiro e suas relações com fotoperíodo, frutificação, resistência estomática e fotossíntese. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 41: 377-384.
- Amaral LIV, Gaspar M, Costa PMF, Aidar MPA, Buckeridge MS. 2007. Novo método enzimático rápido e sensível de extração e dosagem de amido em materiais vegetais. *Hoehnea* 34: 425-431.
- Angel VL, Poggiani F. 1991. Estudo da concentração de clorofila nas folhas e seu espectro de absorção de luz em função do sombreamento em mudas de quatro espécies florestais nativas. *Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal* 3: 39-45.
- Arnon DI. 1949. Copper enzymes in isolated chloroplast polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. *Plant Physiology* 24: 1-15
- Baker NR, Rosenqvist E. 2004. Applications of chlorophyll fluorescence can improve crop production strategies: an examination of future possibilities. *Journal of Experimental Botany* 55: 1607-1621.
- Buchanan BB, Wilhelm G, Jones R. 2015. *Biochemistry & molecular biology of plants*. American Society of Plant Biologists. Wiley Blackwell. 1264p.
- Campelo DH, Lacerda CF, Sousa JA, Correia D, Bezerra AME, Araújo JDM, Neves ALR. 2015. Trocas gasosas e eficiência do fotossistema II em plantas adultas de seis espécies florestais em função do suprimento de água no solo. *Revista Árvore* 39: 973-983.
- Campos MAA, Uchida T. 2002. Influência do sombreamento no crescimento de mudas de três espécies amazônicas. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 37: 281-288.
- Carvalho APF, Bustamante MMC, Kozovits AR, Asner GP. 2007. Variações sazonais nas concentrações de pigmentos e nutrientes em folhas de espécies do cerrado com diferentes estratégias fenológicas. *Revista Brasileira de Botânica* 30: 19-27.
- Casagrande Junior JG, Bianchi VJ, Strelow EZ, Bacarin MA, Fachinello JC. 1999. Influência do sombreamento sobre os teores de carboidratos e fenóis em estacas semilenhosas de araçazeiro. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 34: 2219-2223.
- Castro Neto MT. 2003. Efeito do déficit hídrico na transpiração e resistência estomática da mangueira. *Revista Brasileira de Fruticultura* 25: 23-95.

Clegg KM. 1956. The application of the anthrone reagent to the estimation of starch in cereals. *Journal of Science Food Agricultural*. 3: 40-44.

Demuner VG, Hebling AS, Dagustinho DM. 2004. Efeito do sombreamento no crescimento inicial de *Galesia integrifolia* (Spreng.) Harms. *Bol. Mus. Biol. Mello Leitão* 17: 45-55.

Demmig-Adams B, Adams III WW. 1992. Photoprotection and other responses of plants to high light stress. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 43: 599-626.

Dias DP, Marengo RA. 2007. Fotossíntese e fotoinibição em mogno e acariquara em função da luminosidade e temperatura foliar. *Pesq. Agropec. Bras.*, Brasília 42: 305-311.

Dousseau S, Alvarenga AA, Santos MO, Arantes LO. 2007. Influência de Diferentes Condições de Sombreamento sobre o Crescimento de *Tapirira guianensis* Alb. *Revista Brasileira de Biociências* 5: 477-479.

Esposti MSOD. 2013. Estresse hídrico em duas espécies arbóreas de diferentes estágios sucessionais. 2013. Dissertação (Mestrado em Ecologia e Recursos Naturais) Universidade Estadual Do Norte Fluminense, Campos dos Goytacazes – RJ.

Feijó NSA, Mielke MS, Gomes FP, França S, Lavinsky AO. 2009. Growth and photosynthetic responses of *Galesia integrifolia* (Spreng.) Harms and *Schinus terebinthifolius* Raddi: seedlings in dense shade. *Agroforest System* 77:49-58.

Ferri CP. 2004. Narrow band spectral indexes for chlorophyll determination in soybean canopies. *Brazilian Journal of Plant Physiology* 16: 131-136.

Hassiotou F, Ludwig M, Renton M, Veneklaas EJ, Evans J. 2009. Influence of leaf dry mass per area, CO<sub>2</sub>, and irradiance on mesophyll conductance in sclerophylls. *Journal of Experimental Botany* 60: 2303-2314.

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

Kitajima K. 2002. Do shade-tolerant tropical tree seedlings depend longer on seed reserves? Functional growth analysis of three Bignoniaceae species. *Functional Ecology* 16: 433-444.

Kobe RK. 1997. Carbohydrate allocation to storage basis of interespecific variation in sapling survivorship and growth. *Oikos* 80: 226-233.

IAP – Instituto Ambiental do Paraná. 1997. Plano de Manejo da Estação Ecológica do Caiuá, Diamante do Norte – PR. Paranavaí.

Lima Junior EC, Alvarenga AA, Castro EM, Vieira CV, Barbosa JPRAD. 2006. Aspectos fisiológicos de plantas jovens de *Cupania vernalis* Camb. submetidas a diferentes níveis de sombreamento. *Revista Árvore* 30: 33-41.

Lima Junior EC, Alvarenga AA, Castro EM, Vieira CV, Oliveira HM. 2005. Trocas gasosas, características das folhas e crescimento de plantas jovens de *Cupania vernalis* Camb. submetidas a diferentes níveis de sombreamento. *Ciência Rural* 35: 1092-1097.

Lorenzi H. 2000. Árvores Brasileiras: Manual de Identificação e cultivos de plantas arbóreas do Brasil. Vol. 1, 2ª Ed. Plantarum. São Paulo: Nova Odessa

Lusk CH, Piper FI. 2007. Seedling size influences relationships of shade tolerance with carbohydrate – storage patterns in a temperate rain forest. *Functional Ecology* 21: 78-86.

Magalhães Filho JR, Amaral LR, Machado DFSP, Medina CL, Machado EC. 2008. Deficiência hídrica, trocas gasosas e crescimento de raízes em laranjeira ‘Valência’ sobre dois tipos de porta-enxerto. *Bragantia* 67: 75-82.

Mattos EA. 1998. Perspectives comparative ecophysiology of some brasilian vegetation types: leaf CO<sub>2</sub> and H<sub>2</sub>O gas exchange, chlorophyll a fluorescence and carbon isotope discrimination. In.: Scarano, F.R. & Franco, A.C. (Eds). *Ecophysiological strategies of xerophytic and amphibious plants em the neotropics. Series Oecologia Brasiliensis.* 4:1-22.

McCready RM, Guggolz J, Wens HS. 1950. Determination of starch and amylases in vegetables. *Analytical Chemistry* 22: 1156-1158.

Melo HC, Castro EM, Soares AM, Melo LA, Alves JD. 2007. Alterações anatômicas e fisiológicas em *Setaria anceps* Stapf ex Massey e *Paspalum paniculatum* L. sob condições de déficit hídrico. *Hoehnea* 34: 145-153.

Moriana A, Villalobos F, Ferreres E, 2002. Stomatal and photosynthetic responses of olive (*Olea europaea* L.) leaves to water deficits. *Plant, Cell & Environment* 25: 395-405.

Myers JA, Kitajima K, Carbohydrate storage enhances seedling shade and stress tolerance in a neotropical forest. *Journal of Ecology.* v. 95, p. 383-395, 2007.

Nogueira A, Martinez CA, Ferreira LL, Prado CHBA (2004) Photosynthesis and water use efficiency in twenty tropical tree species of differing succession status in a Brazilian reforestation. *Photosynthetica* 42: 351–356

O’Brien MJ, Bursliem DFRP, Caduff A, Tay J, Hector A. 2015. Contrasting nonstructural carbohydrate dynamics of tropical tree seedlings under water deficit and variability. *New Phytologist* 205: 1083-1094.

Palacio S, Hoch G, Sala A, Körner C, Millard P. 2014. Does carbon storage limit tree growth? *New Phytologist* 201: 1096-1100.

Pontes CA, Borges EEL, Borges RCG, Soares CPB. 2002. Mobilização de reservas em sementes de *Apuleia leiocarpa* (Vogel) J.F. Macbr. (garapa) durante a embebição. *Revista Árvore* 26: 593-601.

Rego GM, Possamar E. 2006. Efeito do Sombreamento sobre o Teor de Clorofila e Crescimento Inicial do Jequitibá-rosa. *Boletim de Pesquisa Florestal* 53: 179-194.

Resende SV, Crepaldi IC, Pelacani CR, Brito AL. 2011. Influência da luz e substrato na germinação e desenvolvimento inicial de duas espécies de *Calliandra* Benth. (Mimosoideae - Leguminosae) endêmicas da chapada Diamantina, Bahia. *Revista Árvore* 35: 107-117.

Scalon SPQ, Mussury RM, Rigoni MR, Veraldo F. 2002. Crescimento inicial de mudas de espécies florestais nativas sob diferentes níveis de sombreamento. *Revista Árvore* 26: 1-5.

Silva EC, Nogueira RJMC, Neto ADA, Brito JZ, Cabral EL. 2004. Aspectos ecofisiológicos de dez espécies em uma área de caatinga no município de Cabaceiras, Paraíba, Brasil. *Iheringia, Série Botânica* 59: 201-205.

Silva JM, Filho JTC, Ferreira AM. 2010. Concentração de carboidratos solúveis em folhas de *Phaseolus lunatus* L. em relação ao sombreamento. *Estudos* 37: 403-417.

Souza BD, Rodrigues BM, Endres L, Santos MG. 2010. Ecophysiology parameters of four Brazilian Atlantic Forest species under shade and drought stress. *Acta Physiol. Plant* 32: 729-737.

Tang H, Hu YY, Yu WW, Song LL, WU JS. 2015. Growth, photosynthetic and physiological responses of *Torreya grandis* seedlings to varied light environments. *Trees* 29: 1011-1022.

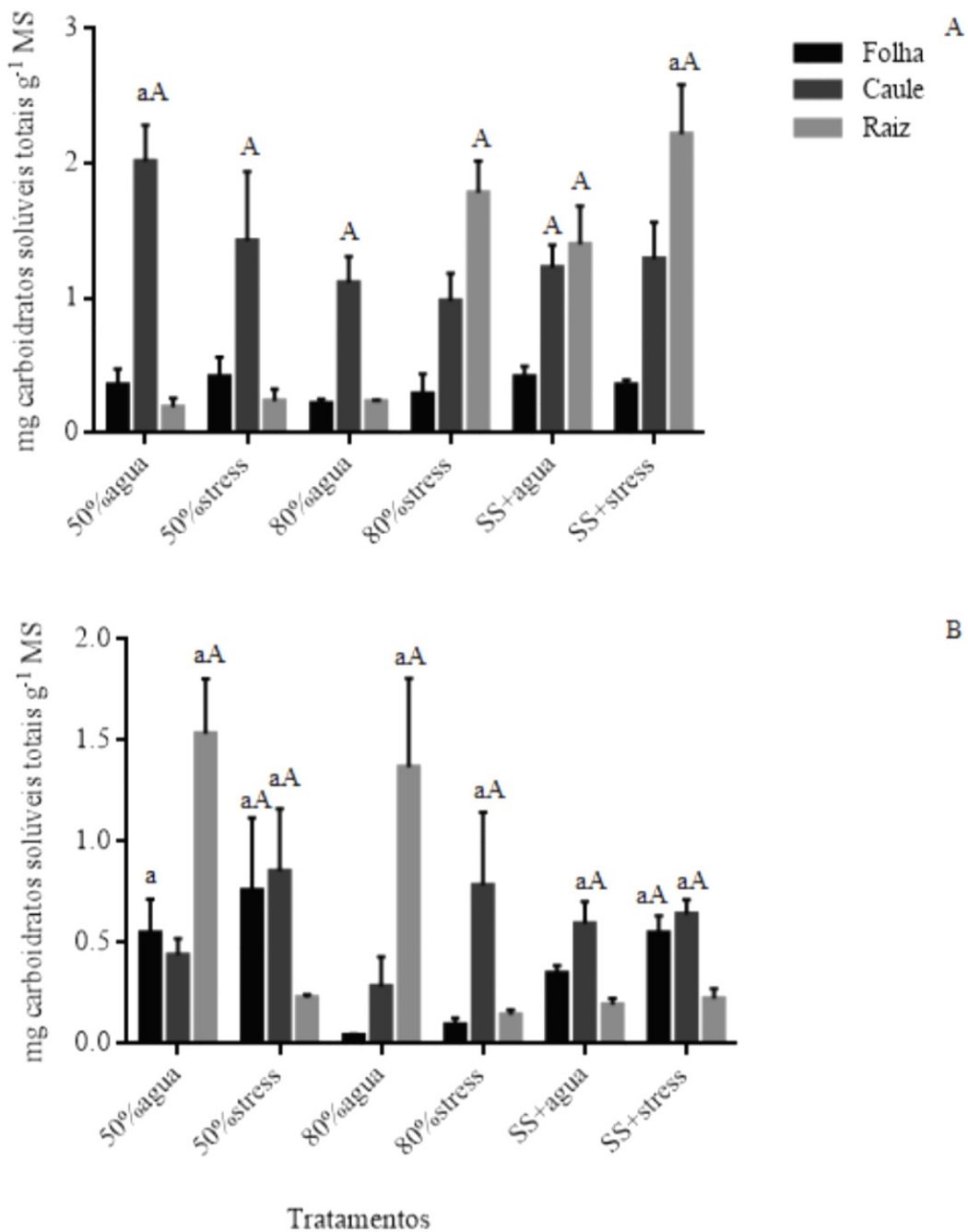
Taiz L, Zeiger E. 2013. *Fisiologia vegetal*. 5ªed. Porto Alegre: Artmed.

Valladares F, Niinemets U. 2008. Shade tolerance, a key plant feature of complex nature and consequences. *Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics* 39: 237-257.

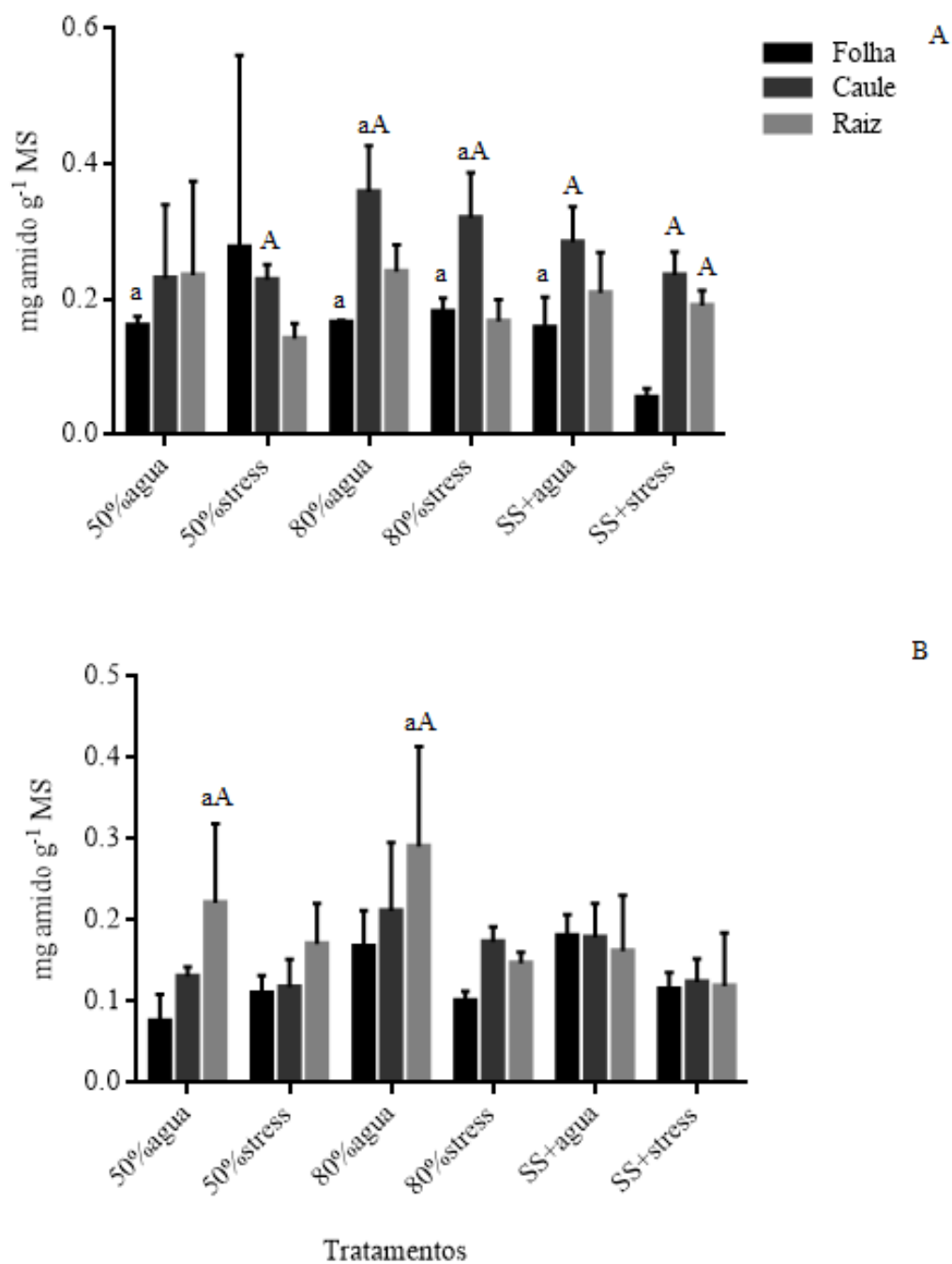
Zheng W, Wang P, Zhang HX. 2011. Photosynthetic characteristics of the cotyledon and first true leaf of castor. *Australian Journal of Crop Science* 5: 702-708.



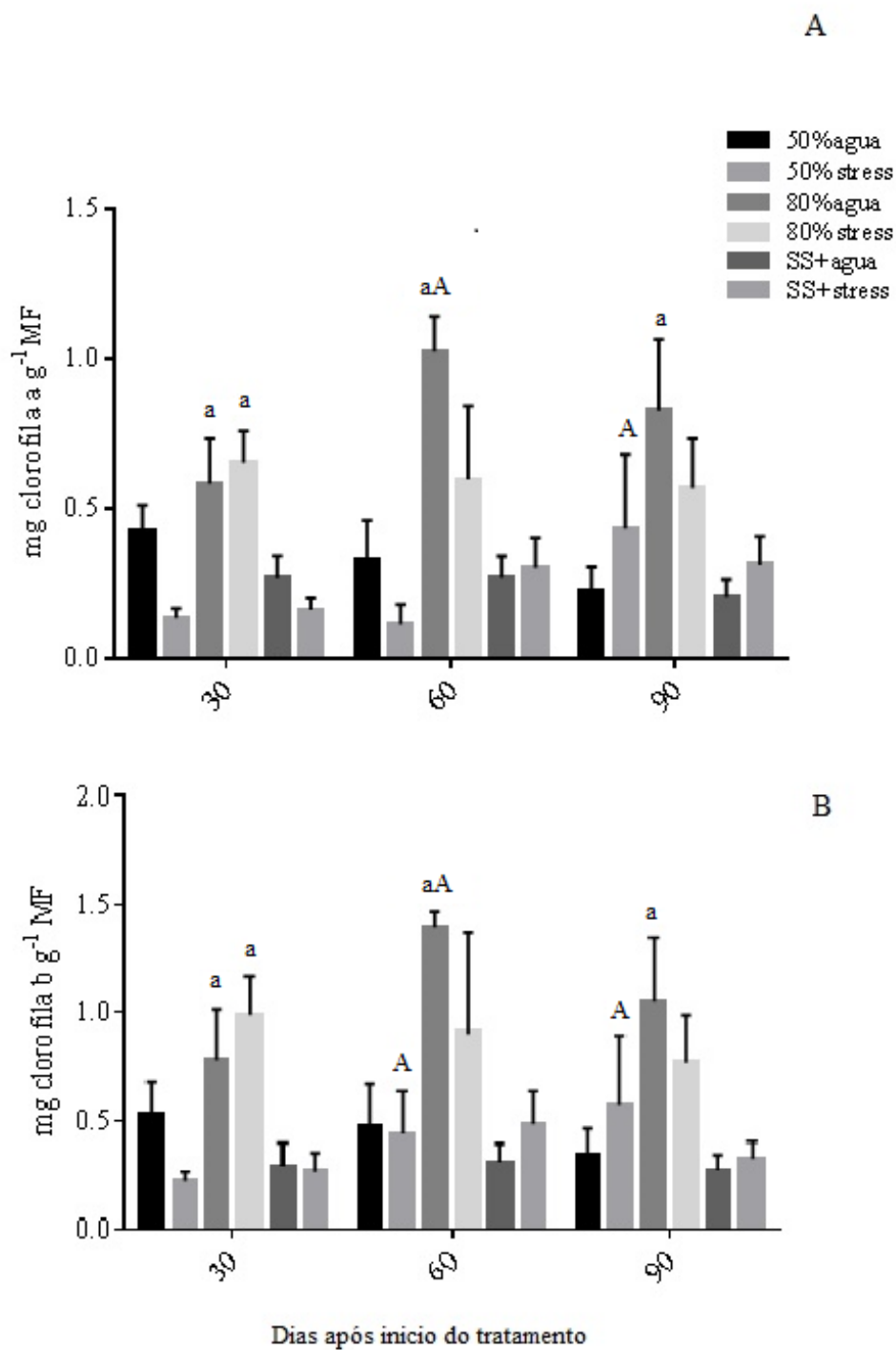
## **Figuras**



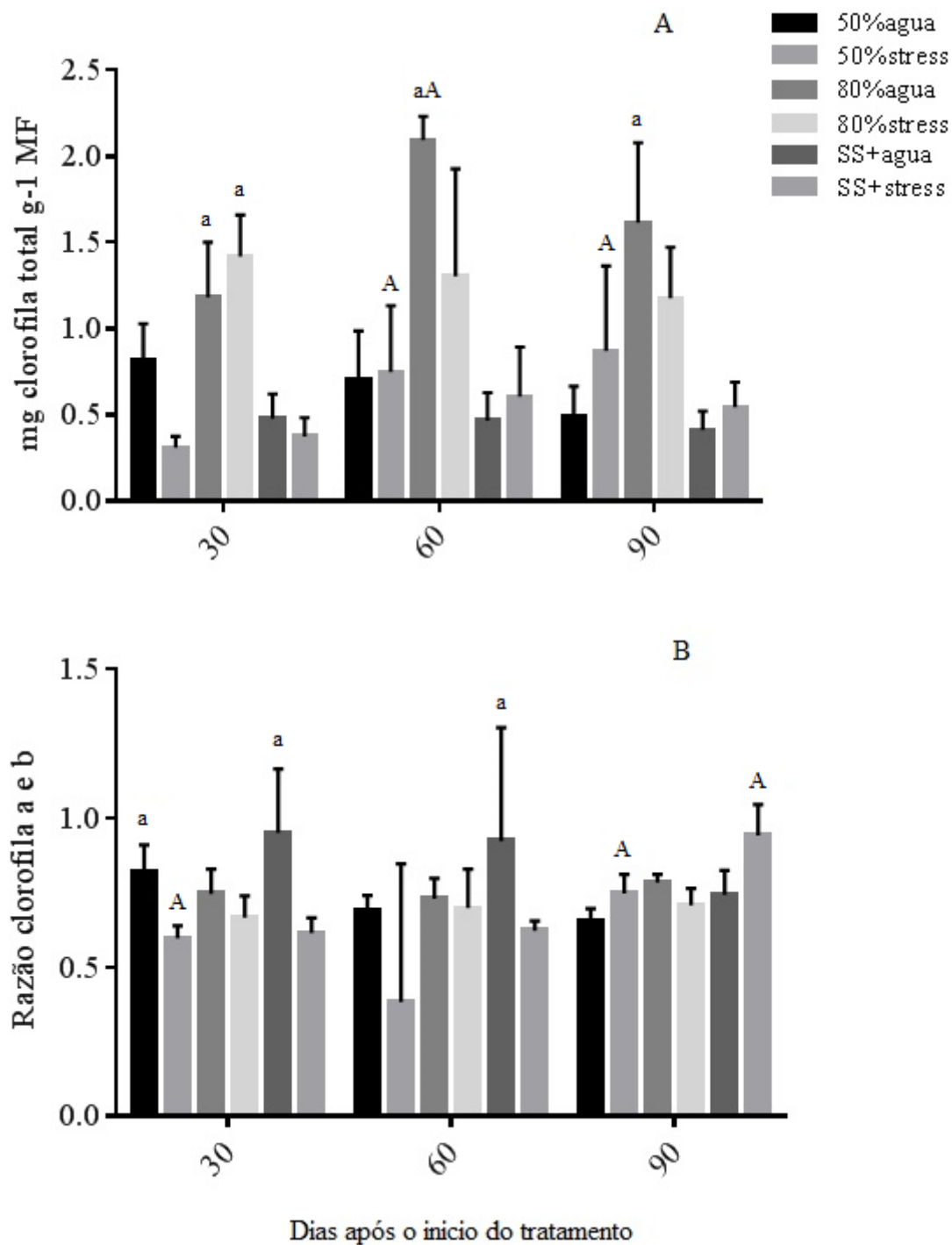
**Figura 1.** Teor de carboidratos solúveis totais ( $\text{g}^{-1}\text{MS}$ ) de folha, caule e raiz de *Galesia integrifolia*. (A) 30 dias após início do tratamento hídrico, (B) aos 90 dias. (a) comparando o órgão entre os diferentes tratamentos; (A) os órgãos do mesmo tratamento e (aA) ambas comparações.



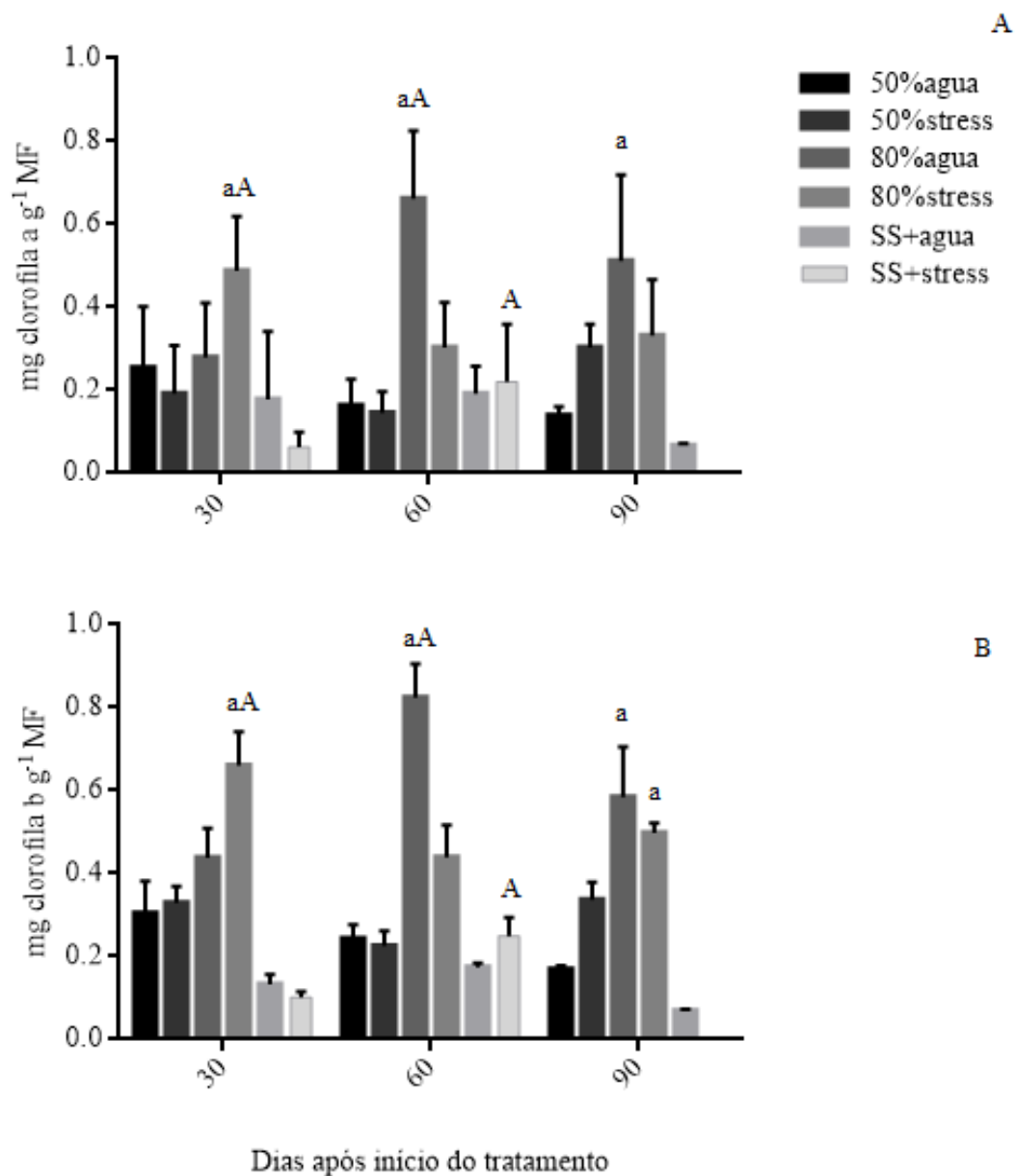
**Figura 2.** Teor de amido (g<sup>-1</sup>MS) de folha, caule e raiz de *Gallesia integrifolia*. (A) 30 dias após início do tratamento hídrico, (B) aos 90 dias. (a) comparando o órgão entre os diferentes tratamentos; (A) os órgãos do mesmo tratamento e (aA) ambas comparações.



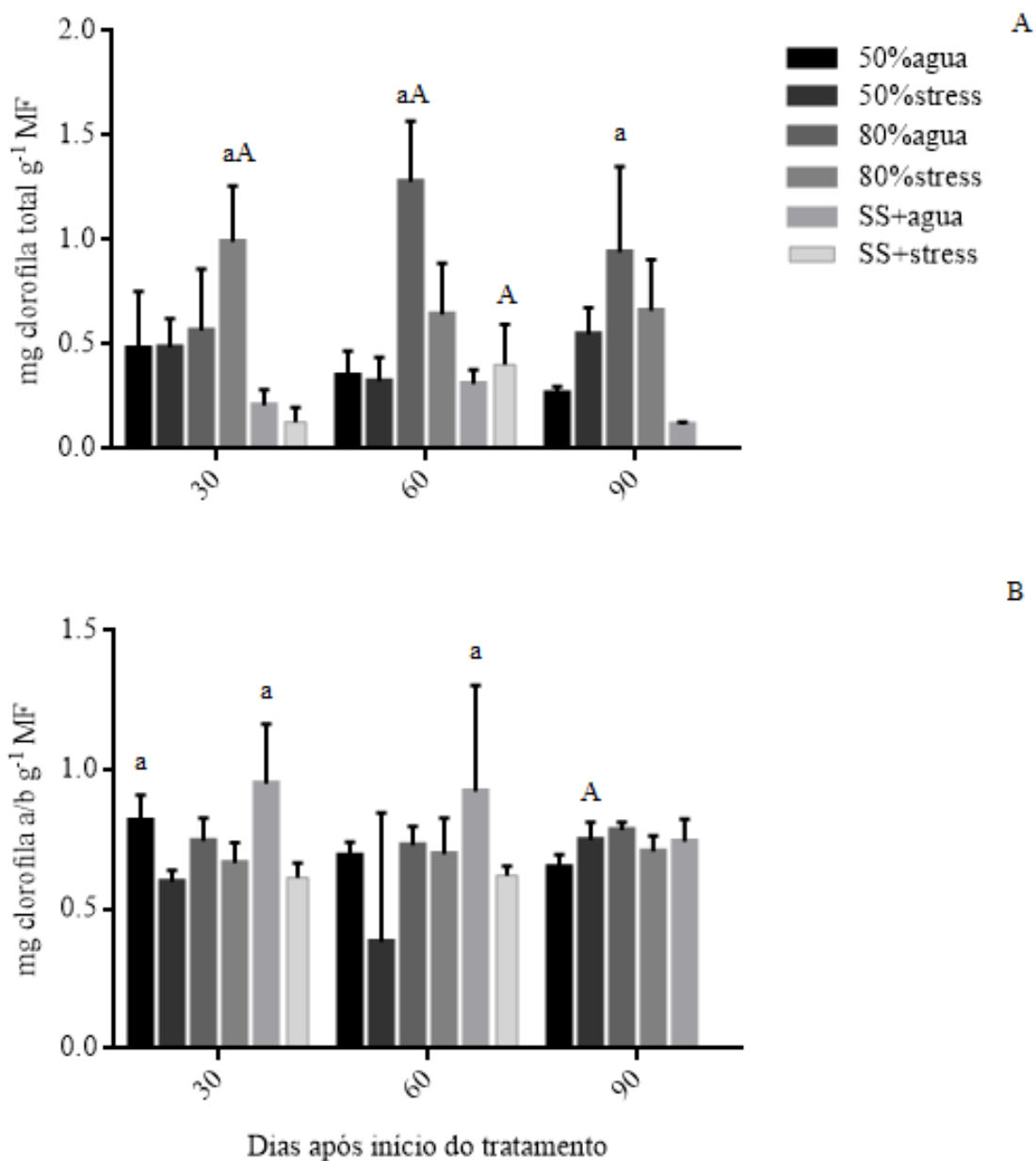
**Figura 3.** Teor de clorofila a e b (mg cloro fila g<sup>-1</sup>MF) de folhas do segundo nó de *Gallesia integrifolia*, aos 30, 60 e 90 dias após o início do tratamento hídrico. (A) Clorofila a (B) Cloro fila b. (a) comparação entre os diferentes tratamentos na mesma época; (A) comparação dos tratamentos nas três épocas de análise. (aA) ambas comparações.



**Figura 4.** Teor de clorofila total e razão a e b (mg clorofila g<sup>-1</sup>MF) de folhas do segundo nó de *Galesia integrifolia*, aos 30, 60 e 90 dias após o início do tratamento hídrico. (A) Clorofila a (B) Clorofila b. (a) comparação entre os diferentes tratamentos na mesma época; (A) comparação dos tratamentos nas três épocas de análise. (aA) ambas comparações.



**Figura 5.** Teor de clorofila a e b (mg clorofila g<sup>-1</sup>MF) de folhas cotiledonares de *Gallesia integrifolia*, aos 30, 60 e 90 dias após o início do tratamento hídrico. (A) Clorofila a (B) Clorofila b. (a) comparação entre os diferentes tratamentos na mesma época; (A) comparação dos tratamentos nas três épocas de análise. (aA) ambas comparações.



**Figura 6.** Teor de clorofila total e razão a/b (mg clorofila g<sup>-1</sup>MF) de folhas cotilédones de *Gallesia integrifolia*, aos 30, 60 e 90 dias após o início do tratamento hídrico. (A) Clorofila a (B) Clorofila b. (a) comparação entre os diferentes tratamentos na mesma época; (A) comparação dos tratamentos nas três épocas de análise. (aA) ambas comparações.

## **Tabelas**



**Tabela 1:** Assimilação líquida de CO<sub>2</sub> (A -  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ), concentração intracelular de CO<sub>2</sub> (Ci -  $\mu\text{mol mol}^{-1}$ ), transpiração (E -  $\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ), condutância estomática (Gs -  $\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ), assimilação instantânea de CO<sub>2</sub> (A/Ci), eficiência intrínseca do uso da água (A/gs), eficiência do uso da água (A/E) e relação transpiração/condutância estomática (E/gs) de plantas de *Gallesia integrifolia* obtidas 30 dias após início do tratamento hídrico.

30 dias								
Tratamentos	A	Ci	E	Gs	A/Ci	A/Gs	A/E	E/Gs
50%+agua	4,313 a*	353,75 a	2,89 a	0,508 a	0,0123 a	8,408 b	1,485 a	5,844 a
50%+stress	4,415 a	346,50 a	2,38 a	0,378 ab	0,0128 a	12,669 b	1,812 a	7,236 a
80%+agua	5,533 a	331,0 a	2,31 a	0,288 ab	0,0167 a	19,224 ab	2,440 a	8,066 a
80%+stress	5,445 a	322,50 a	2,12 a	0,245 b	0,0170 a	24,115 a	2,734 a	8,762 a
SS+agua	4,213 a	345,0 a	2,57 a	0,348 ab	0,0123 a	12,405 b	1,637 a	7,550 a
SS+stress	4,843 a	342,0 a	2,71 a	0,380 ab	0,0142 a	12,786 b	1,799 a	7,565 a

\*Letras iguais não diferem pelo teste de Tukey a 5%.

**Tabela 2:** Assimilação líquida de CO<sub>2</sub> (A -  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ), concentração intracelular de CO<sub>2</sub> (Ci -  $\mu\text{mol mol}^{-1}$ ), transpiração (E -  $\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ), condutância estomática (Gs -  $\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ), assimilação instantânea de CO<sub>2</sub> (A/Ci), eficiência intrínseca do uso da água (A/gs), eficiência do uso da água (A/E) e relação transpiração/condutância estomática (E/gs) de plantas de *Gallesia integrifolia* obtidas 90 dias após início do tratamento hídrico.

90 dias								
Tratamentos	A	Ci	E	Gs	A/Ci	A/Gs	A/E	E/Gs
50%+agua	3,233 a	370,25 a	2,12 a	0,433 a	0,0089 a	7,195 a	1,490 a	4,961 a
50%+stress	4,880 a	351,25 a	1,84 a	0,310 a	0,0143 a	15,113 a	2,563 a	6,089 a
80%+agua	6,325 a	335,0 a	1,78 a	0,293 a	0,0190 a	21,604 a	3,552 a	6,092 a
80%+stress	5,403 a	328,25 a	1,52 a	0,245 a	0,0165 a	27,023 a	3,72 a	6,994 a
SS+agua	6,468 a	348,75 a	2,28 a	0,583 a	0,0185 a	12,635 a	2,827 a	4,427 a
SS+stress	5,178 a	331,0 a	1,65 a	0,313 a	0,0154 a	25,807 a	3,490 a	6,844 a

\*Letras iguais não diferem pelo teste de Tukey a 5%.

**Tabela 3:** Fluorescência mínima em estado adaptado a luz ( $F_o'$ ), Fluorescência máxima em estado adaptado a luz ( $F_m'$ ), Eficiência quântica efetiva do FSII (Yield), Fluorescência mínima ( $F_o$ ), Fluorescência máxima ( $F_m$ ), Eficiência quântica potencial do fotossistema II ( $F_v/F_m$ ) de plantas de *Gallesia integrifolia* obtidas 30 dias após início do tratamento hídrico.

Fluorescência Luz 30 dias				Fluorescência Escuro 30 dias			
Tratamentos	$F_o'$	$F_m'$	Yield	Tratamentos	$F_o$	$F_m$	$F_v/F_m$
50%+agua	1000,38 a*	2601,13 a	0,6115 b	50%+agua	701,25 a	2010,88 b	0,6474 b
50%+stress	1012,75 a	2640,13 a	0,6159 b	50%+stress	722,38 a	2018,88 b	0,6421 b
80%+agua	808,13 a	2687,13 a	0,6998 a	80%+agua	547,17 b	2086,25 a	0,7395 a
80%+stress	809,88 a	2642,63 a	0,6925 a	80%+stress	529,38 b	2083,88 a	0,7458 a
SS+agua	938,63 a	2194,50 b	0,5683 b	SS+agua	610,50 ab	1758,25 c	0,6515 b
SS+stress	951,13 a	2122,63 bc	0,5476 b	SS+stress	618,13a b	1674,0 c	0,6305 b

\*Letras iguais não diferem pelo teste de Tukey a 5%.

**Tabela 4:** Fluorescência mínima em estado adaptado a luz ( $F_o'$ ), Fluorescência máxima em estado adaptado a luz ( $F_m'$ ), Eficiência quântica efetiva do FSII (Yield), Fluorescência mínima ( $F_o$ ), Fluorescência máxima ( $F_m$ ), Eficiência quântica potencial do fotossistema II ( $F_v/F_m$ ) de plantas de *Gallesia integrifolia* obtidas 90 dias após início do tratamento hídrico.

Fluorescência Luz 90 dias				Fluorescência Escuro 90 dias			
Tratamentos	$F_o'$	$F_m'$	Yield	Tratamentos	$F_o$	$F_m$	$F_v/F_m$
50%+agua	302,25 ab	344,25 a	0,121 a	50%+agua	683,25 a	1973,75 ab	0,6960 a
50%+stress	274,5 b	308,0 a	0,106 a	50%+stress	600,5 ab	1936,38 ab	0,6778 a
80%+agua	417,5 a	481,75 a	0,133 a	80%+agua	577,0 ab	2194,0 a	0,7306 a
80%+stress	352,5 ab	404,5 a	0,122 a	80%+stress	610,25 ab	2106,25 ab	0,7097 a
SS+agua	289,0 ab	314,75 a	0,083 a	SS+agua	476,25 b	1715,88 b	0,7061 a
SS+stress	279,0 b	254,5 a	0,098 a	SS+stress	434,93 c	1750,63 b	0,7172 a

\*Letras iguais não diferem pelo teste de Tukey a 5%.

## **Anexo**

# **Acta Botanica Brasilica**

## **Instructions to Authors**

### ***Scope of the journal***

*Acta Botanica Brasilica* (*Acta bot. bras.*) is the official journal of the Sociedade Botânica do Brasil (Botanical Society of Brazil, SBB) and was founded in 1987. Since 1998, the journal publishes four issues per year. Experimental, theoretical and applied papers on all aspects of plant (including algae) and fungi biology are welcome. The submitted manuscript or its essential content must not have been published previously or be under consideration for publication elsewhere. Contributions should be substantial, written in English and show general interest. Manuscripts that report aspects of local interest are discouraged unless the implications of the findings are wide-reaching. Manuscripts with agronomic subjects are expected to contain a substantial amount of basic plant biology. There is no fee for submission and review articles.

### ***Why publish in Acta Botanica Brasilica?***

*Acta bot. bras.* is an indexed, open-access, peer-reviewed journal devoted to publishing high quality research in Plant Biology. There is no cost for publication. All manuscripts published by *Acta bot. bras.* are openaccess, maximizing the impact of your research. The submissions are peer-reviewed by at least two experts who evaluate scientific quality and novelty. Our review process is very efficient. It will only take about two months for the first decision on your manuscript. The manuscripts are advertised to all members of the SBB, available in the journal website, in the SciELO database and in social media. *Acta bot. bras.* is indexed in Scopus and Web of Science among others. Increasing impact factor: *Acta bot. bras.* IF has been increasing in the last evaluations (from 0.374 in 2012 to 0.545 in 2014).

### ***Language editing***

If English is not your first language, it is strongly recommended to have your manuscript edited for language before submission. This is not a mandatory step, but may help to ensure that the academic content of your paper is fully understood by journal editors and reviewers. Language editing does not guarantee that your manuscript will be accepted for publication. Authors are liable for all costs associated with such services.

### ***Types of articles***

Standard research papers (ORIGINAL ARTICLES) should not normally exceed twelve printed pages, except for REVIEWS (which may not exceed 25 printed pages). Reviews are solicited by the editors, but authors are also encouraged to submit potential topics for

consideration. Opinion papers (VIEWPOINTS), METHODS and SHORT COMMUNICATIONS are also welcome and should not exceed five printed pages. To estimate the number of printed pages, consider that each page of text contains about 500-700 words.

### ***Summary of submission processes***

Submission management and evaluation of submitted manuscripts will involve the Journal's online manuscript submission system. The manuscript text should be prepared in English (see PREPARING THE ARTICLE FILE below for details) and submitted online (<http://mc04.manuscriptcentral.com/abb-scielo>). Figures, tables and other types of content should be organized into separate files for submission (see Preparing Tables, Figures and Supplementary material below for details). If you are using the online submission system for the first time please go to the login page and generate a login name and password after clicking on the "New user register here" link. If you are already registered but need to be reminded of your login name or password please go to the login page and inform your email in "password help". Please never create a new account if you are already registered. If you are unable to access our webbased submission system, please contact the Editorial Office ([acta@botanica.org.br](mailto:acta@botanica.org.br))

### ***Cover letter***

All manuscripts must be submitted with a cover letter, which should include an approximately 80 word summary of the scientific strengths of the paper that the authors believe qualify it for consideration by *Acta Botanica Brasilica*. The cover letter should also include a statement declaring that the manuscript reports unpublished work that it is not under active consideration for publication elsewhere, nor been accepted for publication, nor been published in full or in part (except in abstract form).

### ***Preparing the article file***

(Please consult a last issue of *Acta Botanica Brasilica* for layout and style) All manuscripts must follow these guidelines: the text should be in Times New Roman font, size 12, double-spaced throughout and with 25 mm margins; the paper size should be set to A4 (210 x 297 mm). All pages should be numbered sequentially. Each line of the text should also be numbered, with the top line of each page being line 1. For text files .doc, .docx and .rtf are the only acceptable formats. Files in Adobe® PDF format (.pdf files) will not be accepted. When appropriate, the article file should include a list of figure legends and table heads at the end. This article file should not include any illustrations or tables, all of which should be submitted in separate files. The first page should state the type of article (Original Article, Review, Viewpoint, Method or Short communication) and provide a concise and informative full title followed by the names of all authors. Where necessary, each name should be followed by an

identifying superscript number (1, 2, 3 etc.) associated with the appropriate institutional address to be entered further down the page. Only one corresponding author should be indicated with an asterisk and should always be the submitting author. The institutional address(es) of each author should be listed next, each address being preceded by the superscript number where appropriate. The address must be synthetic, just enough to send a letter. Titles and positions should not be mentioned. This information is followed by the email address of the corresponding author. The second page should contain a structured Abstract not exceeding 200 words in a single paragraph without references. The Abstract should outline the essential content of the manuscript, especially the results and discussion, highlighting the relevance of main findings. The Abstract should be followed by between five and ten Key words. Note that essential words in the title should be repeated in the key words. Original articles should be divided into sections presented in the following order:

Title page

Abstract

Introduction

Materials and Methods

Results

Discussion

Acknowledgements

References

Tables and Figure legends

Supplementary Data (if applicable)

Material and Methods and Results should be clear and concise. The Discussion section should avoid extensive repetition of the results and must finish with some conclusions. This section can be combined with results (Results and Discussion), however, we recommend authors consult the Editorial Board for a previous evaluation.

Plant names must be written out in full in the abstract and again in the main text for every organism at first mention but the genus is only needed for the first species in a list within the same genus (e.g. *Hymenaea stigonocarpa* e *H. stilbocarpa*). The authority (e.g., L., Mill., Benth.) is required only in Material and Methods section. Use The International Plant Names Index ([www.ipni.org](http://www.ipni.org)) for correct plants names. Cultivars or varieties should be added to the scientific name (e.g. *Solanum lycopersicum* 'Jumbo'). Authors must include in Material and Methods a reference to voucher specimen(s) and voucher number(s) of the plants or other material examined.

Abbreviations must be avoided except for usual cases (see recent issues) and all terms must be written out in full when used to start a sentence. Nonconventional abbreviations should be spelled out at first mention. Units of Measurement. *Acta bot. bras.* adopts the *Système International d'Unités* (SI). For volume, use the cubic metre (e.g.  $1 \times 10^{-5} \text{ m}^3$ ) or the litre (e.g. 5  $\mu\text{L}$ , 5 mL, 5 L). For concentrations, use  $\mu\text{M}$ ,  $\mu\text{mol L}^{-1}$  or  $\text{mg L}^{-1}$ . For size and distance use meters (cm, mm,  $\mu\text{m}$ , etc) and be consistent in the manuscript. Numbers up to nine should be written out unless they are measurements. All numbers above ten should be in numerals

unless they are starting sentences. Citations in the text should take the form of Silva (2012) or Ribeiro & Furr (1975) or (Mayer & Wu 1987a; b; Gonzalez 2014; Sirano 2014) and be ordered chronologically. Papers by three or more authors, even on first mention, should be abbreviated to the name of the first author followed by *et al.* (e.g. Simmons *et al.* 2014). If two different authors have the same last name, and the article have the same year of publication, give their initials (e.g. JS Santos 2003). Only refer to papers as 'in press' if they have been accepted for publication in a named journal, otherwise use the terms 'unpubl. res.', giving the initials and last name of the person concerned (e.g., RA Santos unpubl. res.). References should be arranged alphabetically based on the surname of the author(s). Where the same author(s) has two or more papers listed, these papers should be grouped in year order. Letters 'a', 'b', 'c', etc., should be added to the date of papers with the same citation in the text. Please provide DOI of 'in press' papers whenever possible. For papers with six authors or fewer, please give the names of *all* the authors. For papers with seven authors or more, please give the names of the *first three* authors only, followed by *et al.*

**Please follow the styles:**

***Books***

Smith GM. 1938. Cryptogamic botany. Vol. II Bryophytes and teridophytes. 2nd. edn. New York, McGraw-Hill Book Company. *Chapters in books* Schupp EW, Feener DH. 1991. Phylogeny, lifeform, and habitat dependence of antdefended plants in a Panamanian forest. In:

Huxley CR, Cutler DC. (eds.) Ant-plant interactions. Oxford, Oxford University Press. p. 175-197.

***Research papers***

Alves MF, Duarte MO, Oliveira PEAM, Sampaio DS. 2013. Selfsterility in the hexaploid *Handroanthus serratifolius* (Bignoniaceae), the national flower of Brazil. Acta Botanica Brasilica 27: 714-722. *Papers in press (ahead of print)* Alves JJ, Sampaio MTY. 2015. Structure and evolution of flowers. Acta Botanica Brasilica (in press). doi: 10.1590/010233062015abb3339.

***Online-only journals***

Wolkovich EM, Cleland EE. 2014. Phenological niches and the future of invaded ecosystems with climate change. AoB Plants 6: plu013 doi:10.1093/aobpla/plu013

*Thesis (citation should be avoided)* Souza D. 2014. Plant growth regulators. PhD Thesis, University of Brazil, Brazil.

*Websites and other sources (citation should be avoided)* Anonymous. 2011. Title of booklet, leaflet, report, etc. City, Publisher or other source, Country. References to websites should be structured as: author(s) name author(s) initial(s). year. Full title of article. Full URL. 21 Oct. 2014 (Date of last successful access). Acknowledgements should be preferably in fewer than 80 words. Be concise: “we thank...” is preferable to “The present authors would like to express their thanks to...”. Funding information should be included in this section.

***The following example should be followed:***

We acknowledge the Center of Microscopy (UFMG) for providing the equipment and technical support for experiments involving electron microscopy. We also thank J.S. Santos for assistance with the statistical analyses. This work was supported through a research grant from the Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq (ID number).

For SHORT COMMUNICATIONS note that the editorial guidelines applying to original papers must also apply here. In general, the difference between original papers and short communications is the lack of subsections in the text and limited space for illustrations in the latter. Figures and tables can be present, assuming that the overall size of the manuscript does not exceed the five printed page limit (supplementary material can be added). The abstract (as described for original articles) must be followed by a “running text” (a single section, without subheadings), followed by the acknowledgments and references.

***Preparing Figures, Tables and Supplementary material***

All figures (photographs, maps, drawings, graphs, diagrams, etc.) and tables must be cited in the text, in ascending order. Citations of figures in the text should appear in an abbreviated, capitalized form (e.g., Fig. 1, Fig. 2A-D, Fig. 3A, Figs. 3A, 4C, Tab.1). The maximum dimensions of individual figures should be 170 ×240 mm. The width of an individual component can be 170 mm or 85 mm, without exception, whereas the height can be ≤ 240 mm. For continuous tone images (e.g., photographs), please supply TIFF files at 300 dpi. More complex drawings, such as detailed botanical illustrations will not be redrawn and should be supplied as 600 dpi TIFF files. Grouping of related graphics or images into a single figure (a plate) is strongly encouraged. When a block of illustrative material consists of several parts, each part should be labelled with sequential capital letters, in the order of their citation in the text (A, B, C, etc.). The letters that identify individual images should be inserted within white circles in the lower right-hand corner. For separate the grouped images, authors should insert white bars (1mm thickness). Individual images (not grouped as a plate) should be identified with sequential Arabic numerals, in the order of their citation in the text (Fig. 1, Fig. 2, Fig. 3, etc.), presented in the same manner as the letters identifying individual images (described above). The number that identifies a grouped figure (e.g., Fig. 2) should not be inserted into the plate but should rather be referenced only in the figure caption and the text (e.g., Fig. 2A-C). Scale bars, when required, should be positioned in the lower right hand corner of the figure. The scale bar units should be given either at the end of the figure caption



or, when a figure contains multiple scale bars with different units, above each bar. Details within a figure can be indicated with arrows, letters or symbols, as appropriate. Tables should be preceded by titles, indicated with sequential Arabic numerals (Table 1, 2, 3, etc.; do not abbreviate). Tables should be created using the Table function of Microsoft Word™. Columns and rows should be visible, although no dark lines should be used to separate them. Horizontal rules should be used only at the top (below the title) and bottom (below the final row) of the table. Do not use fills, shading or colors in the tables. When appropriate, excess (but important) data can be submitted as Supplementary Files, which will be published online and will be made available as links. This might include additional figures, tables, or other materials that are necessary to fully document the research contained in the paper or to facilitate the readers' ability to understand the work. Supplementary Materials are generally not peer refereed. When a paper is published, the Supplementary Materials are linked from the main article webpage. They can be cited using the same DOI as the paper.

Supplementary Materials should be presented in appropriate .doc or .pdf file format. These archives should contain inside all supplementary tables and files and any additional text. The full title of the paper and author names should be included in the header. All supplementary figures and tables should be referred in the manuscript body as “Table S1” and/or “Figure S1”. *Acta bot. bras.* intends to maintain archives of Supplementary Materials but does not guarantee their permanent availability. *Acta bot. bras.* reserves the right to remove Supplementary Materials from a published article in the future.

### ***The Review Process***

All authors will receive an email acknowledging the submission of the manuscript, with its correspondent reference number. The Editor-in-Chief will evaluate manuscript adherence to instructions, quality and novelty and will decide on the suitability for peer reviewing. Manuscripts failing to adhere to the format will be returned to the authors. Manuscripts are sent to at least two anonymous referees that are given 21 days to return their reports.

### ***Submitting a revised paper***

After peer review, go to “click here to submit a revision” and upload the new manuscript version. Remember to delete the documents in duplicate.

### ***Publication and printing process***

After acceptance, a PDF proof will be sent to corresponding authors as an e-mail attachment. Corrected proofs should be returned within 72 h. It is the sole responsibility of the corresponding author to check for errors in the proof. Each article is identified by a unique DOI (Digital Object Identifier), a code used in bibliographic referencing and searching. He dates of submission and acceptance will be printed on each paper. The corresponding author will receive a free PDF or URL that gives access to the article online and to a downloadable

PDF. The corresponding author is responsible for distributing this PDF or URL to any co-authors.

### ***Misconduct***

Misconduct on submitted manuscripts will lead to immediate rejection. Duplicate publication, plagiarism, figure manipulation, dual-submission, and any other fraudulent method will not be tolerated. If misconduct is detected after the manuscript publication, the article will be retracted and a retraction note will be published. Submitted manuscripts can be scanned to detect plagiarism and verify the papers' originality.

## CAPÍTULO 3

### **ANATOMIA DE FOLHA DE *Gallesia integrifolia* (SPRENG.) HARMS. CULTIVADA EM DIFERENTES CONDIÇÕES DE LUMINOSIDADE E DISPONIBILIDADE HÍDRICA**

Artigo Elaborado e formatado  
conforme as normas para  
publicação científica no periódico  
Plant Ecology.

**ARTIGO ORIGINAL****ANATOMIA DE FOLHA DE *Gallesia integrifolia* (SPRENG.) HARMS.**

Taysi Pereira Firmino<sup>1</sup>, Kariny Cari Nascimento<sup>1</sup>, Mariza Barion Romagnolo<sup>2</sup>, Rosilaine Carrenho<sup>1,2</sup>, Luiz Antônio de Souza<sup>1,2</sup>, Lindamir Hernandez Pastorini<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Curso de Pós-Graduação em Biologia Comparada, Universidade Estadual de Maringá, Maringá, Paraná, Brasil. taysi\_in@hotmail.com.

<sup>2</sup>Centro de Ciências Biológicas - UEM, Departamento de Botânica, Laboratório de Fisiologia Vegetal, Maringá, PR, Brasil.

**Anatomia de folha de *Gallesia integrifolia* (Spreng.) Harms. cultivada em diferentes condições de luminosidade e disponibilidade hídrica**

**ABSTRACT**

Responses of morphological plasticity of *Gallesia integrifolia* (Spreng.) Harms. leaf cultivated under three light levels (light without any shade; with 50% and 80% shade) and two hydric regimes (plants irrigated daily and plants irrigated only twice a week) were evaluated. Assays were conducted in the greenhouse of the Department of Biology of the Universidade Estadual de Maringá, Maringá PR Brazil. Analyses were performed after 30 and 90 days from the start of water treatment. Leaves under shading and under 50% shade are larger than those with 80% shade, since the mean thickness of the leaf's mesophyll under treatment with shading and with 50% of shade was significantly larger than that of more shaded leaves. The palisade parenchyma was larger in treatments with more light, featuring elongated cells. The palisade tissue is undeveloped on shaded conditions, with atypical cells of variable forms. The anatomical characteristics of *Gallesia integrifolia* leaves developed under different light conditions and exposed or not exposed to stress demonstrated the acclimatization of the leaves under different conditions. The above demonstrating the plasticity of the species and the lowering of plasticity rates under stress conditions.

**Keywords:** morphological plasticity, pau d'algo, shading, water stress

## **Anatomia de folha de *Gallesia integrifolia* (Spreng.) Harms. cultivada em diferentes condições de luminosidade e disponibilidade hídrica**

### **3.1 INTRODUÇÃO**

A plasticidade morfológica em plantas tem sido amplamente estudada pois, as plantas podem expressar diferentes respostas morfológicas de acordo com a condição ambiental em que se encontra, podendo variar o tamanho e a estrutura de seus órgãos (Sultan 2003), esta plasticidade pode ser dramática nestes organismos, as quais devem tolerar estas mudanças ambientais (Harvell, 1990).

A plasticidade fenotípica definida como a capacidade de um determinado genótipo produzir diferentes fenótipos em resposta ao ambiente (Agrawal 2001; Lusk et al. 2008; Gianoli e Valladares, 2012) pode contribuir com o aumento do nicho das espécies (Sultan et al. 1998), possibilitando a aclimação a distintas condições ambientais (Dickson 2000; Lloret et al. 2012). No entanto, existem diversos custos incluídos em sua manutenção (Van Kleunen e Fischer 2005).

Os custos da manutenção da plasticidade incluem diversos fatores, sendo que em condições estressantes esses custos de manutenção podem sobrepujar os benefícios gerados por essa capacidade de aclimação (Agrawal 2001). As condições estressantes vêm se intensificando em meio às mudanças globais (Gianoli e Valladares 2012). O regime de precipitação global tem sofrido diversas alterações, entre essas, o decréscimo de precipitação em regiões subtropicais (Zhang et al. 2007).

A água é responsável por diversos processos das plantas, ela é também a fonte do oxigênio molecular existente na atmosfera, que é produzido na fotossíntese, assim como do hidrogênio para reduzir o CO<sub>2</sub> a carboidrato (Pimentel 2004). O déficit hídrico provoca alterações de irreversibilidade variável de acordo com o genótipo da planta, o tempo de duração, a severidade do déficit e o estágio de desenvolvimento da planta (Santos e Carlesso 1998).

As folhas são os órgãos mais plásticos das plantas (Dickson 2000; Valladares e Niinemets 2008) e a manifestação da plasticidade pode ser observada desde muito cedo nesses órgãos (Nascimento et al. 2015). Essas mudanças são consideradas adaptativas quando permitem o aumento na aquisição de recursos, tal como a luz. Em ambientes florestais, existe grande variação na disponibilidade de luz, sendo um fator limitante ao crescimento de plântulas e indivíduos jovens de determinadas espécies (Clark e Clark 1992; Théry 2001; Valladares e Niinemets 2008). Então, folhas que experimentam ambientes luminosos muito distintos geralmente apresentam algum tipo de resposta plástica que permita sua aclimação aos mesmos (Klich 2000; Richardson et al. 2001; Rozendaal et al. 2006).

*Gallesia integrifolia* (Phytolaccaceae), conhecida como pau d'alho, guararema ou ibirarema, ocorre desde a Bahia até o Paraná, sendo endêmica do Brasil (Forzza 2010) atingindo de 15 a 30 metros de altura, apresenta folhas glabras e coriáceas (Lorenzi 2000). Esta espécie foi selecionada devido a sua capacidade de ocorrência em diversas condições luminosas, do interior à borda das formações florestais, sugerindo elevada plasticidade. Além disso, alguns autores a classificam como secundária (Demuner et al. 2004) enquanto outros classificam como pioneira (Nogueira et al. 2004).

Em função da resposta das plantas ao fator luz, as espécies podem ser agrupadas em dois grandes grupos: espécies pioneiras e espécies não pioneiras (Swaine e Whitmore 1988).

As espécies classificadas como pioneiras, se caracterizam por germinar e crescer a pleno sol, com crescimento acelerado e baixa longevidade, já as espécies não pioneiras são caracterizadas por ter sua germinação e seu crescimento inicial em ambientes sombreados, apresentando crescimento lento e alta longevidade (Budowsky 1965).

Para verificar qual a influência do estresse na manifestação da plasticidade foi conduzido um experimento utilizando a água como fator estresse e a luz como fator de indução da plasticidade. Dessa forma, sementes de *G. integrifolia* foram germinadas em vasos e, em seguida, foram cultivadas em casa de vegetação sob três níveis de luminosidade (sob tratamento sem sombrite e 50 e 80% de sombreamento) e dois regimes hídricos, plantas irrigadas todos os dias (sem estresse), e plantas irrigadas apenas duas vezes por semana (com estresse). Foram testadas as seguintes hipóteses. 1. As folhas da espécie estudada apresentarão variações de acordo com a condição luminosa. 2. Essa plasticidade será menor na condição de estresse.

## **3.2 MATERIAL E MÉTODOS**

### **3.2.1 Área de estudo**

A Estação Ecológica do Caiuá, abrange uma área total de 1427,30 hectares e localiza-se no Município de Diamante do Norte, região noroeste do estado do Paraná, entre as coordenadas 22°29'S e 52°51'W (IAP 2005). Está situada na bacia hidrográfica do Baixo Rio Paranapanema, com parte da área às margens do Reservatório da Usina Hidrelétrica de Rosana. A vegetação é classificada como Floresta Estacional Semidecidual assentada sobre o Arenito Caiuá (IBGE 2012). Segundo a classificação climática de Koeppen, o clima é do tipo Cfa - mesotérmico, úmido, sem estação seca e com verões quentes (IAPAR 1994). A precipitação média anual é de 1200-1400 mm, sendo o trimestre mais chuvoso, de dezembro a fevereiro. A temperatura média anual está entre

21 e 22°C, sendo a média do mês mais quente (Fevereiro) 24 e 25°C e do mês mais frio (Julho) 17 e 18°C. A umidade relativa do ar (média anual) é de 75%. A evaporação potencial anual é de 1000 a 1100 mm (IAPAR 1994).

### 3.2.2 Coleta de material botânico e condução do experimento

Sâmaras de *Gallesia integrifolia* de coloração parda foram colhidas de cinco árvores matrizes localizadas na Estação Ecológica do Caiuá, em agosto de 2014. Após foram levadas ao laboratório de Fisiologia Vegetal da Universidade Estadual de Maringá, onde foram processadas, retirando-se a expansão alada e obtendo-se a semente.

Foram montados 18 vasos, que foram mantidos em 6 diferentes tratamentos: sem sombrite e estresse (SS SE), sem sombrite e com estresse (SS CE), 50% de sombreamento e sem estresse (50% SE), 50% de sombreamento e com estresse (50% CE), 80% de sombreamento e sem estresse (80% SE) e 80% de sombreamento e com estresse (80% CE).

O gradiente luminoso foi estabelecido em três condições de luminosidade: sob 50 e 80% de sombreamento e sem sombreamento. Estas condições foram alcançadas em um ambiente sem sombrite e com diferentes telas tipo sombrite, para fornecer 50 e 80% de sombreamento.

Foram realizadas medições de luz com um luxímetro, sendo padronizadas da mesma forma para todas as condições, efetuadas durante três dias nos horários de 10h, 12h e 16h, e tomados três valores em intervalos de 30 segundos a altura de 70 cm do nível da bancada.

As plântulas foram irrigadas manualmente de acordo com o regime hídrico estabelecido, ou seja, plantas irrigadas diariamente (sem estresse) e plantas irrigadas apenas duas vezes por semana (com estresse). As plantas foram mantidas em casa de vegetação, no jardim didático do Departamento de Biologia da Universidade Estadual de Maringá.

### 3.2.3 Análise anatômica

A análise anatômica foi realizada em três indivíduos de cada tratamento, após 90 dias do início do tratamento hídrico. Utilizou-se uma folha por indivíduo, completamente expandida e sem sinais de danos, retirada do quarto nó sentido ápice base da planta.



A análise foi feita em microscópio de luz, sendo as folhas fixadas em glutaraldeído, armazenadas em álcool 70% (Johansen 1940), desidratadas em série alcoólico etílico, incluídas em historresina Leica e seccionadas em micrótomo de rotação. As seções foram feitas no limbo (região mediana) e coradas com azul de toluidina (O'brien et al. 1964).

Foram determinados a espessura da folha, a espessura da cutícula/camada cuticular, epiderme de ambas as faces, o mesofilo e os parênquimas paliçádico/esponjoso. Para isto, foram efetuadas as medidas em cada indivíduo utilizando-se do programa Image-Pro Plus no qual foram mensuradas as imagens previamente fotografadas com as escalas específicas para cada caso.

### 3.2.4 Análise dos dados

As análises foram realizadas sempre com intuito de comparação dos resultados obtidos nas avaliações quantitativas das características anatômicas avaliadas entre as folhas coletadas de indivíduos dos diferentes grupos experimentais utilizando-se análise de variância (ANOVA bifatorial). Foram considerados significativos os atributos analisados que obtiveram  $p < 0,05$ . Também foram empregados testes de comparação múltipla (Tukey). Para realização da ANOVA foram testados os pressupostos de independência (no delineamento experimental), de normalidade, com um teste de Shapiro-Wilk, e homocedasticidade utilizando o teste de Levene. Estas análises foram realizadas com o auxílio do pacote estatístico Statistica versão 7.

Para avaliar se a plasticidade mensurada sem estresse é diferente da mensurada sob estresse hídrico foi utilizado um Índice de Plasticidade Fenotípica (IPF), que varia de zero a um, o qual foi calculado como a diferença entre o valor máximo e o mínimo entre dois tratamentos, dividido pelo valor máximo obtido (Valladares et al. 2000) para todas as amostras com diferença significativa entre algum dos tratamentos ( $p < 0,05$ ).

$$\text{IPF} = \frac{\text{Média máxima} - \text{Média mínima}}$$

$$\text{Média máxima}$$

Dessa forma, esse é um índice comparativo entre as características, sendo que quanto mais próximo de 1 for o índice maior é o indicativo da plasticidade daquela característica.

### 3.3 RESULTADOS

O índice de plasticidade mostra a diferença entre a plasticidade mensurada em condições de luz sem estresse e com estresse. De todas as características que diferiram significativamente entre algum dos tratamentos realizados os valores de plasticidade são maiores para as folhas sem estresse, sendo que a mesma tendência foi observada para os índices de significância (Tabela 1, Fig. 1).

As folhas de *G. integrifolia* são dorsiventrais com epiderme de ambas as faces unisseriada, glabra, hipostomática. A espessura total da folha aumentou com o aumento do nível de luminosidade independente do fator estresse (Fig. 1). No entanto, a espessura de folhas da condição sem sombrite e sem estresse hídrico foi significativamente maior em relação a todos os outros tratamentos (Fig. 1A), sendo que a espessura das folhas sem sombrite com estresse foi semelhante à de folhas sob 50% de sombreamento sem estresse (Figs. 1B-1C). A mesma tendência foi observada para a espessura do mesofilo, sendo que para esse componente a condição 50% de sombreamento com estresse foi similar aos valores de espessura total das folhas sob 80% de sombreamento sem estresse (Figs. 1D-1E).

O parênquima paliçádico foi maior em tratamentos de maior intensidade de luz, onde apresenta células alongadas, sobretudo nas folhas mantidas no tratamento sem sombrite e sem estresse, nas quais são observadas regiões com duas camadas de parênquima (Fig. 1A). Em oposição, em condições sombreadas, esse tecido é pouco desenvolvido, apresentando células atípicas com formas variáveis (Figs. 1E-1F). Além das similaridades observadas para a espessura total e do mesofilo, o aumento na espessura desse tecido não foi significativo entre as condições de 50% de sombreamento e 80% de sombreamento sem estresse. Em oposição às demais características, para o parênquima esponjoso, que também aumenta com a luminosidade, apresentando de 4 a 5 camadas nas folhas sem sombrite e 3 a 4 camadas em folhas de sombra, a espessura de ambas às folhas sem sombrite são semelhantes (Figs. 1A-1B).

Para as plantas sem fator de estresse a espessura da epiderme é maior com o aumento da luminosidade, com exceção da condição de 50% de sombreamento (Fig. 1). Já, as plantas que estavam em condições de estresse no maior nível de luz, apresentaram menos espessura da epiderme adaxial do que aquelas mantidas neste mesmo nível de luz sendo irrigadas diariamente ( $p < 0,05$ ), não existindo uma interação entre as condições de luz ( $p > 0,05$ ). A epiderme abaxial não apresentou diferença significativa entre os tratamentos. O mesmo ocorreu com a espessura da cutícula adaxial e abaxial (Fig. 1). No tratamento 50% sem estresse pode se diferenciar uma hipoderme de extensão curta em algumas regiões, próximo de nervura.

### 3.4 DISCUSSÃO

A plasticidade fenotípica de *G. integrifolia*, apesar de baixa, ocorre para a maioria das características foliares avaliadas em resposta a condição luminosa, o que deve contribuir com sua aclimação a esses distintos ambientes (Sultan et al. 1998). Isso demonstra que diferentes características podem apresentar sensibilidades diferenciais ao ambiente luminoso. Em relação ao fator estresse, provocado pelo regime hídrico, as menores diferenças entre as médias e os menores valores de IPF para as folhas desenvolvidas sob estresse demonstram a redução da plasticidade nessas condições e devem estar associadas aos custos de manutenção da plasticidade, considerando que em condições estressantes, fenótipos inadequados podem emergir, tornando a plasticidade mal adaptativa (Sultan 2007; Crispo et al. 2010).

A maior espessura foliar de plantas mantidas na condição sem sombrite representa uma consequência do incremento do mesofilo, característica dessas folhas (Oguchi et al. 2006), isso ocorre principalmente devido ao alongamento das células ou ao aumento do número de células do parênquima paliçádico (Niinemets et al. 1998). O incremento de células fotossintetizantes por unidade de área foliar, observado nesse tecido com o aumento da intensidade luminosa, aumenta a capacidade fotossintética da folha (Bazzaz 1996) e o alongamento das células paliçádicas facilita a penetração da luz direta no mesofilo (Vogelmann e Martin 1993). Esse desenvolvimento não ocorre em ambientes sombreados onde as folhas apresentam menor espessura e maior eficiência fotossintética para o aproveitamento da pouca luz existente. Além disso, o aumento dos espaços intercelulares observado no parênquima esponjoso das folhas sombreadas, sobretudo naquelas sem estresse, apesar de sua menor espessura, também pode contribuir com esse aproveitamento, considerando que essas células espaçadas aumentam a reflexão e refração da luz dentro do mesofilo (Paiva et al. 2003). Em condições sem estresse, a maior espessura foliar e do mesofilo, bem como dos parênquimas paliçádico e esponjoso desenvolvidos nas folhas sem sombrite quando comparadas as folhas sombreadas, sob o mesmo regime hídrico, mostram o caráter adaptativo da plasticidade nessas condições.

A maior espessura da epiderme adaxial foi observada nas folhas sem sombrite e sem estresse hídrico, em relação à observada nas folhas sem sombrite com estresse mostra que a plasticidade leva a fenótipos mais adaptativos sem condições de estresse. Isso porque o aumento da epiderme contribui para redução dos efeitos prejudiciais da radiação ultravioleta, mais intensa nas condições ensolaradas (Gordon et al. 1998), e com a manutenção dos níveis de temperatura foliar (Dickson 2000). Em relação a não variação da espessura da epiderme abaxial, deve ser decorrente da idade relativamente jovem da planta de *G. integrifolia*, considerando que plantas mais velhas são frequentemente mais plásticas (Santos et al. 2014).

Sob estresse hídrico, as plantas podem sofrer alterações anatômicas, visando a proteção e adaptação da espécie ao estresse (Grizi et al. 2008).

As características anatômicas observadas nas folhas de *G. integrifolia* desenvolvidas em diferentes condições de luz e expostas ou não ao estresse hídrico suportam as hipóteses do estudo em relação à aclimação das folhas a essas diferentes condições, comprovando a plasticidade e, sua diminuição da manifestação da plasticidade em condições estressantes.

### 3.5 REFERÊNCIAS

- Agrawal AA (2001) Phenotypic Plasticity in the Interactions and Evolution of Species. *Science* 294: 321-326
- Bazzaz FA (1996) *Plants in changing environments: linking physiological, population, and community ecology* Cambridge: University Press
- Budowski G (1965) Distribution of tropical American rain forest species in the light of successional progresses. *Turrialba*, 15: 40-42
- Clark DA, Clark DB (1992) Life history diversity of canopy and emergent trees in a neotropical rain forest. *Ecological Monographs* 62: 315-344
- Crispo E, DiBatista JD, Thibert-Plante CCX et al. (2010) The evolution of phenotypic plasticity in response to anthropogenic disturbance. *Evolutionary Ecology Research* 12: 47-66
- Demuner VG, Hebling AS, Dagustinho DM (2004) Efeito do sombreamento no crescimento inicial de *Gallesia integrifolia* (Spreng.) Harms. *Bol. Mus. Biol. Mello Leitão* 17: 45-55
- Dickison WC (2000) *Integrative Plant Anatomy*. USA, Academic Press.
- Forzza RC (2010) Lista de espécies da flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro
- Gianoli E, Valladares F (2012) Studing phenotypic plasticity: the advantages of a broad approach. *Biological Journal of the Linnean Society* 105: 1-7
- Grisi FA, Alves JD, Castro EM, Oliveira C, Biagiotti G, Melo LA (2008) Avaliações anatômicas foliares em mudas de Café ‘Catuai’ e ‘Siriema’ submetidas ao estresse Hídrico. *Ciênc. Agrotec* 32: 1730-1736
- Gordon DC, Percy KE, Riding RT (1998) Effects of uv-B radiation on epicuticular wax production and chemical composition of four *Picea* species. *New Phytologist* 138:441-449
- IAPAR - INSTITUTO AGRONÔMICO DO PARANÁ (1994) *Cartas Climáticas do Estado do Paraná*. IAPAR, Londrina
- IAP – INSTITUTO AMBIENTAL DO PARANÁ, Diretoria de Biodiversidade e Áreas Protegidas. (2005) *Plano de Manejo da Estação Ecológica do Caiuá*. Curitiba: IAP/DIBAP
- IBGE – INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. 2012. *Manual técnico da vegetação brasileira*. 2. ed. Rio de Janeiro: IBGE, 271 p.
- Johansen DA (1940) *Plant microtechnique*. New York: McGraw-Hill
- Klich MG (2000) Leaf variations in *Elaeagnus angustifolia* related to environmental heterogeneity. *Environmental and Experimental Botany* 44: 171-183
- Lorenzi H (2000) *Árvores Brasileiras: Manual de Identificação e cultivos de plantas arbóreas do Brasil*. 2ª Ed. Plantarum. São Paulo: Nova Odessa.
- Lloret F, Escudero A, Iriondo JM, Martínez-Vilalta J, Valladares F. (2012) Extreme climatic events and vegetation: the role of stabilizing processes. *Global Change Biology* 18: 797-805
- Lusk CH, Reich PB, Montgomery RA, Ackerly DD, Cavender-Bares J (2008) Why are evergreen leaves so contrary about shade? *Trends in Ecology & Evolution* 23: 299-303
- Niinemets U, Kull O, Tenhunen JD (1998) An analysis of light effects on foliar morphology, physiology, and light interception in temperate deciduous woody species of contrasting shade tolerance. *Tree Physiology* 18: 681-696

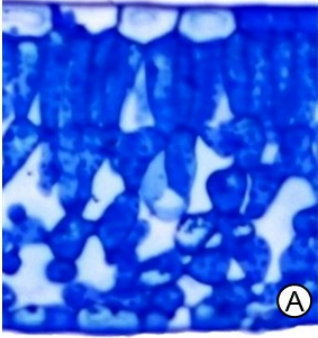
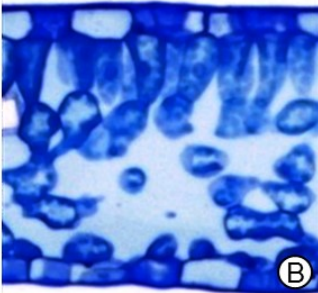
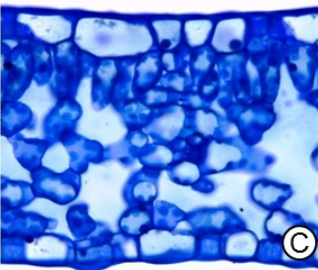
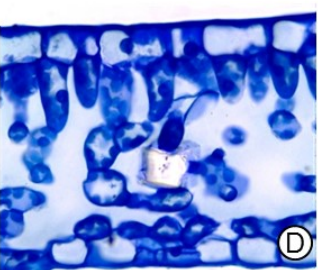
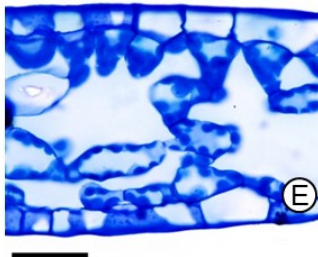
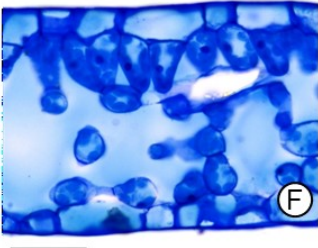
- Nascimento KC, Pastorini LH, Romagnolo MB, Souza LA de (2015) Do *Eugenia hiemalis* seedling leaves under different light conditions develop phenotypic plasticity? *Plant Ecology* 206: 1571-1581
- Nogueira A, Martinez CA, Ferreira LL, Prado CHBA (2004) Photosynthesis and water use efficiency in twenty tropical tree species of differing succession status in a Brazilian reforestation. *Photosynthetica* 42: 351-356
- O'Brien TP, Feder N, McCully MEO (1964) Polychromatic staining of plant cell walls by toluidine blue. *Protoplasma* 59: 368-373
- Oguchi R, Hikosaka K, Hiura T, Hirose T (2006) Leaf anatomy and light acclimation in woody seedlings after gap formation in a cool-temperate deciduous forest. *Oecologia* 149: 571-582
- Paiva ÉAS, Isaias RMDS, Vale FHA, Queiroz CGDS (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: 617-624
- Pimentel C (2004) *A Relação da Planta com a Água*. Ed. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (EDUR), 191p
- Richardson AD, Ashton PMS, Berlyn GP, McGroddy ME, Cameron IR (2001) Within-crown foliar plasticity of western hemlock, *Tsuga heterophylla*, in relation to stand age. *Annals of Botany* 88: 1007-1015
- Rozendaal DMA, Hurtado VH, Poorter L (2006) Plasticity in leaf traits of 38 tropical tree species in response to light; relationships with light demand and adult stature. *Functional Ecology* 20: 207-216
- Santos MS, Feijó NSA, Secco TM, Mielke MS, Gomes FP, Costa LCB, Silva DC (2014) Efeitos do sombreamento na anatomia foliar de *Gallesia integrifolia* (Spreng) Harms e *Schinus terebinthifolius* Raddi. *Rev. Bras. Pl. Med* 16: 89-96
- Santos RF, Carlesso R (1998) Déficit hídrico e os processos morfológico e fisiológico das plantas. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental* 2: 287-294
- Sultan SE, Wilczek AM, Bell DL, Hand G (1998) Physiological response to complex environments in annual *Polygonum* species of contrasting ecological breadth. *Oecologia* 115: 564-578
- Sultan SE (2003) Phenotypic plasticity in plants: a case study in ecological development. *Evolution & Development* 5:1, 25-33
- Sultan SE (2007) Development in context: the timely emergence of ecodevo. *Trends in Ecology and Evolution* 22: 575-582
- Swaine MD, Whitmore TC (1988) On the definition of ecological species groups in tropical rain forests. *Vegetatio* 75: 81-86
- Théry M (2001) Forest light and its influence on habitat selection. *Plant Ecology* 153: 251-261
- Valladares F, Wright J, Lasso E, Kitajima K, Pearcy RW (2000) Plastic Phenotypic Response to Light of 16 Congeneric Shrubs from a Panamanian Rainforest. *Ecology* 81: 1925-1936
- Valladares F, Niinemets U (2008) Shade tolerance, a key plant feature of complex nature and consequences. *Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics* 39: 237-257
- Van Kleunen M, Fischer M. (2005) Constraints on the evolution of adaptive phenotypic plasticity in plants. *New Phytologist* 166: 49-60

Vogelmann TC, Martin G (1993) The functional significance of palisade tissue: penetration of directional versus diffuse light. *Plant, Cell & Environment* 16:65-72

Zhang X, Zwiers FW, Hegerl GC, Lambert FH, Gillett NP (2007) Detection of human influence on twentieth-century precipitation trends. *Nature* 448: 461-465

**Figura**



Características	Tratamentos	
	SS SE	SS CE
Espessura da folha	249,14 ( $\pm$ 34,17) <sup>a</sup>	207,60 ( $\pm$ 19,09) <sup>b</sup>
Esp. parênquima paliçádico	61,66 ( $\pm$ 9,61) <sup>a</sup>	57,08 ( $\pm$ 10,23) <sup>b</sup>
Esp. parênquima esponjoso	135,26 ( $\pm$ 28,27) <sup>a</sup>	105,78 ( $\pm$ 11,13) <sup>ab</sup>
Esp. mesofilo	196,92 ( $\pm$ 35,62) <sup>a</sup>	162,86 ( $\pm$ 16,80) <sup>b</sup>
Esp. epiderme adaxial	25,18 ( $\pm$ 5,19) <sup>ab</sup>	19,77 ( $\pm$ 2,37) <sup>c</sup>
Esp. epiderme abaxial	16,10 ( $\pm$ 4,37) <sup>a</sup>	17,01 ( $\pm$ 3,18) <sup>a</sup>
Esp. cutícula adaxial	4,56 ( $\pm$ 0,86) <sup>a</sup>	3,35 ( $\pm$ 0,89) <sup>a</sup>
Esp. cutícula abaxial	4,87 ( $\pm$ 1,27) <sup>a</sup>	3,44 ( $\pm$ 0,70) <sup>a</sup>
		
	<b>50% SE</b>	<b>50% CE</b>
Espessura da folha	175,05 ( $\pm$ 11,95) <sup>bc</sup>	155,68 ( $\pm$ 12,12) <sup>cd</sup>
Esp. parênquima paliçádico	43,65 ( $\pm$ 8,68) <sup>bc</sup>	34,49 ( $\pm$ 4,26) <sup>cd</sup>
Esp. parênquima esponjoso	87,10 ( $\pm$ 6,23) <sup>bc</sup>	79,63 ( $\pm$ 10,78) <sup>c</sup>
Esp. mesofilo	130,75 ( $\pm$ 10,78) <sup>b</sup>	114,12 ( $\pm$ 12,46) <sup>cd</sup>
Esp. epiderme adaxial	25,83 ( $\pm$ 2,97) <sup>a</sup>	22,09 ( $\pm$ 2,05) <sup>bc</sup>
Esp. epiderme abaxial	17,23 ( $\pm$ 2,63) <sup>a</sup>	17,12 ( $\pm$ 2,83) <sup>a</sup>
Esp. cutícula adaxial	1,48 ( $\pm$ 0,40) <sup>a</sup>	1,38 ( $\pm$ 0,36) <sup>a</sup>
Esp. cutícula abaxial	0,99 ( $\pm$ 0,18) <sup>a</sup>	1,11 ( $\pm$ 0,23) <sup>a</sup>
		
	<b>80% SE</b>	<b>80% CE</b>
Espessura da folha	137,16 ( $\pm$ 11,97) <sup>dc</sup>	131,84 ( $\pm$ 16,41) <sup>c</sup>
Esp. parênquima paliçádico	34,49 ( $\pm$ 2,97) <sup>cd</sup>	30,07 ( $\pm$ 2,89) <sup>d</sup>
Esp. parênquima esponjoso	61,20 ( $\pm$ 9,93) <sup>d</sup>	63,77 ( $\pm$ 14,21) <sup>cd</sup>
Esp. mesofilo	95,69 ( $\pm$ 11,11) <sup>d</sup>	93,84 ( $\pm$ 16,29) <sup>d</sup>
Esp. epiderme adaxial	21,96 ( $\pm$ 2,71) <sup>bc</sup>	19,12 ( $\pm$ 2,14) <sup>c</sup>
Esp. epiderme abaxial	17,42 ( $\pm$ 3,09) <sup>a</sup>	17,03 ( $\pm$ 3,48) <sup>a</sup>
Esp. cutícula adaxial	1,50 ( $\pm$ 0,38) <sup>a</sup>	1,07 ( $\pm$ 0,16) <sup>a</sup>
Esp. cutícula abaxial	1,07 ( $\pm$ 0,45) <sup>a</sup>	1,22 ( $\pm$ 0,20) <sup>a</sup>
		

**Figura 1.** Características avaliadas nas secções transversais das folhas *Gallesia integrifolia*. Folhas desenvolvidas em ambiente SS (sem sombrite) 50% e 80% de sombreamento, sem (SE) e com (CE) estresse hídrico. Barras 50  $\mu$ m.

## **Tabela**

**Tabela 1.** Valores de *P* e IPF para as características avaliadas que diferiram significativamente entre algum tratamento. Folhas de *Galesia integrifolia* desenvolvidas sem sombrite (100%), e 20% de luz, folhas de plantas sem estresse hídrico (SE) e com estresse hídrico (CE). \* = combinações. Resultados significativos ( $p < 0,05$ ).

COMBINAÇÕES	100 % * 20% SE		100 % * 20% CE	
	<i>P</i>	IPF	<i>P</i>	IPF
Esp. foliar total	0,00	0,37	0,00	0,28
Esp. mesofilo	0,00	0,44	0,00	0,36
Esp. epiderme adaxial	0,07	0,13	0,99	0,00
Esp. parênquima paliçádico	0,00	0,40	0,00	0,34
Esp. parênquima esponjoso	0,00	0,46	0,00	0,36

## **Anexo**

# Plant Ecology

## Instructions for Authors

### PORTABLE PEERREVIEW

To limit multiple reviews of the same manuscript and therefore to decrease the workload on the scientific reviewer community, Plant Ecology supports portable peer-review. If your manuscript has already been through peer-review and you feel that these reports would help our Editorial Board reach a final decision on your manuscript more quickly, we would welcome the submission of these documents as an attachment along with your cover letter. Previous reviews must be submitted as an unaltered copy of the original email received by you from the journal. Please discuss how you have responded to these previous reviewer's comments in your cover letter as a point for point list indicating the changes you have made to the submitted manuscript.

### MANUSCRIPT SUBMISSION

Submission of a manuscript implies: that the work described has not been published before; that it is not under consideration for publication anywhere else; that its publication has been approved by all coauthors, if any, as well as by the responsible authorities – tacitly or explicitly – at the institute where the work has been carried out. The publisher will not be held legally responsible should there be any claims for compensation.

### Permissions

Authors wishing to include figures, tables, or text passages that have already been published elsewhere are required to obtain permission from the copyright owner(s) for both the print and online format and to include evidence that such permission has been granted when submitting their papers. Any material received without such evidence will be assumed to originate from the authors.

### Online Submission

Please follow the hyperlink “Submit online” on the right and upload all of your manuscript files following the instructions given on the screen.

### ARTICLE TYPES

Original Research manuscripts report the results of primary research investigations in plant ecology and have a maximum length of 6,000 words.

Short Communication manuscripts have a maximum length of 2,500 words and a total of no more than four tables plus figures. This manuscript type should have a clear focus on topical issues in plant ecology, including pertaining to theory and methodology. Manuscripts reporting preliminary research results based on limited evidence will generally not be considered.

The Braun Blanquet Reviews in Plant Ecology provide in-depth analyses of our current understanding for wide-ranging topics in plant ecology. Braun Blanquet Reviews are written by authoritative workers in the subject area, and help researchers and students to identify new topics for fruitful research, and to more readily place their own research into current context.

Manuscripts for consideration as a Braun Blanquet Review are solicited by invitation and are also available via direct contribution, with prospective authors to seek agreement from the journal Reviews Editor concerning suitability of the proposed review prior to submission for consideration. Manuscripts may be up to 9000 words in length, including references (50% longer than the current research manuscripts word limit).

Review Articles are invited on any topic in plant ecology. Manuscripts will be handled by a dedicated reviews editor who may be approached for further advice concerning this submission type. In general, reviews should be no more than 6,000 words in length, but with prior agreement from the reviews editor, may be up to 9,000 words in length.

Letter to the Editor (maximum of 2,000 words) contributions provide the opportunity for readers to respond to recently published work in the journal where they believe that further discussion of a research result or position is warranted. These submissions will be sent to the authors of critiqued work for their comment and response, and will be reviewed also by an appropriate handling editor.

Editorial (normally a maximum of 2,000 words) – not available to other than the journal editorial team and guest editors. Editorials are not a refereed publication output.

Authors should include their final word count at the top of the manuscript when submitting. The word count should include title, abstract, keywords, body of the text, figures, and tables but excluding authors affiliations, references and online supplementary material. Manuscripts exceeding the word limit will be returned.

#### Title Page

The title page should include:

The name(s) of the author(s)

A concise and informative title

The affiliation(s) and address (es) of the author(s)

The email address, telephone and fax numbers of the corresponding author

#### **Abstract**

Please provide an abstract of 150 to 250 words. The abstract should not contain any undefined abbreviations or unspecified references.

#### **Keywords**

Please provide 4 to 6 keywords which can be used for indexing purposes.

#### ADDITIONAL REMARK ABSTRACT

The abstract must not exceed 250 words and must include all of the following points:

- The explicit purpose of the study (clear aims and objectives)
- The location of the study
- A brief summary of the methodology used – including anything unusual
- Key results
- Main point/s of significance in terms of the field of plant ecology, including how it may be novel

#### TEXT

Text Formatting

Manuscripts should be submitted in Word.

Use a normal, plain font (e.g., 10point Times Roman) for text.

Use italics for emphasis.

Use the automatic page numbering function to number the pages.\

Do not use field functions.

Use tab stops or other commands for indents, not the space bar.

Use the table function, not spreadsheets, to make tables.

Use the equation editor or MathType for equations.

Save your file in docx format (Word 2007 or higher) or doc format (older Word versions).

Manuscripts with mathematical content can also be submitted in LaTeX.

LaTeX macro package (zip, 182 kB)

### **Headings**

Please use no more than three levels of displayed headings.

### **Abbreviations**

Abbreviations should be defined at first mention and used consistently there after.

### **Footnotes**

Footnotes can be used to give additional information, which may include the citation of a reference included in the reference list. They should not consist solely of a reference citation, and they should never include the bibliographic details of a reference. They should also not contain any figures or tables. Footnotes to the text are numbered consecutively; those to tables should be indicated by superscript lowercase letters (or asterisks for significance values and other statistical data). Footnotes to the title or the authors of the article are not given reference symbols. Always use footnotes instead of endnotes.

### **Acknowledgments**

Acknowledgments of people, grants, funds, etc. should be placed in a separate section on the title page. The names of funding organizations should be written in full.

### **ADDITIONAL REMARK TEXT**

Text – double spaced, and line numbered using continuous line numbers throughout

Figures – one per page at end of manuscript, with a separate List of Captions prior to the figures

Tables – one per page at end of manuscript (before Figures), captions included above each table

## **REFERENCES**

### **Citation**

Cite references in the text by name and year in parentheses. Some examples: Negotiation research spans many disciplines (Thompson 1990).

This result was later contradicted by Becker and Seligman (1996).

This effect has been widely studied (Abbott 1991; Barakat et al. 1995; Kelso and Smith 1998; Medvec et al. 1999).

### **Reference list**

The list of references should only include works that are cited in the text and that have been published or accepted for publication. Personal communications and unpublished works should only be mentioned in the text. Do not use footnotes or endnotes as a substitute for a reference list. Reference list entries should be alphabetized by the last names of the first author of each work.

### **Journal article**

Gamelin FX, Baquet G, Berthoin S, Thevenet D, Nourry C, Nottin S, Bosquet L (2009) Effect of high intensity intermittent training on heart rate variability in prepubescent children. *Eur J Appl Physiol* 105:731738. doi: 10.1007/s00421008 09558 Ideally, the names of all authors should be provided, but the usage of “et al” in long author lists will also be accepted: Smith J, Jones M Jr, Houghton L et al (1999) Future of health insurance. *N Engl J Med* 965:325–329

### **Article by DOI**

Slifka MK, Whitton JL (2000) Clinical implications of dysregulated cytokine production. *J Mol Med*. doi:10.1007/s001090000086

### **Book**

South J, Blass B (2001) *The future of modern genomics*. Blackwell, London

### **Book chapter**

Brown B, Aaron M (2001) The politics of nature. In: Smith J (ed) *The rise of modern genomics*, 3rd edn. Wiley, New York, pp 230257

### **Online document**

Cartwright J (2007) Big stars have weather too. IOP Publishing PhysicsWeb. <http://physicsweb.org/articles/news/11/6/16/1>. Accessed 26 June 2007

### **Dissertation**

Trent JW (1975) *Experimental acute renal failure*. Dissertation, University of California

Always use the standard abbreviation of a journal’s name according to the ISSN List of Title Word Abbreviations, see ISSN.org LTWA

If you are unsure, please use the full journal title. For authors using EndNote, Springer provides an output style that supports the formatting of intext citations and reference list.

EndNote style (zip, 2 kB)

### **TABLES**

All tables are to be numbered using Arabic numerals.

Tables should always be cited in text in consecutive numerical order.

For each table, please supply a table caption (title) explaining the components of the table.

Identify any previously published material by giving the original source in the form of a reference at the end of the table caption.

Footnotes to tables should be indicated by superscript lowercase letters (or asterisks for significance values and other statistical data) and included beneath the table body.



## ARTWORK AND ILLUSTRATIONS GUIDELINES

### Electronic Figure Submission

Supply all figures electronically.

Indicate what graphics program was used to create the artwork.

For vector graphics, the preferred format is EPS; for halftones, please use TIFF format. MSOffice files are also acceptable. Vector graphics containing fonts must have the fonts embedded in the files. Name your figure files with "Fig" and the figure number, e.g., Fig1.eps.

### **Line Art**

Definition: Black and white graphic with no shading.

Do not use faint lines and/or lettering and check that all lines and lettering within the figures are legible at final size.

All lines should be at least 0.1 mm (0.3 pt) wide.

Scanned line drawings and line drawings in bitmap format should have a minimum resolution of 1200 dpi. Vector graphics containing fonts must have the fonts embedded in the files.

### **Halftone Art**

Definition: Photographs, drawings, or paintings with fine shading, etc.

If any magnification is used in the photographs, indicate this by using scale bars within the figures themselves.

Halftones should have a minimum resolution of 300 dpi.

### **Combination Art**

Definition: a combination of halftone and line art, e.g., halftones containing line drawing, extensive lettering, color diagrams, etc.

Combination artwork should have a minimum resolution of 600 dpi.

### **Color Art**

Color art is free of charge for online publication. If black and white will be shown in the print version, make sure that the main information will still be visible. Many colors are not distinguishable from one another when converted to black and white. A simple way to check this is to make a xerographic copy to see if the necessary distinctions between the different colors are still apparent. If the figures will be printed in black and white, do not refer to color in the captions. Color illustrations should be submitted as RGB (8 bits per channel).

### **Figure Lettering**

To add lettering, it is best to use Helvetica or Arial (sans serif fonts).

Keep lettering consistently sized throughout your final-sized artwork, usually about 2–3 mm (8–12 pt).

Variance of type size within an illustration should be minimal, e.g., do not use 8pt type on an axis and 20pt type for the axis label.

Avoid effects such as shading, outline letters, etc. Do not include titles or captions within your illustrations.

### **Figure Numbering**

All figures are to be numbered using Arabic numerals.

Figures should always be cited in text in consecutive numerical order.

Figure parts should be denoted by lowercase letters (a, b, c, etc.).

If an appendix appears in your article and it contains one or more figures, continue the consecutive numbering of the main text. Do not number the appendix figures, "A1, A2, A3, etc." Figures in online appendices (Electronic Supplementary Material) should, however, be numbered separately.

### **Figure Captions**

Each figure should have a concise caption describing accurately what the figure depicts. Include the captions in the text file of the manuscript, not in the figure file.

Figure captions begin with the term Fig. in bold type, followed by the figure number, also in bold type.

No punctuation is to be included after the number, nor is any punctuation to be placed at the end of the caption.

Identify all elements found in the figure in the figure caption; and use boxes, circles, etc., as coordinate points in graphs.

Identify previously published material by giving the original source in the form of a reference citation at the end of the figure caption.

### **Figure Placement and Size**

Figures should be submitted separately from the text, if possible.

When preparing your figures, size figures to fit in the column width.

For most journals the figures should be 39 mm, 84 mm, 129 mm, or 174 mm wide and not higher than 234 mm.

For books and booksized journals, the figures should be 80 mm or 122 mm wide and not higher than 198 mm.

### **Permissions**

If you include figures that have already been published elsewhere, you must obtain permission from the copyright owner(s) for both the print and online format. Please be aware that some publishers do not grant electronic rights for free and that Springer will not be able to refund any costs that may have occurred to receive these permissions. In such cases, material from other sources should be used.

### **Accessibility**

In order to give people of all abilities and disabilities access to the content of your figures, please make sure that

All figures have descriptive captions (blind users could then use a text-to-speech software or a text to Braille hardware)

Patterns are used instead of or in addition to colors for conveying information (colorblind users would then be able to distinguish the visual elements) Any figure lettering has a contrast ratio of at least 4.5:1

### **ELECTRONIC SUPPLEMENTARY MATERIAL**

Springer accepts electronic multimedia files (animations, movies, audio, etc.) and other supplementary files to be published online along with an article or a book chapter. This feature can add dimension to the author's article, as certain information cannot be printed or is more convenient in electronic form.

### **Submission**

Supply all supplementary material in standard file formats. Please include in each file the following information: article title, journal name, author names; affiliation and email address of the corresponding author. To accommodate user downloads, please keep in mind that largesized files may require very long download times and that some users may experience other problems during downloading.

Audio, Video, and Animations

Resolution: 16:9 or 4:3

Maximum file size: 25 GB

Minimum video duration: 1 sec

Supported file formats: avi, wmv, mp4, mov, m2p, mp2, mpg, mpeg, flv, mxf, mts, m4v, 3gp

### **Text and Presentations**

Submit your material in PDF format; .doc or .ppt files are not suitable for longterm viability. A collection of figures may also be combined in a PDF file.

### **Spreadsheets**

Spreadsheets should be converted to PDF if no interaction with the data is intended. If the readers should be encouraged to make their own calculations, spreadsheets should be submitted as .xls files (MS Excel).

Specialized Formats

Specialized format such as .pdb (chemical), .wrl (VRML), .nb (Mathematica notebook), and .tex can also be supplied.

Collecting Multiple Files

It is possible to collect multiple files in a .zip or .gz file.

### **Numbering**

If supplying any supplementary material, the text must make specific mention of the material as a citation, similar to that of figures and tables. Refer to the supplementary files as “Online Resource”, e.g., "... as shown in the animation (Online Resource 3)", "... additional data are given in Online Resource 4". Name the files consecutively, e.g. “ESM\_3.mpg”, “ESM\_4.pdf”.

### **Captions**

For each supplementary material, please supply a concise caption describing the content of the file.

Processing of supplementary files

Electronic supplementary material will be published as received from the author without any conversion, editing, or reformatting.

### **Accessibility**

In order to give people of all abilities and disabilities access to the content of your supplementary files, please make sure that

The manuscript contains a descriptive caption for each supplementary material Video files do not contain anything that flashes more than three times per second (so that users prone to seizures caused by such effects are not put at risk)

DOES SPRINGER PROVIDE ENGLISH LANGUAGE SUPPORT?

Manuscripts that are accepted for publication will be checked by our copyeditors for spelling and formal style. This may not be sufficient if English is not your native language and substantial editing would be required. In that case, you may want to have your manuscript edited by a native speaker prior to submission. A clear and concise language will help editors and reviewers concentrate on the scientific content of your paper and thus smooth the peer review process. The following editing service provides language editing for scientific articles in all areas

Springer publishes in:

Edanz English editing for scientists

Use of an editing service is neither a requirement nor a guarantee of acceptance for publication. Please contact the editing service directly to make arrangements for editing and payment.

#### AFTER ACCEPTANCE

Upon acceptance of your article you will receive a link to the special Author Query Application at Springer's web page where you can sign the Copyright Transfer Statement online and indicate whether you wish to order Open Choice, offprints, or printing of figures in color. Once the Author Query Application has been completed, your article will be processed and you will receive the proofs.

#### **Open Choice**

In addition to the normal publication process (whereby an article is submitted to the journal and access to that article is granted to customers who have purchased a subscription), Springer provides an alternative publishing option: Springer Open Choice. A Springer Open Choice article receives all the benefits of a regular subscription-based article, but in addition is made available publicly through Springer's online platform SpringerLink.

#### **Copyright transfer**

Authors will be asked to transfer copyright of the article to the Publisher (or grant the Publisher exclusive publication and dissemination rights). This will ensure the widest possible protection and dissemination of information under copyright laws. Open Choice articles do not require transfer of copyright as the copyright remains with the author. In opting for open access, the author(s) agree to publish the article under the Creative Commons Attribution License.

#### **Offprints**

Offprints can be ordered by the corresponding author.

#### **Color illustrations**

Online publication of color illustrations is free of charge. For color in the print version, authors will be expected to make a contribution towards the extra costs.

#### **Proof reading**

The purpose of the proof is to check for typesetting or conversion errors and the completeness and accuracy of the text, tables and figures. Substantial changes in content, e.g., new results, corrected values, title and authorship, are not allowed without the approval of the Editor. After online publication, further changes can only be made in the form of an Erratum, which will be hyperlinked to the article.

#### **Online First**

The article will be published online after receipt of the corrected proofs. This is the official first publication citable with the DOI. After release of the printed version, the paper can also be cited by issue and page numbers.

#### ETHICAL RESPONSIBILITIES OF AUTHORS

This journal is committed to upholding the integrity of the scientific record. As a member of the Committee on Publication Ethics (COPE) the journal will follow the COPE guidelines on how to deal with potential acts of misconduct. Authors should refrain from misrepresenting research results which could damage the trust in the journal, the professionalism of scientific authorship, and ultimately the entire scientific endeavour. Maintaining integrity of the research and its presentation can be achieved by following the rules of good scientific practice, which include:

The manuscript has not been submitted to more than one journal for simultaneous consideration.

The manuscript has not been published previously (partly or in full), unless the new work concerns an expansion of previous work (please provide transparency on the reuse of material to avoid the hint of textrecycling ("self-plagiarism")).

A single study is not split up into several parts to increase the quantity of submissions and submitted to various journals or to one journal over time (e.g. “salamipublishing”). No data have been fabricated or manipulated (including images) to support your conclusions. No data, text, or theories by others are presented as if they were the author’s own (“plagiarism”). Proper acknowledgements to other works must be given (this includes material that is closely copied (near verbatim), summarized and/or paraphrased), quotation marks are used for verbatim copying of material, and permissions are secured for material that is copyrighted.

Important note: the journal may use software to screen for plagiarism.

Consent to submit has been received explicitly from all coauthors, as well as from the responsible authorities tacitly or explicitly at the institute/organization where the work has been carried out, before the work is submitted.

Authors whose names appear on the submission have contributed sufficiently to the scientific work and therefore share collective responsibility and accountability for the results.

In addition:

Changes of authorship or in the order of authors are not accepted after acceptance of a manuscript. Requesting to add or delete authors at revision stage, proof stage, or after publication is a serious matter and may be considered when justifiably warranted. Justification for changes in authorship must be compelling and may be considered only after receipt of written approval from all authors and a convincing, detailed explanation about the role/deletion of the new/deleted author. In case of changes at revision stage, a letter must accompany the revised manuscript. In case of changes after acceptance or publication, the request and documentation must be sent via the Publisher to the Editor-in-Chief. In all cases, further documentation may be required to support your request. The decision on accepting the change rests with the Editor-in-Chief of the journal and may be turned down. Therefore authors are strongly advised to ensure the correct author group, corresponding author, and order of authors at submission. Upon request authors should be prepared to send relevant documentation or data in order to verify the validity of the results. This could be in the form of raw data, samples, records, etc.

If there is a suspicion of misconduct, the journal will carry out an investigation following the COPE guidelines. If, after investigation, the allegation seems to raise valid concerns, the accused author will be contacted and given an opportunity to address the issue. If misconduct has been established beyond reasonable doubt, this may result in the Editor-in-Chief’s implementation of the following measures, including, but not limited to: If the article is still under consideration, it may be rejected and returned to the author. If the article has already been published online, depending on the nature and severity of the infraction, either an erratum will be placed with the article or in severe cases complete retraction of the article will occur. The reason must be given in the published erratum or retraction note. The author’s institution may be informed.

## COMPLIANCE WITH ETHICAL STANDARDS

To ensure objectivity and transparency in research and to ensure that accepted principles of ethical and professional conduct have been followed, authors should include information regarding sources of funding, potential conflicts of interest (financial or nonfinancial), informed consent if the research involved human participants, and a statement on welfare of animals if the research involved animals.

Authors should include the following statements (if applicable) in a separate section entitled “Compliance with Ethical Standards” on the title page when submitting a paper:

Disclosure of potential conflicts of interest Research involving Human Participants and/or Animals

Informed consent

Please note that standards could vary slightly per journal dependent on their peer review policies (i.e. double blind peer review) as well as per journal subject discipline. Before submitting your article check the Instructions for Authors carefully. The corresponding author should be prepared to collect documentation of compliance with ethical standards and send if requested during peer review or after publication. The Editors reserve the right to reject manuscripts that

do not comply with the abovementioned guidelines. The author will be held responsible for false statements or failure to fulfill the abovementioned guidelines.

#### DISCLOSURE OF POTENTIAL CONFLICTS OF INTEREST

Authors must disclose all relationships or interests that could have direct or potential influence or impart bias on the work. Although an author may not feel there is any conflict, disclosure of relationships and interests provides a more complete and transparent process, leading to an accurate and objective assessment of the work. Awareness of a real or perceived conflicts of interest is a perspective to which the readers are entitled. This is not meant to imply that a financial relationship with an organization that sponsored the research or compensation received for consultancy work is inappropriate. Examples of potential conflicts of interests that are directly or indirectly related to the research may include but are not limited to the following:

Research grants from funding agencies (please give the research funder and the grant number)

Honoraria for speaking at symposia

Financial support for attending symposia

Financial support for educational programs

Employment or consultation

Support from a project sponsor

Position on advisory board or board of directors or other type of management relationships

Multiple affiliations

Financial relationships, for example equity ownership or investment interest

Intellectual property rights (e.g. patents, copyrights and royalties from such rights)

Holdings of spouse and/or children that may have financial interest in the work

In addition, interests that go beyond financial interests and compensation (non-financial interests) that may be important to readers should be disclosed. These may include but are not limited to personal relationships or competing interests directly or indirectly tied to this research, or professional interests or personal beliefs that may influence your research.

The corresponding author collects the conflict of interest disclosure forms from all authors. In author collaborations where formal agreements for representation allow it, it is sufficient for the corresponding author to sign the disclosure form on behalf of all authors. Examples of forms can be found here:

The corresponding author will include a summary statement in the text of the manuscript in a separate section before the reference list, that reflects what is recorded in the potential conflict of interest disclosure form(s).

See below examples of disclosures:

Funding: This study was funded by X (grant number X).

Conflict of Interest: Author A has received research grants from Company A. Author B has received a speaker honorarium from Company X and owns stock in Company Y. Author C is a member of committee Z.

If no conflict exists, the authors should state:

Conflict of Interest: The authors declare that they have no conflict of interest.

## CONCLUSÃO GERAL

Os resultados obtidos no presente estudo demonstraram que a luz foi o fator que apresentou maior efeito sobre os parâmetros de crescimento das plantas.

O melhor desempenho foi observado nas plantas de *G. integrifolia*, quando mantidas sob 50%+água e SS+água, mas demonstraram capacidade de adaptação sob maiores níveis de sombreamento e restrição hídrica, o que pode estar relacionado a sua ampla distribuição, e sendo por vezes considerada pioneira ou secundária. O tratamento 80% de sombreamento afetou a associação micorrízica das plantas jovens de pau d'alho, no entanto, propiciou o estabelecimento das plantas, mesmo sob restrição hídrica.

As variáveis fotossintéticas não foram afetadas significativamente pelos diferentes tratamentos, isto, pode estar associado a sua capacidade de adaptação à estes ambientes. Em relação a alocação dos carboidratos não estruturais se confirmou essa capacidade de adaptação às condições de sombreamento e disponibilidade hídrica.

As características anatômicas observadas nas folhas de *G. integrifolia*, comprovam sua plasticidade, no entanto, ocorre a diminuição da manifestação da plasticidade em folhas sob condições de estresse hídrico.