

# Aspectos Anatômicos de Folhas de Plantas Jovens de *Calophyllum brasiliense* Cambess. Submetidas a Diferentes Níveis de Sombreamento

Fernanda Carlota Nery<sup>1</sup>, Amauri Alves de Alvarenga<sup>2</sup>, Cristina Filomena Justo<sup>3</sup>, Evaristo Mauro de Castro<sup>2</sup>, Girlene Santos de Souza<sup>1</sup>, Eduardo Alves<sup>4</sup>

## Introdução

*Calophyllum brasiliense* Cambess., uma espécie conhecida como guanandi, ocorre da região Amazônica até o norte de Santa Catarina. A madeira é própria para a confecção de canoas, mastros de navios, vigas, construção civil, dentre outras finalidades. A árvore pode ser utilizada no paisagismo em geral, sendo útil para o reflorestamento misto de matas ciliares degradadas e seus frutos são consumidos por várias espécies da fauna. É uma planta perenifólia, heliófita ou de luz difusa, característica e exclusiva das florestas pluviais localizadas sobre solos úmidos e brejosos. É uma espécie climax tolerante à sombra e está na lista de espécies florestais amazônicas que devem ter seus recursos genéticos conservados “*ex situ*” e “*in situ*” [1; 2; 3].

As espécies arbóreas variam grandemente na sua capacidade de responder à alteração na disponibilidade de luz. A luz influencia a anatomia foliar tanto no estágio inicial de desenvolvimento quanto no adulto, uma vez que a folha é um órgão dotado de plasticidade e sua estrutura interna permite adaptar-se a determinadas condições de luz no ambiente.

Diante do exposto, buscou-se neste trabalho investigar as mudanças na anatomia foliar de plantas jovens de *C. brasiliense* submetidas a níveis crescentes de sombreamento, com o objetivo de definir a melhor condição de luz ambiente para o crescimento e o desenvolvimento das mudas.

## Material e métodos

O trabalho foi conduzido no Setor de Fisiologia Vegetal do Departamento de Biologia da Universidade Federal de Lavras (UFLA), no período de agosto de 2004 a outubro de 2005, sob condições de viveiro.

O município de Lavras está localizado na região sul de Minas Gerais, a 918m de altitude, latitude 21°14'S e longitude 45°00'W GRW, com duas estações bem definidas, uma fria e seca, de abril a setembro e outra quente e úmida, de outubro a março.

### A. Material vegetal

As mudas foram formadas a partir de sementes provenientes de árvores matrizes localizadas no Parque Quedas do Rio Bonito, no município de Lavras, MG.

As sementes utilizadas foram pré-germinadas em câmara tipo BOD a temperatura de 30°C, na ausência de luz. Sementes pré-germinadas foram transferidas para bandejas de isopor, onde as mudas permaneceram em viveiro sob 50% de sombreamento, por cinco meses, até se estabelecerem. Após este período, as mudas foram transplantadas para tubos de PVC com dimensões de 15x30 cm contendo substrato a base de terra de subsolo e areia (2:1). Após análise de solo, incorporou-se superfosfato simples (16% P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>) na proporção de 5,0 kg/m<sup>3</sup> e 2,5 kg/m<sup>3</sup> de cloreto de potássio (60% K<sub>2</sub>O). Posteriormente, as mudas de *C. brasiliense* foram submetidas a três níveis de sombreamento (30%, 50% e 70%) com o uso de telas de Sombrite®, conforme especificação do fabricante e um tratamento a pleno sol (0%) como testemunha. As mudas receberam adubações mensais com solução nutritiva modificada de Johnson et al. [4], sendo as avaliações realizadas no período de janeiro a outubro de 2005.

## B. Características anatômicas

### B.1. Microscopia de luz

Foram coletadas 10 folhas de cada tratamento e fixadas em álcool 70% (conforme rotina do Laboratório de Anatomia Vegetal/UFLA). As seções foram realizados à mão livre e submetidos à coloração com safranina e azul de astra. Para avaliações relativas à cutícula foi utilizado Sudan IV.

A determinação da densidade estomática foi realizada por seções paradermicas da epiderme na face abaxial da folha. A contagem de estômatos foi realizada em microscópio Olympus CBB, com o auxílio de uma câmara clara, segundo Labouriau et al. [5]. A espessura foliar foi avaliada por meio de seções transversais de lâminas semipermanentes de 10 folhas provenientes de 10 plantas distintas. As medições foram realizadas pelo microscópio KEN-A-VISION 2100, equipado com uma ocular micrométrica.

### B.2 Microscopia eletrônica de transmissão

O preparo das amostras e as observações em MET foram realizadas no Laboratório de Microscopia Eletrônica e Análise Ultraestrutural (LME) do Departamento de Fitopatologia da UFLA. Fragmentos de

<sup>1</sup> Doutoranda em Agronomia/Fisiologia Vegetal, Setor de Fisiologia Vegetal, Departamento de Biologia, Universidade Federal de Lavras, cx. postal 3037, CEP 37200-000, Lavras, MG, Brasil. E-mail: fernandacarlota@yahoo.com.br

<sup>2</sup> Professor do Depto. de Biologia, Setor de Fisiologia Vegetal, Universidade Federal de Lavras, cx. postal 3037, CEP 37200-000, Lavras, MG, Brasil.

<sup>3</sup> Professora do Depto. de Ciências Biológicas e da Saúde, Instituto de Ciências e Letras do Médio Araguaia, Universidade Federal do Mato Grosso, CEP 78698-000, Pontal do Araguaia – MT.

<sup>4</sup> Professor Dr., Departamento de Fitopatologia, Universidade Federal de Lavras, cx. postal 3037, CEP 37200-000, Lavras, MG, Brasil.

Apoio financeiro: Capes

0,5 cm<sup>2</sup> foram retirados de cinco folhas de cada tratamento, localizadas no 3º nó abaixo do ápice e fixados, segundo metodologia rotineira do LME/UFLA descrita por Alves [6].

Analisou-se as características ultraestruturais dos cloroplastos em 10 células na primeira camada celular do parênquima paliçádico.

### Análises estatísticas

Os ensaios foram conduzidos em delineamento inteiramente casualizado, com os tratamentos representados por quatro níveis de sombreamento (30%, 50%, 70% e pleno sol ou 0%). Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância, utilizando-se o programa SISVAR 4.3 [7] e as médias comparadas pelo teste de Tukey em nível de 5% de probabilidade.

### Resultados e discussão

O mesófilo de lâminas foliares de plantas de *C. brasiliense* é dorsiventral, apresentando uma espessa camada de cutícula na superfície adaxial. A epiderme apresentou-se com uma a duas camadas de células na face adaxial e apenas uma camada na face abaxial. O parênquima paliçádico é constituído por 2 a 3 camadas de células alongadas, sendo que esta característica constitui um padrão clássico de resposta e de adaptação das plantas à alta intensidade luminosa, o que evidencia a plasticidade adaptativa da espécie *C. brasiliense*. O espessamento da cutícula é uma característica que confere às plantas cultivadas em ambiente natural uma proteção extra contra a ação da radiação solar [8].

A lâmina foliar é a estrutura que mais se modifica em resposta às alterações ambientais; no entanto, em seções transversais de lâminas foliares das plantas de *C. brasiliense*, não foi observada diferença na espessura total do limbo entre os diferentes níveis de sombreamento estudados (Tabela 1).

A espessura do parênquima paliçádico foi maior em folhas submetidas a 30% de sombreamento em relação aos tratamentos a pleno sol e 70% de sombreamento. Entretanto, não foram observadas diferenças nesta característica quanto a espessura do parênquima esponjoso em todos os níveis de sombreamento estudados (Tabela 1).

A maior espessura da epiderme (face) adaxial foi encontrada em folhas de plantas cultivadas a pleno sol. Fato semelhante ocorreu com a espessura da epiderme (face) abaxial, além do que, esta característica também foi maior na condição de 30% de sombreamento (Tabela 1). Não foram observadas diferenças na espessura da nervura mediana entre os diferentes níveis de sombreamento (Tabela 1). Nas plantas cultivadas a pleno sol, a região da nervura mediana encontrou-se bem lignificada, sendo constatado que as paredes das células dos tecidos mecânicos apresentaram-se mais espessas com a redução dos níveis de sombreamento.

Os resultados encontrados neste trabalho são similares aos obtidos por Boerger & Wisniewski [9], estudando a anatomia foliar de *C. brasiliense* em árvores do sul do Brasil.

As plantas cultivadas a pleno sol apresentaram as maiores médias na densidade estomática em relação aos demais níveis de sombreamento (Tabela 1).

Estes resultados são semelhantes aos obtidos para outras espécies, nas quais geralmente ocorre um aumento na frequência e no índice estomático, à medida que se aumenta a intensidade luminosa [10; 11]. Os estômatos das folhas submetidas a pleno sol são menores em diâmetro equatorial em relação aos das folhas a 50% de sombreamento. Por outro lado não foram verificadas diferenças no diâmetro polar dos estômatos, nos diferentes tipos de tratamento (Tabela 1).

A espécie *Cryptocarya aschersoniana* Mez. apresentou um comportamento similar ao relatado neste trabalho, com maior número de estômatos por mm<sup>2</sup>, em mudas cultivadas a pleno sol. Observou, também, um incremento no diâmetro polar e equatorial dos estômatos, ocorrendo um aumento nestas dimensões com o progressivo do sombreamento [12]. Por outro lado, em *Bauhinia forficata* Link., não foram verificadas diferenças com relação ao número de estômatos por mm<sup>2</sup> em plantas expostas a pleno sol, 30% e 50% de sombreamento [13].

A ultraestrutura dos cloroplastos de lâminas foliares de *C. brasiliense* é mostrada na Fig. 1. Observa-se que a estrutura e o tamanho dos cloroplastos mudaram de acordo com a condição de luminosidade. Não foram observadas diferenças quanto ao número de cloroplastos por célula entre os níveis de sombreamento, variando entre 6 e 7 cloroplastos por célula.

Em todos os tratamentos, verificou-se a presença de grãos de amido nos cloroplastos (Fig. 1A-D), sendo estes mais irregulares em 70% de sombreamento (Fig. 1D).

### Conclusões

Pode-se concluir que *C. brasiliense* adapta-se às variações de sombreamento em relação à densidade estomática e diâmetro equatorial dos estômatos. A epiderme (face) adaxial e o parênquima paliçádico apresentam maior plasticidade anatômica do que os demais tecidos, pois não houve diferença entre os níveis de sombreamento para a espessura total do limbo, do parênquima esponjoso e da nervura mediana. O diâmetro polar dos estômatos e o número de cloroplastos por célula também não responderam às variações de sombreamento, enquanto a epiderme (face) abaxial é mais delgada para o maior nível de sombreamento.

### Referências bibliográficas

- [1] LORENZI, H. 1992. *Manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil*. Árvores brasileiras. NOVA ODESSA: PLANTARUM, 352p.
- [2] CARVALHO, P.E.R. 1994. *Espécies florestais brasileiras: recomendações silviculturais, potencialidades e uso da madeira*. Colombo: EMBRAPA/CNPQ, EMBRAPA-SPI, 640p.
- [3] DAVIDE, A.C.; FARIA, J.M.R.; BOTELHO, S.A. 1995. *Propagação de espécies florestais*. Belo Horizonte: CEMIG/UFLA/FAEPE, 40p.
- [4] JOHNSON, C.M.; STOUT, P.R.; BROYER, T.C.; CARLTON, A.B. 1957. Comparative chlorine requirements of different plants species. *Plant and Soil* 8: 337-353.
- [5] LABOURIAU, L.G.; OLIVEIRA, J.G.; SALGADO, M.L. 1961. Transpiração de *Schizolobium parahyba* (Vell) Toledo I. Comportamento na estação chuvosa, nas condições de Caeté, Minas Gerais. *Anais da Academia Brasileira de Ciência* 33(2): 237-257.

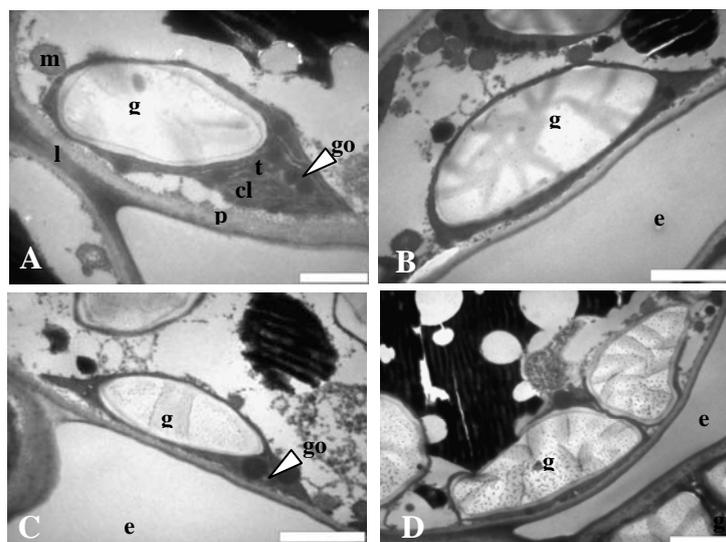
- [6] ALVES, E. 2004. *Apostila do curso introdutório de microscopia eletrônica de transmissão*. Lavras, MG, Brasil. 51p.
- [7] FERREIRA, D.F. 1999. *SISVAR 4.3-Sistema de análises estatísticas*. Lavras: UFLA.
- [8] ALQUINI, Y. BONA, C.; BOEGER, M.R.T.; COSTA, C.G. da; BARROS, C.F. 2003. Epiderme. In: APPEZZATO-DAGLÓRIA, B.; CARMELLO-GUERREIRO, S.M. (Ed.). *Anatomia vegetal*. Viçosa: UFV, p.87-108.
- [9] BOERGER, M.R.T.; WISNIEWSKI, C. 2003. Comparação da morfologia foliar de espécies arbóreas de três estádios sucessionais distintos de floresta ombrófila densa (Floresta Atlântica) no Sul do Brasil. *Revista Brasileira de Botânica* 26(1): 61-72.
- [10] ABRAMS, M.D.; MOSTOLLER, S.A. 1995. Gas exchange, leaf structure and nitrogen in contrasting successional tree species growing in open and understory sites during a drought. *Tree Physiology* 15(6): 361-370.
- [11] CASTRO, E.M.; GAVILANES, M.L.; ALVARENGA, A.A.; CASTRO, D.M.; GAVILANES, T.O.T. 1998. Aspectos da anatomia foliar de mudas de *Guarea guidonea* (L.) Sleumer, sob diferentes níveis de sombreamento. *Daphne* 8(4): 31-35.
- [12] ALMEIDA, L.P.; ALVARENGA, A.A. de; CASTRO, E.M. de; ZANELA, S.M.; VIEIRA, C.V. 2004. Crescimento inicial de plantas de *Cryptocaria aschersoniana* Mez. submetidas a níveis de radiação solar. *Ciência Rural* 34(1): 83-88.
- [13] ATROCH, E.A.C. 1999. *Aspectos fisiológicos, anatômicos e biossíntese de flavonóides em plantas jovens de Bauhinia forficata Link. submetidas a diferentes níveis de irradiância*. 62p. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Fisiologia Vegetal)-Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

**Tabela 1.** Espessura da epiderme (face) adaxial (E. ad) e (face) abaxial (E. ab), parênquima paliádico (P.pal.) e esponjoso (P.esp.), espessura total do limbo foliar (Limbo), espessura da nervura mediana, densidade estomática (estômatos/mm<sup>2</sup>), diâmetro polar (D. polar) e equatorial (D. equat.) dos estômatos de plantas jovens de *C. brasiliense* Cambess. submetidas a diferentes níveis de sombreamento.

Níveis de sombreamento	E. ad (µm)	P. pal. (µm)	P. esp. (µm)	E. ab (µm)	Limbo (µm)	Nervura (mm)	D. estom. (estôm./mm <sup>2</sup> )	D. polar (µm)	D. equat. (µm)
0%	30,90 a	105,60 b	185,40 a	25,20 a	347,10 a	1,49 a	276,05 a	31,33 a	21,92 c
30%	21,00 b	124,20 a	175,20 a	24,00 a	344,40 a	1,47 a	196,85 b	31,05 a	23,29 bc
50%	20,70 b	109,80 ab	178,80 a	22,80 ab	332,10 a	1,58 a	217,50 b	32,21 a	28,01 a
70%	19,50 b	98,40 b	186,00 a	19,80 b	323,70 a	1,54 a	191,65 b	33,32 a	25,53 ab

\*Médias seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

\*\*Nível de sombreamento 0% = pleno sol



**Figura 1.** Eletromicrografia de transmissão (MET) mostrando cloroplastos e grãos de amido nas células do parênquima paliádico de lâminas foliares de *C. brasiliense* Cambess. submetidas a diferentes níveis de sombreamento. **A-** Pleno sol ou 0% de sombreamento, **B-** 30% de sombreamento, **C-** 50% de sombreamento e **D-** 70% de sombreamento. **cl** – cloroplasto, **g** – grão de amido no interior do cloroplasto, **go** – gotículas de óleo, **t** – tilacóides, **e** – espaço intercelular, **p** – parede primária, **l** – lamela média, **m** – mitocôndria. **A** Escala = 1µm, **B, C e D** Escala = 2µm.