

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
DEPARTAMENTO DE BOTÂNICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA VEGETAL

PAULO CESAR POETA FERMINO JUNIOR

Anatomia ecológica comparada
de folhas de *Guapira opposita* (Vell.) Reitz
(Nyctaginaceae) na vegetação de restinga
e na Floresta Ombrófila Densa

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Biologia Vegetal da Universidade Federal de Santa Catarina, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Biologia Vegetal.

Orientadora: Dr^a . Marisa Santos

Co-orientadora: Dr^a . Maria Terezinha S. Paulilo

Florianópolis (SC), fevereiro de 2004

“Nos fenômenos vitais mais comuns, e provavelmente os mais importantes, as partes constitutivas são tão interdependentes que perdem o seu caráter, o seu sentido, e com certeza a sua existência própria, quando dissecadas do conjunto funcional.”

René Dubos (1965)

AGRADECIMENTOS

À professora Dra. Marisa Santos, primeiramente pela nossa amizade, assim como pela sua excelente orientação em todos os momentos do trabalho, com toda paciência, sabedoria e envolvimento.

À professora Dra. Maria Terezinha Silveira Paulilo, pela nossa amizade, por sua excelente co-orientação principalmente no que se refere à Fisiologia Vegetal.

Ao professor Dr. Ademir Reis, pelas contribuições e discussões desenvolvidas na elaboração desse trabalho.

Aos professores Dr. Daniel Falkenberg e Dra. Maria Leonor D'El Rei Souza, pelas dicas e identificação de *Guapira opposita*.

Ao Amarildo, técnico do departamento, pelo auxílio nas coletas.

À professora Dra. Maria Risoleta, do Departamento de Bioquímica da UFSC, pela gentileza de permitir o uso do espectrofotômetro.

À Alexandre Siminsk, pelas aulas de utilização do programa Statgraphics na elaboração dos testes estatísticos.

Aos colegas de Laboratório, Andresa Machado, Ana Claudia, e Caroline pelos bate-papos e bons momentos passados.

À Vera Zapellini, secretária da Pós-graduação em Biologia Vegetal, pela disposição e simpatia.

A todos os professores do Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal, pelos ensinamentos.

À Comissão de Aperfeiçoamento de Pessoal de Ensino Superior (CAPES) pela concessão de bolsa de estudo.

Ao pai e a mãe, meus criadores, pela oportunidade de acessar os estudos.

À memória do meu avô Remi Fermino, pelo exemplo de vida e estímulo aos estudos.

Em especial, à minha esposa, pelo respeito, auxílio e compreensão em todos os momentos destas atividades.

SUMÁRIO	
RESUMO	v
ABSTRACT	vi
INTRODUÇÃO	7
OBJETIVOS	15
Objetivo Geral.....	15
Objetivos Específicos.....	15
MATERIAIS E MÉTODOS	17
1. Áreas de estudo.....	17
2. Material de estudo.....	19
2.1. Descrição da espécie e aspectos ecológicos	19
3. Procedimentos de coleta.....	21
4. Estudo das folhas	22
4.1. Morfologia Foliar.....	22
4.2. Área Foliar.....	22
4.3. Estômatos	23
4.3.1. Preparação do material para microscopia óptica	23
4.3.2. Distribuição dos estômatos.....	23
4.3.3. Dimensões das células-guarda e do poro estomático.....	23
4.3.4. Densidade estomática	24
4.3.5. Distância estomática.....	24
4.4 Lâmina foliar e pecíolo – secção transversal.....	24
4.4.1. Preparação do material para Microscopia Óptica.....	24
4.4.2. Estudo estrutural.....	25
4.4.3. Espessuras das estruturas da lâmina foliar.....	25
4.4.4. Testes histoquímicos	26
5. Preparação de material para Microscopia Eletrônica de Varredura	26
6. Extração e dosagem de clorofila	26
7. Avaliações estatísticas	27
RESULTADOS E DISCUSSÃO	28
1. MORFOLOGIA FOLIAR E ARQUITETURA DA COPA	28
2. ÁREA FOLIAR	30
3. LÂMINA FOLIAR.....	33
3.1. EPIDERME.....	33
3.1.1. ESTÔMATOS	35
3.1.1.1. DISTRIBUIÇÃO E TIPOS	35
3.1.1.2. DENSIDADE ESTOMÁTICA	35
3.1.1.3. DISTÂNCIA ESTOMÁTICA	36
3.1.1.4. DIMENSÕES DAS CÉLULAS-GUARDA E DO PORO ESTOMÁTICO.....	37
3.1.2. ESPESSURA DA EPIDERME.....	41
3.1.3. MEMBRANA CUTICULAR.....	42
3.1.3.1. ESPESSURA DA MEMBRANA CUTICULAR.....	42
3.2. MESOFILO.....	46
3.3. ESPESSURA DA LÂMINA FOLIAR E DE SUAS ESTRUTURAS	47
3.4. TEOR DE CLOROFILA	53
3.5. NERVURA MEDIANA	55
4. PECÍOLO.....	55
5. CONSIDERAÇÕES GERAIS.....	60
CONCLUSÕES	61
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	63

RESUMO

As espécies arbóreas podem aclimatar-se às variações das condições ambientais. A aclimação é adquirida através de mudanças morfo-fisiológicas. Para que uma espécie sobreviva em ambientes sombreados, como no interior das florestas, ou ensolarados, como na restinga, as adaptações morfo-anatômicas das folhas relacionadas com as adaptações fisiológicas são relevantes. O objetivo desse trabalho foi comparar aspectos anatômicos, relacionando-os a aspectos fisiológicos, das folhas de *Guapira opposita* (Vell.) Reitz que ocorrem sob o dossel (folhas de sombra) da Floresta Ombrófila Densa e na restinga (plantas com folhas de sol e de sombra). Folhas totalmente expandidas foram coletadas na Floresta Ombrófila Densa (Unidade de Conservação Ambiental Desterro -UCAD) e na restinga (Parque Florestal do Rio Vermelho), em dois períodos sazonais. Secções paradermicas de material fresco foram feitas para as determinações da densidade estomática, distância entre os estômatos e dimensões das células-guarda e do poro estomático. Amostras foram fixadas em glutaraldeído 2,5%, tampão fosfato de sódio 0,1M, pH 7,2, desidratadas em etanol e infiltradas em parafina. Os blocos foram seccionados transversalmente e corados com safranina/fast-green, para descrição dos tecidos e determinação das espessuras da lâmina foliar. Para análises ultra-estruturais, em MEV, o material fixado foi desidratado e seco em HMDS. Discos foliares foram macerados com acetona (80%) para extração de clorofilas A comparação entre os resultados obtidos, em cada parâmetro, foi feita por análise de variância, seguida de teste Tukey. Os resultados mostraram que algumas características respondem gradualmente sob o efeito da intensidade luminosa: densidade estomática, espessura das células epidérmicas, espessura da membrana cuticular, espessura da lâmina foliar e do parênquima paliçádico, e teor de clorofilas. Outras características estruturais evidenciaram a interação dos diversos fatores ambientais em cada ecossistema: forma da lâmina foliar, área foliar, dimensões das células-guarda e do poro estomático. Assim, os dados obtidos com *G. opposita*, usada como modelo para avaliar a influência da luminosidade, apontam para o fato de que é o conjunto dos fatores bióticos e abióticos que influenciam nos processos adaptativos das espécies em diferentes ecossistemas.

Palavras-chave: *Guapira opposita*, Nyctaginaceae, anatomia foliar, adaptação à luz.

ABSTRACT

The trees can acclimate to environmental variation. The acclimation is acquired through changes in morphology and also in physiology. For the survival of species in shadowed environments (how in forest under-canopy) or sunny environments (how in restinga), the leaf morpho-anatomic adaptations can be important and this has a strong relationship with physiological adaptations. The objective of this work was to compare anatomical characteristics and relationship with physiological aspects in leaves of the *Guapira opposita* (Vell.) Reitz that occurs under canopy (shadow leaves) in the Atlantic Rainforest and in restinga (plants with shadow leaves and sun leaves). Totally expanded leaves were collected from the Atlantic Rainforest (Unidade de Conservação Ambiental Desterro – UCAD) and from restinga (Parque Florestal do Rio Vermelho) in two seasonal periods. Cross-sections (freehand) were made from fresh material to determine stomatal density, stomatal distance, guard cell and stomatal pore sizes. Pieces from leaves were fixed in 2.5% glutaraldehyde in 0.1 M phosphate buffer (pH 7.2), dehydrated with graded ethanol and soaked in paraffin. The sections were stained with safranin/fast-green to description of tissues and to determine thickness of the structures of leaf. For SEM observations (Phillips XL-30), the pieces were immersed in hexametildesilane and were then dried and coated with gold. Leaf discs were macerated with acetone (80%) to extract chlorophyll. Statistical analysis was examined using analysis of variance, with Tukey test. The results point out that some characteristics respond gradually under effect of the light intensity: stomatal density, thickness of epidermal cells, thickness of cuticle, thickness of leaf blade and palisade parenchyma, and chlorophylls content. The others structural characteristics become evident the interactions of several environmental conditions in each ecosystem: shape of blade, leaf area, guard cell and stomatal pore size. Thus, the results in *G. opposita*, a model specie used to evaluate light influence, show that is on the whole biotic and abiotic factors that influence in adaptive process of species in different ecosystems.

Key words: *Guapira opposita*, Nyctaginaceae, leaf anatomy, light adaptation.

INTRODUÇÃO

As plantas terrestres, atualmente, totalizam cerca de 270.000 espécies. Conforme Lambers *et al.* (1998), em cada um dos ecossistemas, uma série de filtros evolutivos eliminaram muitas das espécies restringindo a vegetação recente a um número relativamente pequeno de espécies. Os filtros evolutivos correspondem aos fatores históricos, fisiológicos e bióticos, os quais estão constantemente alterando-se e interagindo (Lambers *et al.*, *op cit.*). As espécies que vivem num ecossistema, como no interior da Floresta Ombrófila Densa ou na restinga, são aquelas que passaram pelos filtros e conseguiram sobreviver durante os eventos evolutivos.

A vegetação de restinga é bastante complexa, variando desde tipos herbáceos até arbustivos e arbóreos (Waechter, 1985). As restingas sul-brasileiras podem ser definidas como um conjunto de ecossistemas que compreende comunidades florística e fisionomicamente distintas, situadas em terrenos de idade quaternária, predominantemente arenosos, de origens marinha, fluvial, lagunar, eólica ou combinações destas origens com solos geralmente pouco desenvolvidos (Falkenberg, 1999). Tais comunidades formam um complexo vegetacional característico e pioneiro, encontrando-se em praias, cordões arenosos, dunas e depressões associadas (Falkenberg, *op cit.*). As restingas compreendem ecossistemas abertos, sujeitos a forte insolação, alta salinidade e ventos.

Segundo Bresolin (1979), a vegetação característica da restinga litorânea envolve dunas já mais estabilizadas, cobertas por uma vegetação arbustiva, em geral com porte rasteiro ou baixo, e que devido à insolação direta e a reverberação intensa pelos areais, precisa desenvolver medidas adaptativas de proteção. Pode ocorrer em mosaico, muitas vezes em função de gradientes locais, ou apresentar-se numa certa zonação, em geral no sentido oceano-continente, aumentando a riqueza de espécies, a lenhacidade e a altura da vegetação (Waechter, 1990). À medida que nos afastamos do litoral, em direção ao interior, a vegetação mostra uma contínua alteração na composição, que cada vez mais adquire o aspecto de Mata da Encosta Atlântica de Santa Catarina (Bresolin, *op cit.*). Araújo & Lacerda (1987) também comentam que a vegetação de restinga inicia na praia e finaliza, em geral, junto à Floresta Pluvial Tropical.

A Floresta Ombrófila Densa apresenta composição florística muito variada. Piña-Rodrigues *et al.* (1990) reconhecem três categorias ecológicas sucessionais: espécies pioneiras, espécies oportunistas e espécies clímax, de acordo com um conjunto de

características relacionadas ao ambiente. As espécies pioneiras são plantas intolerantes à sombra, germinando somente em claros e necessitando de luminosidade para o seu desenvolvimento. As espécies oportunistas conseguem sobreviver em condições de sombra, mas dependem de claro para sobrevivência. As espécies climácicas são plantas tolerantes ao sombreamento, germinando e sobrevivendo abaixo do dossel da floresta. Os mesmos autores comentam que para cada etapa da sucessão teremos uma condição de ambiente distinta e, para que as espécies vegetais se restabeleçam em determinada etapa, elas dispõem de uma série de estratégias de adaptação. Dentro dessa visão de diversidade, as florestas catarinenses são constituídas por espécies com adaptações distintas quanto à utilização energética dentro das comunidades (Reis, 1993), sendo que variações nas estruturas morfo-anatômicas devem ocorrer possibilitando a sobrevivência nestas condições ambientais. Conforme Dickison (2000), as estratégias anatômicas e as respostas adaptativas permitem às plantas sobreviverem sob distintas condições ambientais. A Floresta Ombrófila Densa pode ser considerada um ecossistema fechado, onde no interior da mesma, existem diferenças na luminosidade, dinâmica de ventos e disponibilidade de água no solo, contrastando com as restingas.

Sob o ponto de vista adaptativo, quando se comparam as espécies que ocorrem na restinga litorânea com as espécies que ocorrem na Floresta Atlântica Sul-brasileira, verifica-se que a maior parte das espécies da vegetação litorânea é característica e exclusiva desse tipo de vegetação (Bresolin, 1979). Entretanto, algumas espécies ocorrem em ambos os ecossistemas, como é o caso de *Guapira opposita* (Vell.) Reitz. Segundo Reitz (1970), essa espécie arbórea ou arbustiva ocorre no Sul do Brasil nas associações clímax da Floresta Atlântica (no estrato médio, conforme Klein, 1980) e na restinga, nas proximidades da praia, ambientes onde apresenta vasta e expressiva dispersão. O mesmo autor ainda salienta que nessa espécie as folhas heliófilas e esciófilas são muito variadas.

A capacidade das árvores de adaptarem-se em relação à variação ambiental está relacionada tanto com aspectos genotípicos, quanto com a plasticidade fenotípica, expressando-se em termos de mudanças morfológicas e fisiológicas (Aranda *et al.*, 2001). A captação de energia luminosa, para a fotossíntese, permite às plantas a obtenção de energia química que é crucial para sua capacidade de competir e reproduzir (Givnish, 1988). As espécies arbóreas variam grandemente na sua capacidade de responder à alteração na disponibilidade de luz (Thompson *et al.*, 1992).

Para que uma mesma espécie – como ocorre com *Guapira opposita* (Vell.) Reitz – possa sobreviver em ambientes mais iluminados (como na restinga) ou mais sombreados

(como no interior da Floresta Ombrófila Densa), as adaptações morfo-anatômicas da folha, em resposta à intensidade luminosa, especialmente da epiderme e do mesofilo, estão diretamente relacionadas às adaptações fisiológicas e podem ter um papel relevante. A diversidade estrutural nas folhas, associada a fatores abióticos, ocorre dentro do mesmo indivíduo e entre indivíduos (Gutschick, 1999).

A epiderme, que reveste a folha, é um sistema de células com variações, em estruturas e funções (Esau, 1974; Fahn, 1978). Por estar em contato direto com o ambiente, segundo Cutter (1978), a epiderme pode apresentar modificações estruturais como resposta aos fatores ambientais, o que torna esse tecido relevante. Nesse sentido, muitas investigações têm concentrado atenção ao contorno das paredes anticlinais das células epidérmicas, à espessura da camada epidérmica, à espessura da membrana cuticular, à variação na deposição de ceras epicuticulares e à variação na estrutura e densidade estomática.

Napp-Zinn (1984) ressalta que diversas pesquisas têm demonstrado a variação intra-específica das características da epiderme, com tendência ao aumento de sinuosidade sob condições de menor irradiação solar. Vieira (1995), estudando as diferenças anatômicas em folhas de *Bauhinia radiata* Vell., encontradas em diferentes condições de luminosidade, verificou que nas folhas de sombra as paredes celulares anticlinais das células epidérmicas são sinuosas e nas folhas de sol são retas.

A espessura do tecido epidérmico pode variar em relação à intensidade luminosa (Raven *et al.*, 2000). O aumento na espessura da epiderme na face adaxial da parede celular e da cutícula, sob condições de alta luminosidade, pode desempenhar importante papel na manutenção dos níveis ótimos de temperatura foliar, para efetivação dos processos fisiológicos (Dickison, 2000). Cao (2000), comparando a anatomia foliar de doze espécies arbóreas, em diferentes condições luminosas, constata que, considerando a mesma espécie, as células epidérmicas da face adaxial apresentam maior espessura em folhas de sol do que em folhas de sombra. Rôças & Scarano (2001) estudando as variações anatômicas nas folhas de *Alchornea triplinervia* (Spreng.) Müller Arg., sob distintas condições de luminosidade, verificam aumento na espessura da parede periclinal externa das células epidérmicas sob condições de maior luminosidade.

A membrana cuticular, constituída mais internamente de cutina e mais externamente de ceras cuticulares e epicuticulares, reveste externamente as células epidérmicas das plantas terrestres (Holloway, 1981). O aspecto ecológico fundamental da cutícula relaciona-se à redução da perda de água (Gutschick, 1999), principalmente, nas

folhas expostas diretamente à radiação solar (Reed & Tukey, 1981). A estrutura e a quantidade de cera, depositada sobre a cutícula, tem grande importância na impermeabilização da superfície epidérmica (Fahn, 1978). Nultsch (2000) comenta que as ceras cuticulares e epicuticulares têm função considerável na reflexão da irradiação solar. Conforme Dickison (2000), o significado ecológico da esculpura da superfície foliar, ou ornamentação da superfície epidérmica mais externa, é evidenciado pelo fato de que as espécies lenhosas, de ambientes tropicais úmidos ou subtropicais, tendem a possuir esculpura superficial menos conspícua, enquanto as espécies herbáceas apresentam esculpturas mais elaboradas e as espécies suculentas têm incrustações de ceras e ornamentações proeminentes. O mesmo autor, salienta que os depósitos de ceras e alta pubescência são fatores importantes na reflexão solar, contribuindo, juntamente com o posicionamento predominante dos estômatos na superfície abaxial da folha, para a redução das taxas de transpiração.

Os estômatos são estruturas epidérmicas constituídas por células epidérmicas modificadas e especializadas (Esau, 1974). Estão relacionados a importantes processos fisiológicos da planta, sendo os locais de trocas de oxigênio e gás carbônico, para a respiração e a fotossíntese, e ainda os locais de difusão de vapores d'água na transpiração (Cutter, 1978; Romero-Aranda *et al.*, 1994). Os estômatos podem ocorrer em todas as partes aéreas das plantas, mas são mais abundantes nas folhas (Cutter, 1978; Mauseth, 1988; Peat & Fitter, 1994). Diversos estudos relacionam distribuição, densidade, condutância estomática, dimensões dos estômatos e taxa de transpiração com parâmetros ambientais, tais como umidade relativa, temperatura do ar e intensidade de luz (Parkhurst, 1978; Muchow & Sinclair, 1989; Ferris & Taylor, 1993).

Com maior frequência os estômatos predominam ou estão restritos à face abaxial das lâminas foliares (Mauseth, 1988; Peat & Fitter, 1994). Parkhurst (1978) relata que a distribuição dos estômatos está associada com a espessura da folha. Folhas espessas, as quais possuem grande resistência intercelular no mesófilo, tendem a ser anfiestomáticas, enquanto folhas delgadas tenderiam a ser hipoestomáticas. Peat & Fitter (*op.cit.*), investigando a localização dos estômatos na lâmina foliar de 469 espécies britânicas, constatam que: hipoestomatia é comum em plantas lenhosas, as quais tipicamente ocorrem em locais sombreados e têm folhas grandes e glabras; anfiestomatia predomina em espécies que ocorrem em habitats não sombreados, com folhas pequenas, dissecas e pilosas e em espécies anuais. Na literatura não se encontraram referências sobre a distribuição de estômatos em *Guapira opposita*. Metcalfe & Chalk (1957) mencionam que os estômatos

na família Nyctaginaceae são variáveis em sua distribuição. Entretanto, Solereder (1908), descreve características anatômicas para o gênero *Pisonia*, sinonímia onde *Guapira opposita* estava classificada, destacando-se estômatos paracíticos, restritos à face abaxial.

A perda excessiva de água pode ser minimizada com a redução do tamanho das células e do poro dos estômatos, quando há aumento da intensidade luminosa (Abrams *et al.*, 1992). Duz (2001), investigando plantas crescendo em diferentes intensidades de luz, registra que *Bathysa australis* (St. Hil.) Hook ex Sch. diminui o comprimento e a largura das células-guarda com o aumento da luminosidade, demonstrando com isto potencialidade para reduzir a perda hídrica em altas irradiâncias, fato que não ocorre com *Cedrela fissilis* Vell. e *Cecropia glazioui* Sneth., possuindo estas duas espécies outros mecanismos para redução da perda hídrica em altas irradiâncias. Vieira (1995) estudando *Bauhinia radiata* Vell. verifica que em folhas de sol o diâmetro dos estômatos diminui enquanto que em folhas sob condições intermediárias de luz e de sombra o diâmetro aumenta. Comparando as dimensões dos estômatos entre espécies de diferentes estádios sucessionais, Fermino-Jr. (2002), constata que nas espécies pioneiras (plantas de sol), *Cecropia glazioui* Sneth. e *Trema micrantha* (L.) Blume, o comprimento das células-guarda é menor do que nas espécies climáticas (plantas de sombra), *Bathysa australis* (St.Hil) Hook ex Sch. e *Psychotria nuda* (Cham. & Schlecht.) Wawra. Ainda, o mesmo autor, com relação à largura das células-guarda e as dimensões do poro estomático, refere que os resultados não apontam para tendência de menores valores nas espécies pioneiras, quando comparadas às espécies climáticas.

Por influência de condições ambientais, o número de estômatos por unidade de área em uma mesma espécie pode variar, em maior ou menor grau. A densidade estomática é influenciada por variáveis ambientais (Murtaza & Paul, 1989), sendo fixada durante os estádios iniciais do desenvolvimento da folha (Paoletti & Gellini, 1993). Entre as variáveis ambientais que têm sido associadas às variações na densidade estomática encontram-se a altitude, o estresse hídrico, a concentração de CO₂ e a intensidade luminosa. Woodward (1986) relata a ocorrência de maior densidade estomática com a elevação da altitude em diversas espécies de montanhas da Europa. Silva *et al.* (1999), analisando a anatomia foliar em seis cultivares de *Phaseolus vulgaris* L., crescendo sob condições de estresse hídrico, registram o aumento na densidade estomática. Com a elevação na concentração de CO₂, a densidade estomática pode aumentar (Rowland-Bamford *et al.*, 1990; Malone *et al.*, 1993) ou reduzir (Woodward, 1987; Woodward & Bazzaz, 1988), portanto, esse parâmetro parece mostrar uma resposta espécie-específica (Malone *et al.*, 1993).

O aumento da densidade estomática, sob condições de maior intensidade luminosa, tem sido registrada por diversos autores. Lambers *et al.* (1998), ao compilarem informações referentes a algumas diferenças estruturais e bioquímicas entre folhas de sol e de sombra, comentam que a densidade estomática é maior nas folhas de sol. Allard *et al.* (1991), estudando o efeito do sombreamento no crescimento de *Festuca arundinacea* Schreb., constatam que, com menor irradiação, a área foliar aumenta e há redução na densidade estomática. Abrans *et al.* (1992) encontram uma elevação na densidade estomática como resposta de *Prunus serotina* Ehrh., em relação ao aumento da luminosidade. Vieira (1995), trabalhando com *Bauhinia radiata* Vell., verifica que, em folhas de sol, a densidade estomática é maior. Tichá *et al.* (1999), estudando plantas de fumo aclimatizadas em condições *ex vitro*, ambiente com maior luminosidade do que quando cultivadas *in vitro*, verificam que a densidade estomática diminui e a área foliar aumenta após a transferência para as condições *ex vitro*. Cao (2000), comparando a anatomia foliar de doze espécies arbóreas, em diferentes condições luminosas, constata que a densidade estomática aumenta com maior intensidade luminosa, considerando a mesma espécie. Duz (2001), submetendo *Cecropia glazioui* Smet, *Bathysa australis* (St. Hil.) Hook ex Sch., *Cedrela fissilis* Vell., espécies arbóreas da Floresta Ombrófila Densa, a diferentes intensidades de luz durante o desenvolvimento da plântula, observa que a densidade estomática tende a diminuir à medida que o nível de luz diminui. Comparando a densidade estomática entre espécies de diferentes estádios sucessionais, Fermino-Jr. (2002) verifica tendência de maior densidade estomática em espécies pioneiras (plantas de sol), quando comparadas com espécies climácicas (plantas de sombra) da Floresta Ombrófila Densa.

A densidade estomática elevada e a maior transpiração em folhas tipicamente de sol proporcionam um benefício de redução da temperatura foliar (Dickison, 2000). Campostrini *et al.* (2001) estudando as características das trocas gasosas, em quatro genótipos do mamoeiro *Carica papaya* L., verificam que os valores de condutância estomática apresentam relações inversas com as temperaturas foliares evidenciando a fundamental função do processo transpiratório no resfriamento foliar.

A distância entre os estômatos influencia na transpiração, sendo que a maior proximidade entre os estômatos leva à redução da transpiração (Larcher, 2000). Holroyd *et al.* (2002) consideram que um programa genético de divisão celular controlado é responsável pelo espaçamento entre os estômatos em *Arabidopsis*, mas diversos sinais ambientais exercem o efeito de modular o número de estômatos desenvolvidos.

As características adaptativas das estruturas epidérmicas às condições ambientais, geralmente são acompanhadas por adaptações também dos tecidos do mesofilo. Tais características morfológicas influenciam a interceptação de luz, afetando o balanço de energia e a difusão de gases (DeLucia *et al.*, 1996). Considerando a potencial importância da anatomia foliar na distribuição interna de luz (Vogelmann, 1993) e de gases (Parkhurst, 1994), pouco é conhecido sobre as consequências de variação de estruturas internas.

A maior exposição das folhas à luz eleva a espessura da lâmina foliar e do mesofilo (Mauseth, 1988; Syvertsen *et al.*, 1995; Lambers *et al.*, 1998; Dickison, 2000). De acordo com Napp-Zinn (1984), as folhas de sol tendem a ser menores e mais espessas do que as folhas de sombra. Raven *et al.* (2000) salientam que o maior espessamento está relacionado ao maior desenvolvimento do parênquima paliçádico, o que é constatado quando comparadas folhas de sol e de sombra da mesma espécie (Solereeder, 1908; Vieira, 1995; Cao, 2000; Rôças & Scarano, 2001), bem como em folhas de espécies de sol em relação às folhas de espécies de sombra (Fermino-Jr., 2002). Segundo Boardman (1977), folhas de sol de mesófitas, que utilizam a via fotossintética C₃, são mais espessas com múltiplas camadas de parênquima paliçádico e um parênquima esponjoso relativamente delgado. Além da maior espessura, existe a tendência de maior compactação das células do parênquima paliçádico nas folhas de espécies de sol quando comparadas com as folhas de espécies de sombra (Fermino-Jr. *op cit.*).

O teor de clorofila e a proporção entre clorofila *a* e *b* são parâmetros que também podem variar de acordo com os fatores ambientais, principalmente com a intensidade luminosa (Anderson, 1986; Chow & Anderson, 1987; Givnish, 1988; Yin & Johnson, 2000). Paulilo (2000) estudando o efeito do crescimento do palmitero (*Euterpe edulis* Mart.), sob diferentes intensidades de luz, registra diminuição dos teores de clorofila *b* em relação à clorofila *a*, em plantas expostas à alta luminosidade, ou quando transferidas de condições de baixa para alta luminosidade.

Investigações sobre as diferenças morfométricas e histológicas de folhas de uma espécie modelo, como *Guapira opposita* (Vell.) Reitz, de ocorrência freqüente, tanto no estrato médio da Floresta Ombrófila Densa, quanto na restinga, poderão auxiliar tanto a compreender a base estrutural anatômica que possibilita às plantas adaptarem-se a locais mais ou menos iluminados, em diferentes ecossistemas, como enriquecer a literatura referente à Floresta Ombrófila Densa e à vegetação de restinga, no que se refere às adaptações das plantas a esses ambientes, fornecendo informações para programas de reflorestamento e manejo desses ecossistemas. Para tanto, o presente estudo visa comparar

aspectos estruturais relacionando-os a aspectos fisiológicos das folhas de *Guapira opposita* (Vell.) Reitz em diferentes ecossistemas: vegetação de restinga (folhas de sol e folhas de sombra) e Floresta Ombrófila Densa (folhas de sombra), em diferentes períodos sazonais (outono/inverno e primavera/verão).

OBJETIVOS

Objetivo Geral

Comparar aspectos estruturais, relacionando-os a aspectos fisiológicos, das folhas de *Guapira opposita* (Vell.) Reitz, em diferentes ecossistemas: vegetação de restinga e Floresta Ombrófila Densa.

Objetivos Específicos

- ✓ Para indivíduos localizados na vegetação de restinga (folhas de sol e de sombra) e na Floresta Ombrófila Densa (folhas de sombra), foram coletadas folhas em dois períodos do ano (outono/inverno e primavera/verão) para:
 - ◆ Caracterizar a morfologia geral da lâmina foliar;
 - ◆ Determinar a área da lâmina foliar;
 - ◆ Determinar a distribuição dos estômatos nas folhas (epi, hipo ou anfiestomática);
 - ◆ Caracterizar o tipo de estômato e esculturações epidérmicas (ceras, tricomas, etc.);
 - ◆ Determinar a densidade estomática por mm² na lâmina foliar;
 - ◆ Determinar o comprimento e largura da célula-guarda e do poro estomático;
 - ◆ Determinar a distância estomática;
 - ◆ Caracterizar os tecidos constituintes do mesofilo;
 - ◆ Determinar a espessura da lâmina foliar e do mesofilo;
 - ◆ Determinar a espessura do parênquima paliçádico e do parênquima esponjoso;
 - ◆ Determinar a espessura da epiderme, nas faces adaxial e abaxial;
 - ◆ Determinar a espessura da membrana cuticular, nas faces adaxial e abaxial;
 - ◆ Determinar os teores de clorofilas *a* e *b* nos tecidos da lâmina foliar;
 - ◆ Caracterizar os tecidos constituintes do pecíolo.

- ✓ Com base nos parâmetros investigados, acima referidos:
 - ◆ Comparar os dados obtidos para folhas de indivíduos na vegetação de restinga com aqueles obtidos para folhas de indivíduos na Floresta Ombrófila Densa, levando em consideração possíveis variações sazonais (outono/inverno e primavera/verão), bem como possíveis variações entre folhas de sol e sombra de indivíduos da restinga.
 - ◆ Inferir sobre aspectos ecofisiológicos, com base nos dados morfométricos e estruturais obtidos, que possibilitam às plantas adaptarem-se a locais mais e menos iluminados.

MATERIAIS E MÉTODOS

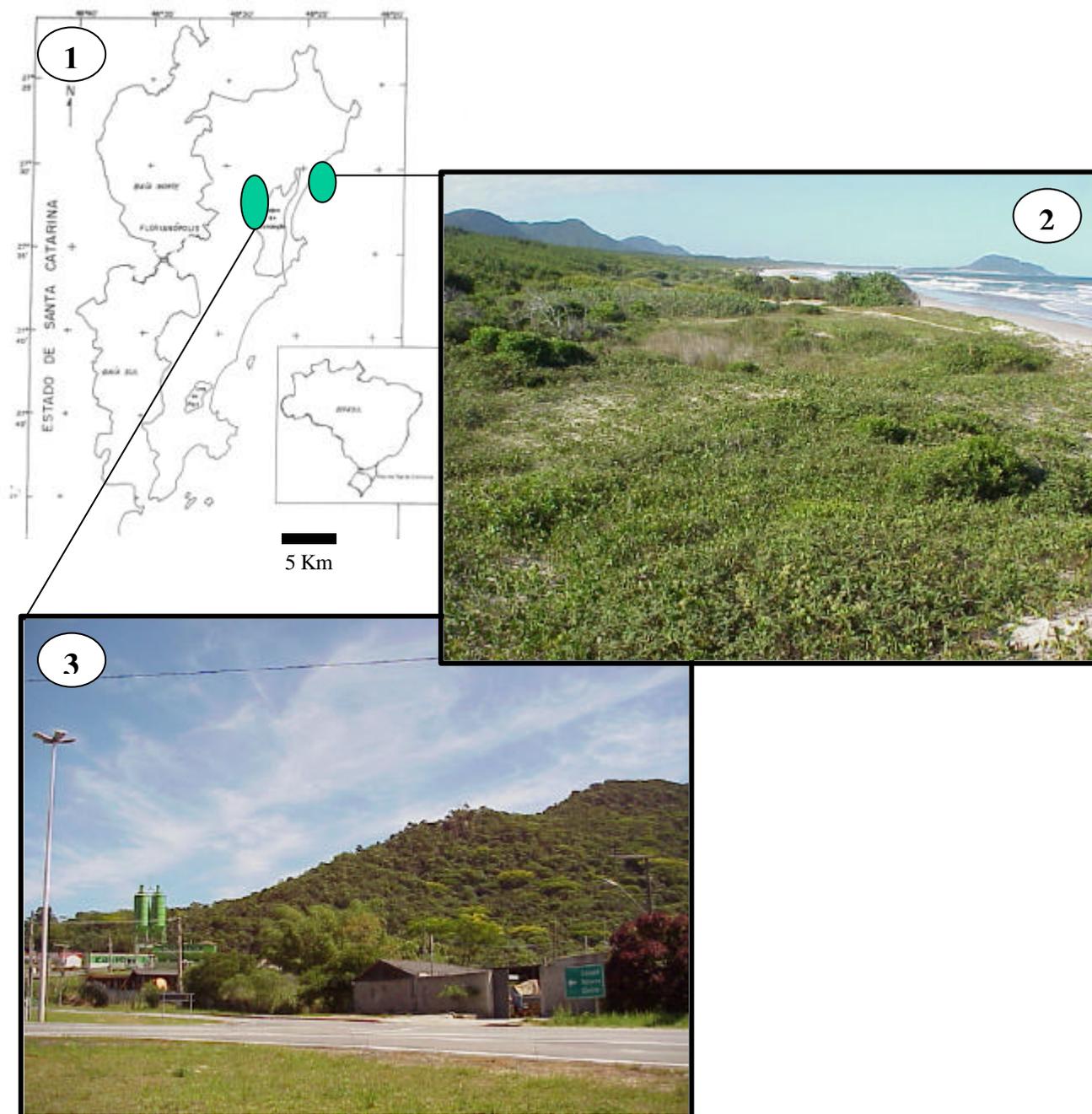
1. Áreas de estudo

A Ilha de Santa Catarina está situada entre as latitudes 27°22'45" e 27°50'10" S e as longitudes 48°21'37" e 48°34'49" W, no litoral do Estado de Santa Catarina (Fig. 1). Perfaz uma área de 39.900 ha e forma um perímetro de 174,3 Km. Possui 88 Km de praias arenosas, 71 Km de costões e restingas e 14,5 Km de manguezais e marismas, além de lagoas e lagunas (Horn Filho *et al.*, 2000). A vegetação arbórea da Ilha de Santa Catarina é encontrada na Mata Pluvial da Encosta Atlântica (Floresta Ombrófila Densa), na restinga litorânea e nos manguezais (Klein, 1969).

O clima da Ilha de Santa Catarina é do tipo subtropical úmido, com temperatura média anual de 20°C. No mês mais quente (janeiro), a temperatura média é de 24°C. No mês mais frio (julho), a temperatura média é de 15°C. A temperatura mínima absoluta de – 0,9°C. A precipitação total anual é de 1400 mm, sem déficit hídrico (há excedente anual de 400-600 mm). A umidade relativa anual é de 80-85% e a altitude de 46m (Atlas de Santa Catarina, 1986).

O Parque Florestal do Rio Vermelho (PFRV) situa-se no nordeste da Ilha de Santa Catarina (Fig. 2), entre o Oceano Atlântico e a Lagoa da Conceição, perfazendo uma área de 1.465 ha, incluindo a Praia de Moçambique (12,5 Km de extensão) e ao oeste, 8,5 Km da Lagoa da Conceição. O PFRV possui aproximadamente 400 ha de florestas de encosta, 500 ha de dunas e restingas (incluindo aproximadamente 150 ha invadidos por *Pinus* em diferentes níveis de contaminação) e 500 ha de talhões de várias espécies de *Pinus* situados sobre restingas (Tiscoski, comunicação pessoal). A vegetação desenvolve-se num solo do tipo “Areias quartzosas álicas” (Atlas de Santa Catarina, 1986; Anexo 1).

A Unidade de Conservação Ambiental Desterro (UCAD) está situada na localidade de Saco Grande a noroeste da Ilha de Santa Catarina (Fig. 3), de propriedade da Universidade Federal de Santa Catarina. Com área total de 491,5ha, caracteriza-se por apresentar formação de Floresta Ombrófila Densa Submontana em diversos estágios de regeneração, variando desde áreas com cobertura herbácea até áreas com cobertura florestal onde a estrutura primária está conservada (CECCA, 1997). O solo é do tipo “Podzólico vermelho-amarelo álico” (Atlas de Santa Catarina, 1986; Anexo 2).



Figuras 1-3. Áreas de estudo. 1. Mapa de localização da Ilha de Santa Catarina (adaptado de Souza-Mosimann *et al.*, 1998). 2. Restinga do Parque Florestal do Rio Vermelho (PFRV). 3. Floresta Ombrófila Densa da Unidade de Conservação Ambiental Desterro (UCAD).

2. Material de estudo

Foram utilizadas as folhas (lâminas foliares e pecíolos), totalmente expandidas (3^o ao 5^o nó), de indivíduos adultos de *Guapira opposita* (Vell.) Reitz localizados na vegetação de restinga (PFRV) e na Floresta Ombrófila Densa (UCAD).

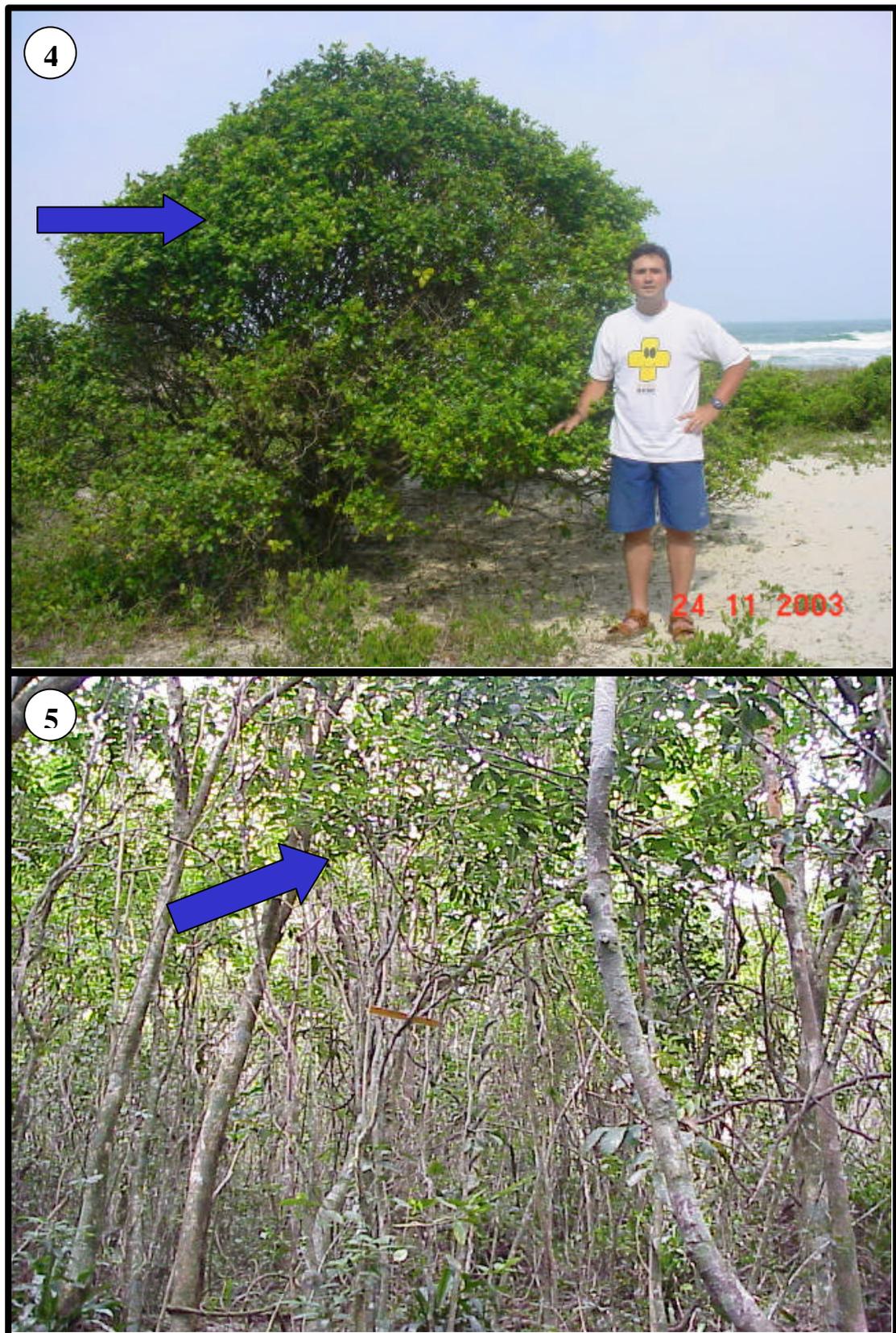
2.1. Descrição da espécie e aspectos ecológicos

Guapira opposita (Vell.) Reitz (Nyctaginaceae) – Figs. 4-5

Conhecida popularmente como maria-mole, maria-faceira, João-mole, carne-de-vaca, flor-de-pérola. Árvore ou arbusto perenefoliada de 1 a 25 m de altura, com diâmetro de até 0,5 ou 0,7 m. Os ramos são dicótomos, cilíndricos, glabros. Floresce desde julho até janeiro. As folhas são muito variáveis em tamanho e forma, sendo opostas, pecioladas, oblongas, agudas, muito variadas, 4-17 cm de comprimento, 1,5-5 cm de largura, glabérrimas, subcoriáceas, com nervura principal forte e nervuras laterais bem oblíquas, anastomosantes arcuadamente na margem, vênulas quase invisíveis, pecíolo canaliculado, 1-3 cm de comprimento (Reitz, 1970).

Árvore característica da Floresta Ombrófila Densa e da restinga litorânea no sul do Brasil, onde apresenta vasta e expressiva dispersão. Espécie seletiva higrófito. Muito abundante e freqüente, principalmente nas associações clímax da Floresta Ombrófila Densa do Sul do Brasil, situadas nas planícies aluviais, fundo dos vales, início das encostas, bem como à meia altura das mesmas, onde em geral, faz parte das árvores subdominantes de diversas associações, apresentando distribuição muito uniforme. Menos freqüente no alto das encostas e terrenos muito íngremes (Reitz, 1970).

É uma das mais expressivas espécies nas planícies quaternárias da Costa Atlântica do Sul do Brasil, situadas entre a Lagoa de Santo Antônio (Laguna) e a Lagoa dos Barros no Rio Grande do Sul. Muito abundante na vegetação de restinga, onde em geral faz parte das espécies dominantes do agrupamento arbustivo caracterizado por: *Eugenia catharinae* O. Berg, *Eugenia umbelliflora* O. Berg, *Gomidesia palustris* (DC.) Legr. e *Blepharocalyx apiculatus* O. Berg, formando agrupamento arbustivo muito denso nos terrenos arenosos e pouco ondulados nas proximidades das praias (Reitz, 1970).



Figuras 4.5. *Guapira opposita* (Vell.) Reitz. **4.** Indivíduo na restinga do Parque Florestal do Rio Vermelho - Florianópolis, SC. **5.** Indivíduo na Floresta Ombrófila Densa da Unidade de Conservação Ambiental Desterro - Florianópolis, SC.

Nas restingas da Ilha de Santa Catarina, *Guapira opposita* (Vell.) Reitz faz parte da vegetação típica de dunas fixas, situadas mais para o interior e atrás das dunas móveis ou semifixas. Na restinga do Rio Vermelho, *G. opposita* ocorre nas associações juntamente com *Cordia verbenacea* DC. (camarinha), *Gomidesia palustris* (DC.) Legr. (guamirim), *Rapanea parviflora* DC. (capororoca-da-praia), *Rapanea venosa* (A.DC.) Mez (capororocão), *Lythraea brasiliensis* L. March. (Pau-de-Bugre) (Bresolin, 1979).

3. Procedimentos de coleta

Foram coletadas de diferentes locais da copa, folhas totalmente expandidas (preferencialmente do 3º ao 5º nó), de diversos indivíduos adultos localizados na vegetação de restinga e na Floresta Ombrófila Densa. Conforme observações realizadas anteriormente, as coletas foram realizadas no final dos períodos sazonais considerados, assegurando a influência dos fatores abióticos no desenvolvimento das folhas. As coletas foram realizadas no mês de agosto de 2002, correspondendo ao período de outono/inverno, e no mês de março de 2003, correspondendo ao período de primavera/verão.

Exsicatas de *Guapira opposita* (Vell.) Reitz coletadas nos dois ecossistemas foram depositadas no Herbário FLOR –UFSC (nº 15.258).

Os indivíduos adultos escolhidos para coleta das folhas encontravam-se em localização representativa:

- ✓ Indivíduos na vegetação de restinga encontravam-se em dunas fixas, em associações naturais, com folhas expostas diretamente ao sol (sem sombreamento por folhas de outras plantas ou por suas próprias folhas) e com folhas de sombra (auto-sombreadas).
- ✓ Indivíduos na Floresta Ombrófila Densa encontravam-se no interior da mata, com folhas sombreadas por folhas de outras plantas ou mesmo auto-sombreadas.

Nos indivíduos localizados na vegetação de restinga, foram coletadas 30 folhas de cada um dos dois locais da copa: folhas da porção mais externa das copas dos arbustos, expostas diretamente à luz solar (folhas de sol); e folhas da porção mais interna das copas dos arbustos, não expostas diretamente à luz solar (folhas de sombra). Nas coletas das folhas de sol, a amostragem foi feita ao redor de toda a copa, eliminando-se as diferenças nas exposições à luz solar durante o dia (leste-oeste, por exemplo), à ação de ventos predominantes e às variações de salinidade resultante dos respingos de água do mar. Dos indivíduos localizados no estrato médio da Floresta Ombrófila Densa (sombreados por espécies do estrato superior), foram coletadas 30 folhas, as quais não estavam expostas

diretamente à luz solar (folhas de sombra). Em cada um dos três casos (folhas de sol e de sombra da restinga e folhas de sombra da Floresta Ombrófila Densa), as folhas foram retiradas de pelo menos 3 indivíduos.

Conforme observações prévias realizadas na elaboração da proposta desse trabalho, na floresta, as folhas de sombra recebem aproximadamente 2% ($21 \mu\text{mol}/\text{m}^2\text{s}^{-1}$) da intensidade luminosa total, variando de 4 a 5% ($50\text{-}100 \mu\text{mol}/\text{m}^2\text{s}^{-1}$) de luminosidade, quando sujeitas às manchas de luz, devido à movimentação do dossel. Na restinga, as folhas de sombra recebem aproximadamente 10% ($126 \mu\text{mol}/\text{m}^2\text{s}^{-1}$) da intensidade luminosa total, variando de 12 a 20% ($158\text{-}250 \mu\text{mol}/\text{m}^2\text{s}^{-1}$) de luminosidade quando sujeitas às manchas de luz, devido ao movimento constante da copa.

O material coletado foi acondicionado em sacos plásticos, dentro de sacola térmica, para o transporte até o laboratório, onde foi mantido em geladeira, para posterior utilização.

4. Estudo das folhas

4.1. Morfologia Foliar

A descrição da morfologia foliar foi realizada de acordo com a proposta de classificação de Hickey (1979), utilizando material fresco ou conservado, em sacos plásticos, sob refrigeração.

4.2. Área Foliar

A determinação da área foliar foi realizada em 30 folhas de cada um dos seis tratamentos (folhas de sol e de sombra da restinga e folhas de sombra da Floresta Ombrófila Densa, no outono-inverno e primavera-verão). Para cada folha, o contorno foi delineado em papel com peso constante (tamanho ofício padrão $75\text{g}/\text{m}^2$). Os moldes foram recortados e pesados em balança digital. O peso destes moldes foi relacionado com o peso médio de área conhecida em cm^2 do mesmo papel, para a determinação da área foliar em cm^2 .

4.3. Estômatos

4.3.1. Preparação do material para microscopia óptica

Para estudo dos estômatos foi utilizado material conservado sob refrigeração. Foram feitas observações em vista frontal da superfície da lâmina foliar, em microscopia óptica, nas amostras preparadas através de cortes paradérmicos, feitos à mão-livre, com auxílio de lâmina de barbear, para confecção de lâminas semipermanentes, com gelatina-glicerinada (Kaiser, 1880 – *apud* Kraus & Arduin, 1997).

As análises foram feitas em microscópio óptico, marca Zeiss-Jena, modelo Loboal 4, no Laboratório de Anatomia Vegetal da UFSC.

4.3.2. Distribuição dos estômatos

A análise foi feita em 15 folhas de cada um dos seis tratamentos (folhas de sol e de sombra da restinga e folhas de sombra da Floresta Ombrófila Densa, no período de outono-inverno e primavera-verão).

Utilizando amostras preparadas, para vista frontal em microscopia óptica, foi registrada a ocorrência dos estômatos, de modo a classificar as folhas como epi, hipo ou anfiestomáticas. Além da distribuição, foi também classificado o tipo de estrutura estomática.

4.3.3. Dimensões das células-guarda e do poro estomático

As amostras para este estudo foram retiradas de 15 folhas de cada um dos seis tratamentos (folhas de sol e de sombra da restinga e folhas de sombra da Floresta Atlântica, no período de outono-inverno e primavera-verão).

A determinação das dimensões das células-guarda foi feita considerando o comprimento (eixo longitudinal, entre os dois pólos da célula) e largura (eixo transversal, na porção média da célula), quando em vista frontal da superfície epidérmica.

Para a determinação das dimensões do poro também foi considerado o eixo longitudinal e o transversal, quando em vista frontal da superfície epidérmica.

Para as medições, as imagens foram projetadas, com auxílio de câmara clara acoplada ao microscópio óptico, sobre o papel e aferida com escala micrométrica, de modo a apresentar os resultados em micrômetros.

4.3.4. Densidade estomática

As amostras para este estudo foram retiradas de 15 folhas para cada um dos seis tratamentos (folhas de sol e de sombra da restinga e folhas de sombra da Floresta Atlântica, no período de outono-inverno e primavera-verão).

A contagem do número de estômatos por área foi feita em microscópio óptico, utilizando lâminas preparadas para observações em vista frontal da superfície epidérmica, considerando-se apenas as zonas intercostais. As imagens foram projetadas, com auxílio de câmara clara acoplada ao microscópio óptico, sobre área delimitada conhecida (200x200 µm). Os dados obtidos são apresentados em número de estômatos por mm².

4.3.5. Distância estomática

As amostras para este estudo foram retiradas de 15 folhas, para cada um dos seis tratamentos (folhas de sol e de sombra da restinga e folhas de sombra da Floresta Ombrófila Densa, no período de outono-inverno e primavera-verão).

Para determinação da distância entre os estômatos, 30 estômatos centrais em cada um dos seis tratamentos foram escolhidos aleatoriamente. Para cada estômato central, foram determinados quatro quadrantes, formados prolongando-se os eixos longitudinal e transversal do poro estomático. A distância foi tomada entre o estômato central e um estômato mais próximo em cada quadrante. A distância foi obtida medindo-se o eixo entre o centro do poro estomático dos dois estômatos imediatamente próximos.

Para as medições, as imagens foram projetadas, com auxílio de câmara clara acoplada ao microscópio óptico, sobre o papel e aferida com escala micrométrica, de modo a apresentar os resultados em micrômetros.

4.4 Lâmina foliar e pecíolo – secção transversal

As amostras para este estudo foram retiradas de cinco folhas, em cada um dos seis tratamentos (folhas de sol e de sombra da restinga e folhas de sombra da Floresta Ombrófila Densa, no período de outono-inverno e primavera-verão).

4.4.1. Preparação do material para Microscopia Óptica

Para confecção de lâminas permanentes, parte do material coletado foi fixado em glutaraldeído 2,5%, em tampão fosfato de sódio 0,1M, em pH 7,2, por 3 horas. Após o material foi lavado, por 3 vezes em tampão fosfato de sódio e, a seguir, foi desidratado em

série etílica gradual. Após a desidratação algumas amostras foram infiltradas em parafina e outras foram infiltradas em hidroxietilmetacrilato.

Para infiltração em parafina, conforme Johansen (1940), o material, após desidratação, passou por xilol (3 vezes). Após a infiltração, em estufa (60°C), foram montados blocos de parafina, como apoio das amostras, os quais foram seccionados em micrótomo de rotação Leica – RM 2125 RT, com 8 e 10 µm de espessura. Foi utilizado o adesivo de Bissing (Bissing, 1974) para fixação das secções sobre a lâmina. As secções foram distendidas sobre chapa aquecedora (40°C). Após a secagem das lâminas foi feita a coloração com safranina/fast-green, e posteriormente, montadas entre lâmina-lamínula com bálsamo do Canadá sintético.

Para infiltração em hidroxietilmetacrilato (Kraus & Arduin, 1997), o material foi desidratado até etanol 96°GL, mantido por pelo menos 12 horas em solução de pré-infiltração e 2 horas em solução de infiltração. Foram então montados blocos de resina (hidroxietilmetacrilato), contendo o material. Os blocos foram seccionados com 5 µm de espessura, em micrótomo de rotação Leica — RM 2125 RT. As secções foram distendidas sobre lâminas contendo água, em chapa aquecedora (40°C). Após a secagem das lâminas, o material foi corado com azul de toluidina 0,25% aquoso.

4.4.2. Estudo estrutural

As análises microscópicas foram concentradas no terço médio da lâmina foliar (epiderme, mesofilo, bordo e nervura mediana) e no terço médio do pecíolo.

As análises e as descrições estruturais foram feitas em microscópio óptico, marca Zeiss-Jena, modelo Loboal 4, no Laboratório de Anatomia Vegetal da UFSC.

Fotomicrografias foram feitas em microscópio óptico Leica MPS 30 DMLS, equipado com fotoautomático. Foram feitas imagens, evidenciando os estômatos e os tecidos internos de folhas, em Microscópio Eletrônico de Varredura, marca Phillips, modelo XL30, pertencente ao Laboratório de Materiais da UFSC.

4.4.3. Espessuras das estruturas da lâmina foliar

As medidas de espessura restringiram-se à zonas intercostais, entre bordo e nervura mediana.

As imagens das secções transversais da lâmina foliar foram projetadas em folha de papel, com auxílio de câmara clara acoplada em microscópio óptico, marca Zeiss-Jena, modelo Loboal 4, no Laboratório de Anatomia Vegetal da UFSC. Os limites de

abrangência da membrana cuticular, células epidérmicas, parênquimas paliçádico e esponjoso (mesofilo), constituintes da lâmina foliar foram delimitados. As medições foram aferidas com escala micrométrica, de modo a apresentar os resultados em micrômetros.

4.4.4. Testes histoquímicos

Os testes histoquímicos foram realizados com materiais frescos seccionados transversalmente, com auxílio de lâminas de barbear. Para a detecção de compostos químicos foi utilizado: reativo de Steimetz original (Costa, 1982), para identificação de suberina, lignina, cutina, celulose, mucilagem, amido e compostos fenólicos; Sudan IV (Costa, *op.cit.*), para detecção de óleos e cutina; floroglucinol/ HCl (Costa, *op.cit.*), para detecção de lignina; tionina (Purvis *et al.*, 1964 – *apud* Kraus & Arduin, 1997), para detecção de mucilagem.

5. Preparação de material para Microscopia Eletrônica de Varredura

Algumas amostras das folhas de indivíduos adultos de *Guapira opposita* (Vell.) Reitz, dos ecossistemas de restinga e de Floresta Ombrófila Densa coletadas no período de outono-inverno e primavera-verão, foram fixadas em glutaraldeído 2,5%, em tampão fosfato de sódio 0,1M, em pH 7,2, por 3 horas, lavadas por 3 vezes em tampão fosfato de sódio e conservadas em etanol 70%, para análise das estruturas internas. O material coletado foi totalmente desidratado em série etílica gradual. Após a desidratação, o material foi imerso em hexametildesilazane (HMDS), por ½ hora, como meio substitutivo de ponto crítico de CO₂, que pelo processo de sublimação reduz a tensão superficial, evitando o colapso das estruturas (Bozzola & Russel, 1991). Amostras de folhas utilizadas para análise da superfície externa foram secas totalmente em estufa, sem nenhum procedimento de fixação. As amostras secas foram fixadas sobre suportes de alumínio, com auxílio de fita de carbono dupla face, e cobertas com 20 nm de ouro, em metalizador marca Baltec, modelo CED030.

6. Extração e dosagem de clorofila

Para as medidas do teor de clorofila, foram utilizadas três repetições para cada um dos seis tratamentos (folhas de sol e de sombra da restinga e folhas de sombra da Floresta Ombrófila Densa, no período de outono-inverno e primavera-verão).

Das regiões basal, mediana e apical de folhas totalmente expandidas (excluindo a nervura mediana) recém coletadas, de indivíduos de cada um dos seis tratamentos, foram retirados discos, com área conhecida, e homogeneizados até atingir o peso de 50 mg . Os discos foliares foram colocados em tubos de ensaio contendo 3 ml de acetona 80% e macerados, para a retirada total da clorofila. Após, a solução de acetona (80%) + clorofila foi transferida para tubos graduados, adicionando-se acetona 80%, até completar 5 ml (Hiscox & Israelstam, 1979). Os tubos de ensaio, com a solução, foram agitados e centrifugados. Alíquotas dessa solução foram utilizadas para medir o teor de clorofila.

O teor de clorofila foi medido segundo Arnon (1949): verificando a absorbância, em espectrofotômetro digital, de alíquotas das soluções de acetona (80%) a 663 nm para a clorofila “a”; 645 nm para a clorofila “b”. O teor de clorofila total (Cl) foi calculado a partir da seguinte fórmula:

$$\text{Cl a} = \{ [12,7 \times (A663)] - [2,69 \times (A645)] \} \times \text{Vol(ml)} / [\text{peso(mg)} \times 1000]$$

$$\text{Cl b} = \{ [22,9 \times (A645)] - [4,68 \times (A663)] \} \times \text{Vol(ml)} / [\text{peso(mg)} \times 1000]$$

$$\text{Cl total} = \text{Cl a} + \text{Cl b}$$

Onde: A = absorbância, Cl a = clorofila a, Cl b = clorofila b.

7. Avaliações estatísticas

O número mínimo amostral foi calculado pela equação $n=(t^2 \cdot s^2) \cdot d^{-2}$, onde “t” é dado pela tabela de Student (considerando $n-1$, para significância de 0,05), “s” é o desvio padrão e “d” é igual a E/100. Média, onde E=10 para 10% de probabilidade, valor considerado satisfatório (Sokal & Rohlf, 1969).

As médias obtidas para cada um dos parâmetros investigados, nos seis tratamentos (folhas de sol e sombra nos indivíduos da vegetação de Restinga, e folhas de sombra nos indivíduos da Floresta Ombrófila Densa, em dois períodos do ano), foram comparadas por análise de variância (análise multifatorial) e teste Tukey (ao nível de significância de 5%), através do programa computacional Statgraphics (1993).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

1. MORFOLOGIA FOLIAR E ARQUITETURA DA COPA

As folhas de indivíduos de *Guapira opposita* (Vell.) Reitz dos ecossistemas de restinga (Fig. 6) e de Floresta Ombrófila Densa (Fig. 7) apresentam algumas características morfológicas distintas (Tab.1). Entre as folhas de sol e de sombra da restinga não foram evidenciadas diferenças na morfologia externa. A margem, textura, forma do pecíolo, tipo de nervação e base foliar são semelhantes entre as folhas dos dois ecossistemas. Já a forma da lâmina e do ápice apresentam algumas diferenciações. Em folhas de indivíduos da restinga, a forma da lâmina, além dos tipos oblongo e elíptico, que também ocorrem em folhas de indivíduos da Floresta Ombrófila Densa, apresenta-se obovada. Folhas dos dois ecossistemas têm ápices do tipo arredondado e atenuado, porém o tipo de ápice agudo só ocorre em folhas da Floresta Ombrófila Densa.

Tabela 1. Características morfológicas de folhas de *Guapira opposita* (Vell.) Reitz de indivíduos da restinga e da Floresta Ombrófila Densa.

CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS	ECOSSISTEMA DE RESTINGA	ECOSSISTEMA DE FLORESTA OMBRÓFILA DENSA
Organização	Simplex	Simplex
Lâmina	Simétrica Oblonga (2:1) ou Elíptica (2:1) ou Obovada (2:1)	Simétrica Oblonga (3:1) ou Elíptica (2:1) ou Elíptica (1,5:1)
Ápice	Arredondado ou Atenuado	Arredondado ou Agudo ou Atenuado
Base	Simétrica ou Assimétrica Aguda ou Obtusa	Simétrica ou Assimétrica, Aguda ou Obtusa
Margem	Inteira (lisa)	Inteira (lisa)
Textura	Coriácea	Coriácea
Pecíolo	Canaliculado (sulcado)	Canaliculado (sulcado)
Tipo de nervação	Camptódroma (Brochidódroma)	Camptódroma (Brochidódroma)

A forma elíptica (Fig. 7 b), nas folhas da floresta, poderia ser decorrente da expansão da lâmina, enquanto a forma obovada (Fig. 6 c), nas folhas da restinga, resultaria do menor desenvolvimento da base. Assim, as diferenças nas formas poderiam ser reflexos da maior expansão das lâminas foliares nas plantas da floresta em relação àquelas da restinga. Estas variações na forma da folha podem ter significância ecológica, já que a diminuição do tamanho das folhas reduz a camada de ar adjacente à folha, permitindo maior perda de calor por convecção para o ambiente, sendo necessária, desta maneira, menor transpiração para resfriar a folha (Poorter, 1999).

A variação de luminosidade, entre folhas de um mesmo ambiente, sol e sombra da restinga, parece não ter sido suficiente para afetar a morfologia foliar externa. Entretanto, considerando-se os dois ecossistemas, a forma deve ser influenciada pela diferença na intensidade de luz, embora outros fatores abióticos possam ter contribuído para tal.

Durante as coletas, foi observado que o arranjo das folhas nos indivíduos, ou seja, a arquitetura das copas apresentam algumas diferenças entre os indivíduos dos dois ecossistemas. Algumas plantas têm suficiente plasticidade de desenvolvimento para se adaptarem a uma amplitude de regimes de luz, crescendo como plantas de sol em áreas ensolaradas e como plantas de sombra em habitats sombrios (Taiz & Zeiger, 2004). As espécies arbóreas, conforme Colinvaux (1993), apresentam um arranjo de folhas na copa organizadas em uma ou mais camadas, maximizando a área foliar total coletora de luminosidade. Segundo Horn (1971, *apud* Colinvaux 1993), algumas hipóteses podem ser levantadas quando comparadas plantas de sol e de sombra. Em plantas de sol, o sistema de folhas em arranjo perfurado, em multicamadas, possibilita a penetração de diferentes intensidades luminosas no processo de captura durante a fotossíntese. Ainda em plantas de sol, suas folhas devem estar arranjadas em profundidade num modelo randômico, com ramificações do caule mais curtas. Em plantas de sombra, o modelo mais eficiente é em monocamada, com folhas grandes, sem sobreposição, e com ramificações do caule mais longas. Nos indivíduos arbóreos de *G. opposita* da Floresta Ombrófila Densa, sombreados pelo dossel da floresta, a forma da copa é mais aberta, com muitas ramificações do caule, apresentando uma arquitetura de modo a constituir uma única camada coletora de luz, ou seja, em monocamada. Nos indivíduos arbustivos da restinga, os quais estão expostos diretamente à luz, a forma da copa é mais fechada, também com muitas ramificações do caule, porém mostrando diversas camadas coletoras de luz, ou seja, com arquitetura em multicamadas. Nesse sentido, o arranjo das folhas dos indivíduos de *G. opposita* parece

corresponder às hipóteses de Horn (1971), fato que sugere necessidade de investigação mais precisa em futuros estudos.

2. ÁREA FOLIAR

As folhas de *Guapira opposita* (Vell.) Reitz apresentam valores de área foliar distintos, quando comparados os indivíduos dos dois ecossistemas: vegetação de restinga e Floresta Ombrófila Densa (Tab. 2). Os maiores valores ocorrem em folhas de indivíduos localizados na Floresta Ombrófila Densa (folha de sombra) e os menores valores ocorrem nas folhas de indivíduos da restinga (folhas de sol e de sombra), em ambos períodos sazonais considerados. Entre as folhas de restinga, de sol e de sombra, não foram constatadas diferenças na área foliar, em nenhum dos dois períodos. A área foliar no período de outono-inverno é maior do que no período de primavera-verão, apenas considerando as folhas de sombra da Floresta Ombrófila Densa.

As folhas de sombra de *G. opposita* estão sujeitas a distintas intensidades luminosas, cerca de 2% (4 a 5%, sob ação de manchas de luz) na floresta e 10% (12 a 20%, sob ação de manchas de luz) na restinga. O gradiente estabelecido, comparando folhas menores da restinga com as folhas maiores da floresta, deve estar relacionado a diversas condições ambientais, não apenas à intensidade luminosa. As informações na literatura apontam para o fato de que as folhas de sol tendem a ser menores do que as folhas de sombra (Napp-Zinn, 1984). Por exemplo, Allard *et al.* (1991), estudando o efeito do sombreamento no crescimento de *Festuca arundinacea* Schreb., constatam que com menor irradiação luminosa a área foliar aumenta. Ainda nesse sentido, Vieira (1995), estudando folhas de *Bauhinia radiata* Vell., verifica que as folhas de sol são menores do que as folhas de sombra. De fato, a maior área nas folhas da floresta, comparadas às folhas da restinga, deve estar relacionada à pouca luminosidade (2%) na floresta em relação à restinga (10%). No interior da floresta, na região de sub-dossel, a intensidade luminosa é muito reduzida devido à absorção pelas folhas do dossel (Kitajima, 1996). Nesse sentido, maiores áreas foliares aumentam a superfície receptora de luz, proporcionando uma adaptação à maior captação da luz solar, em locais sombreados, como na floresta (Lee *et al.*, 1996). Na restinga, a maior expansão da lâmina foliar poderia resultar em prejuízos fisiológicos, como por exemplo, excesso de transpiração.

Entretanto, quando comparamos uma mesma espécie habitando diferentes ecossistemas, não podemos considerar o fator luminosidade isoladamente das demais

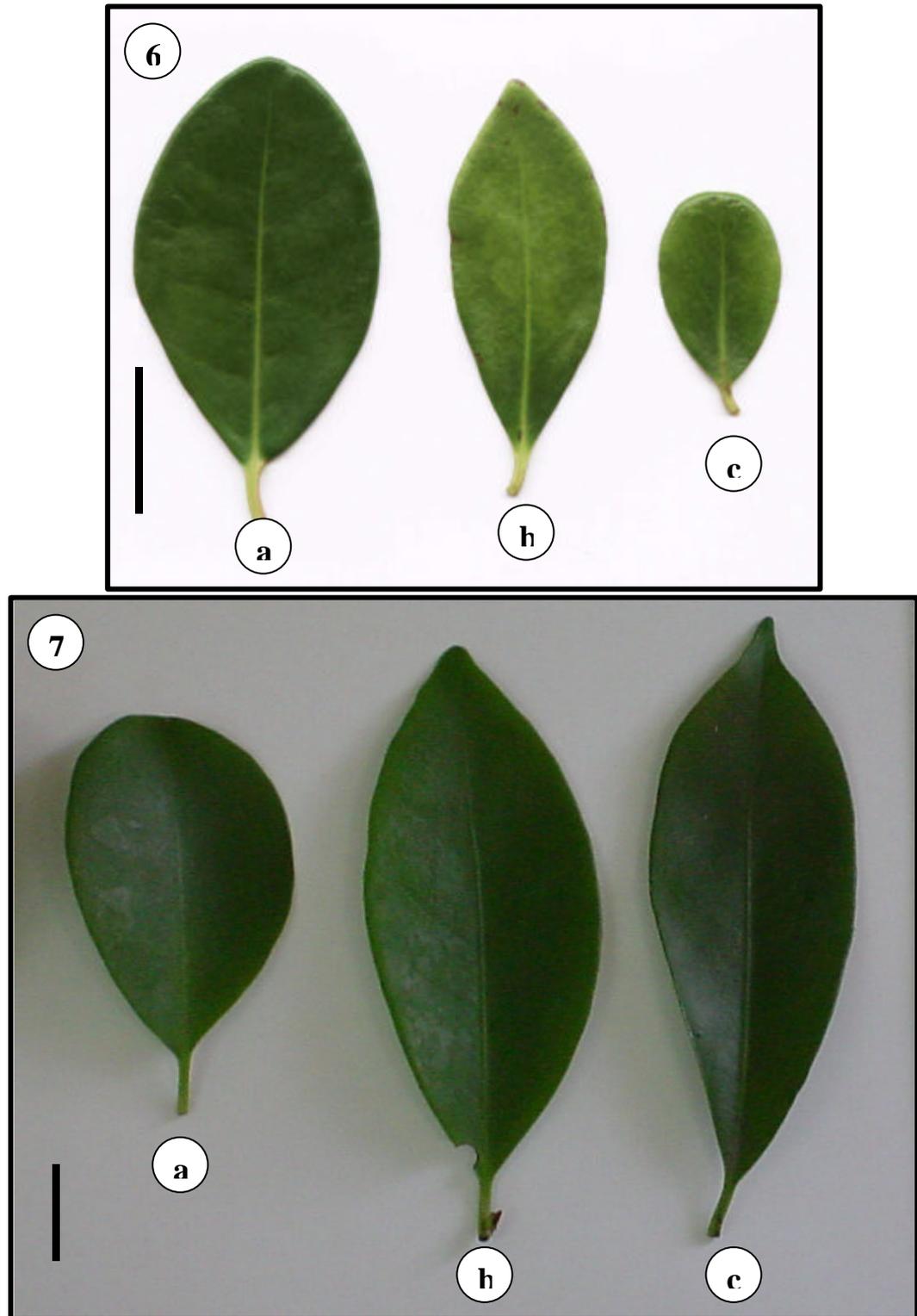
condições abióticas. Segundo Scarano *et al.* (2001), as comunidades vegetais na periferia da Floresta Atlântica, como nas restingas, estão sujeitas a condições ambientais adversas, como variação de temperaturas, ventos constantes, alta salinidade e deficiência nutricional no solo. Tais condições, seriam os fatores abióticos adicionais à maior luminosidade, os quais poderiam ter contribuído para menor expansão da lâmina em folhas de *G. opposita* da restinga, quando comparadas às de floresta. Esta idéia é reforçada considerando-se o fato de que na restinga não foi constatada diferença significativa entre folha de sol e de sombra. É provável que a intensa movimentação das copas pelos ventos, aumentando a ocorrência de manchas de luz nas folhas, e a alta salinidade possam estar influenciando na menor expansão da lâmina foliar, mesmo em folhas de sombra. Portanto, na restinga, as folhas de sombra estão sujeitas a condições ambientais muito semelhantes às folhas de sol, expressando-se em algumas características estruturais similares.

Com relação à sazonalidade, na Floresta Ombrófila Densa, as diferenças nas áreas foliares, observadas nos dois períodos considerados, podem estar relacionadas à variação na intensidade luminosa. No período de outono-inverno, a intensidade de luz é menor em relação ao período primavera-verão, fato que ocorre nos dois ecossistemas. Entretanto, provavelmente as diferenças na luminosidade foram suficientes para afetar a área foliar de indivíduos da floresta, enquanto na restinga, mesmo no inverno esta intensidade pode ainda ser alta, levando à manutenção de menor expansão da lâmina foliar.

Tabela 2. Área foliar (AF-cm²), Densidade estomática (DDE-est./mm²) e Distância estomática (DTE-μm) em folhas de *Guapira opposita* (Vell.) Reitz da restinga (R) e da Floresta Ombrófila Densa (F), no outono-inverno e primavera-verão.

	AF	DDE	DTE
OUTONO-INVERNO			
R-sol	15±3,1 a	176±20,7 c	75±17,0 a
R-sombra	16±2,9 a	150±18,6 b	84±15,2 a
F-sombra	35±6,3 c	125±18,6 a	75±13,6 a
PRIMAVERA-VERÃO			
R-sol	14±3,4 a	177±21,1 c	83±15,0 a
R-sombra	15±3,1 a	154±22,8 b	82±15,2 a
F-sombra	31±6,1 b	126±22,7 a	83±18,7 a

Nota: n=30 para cada parâmetro. Letras diferentes comparadas na vertical indicam diferenças estatisticamente significativas pelo teste de Tukey (ao nível de 5% de significância).



Figuras 6-7. Morfologia das folhas de *Guapira opposita* (Vell.) Reitz. **6.** Folhas de indivíduos da restinga: **a.** Elíptica, **b.** Oblonga, **c.** Obovada. **7.** Folhas de indivíduos da Floresta Ombrófila Densa: **a.** Oblonga, **b.** Elíptica (2:1), **c.** Elíptica (1,5:1). Barras = 2 cm.

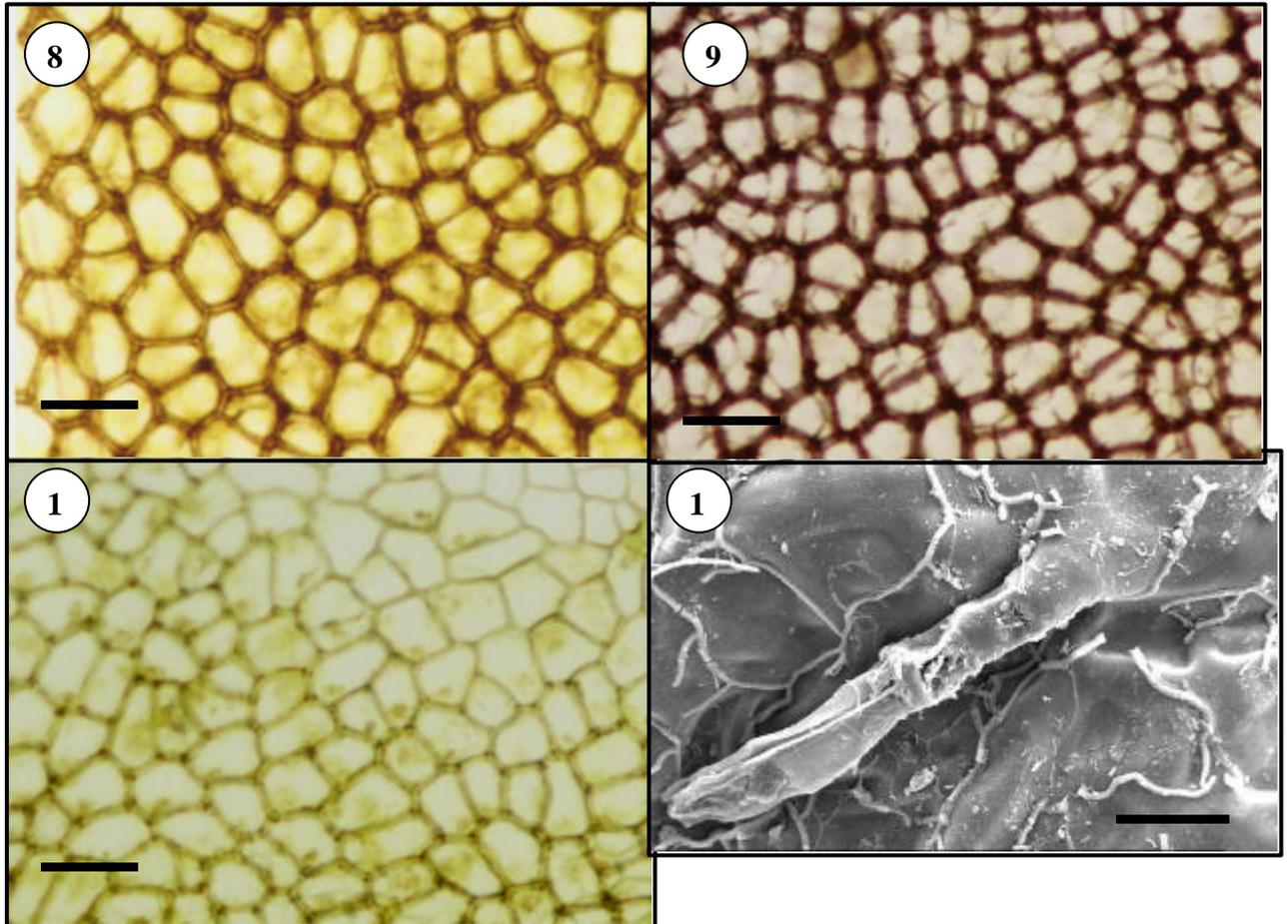
3. LÂMINA FOLIAR

As lâminas foliares de indivíduos de *Guapira opposita* (Vell.) Reitz, nos ecossistemas de restinga e Floresta Ombrófila Densa, apresentam características anatômicas bastante semelhantes. As variações observadas devem estar relacionadas às características ambientais.

3.1. EPIDERME

Em folhas de *G. opposita*, a epiderme é uniestratificada e aclorofilada, em ambas as faces. As paredes celulares anticlinais das células epidérmicas (Figs. 8-10) são retas, em ambos ambientes. As paredes celulares pericliniais externas são convexas. De acordo com Vogelmann *et al.* (1996), a camada celular mais externa, a epiderme, é tipicamente transparente à luz visível e suas células são com frequência, convexas. Ainda o mesmo autor, explica que as células epidérmicas convexas podem atuar como lentes e concentrar a luz, de modo que a quantidade que atinge alguns dos cloroplastos pode ser muitas vezes maior do que a quantidade de luz do ambiente.

Nas faces adaxial e abaxial das folhas provenientes dos dois ecossistemas ocorrem tricomas pluricelulares (Fig. 11). Tais tricomas são filiformes e pouco frequentes. Na descrição da família Nyctaginaceae, Metcalfe & Chalk (1957) citam tricomas pluricelulares de diversas morfologias comuns na família, entre eles aparece o tipo filiforme. Solereder (1908) descreve para o gênero *Pisonia*, sinônimo de *Guapira* anteriormente classificada, a ocorrência de tricomas glandulares. Apesar de não termos observado nenhum indício de possibilidade dos tricomas de *G. opposita* tratarem-se de tipo glandular, tais dados da literatura nos levaram a aplicar alguns testes histoquímicos. Entretanto, não ocorreram reações positivas mediante os testes realizados. Com relação a aspectos ecofisiológicos, Souza (2003) comenta que os tricomas tectores podem evitar a perda excessiva de água. Porém, em *G. opposita*, tricomas filiformes presentes com baixa frequência, em folhas totalmente expandidas, devem possuir reduzida ação contra perda excessiva de água.



Figuras 8-11. Vista frontal de superfície adaxial de folhas de *Guapira opposita* (Vell.) Reitz. **8.** Folhas de sol da restinga (Barra = 50 μm). **9.** Folhas de sombra da restinga (Barra= 50 μm). **10.** Folhas de sombra da Floresta Ombrófila Densa (Barra= 50 μm). **11.** Tricoma filiforme em folha de sombra da Floresta Ombrófila Densa em microscópio eletrônico de varredura (Barra = 20 μm).

3.1.1. ESTÔMATOS

3.1.1.1. DISTRIBUIÇÃO E TIPOS

Nas folhas de *G. opposita*, os estômatos nos dois ecossistemas apresentam-se no mesmo nível das células epidérmicas adjacentes e estão restritos à face abaxial, caracterizando folhas do tipo hipoestomáticas. Segundo Solereder (1908), para o gênero *Pisonia*, sinônimo de *Guapira*, os estômatos estão localizados na face abaxial. Alguns autores como Mauseth (1988) e Peat & Fitter (1994), relatam que a hipoestomatia nas espécies arbóreas ocorre com maior frequência. Considerando o aspecto fisiológico, Dickison (2000) salienta que o posicionamento dos estômatos na superfície abaxial das folhas é um fator relevante para a redução das taxas de transpiração. Provavelmente, o posicionamento dos estômatos na face abaxial, da espécie em estudo, favorece a adaptação nos diferentes ecossistemas.

Os estômatos nas folhas de indivíduos de *G. opposita*, da restinga e da Floresta Ombrófila Densa, apresentam duas células subsidiárias paralelas às células-guarda, caracterizando estômatos do tipo paracítico (Figs. 12-14). Metcalfe & Chalk (1957) mencionam que os estômatos na família Nyctaginaceae são variáveis em sua distribuição e tipo. Para o gênero *Pisonia*, Solereder (1908) descreve estômatos paracíticos. Na literatura, não foi encontrada nenhuma referência sobre o tipo de estômato em *G. opposita*.

3.1.1.2. DENSIDADE ESTOMÁTICA

O número médio de estômatos por unidade de área apresenta variação nas folhas de *G. opposita*, quando comparados os dois ecossistemas, vegetação de restinga e Floresta Ombrófila Densa (Tab. 2). A maior densidade estomática ocorre nas folhas de sol de indivíduos da restinga e a menor densidade nas folhas de sombra de indivíduos da Floresta Ombrófila Densa, nos dois períodos sazonais. Para as folhas de sombra da restinga, os valores são intermediários em relação às demais condições. Os valores obtidos para a densidade estomática expressam um gradiente que corresponde ao gradiente de intensidade luminosa existente entre as folhas, ou seja, em condições de maior luminosidade, como na restinga, a densidade é maior, e em condições de menor luminosidade, como na Floresta Ombrófila Densa, a densidade estomática é menor.

O aumento da densidade estomática com a elevação da intensidade luminosa tem sido registrada por diversos autores (Allard *et al.*, 1991; Abrans *et al.*, 1992; Vieira, 1995; Cao, 2000; Duz, 2001). De acordo com Taiz & Zeiger (2004), através dos estômatos ocorre o fluxo de gás carbônico (CO₂) e de vapores de água. O

compartilhamento desse caminho pelo CO₂ e pela água submete a planta a um dilema funcional, ou seja, a maior absorção de gás carbônico é acompanhada inevitavelmente por substancial perda de água. Segundo Malone *et al.* (1993) e Taiz & Zeiger (*op cit.*), o aumento da densidade estomática, em resposta a maior disponibilidade de luz, pode ser considerado uma adaptação que aumenta a captação de CO₂. Este aumento deve acompanhar o aumento da conversão de energia luminosa em energia química da fotossíntese, que se dá em maior intensidade de luz. Concomitante ao maior influxo de gás carbônico, ocorre maior efluxo de vapores de água, aumentando a transpiração. Como consequência do aumento da transpiração, ocorre um processo de resfriamento da folha, reduzindo a temperatura interna (Dickison, 2000). Essa redução da temperatura é fundamental para a efetivação dos mecanismos bioquímicos da fotossíntese, os quais utilizam também outras estratégias de dissipação de excesso de energia, como o ciclo das xantofilas (Demmig-Adams *et al.*, 1996). Larcher (2000) comenta que a distância entre os estômatos influencia a transpiração, sendo que com maior densidade estomática a transpiração reduz, devido a maior umidade próxima aos estômatos, ocasionada pela formação de arcos de transpiração mais próximos entre si. Portanto, um aumento da densidade estomática, sob maior luminosidade, pode tanto levar ao aumento quanto à diminuição da transpiração, dependendo da estratégia utilizada pela planta. No caso de *G. opposita*, para identificar qual dessas duas estratégias é utilizada seria necessário medir o fluxo transpiratório em maior e menor luminosidade. Por conseguinte, *G. opposita* apresentando maior densidade estomática, em folhas expostas a maiores intensidades luminosas mostra uma capacidade de aclimatação ao aumento de luz, estratégia relevante para a sobrevivência em ambiente de alta luminosidade, como na restinga.

3.1.1.3 DISTÂNCIA ESTOMÁTICA

O aumento da densidade estomática leva a uma diminuição da distância entre os estômatos. Entretanto, a distância entre os estômatos, em *G. opposita*, não apresenta diferenças entre as condições consideradas: folhas de sol e sombra, da restinga, e folhas de sombra, da Floresta Ombrófila Densa (Tab. 2). Também, não existem diferenças comparando os períodos sazonais. Considerando-se o fato de que a densidade estomática evidenciou um gradiente relacionado com a luminosidade que é consequência da distância entre os estômatos, leva-nos a acreditar que a metodologia empregada pode não ter sido rigorosa o suficiente para detectar as diferenças. Raros trabalhos avaliam a distância entre os estômatos, para inferir sobre aspectos ecofisiológicos. Assim, no presente estudo,

pretendeu-se propor uma metodologia, porém o fato de não ter sido constatada tendência de aumento ou redução das distâncias entre os estômatos, relativas às diferenças ambientais, indica que o parâmetro pode ser utilizado, mas com novos métodos em futuros estudos.

3.1.1.4. DIMENSÕES DAS CÉLULAS-GUARDA E DO PORO ESTOMÁTICO

As dimensões das células-guarda e do poro estomático, comprimento e largura, nas folhas de *G. opposita* dos dois ecossistemas, vegetação de restinga e Floresta Ombrófila Densa, mostram variações (Tab. 3, Figs. 15-17).

Com relação ao comprimento das células-guarda e do poro estomático, em *G. opposita*, os maiores valores ocorrem em folhas de indivíduos da restinga e os menores valores em folhas de indivíduos da Floresta Ombrófila Densa. Observa-se uma tendência de semelhança no comprimento das células-guarda e do poro, entre folhas de sol e de sombra da restinga, quando comparado com os dados obtidos para folhas de sombra da floresta. Comparando os resultados obtidos para os diferentes períodos sazonais, no período de primavera-verão observa-se menor comprimento das células-guarda em folhas de sol e de sombra da restinga, assim como no comprimento do poro, apenas para folhas de sombra da restinga. Entretanto, nas folhas de sombra da floresta não ocorre tal diferença no comprimento da célula-guarda e do poro, assim como no comprimento do poro de folhas de sol da restinga. Estas considerações podem ser indicativos de que outros fatores abióticos, além da luminosidade, podem ter afetado o comprimento das células-guarda nas folhas da restinga.

Analisando os resultados obtidos para a largura das células-guarda percebe-se que este parâmetro não é satisfatório como indicador de aclimatação à luz, uma vez que as variações ocorridas não puderam ser relacionadas ao crescente gradiente de luz encontrado para folhas de sol da restinga, folhas de sombra da restinga e folhas de sombra da Floresta Ombrófila Densa.

A largura do poro estomático é maior em folhas da restinga do que em folhas da Floresta Ombrófila Densa. Entre folhas de sol e de sombra da restinga, não existem diferenças. Entretanto, as maiores dimensões desse parâmetro em folhas de restinga comparadas com folhas da floresta reforçam a idéia de que outros fatores abióticos associados a luminosidade estejam modulando a expressão morfológica.

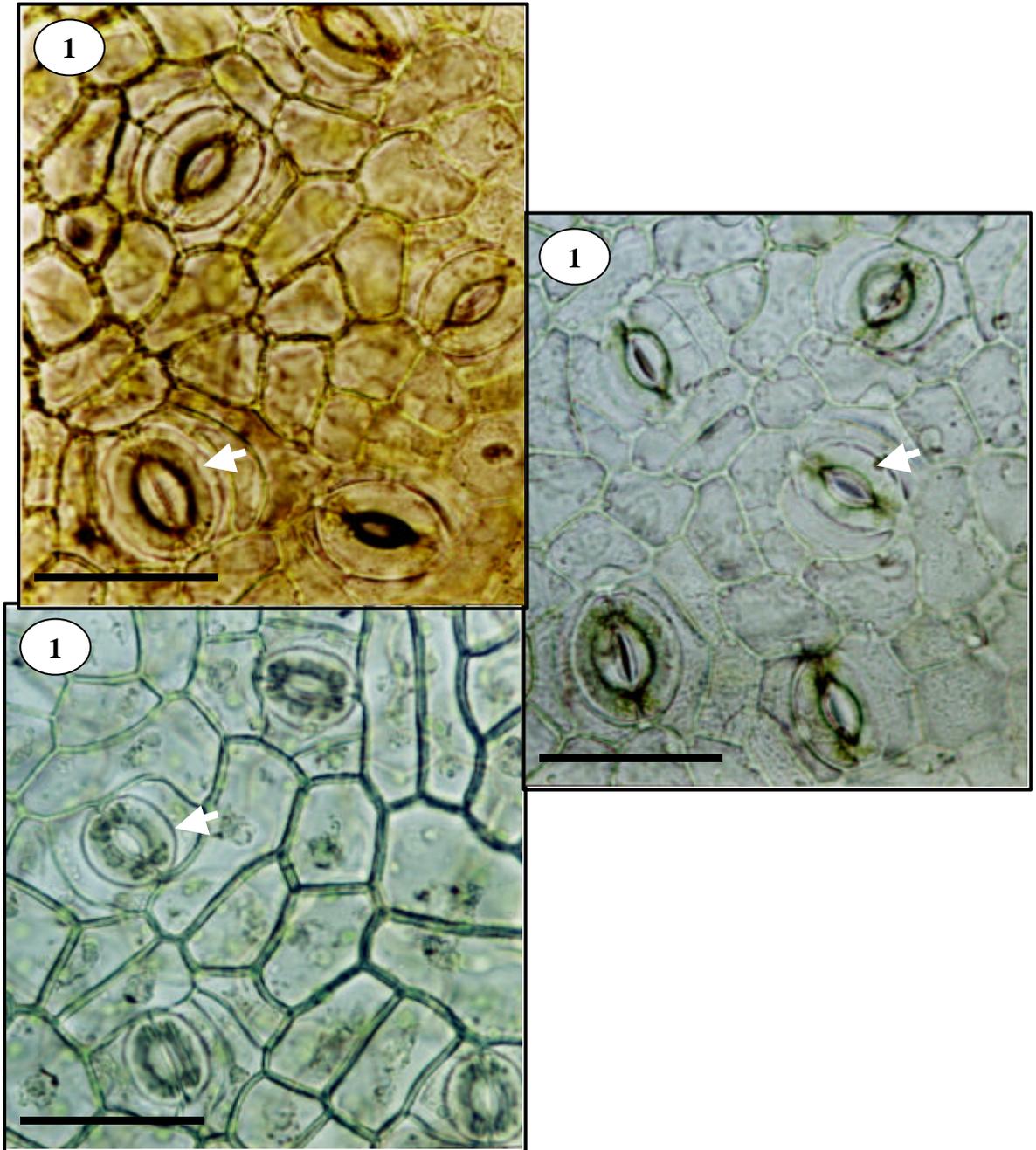
O controle da abertura estomática pode ser determinado pela necessidade de metabólitos fotossintéticos, para o interior da folha (Mott, 1988). De acordo com Jones

(1998), os estômatos estão adaptados, no seu funcionamento, a otimizar o fluxo de gás carbônico e perda de água, controlando o risco de desidratação e cavitação do xilema, e a regular a temperatura, pelo resfriamento proporcionado pela transpiração. Diversos trabalhos indicam uma tendência contrária aos resultados obtidos. Por exemplo, Abrans *et al.* (1992), comentam que a perda excessiva de água pode ser minimizada com a redução do tamanho das células-guarda e do poro estomático, quando há aumento da intensidade luminosa. Duz (2001) registra, para *Bathysa australis* (St. Hil.) Hook, a redução das dimensões das células-guarda com o aumento da luminosidade, evidenciando a potencialidade para reduzir a perda hídrica. Ainda a mesma autora, conclui que *Cedrela fissilis* Vell. e *Cecropia glazioui* Sneth. não apresentam a plasticidade para o controle das relações hídricas através das dimensões das células-guarda, utilizando outras estratégias adaptativas. Com base nas informações obtidas na literatura, o efeito de redução da dimensão dos estômatos, com o aumento da luminosidade, em *G. opposita*, ocorre apenas quando comparamos folhas de sol e de sombra da restinga e quando comparamos sazonalmente. Mas, quando a comparação envolve diferentes ecossistemas, como restinga e floresta, as diferenças observadas devem estar relacionadas à luminosidade associada a outros fatores abióticos, evidenciando a complexidade de cada ecossistema. Em *G. opposita*, as maiores dimensões dos estômatos, no ecossistema de restinga, devem aumentar a transpiração, fato que pode contribuir para redução da temperatura foliar, fundamental para o funcionamento das vias metabólicas, em ambiente com temperaturas mais elevadas, como na restinga. Convém ressaltar que a espécie deve utilizar outras estratégias contra o estresse hídrico.

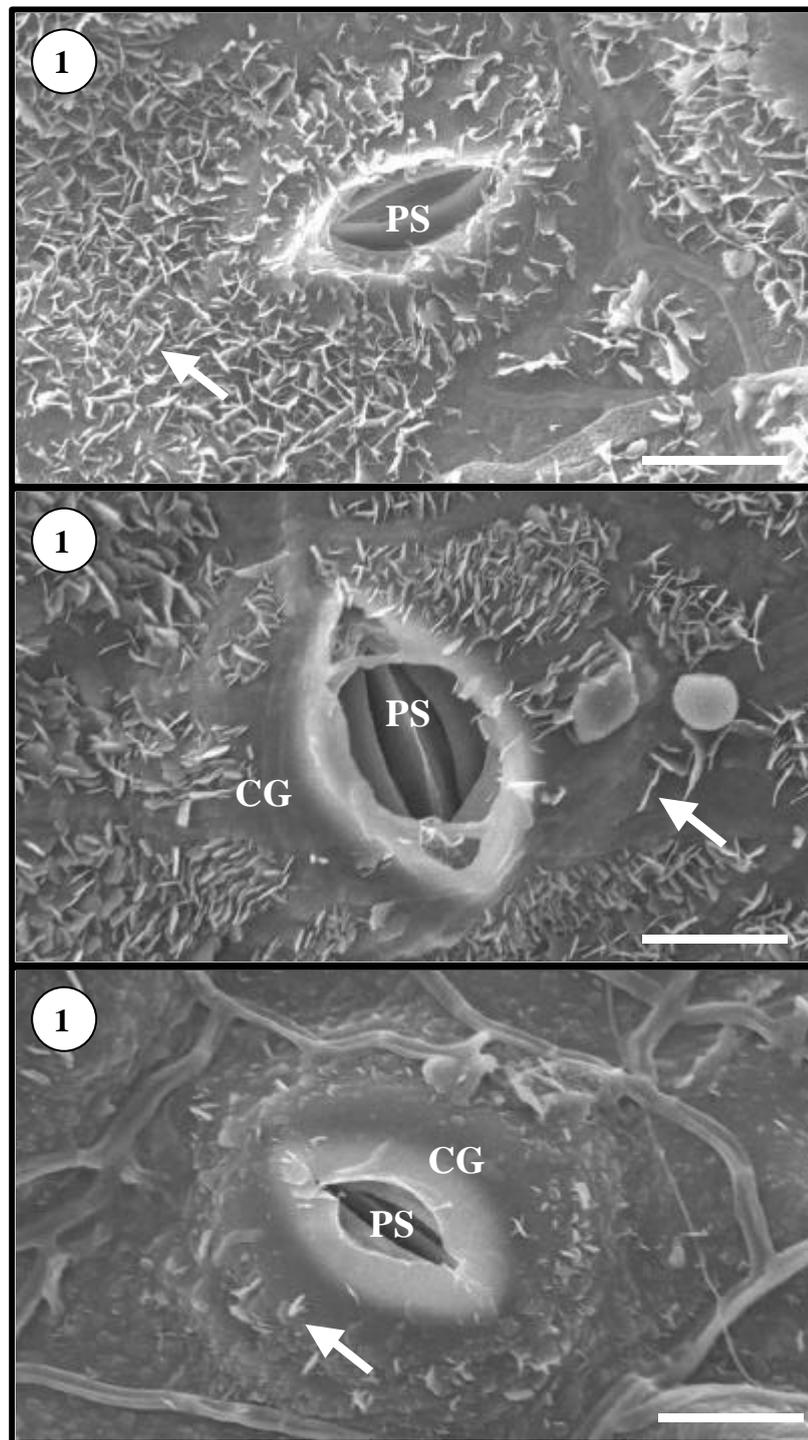
Tabela 3. Comprimento (CCG) e largura (LCG) das células-guarda, comprimento (CP) e largura (LP) do poro estomático, em μm , em folhas de *Guapira opposita* (Vell.) Reitz da restinga (R) e da Floresta Ombrófila Densa (F), no outono-inverno e primavera-verão.

	CCG	LCG	CP	LP
OUTONO-INVERNO				
R-sol	41,1 \pm 2,8 c	10,1 \pm 0,8 ab	20,4 \pm 2,1 b	12,0 \pm 1,1 c
R-sombra	44,9 \pm 3,2 d	11,2 \pm 0,9 d	23,1 \pm 2,3 c	11,2 \pm 1,6 bc
F-sombra	27,9 \pm 2,8 a	9,9 \pm 0,8 ab	11,4 \pm 1,7 a	5,1 \pm 0,9 a
PRIMAVERA-VERÃO				
R-sol	39,0 \pm 2,1 b	10,8 \pm 0,9 cd	20,5 \pm 1,6 b	11,6 \pm 1,4 bc
R-sombra	41,0 \pm 2,2 bc	10,2 \pm 1,0 bc	21,0 \pm 1,9 b	11,0 \pm 1,4 b
F-sombra	28,8 \pm 2,7 a	9,5 \pm 1,0 a	11,6 \pm 1,5 a	6,0 \pm 1,6 a

Nota: n=30 para cada parâmetro. Letras diferentes comparadas na vertical indicam diferenças estatisticamente significativas pelo teste de Tukey (ao nível de 5% de significância).



Figuras 12-14. Vistas frontais de superfície abaxial de folhas de *Guapira opposita* (Vell.) Reitz em microscópio óptico. **12.** Folha de sol da restinga. **13.** Folha de sombra da restinga. **14.** Folha de sombra da Floresta Ombrófila Densa. Setas indicam os estômatos. Barras = 50 μm .



Figuras 15-17. Estômatos em vista frontal, na face abaxial, de folhas *Guapira opposita* (Vell.) Reitz, em microscópio eletrônico de varredura (2000X, 10kV). **15.** Folhas de sol da restinga. **16.** Folhas de sombra da restinga. **17.** Folhas de sombra da Floresta Ombrófila Densa. Barras = 10 μ m. Setas indicam ceras epicuticulares. Legenda: CG= célula-guarda; PS= poro estomático.

3.1.2. ESPESSURA DA EPIDERME

A espessura das células epidérmicas das folhas de *Guapira opposita* (Vell.) Reitz, tanto na face adaxial quanto abaxial, apresentam diferenças (Tab. 4). Nas faces adaxial e abaxial, a maior espessura das células epidérmicas ocorre em folhas de sol da restinga e a menor em folhas de sombra da Floresta Ombrófila Densa. Valores intermediários ocorrem em folhas de sombra da restinga. Os resultados obtidos mostram um gradiente com relação à luminosidade, sendo que folhas expostas a maior luminosidade desenvolvem mais a espessura das células epidérmicas, em ambas as faces. A sazonalidade não influenciou na expressão da espessura das células epidérmicas em ambas as faces.

A espessura do tecido epidérmico pode variar em relação à intensidade luminosa (Raven *et al.*, 2000). O aumento na espessura da epiderme na face adaxial, da parede celular e da cutícula, sob condições de alta luminosidade, podem desempenhar importante papel na reflexão da luz solar, para manutenção dos níveis ótimos de temperatura foliar e, conseqüentemente para efetivação dos processos fisiológicos (Dickison, 2000). Portanto, em *G. opposita*, o maior espessamento das células epidérmicas, em ambas as faces, nas folhas de sol da restinga deve estar relacionado à proteção contra o excesso de luminosidade, devido a propriedade de reflexão, principalmente na face adaxial exposta à luz incidente. Na medida em que as folhas de sombra da restinga recebem menos luz, o espessamento é menor. Já nas folhas de sombra da floresta, onde pouca luz atinge as lâminas, o espessamento é o menor. Nesse sentido, Cao (2000), comparando a anatomia foliar de doze espécies arbóreas, em diferentes condições luminosas, constata que, considerando a mesma espécie, as células epidérmicas da face adaxial apresentam maior espessura em folhas de sol do que nas folhas de sombra. Com relação à propriedade reflexiva, DeLucia *et al.* (1996), comentam a potencial contribuição das células epidérmicas da face abaxial na reflexão interna de luz no mesofilo, aumentando a absorção luminosa.

Tabela 4. Espessura das células epidérmicas da face adaxial (CEAD) e da face abaxial, em μm , em folhas de *Guapira opposita* (Vell.) Reitz da restinga (R) e da Floresta Ombrófila Densa (F), no outono-inverno e primavera-verão.

	CEAD	CEAB
OUTONO-INVERNO		
R-sol	31,0 \pm 2,2 c	22,2 \pm 1,7 c
R-sombra	25,3 \pm 2,6 b	18,6 \pm 1,6 b
F-sombra	22,2 \pm 2,4 a	15,1 \pm 2,1 a
PRIMAVERA-VERÃO		
R-sol	31,7 \pm 2,5 c	21,6 \pm 2,6 c
R-sombra	24,1 \pm 1,9 b	18,1 \pm 2,2 b
F-sombra	21,4 \pm 2,1 a	14,7 \pm 1,6 a

Nota: n=30 para cada parâmetro. Letras diferentes comparadas na vertical indicam diferenças estatisticamente significativas pelo teste de Tukey (ao nível de 5% de significância).

3.1.3. MEMBRANA CUTICULAR

A membrana cuticular em folhas de *G. opposita* é bastante espessa em ambas as faces, e cora-se fortemente com Sudan IV (Figs. 18-23). A deposição de ceras epicuticulares, visível apenas com o uso de microscópio eletrônico de varredura, é mais abundante nas folhas de indivíduos da restinga (Figs. 15, 16, 24 e 25), do que nas folhas de indivíduos da floresta (Figs. 17 e 26). A estrutura e a quantidade de cera, depositada sobre a cutícula, tem grande importância na impermeabilização da superfície epidérmica (Fahn, 1978). Com relação à luminosidade que atinge as superfícies foliares, Nultsch (2000) comenta que as ceras cuticulares e epicuticulares têm função considerável na reflexão da irradiação solar.

3.1.3.1. ESPESSURA DA MEMBRANA CUTICULAR

A membrana cuticular, nas faces adaxial e abaxial, apresentam variações, quanto à espessura, nas folhas de *Guapira opposita* (Vell.) Reitz, quando comparados os dois ecossistemas, vegetação de restinga e Floresta Ombrófila Densa (Tab. 5).

Na face adaxial, a maior espessura da membrana cuticular ocorre em folhas de sol da restinga e a menor em folhas de sombra da Floresta Ombrófila Densa. Valores intermediários ocorrem em folhas de sombra da restinga. Na face abaxial, a maior espessura ocorre nas folhas da restinga e a menor nas folhas da floresta. Em ambas as faces a sazonalidade não influenciou no desenvolvimento da membrana cuticular.

Com base nos resultados, observa-se que, na face adaxial, superfície mais exposta à luz incidente, ocorre um gradiente da espessura da membrana cuticular com relação à

luminosidade, sendo mais espessa quando a luminosidade é maior. Entretanto, na face abaxial, superfície menos exposta à luz solar, as espessuras da membrana cuticular das folhas de sol e de sombra da restinga são iguais e maiores do que nas folhas da floresta.

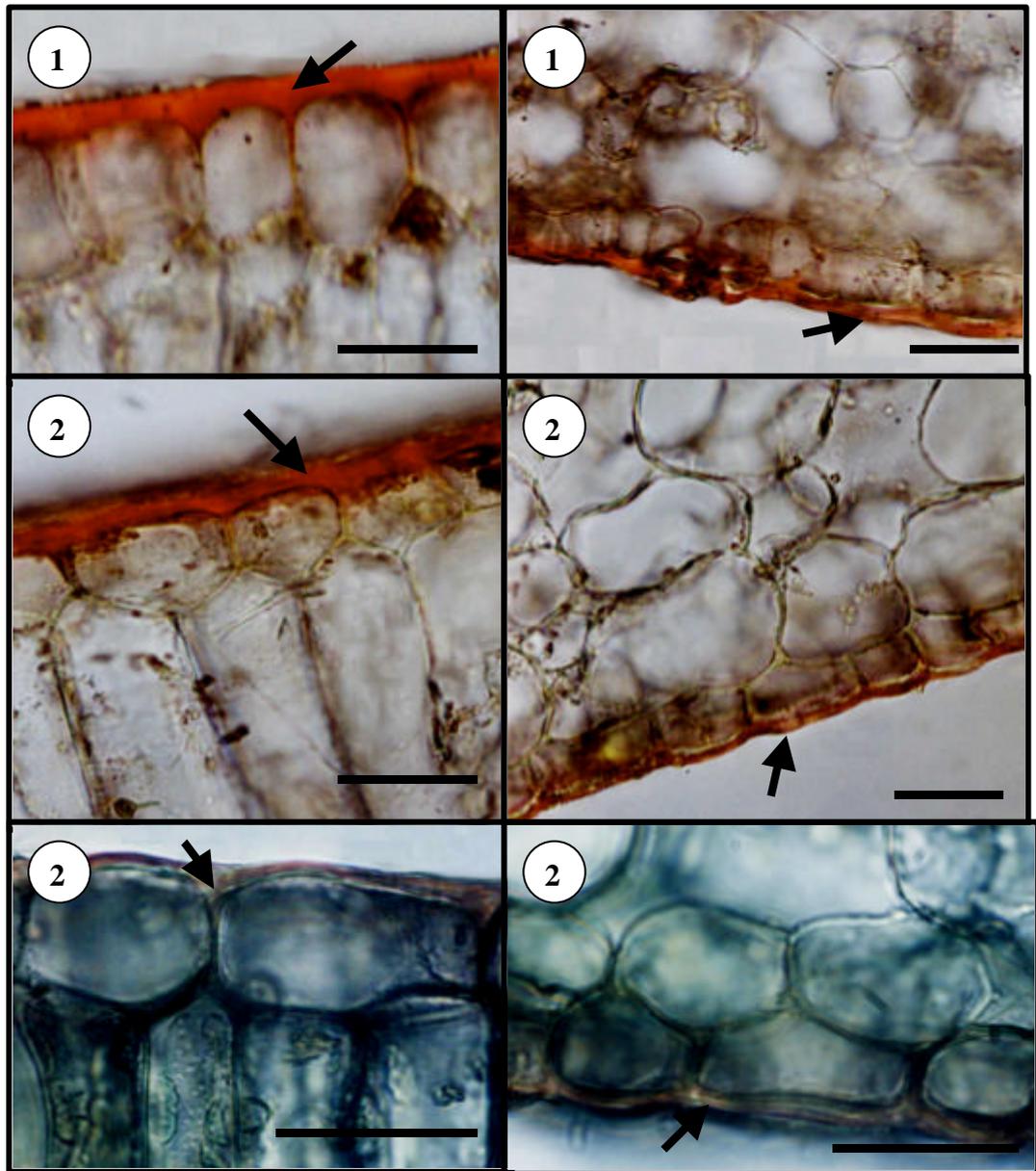
Outro fator abiótico atuante na restinga são os ventos constantes. Segundo Larcher (2000), a maior circulação de ar aumenta a diferença entre a concentração de vapor d'água nas superfícies evaporantes e o conteúdo de vapor d'água da atmosfera, e conseqüentemente, aumenta a transpiração. Nesse sentido, o aspecto ecológico do espessamento da cutícula relaciona-se à redução da perda de água, principalmente, nas folhas expostas diretamente à radiação solar (Reed & Tukey, 1981). O maior desenvolvimento da membrana cuticular, em folhas de indivíduos de *G. opposita* da restinga, deve atuar como uma estratégia adaptativa, evitando os prejuízos do excesso de radiação e da perda excessiva de água.

Portanto, em *G. opposita*, outras condições abióticas do ecossistema de restinga, distintas do ecossistema de floresta, além do fator luminosidade, devem influenciar no maior desenvolvimento da membrana cuticular, visto que existem expressões de desenvolvimento distintas.

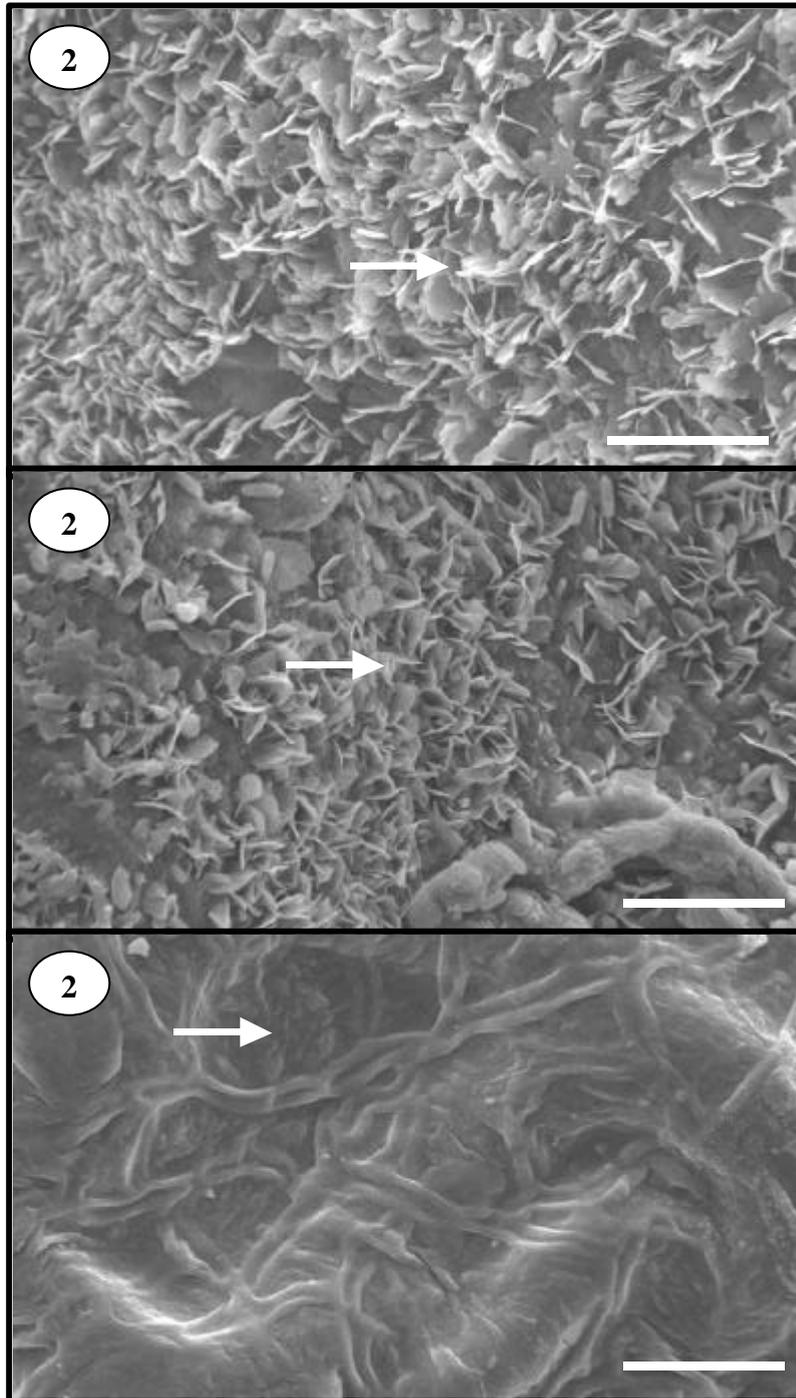
Tabela 5. Espessura da membrana cuticular da face adaxial (MCAD) e da face abaxial (MCAB), em μm , em folhas de *Guapira opposita* (Vell.) Reitz da restinga (R) e da Floresta Ombrófila Densa (F), no outono-inverno e primavera-verão.

	MCAD	MCAB
OUTONO-INVERNO		
R-sol	5,5±0,7 c	3,9±0,4 b
R-sombra	4,5±0,7 b	3,9±0,5 b
F-sombra	2,3±0,5 a	2,2±0,5 a
PRIMAVERA-VERÃO		
R-sol	5,5±0,7 c	3,9±0,4 b
R-sombra	4,2±0,8 b	3,9±0,6 b
F-sombra	2,3±0,5 a	2,1±0,5 a

Nota: n=30 para cada parâmetro. Letras diferentes comparadas na vertical indicam diferenças estatisticamente significativas pelo teste de Tukey (ao nível de 5% de significância).



Figuras 18-23. Secções transversais de lâminas foliares de *Guapira opposita* (Vell.) Reitz evidenciando a membrana cuticular (setas) corada com Sudan IV. **18-19.** Folhas de sol da restinga: 18. Face adaxial; 19. Face abaxial. **20-21.** Folhas de sombra da restinga: 20. Face adaxial; 21. Face abaxial. **22-23.** Folhas de sombra da Floresta Ombrófila Densa: 22. Face adaxial; 23. Face abaxial. Barras = 30 μ m.



Figuras 24-26. Vista frontal da superfície adaxial de folhas de *Guapira opposita* (Vell.) Reitz em microscópio eletrônico de varredura (2000X, 10kV). **24.** Folhas de sol da restinga. **25.** Folhas de sombra da restinga. **26.** Folha de sombra da Floresta Ombrófila Densa. Setas indicam a deposição de ceras epicuticulares. Barras= 10 μ m.

3.2. MESOFILO

O mesofilo em folhas de *G. opposita* é composto por tecidos clorofilados, organizados em parênquimas paliçádico e esponjoso.

O parênquima paliçádico está voltado para a face adaxial e é formado por três a quatro estratos de células colunares, nas folhas de sol da restinga (Figs. 27-28); por um ou dois estratos de células colunares (Figs. 29-30), nas folhas de sombra da restinga; e por um estrato de células não colunares (Figs. 31-32), nas folhas de sombra da Floresta Ombrófila Densa. Portanto, observa-se que o parênquima paliçádico altera-se conforme o gradiente de luz, apresentando-se mais desenvolvido à medida que a luminosidade aumenta, ou seja, está constituído por células mais longas e dispostas em maior número de estratos. Em folhas de sol e de sombra, a forma das células paliçádicas são contrastantes (Taiz & Zeiger, 2004). Comparando plantas de sol e de sombra de diferentes espécies, Fermino-Jr. (*op cit.*) descreve uma tendência de maior compactação das células do parênquima paliçádico, nas folhas de espécies de sol, quando comparadas com as folhas de espécies de sombra. O desenvolvimento do parênquima paliçádico em múltiplas camadas, com células longas, possibilita maior capacidade fotossintética (Oguchi *et al.*, 2003). Isso ocorre porque aumenta a superfície da membrana plasmática possibilitando proximidade de maior número de cloroplastos, levando a maior difusão de gás carbônico, pois esta é mais rápida na fase gasosa do que na líquida (Oguchi *op cit.*). Em *G. opposita* também observa-se maior compactação do parênquima paliçádico quando a intensidade luminosa é maior, ou seja, nas folhas de sol da restinga.

Para Terashima & Hikosaka (1995), a anatomia da folha é altamente especializada para a absorção de luz. Segundo Vogelmann *et al.* (1993), a forma colunar das células do parênquima paliçádico facilita a penetração de luz no parênquima esponjoso. As células em paliçada atuam como guias de luz, transmitindo-a através dos vacúolos tubiformes e dos espaços de ar intercelulares (Terashima *et al.*, 1984). Conforme diversos trabalhos, nas células do clorênquima, o vacúolo central em forma de tubo pressiona o protoplasto para a periferia, definindo o posicionamento dos cloroplastos. A localização dos cloroplastos paralela ou perpendicular à incidência da radiação luminosa pode maximizar a taxa fotossintética e reduzir a susceptibilidade à fotoinibição (Nishio *et al.*, 1993). Em *G. opposita*, os cloroplastos no parênquima paliçádico estão alinhados paralelamente à incidência da luz, levando a uma redução na absorção de luz, e no parênquima esponjoso os cloroplastos estão dispostos perpendicularmente à incidência da luz (Fig. 33), maximizando a absorção.

O parênquima esponjoso, em *G. opposita*, é formado por células com espaços intercelulares, mais conspícuos em folhas da floresta do que naquelas da restinga (Figs. 27, 29 e 31), mostrando um gradiente correspondente ao que ocorre com aumento de luminosidade (Givnish, 1988).

Algumas células do clorênquima contêm drusas (Fig. 34) e muitos idioblastos com ráfides (Figs. 34-36) de oxalato de cálcio. A microanálise em microscopia eletrônica de varredura usando energia dispersiva de raio-X revelou que esses cristais são constituídos por oxigênio e cálcio. Apesar da presença destes cristais nas folhas de restinga e de floresta, estes parecem ser mais frequentes nas primeiras, embora um estudo quantitativo não tenha sido feito. Solereder (1908) cita a ocorrência frequente de ráfides e estilóides nas células do mesofilo de *Pisonia*.

Na região do bordo foliar, ocorre alteração dos tecidos do mesofilo, observando-se a presença de colênquima, sob a epiderme (Figs. 37 e 38), porém sem distinções entre os tratamentos.

3.3. ESPESSURA DA LÂMINA FOLIAR E DE SUAS ESTRUTURAS

Dados referentes à espessura da lâmina foliar de *G. opposita* (Tab. 6) mostram variações entre os indivíduos da vegetação de restinga e os da Floresta Ombrófila Densa. Folhas de sol da restinga são as mais espessas, enquanto as folhas de sombra da Floresta Ombrófila Densa são as mais delgadas, observando-se espessura intermediária nas folhas de sombra da restinga. O mesmo ocorre com relação a algumas estruturas constituintes da lâmina foliar avaliadas, como o parênquima paliçádico e por consequência o mesofilo. O parênquima esponjoso é mais desenvolvido em folhas de sol da restinga e menos desenvolvido em folhas de sombra da restinga.

Sazonalmente, as folhas de sombra da floresta apresentam diferenças na espessura do parênquima esponjoso, sendo mais espessas no período outono-inverno do que na primavera-verão.

Os resultados obtidos indicam um gradiente nas espessuras da lâmina foliar e do mesofilo, entre as folhas, nas diferentes condições de luminosidade. Quanto maior a luminosidade, maior a espessura e na medida em que ocorre sombreamento, tais estruturas desenvolvem-se menos. Em *G. opposita*, proporcionalmente ao volume ocupado no mesofilo, o parênquima paliçádico também mostra um gradiente com relação à variação de luminosidade, sendo que este tecido ocupa 43% nas folhas de sol da restinga, 38% nas folhas de sombra da restinga e 20% nas folhas de sombra da floresta. Essa diferença na

ocupação do parênquima paliçádico na lâmina foliar, bem como sua estruturação referida anteriormente (item 3.2), evidencia a plasticidade e a capacidade de conquistar ambientes sob distintas condições luminosas.

Diversos trabalhos (Napp-Zinn, 1984; Mauseth, 1988; Syvertsen *et al.*, 1995; Lambers *et al.*, 1998; Dickison, 2000) têm mencionado que a maior exposição das folhas à luz eleva a espessura da lâmina foliar e do mesofilo. De acordo com Terashima *et al.* (2001), a alta capacidade fotossintética em folhas de sol é suportada pela construção de folhas espessas. Segundo DeLucia *et al.* (1996), as mesófitas com típicas folhas de sol, que utilizam a fotossíntese C₃, apresentam múltiplas camadas de parênquima paliçádico. O maior espessamento da lâmina foliar está relacionado ao maior desenvolvimento do parênquima paliçádico (Raven *et al.*, 2000; Oguchi *et al.*, 2003; Taiz & Zeiger, 2004), o que é constatado quando comparadas folhas de sol e sombra da mesma espécie (Vieira, 1995; Cao, 2000; Rôças & Scarano, 2001), bem como em folhas de espécies de sol em relação às folhas de espécies de sombra (Bongers & Popma, 1988; Fermino-Jr., 2002). Do mesmo modo, as lâminas foliares de *G. opposita*, nas diferentes condições de luminosidade, desenvolvem distintamente o parênquima paliçádico.

As espessuras do parênquima esponjoso, em valores absolutos, mostram maior valor em folhas de sol da restinga e menor valor em folhas de sombra de restinga e da Floresta Ombrófila Densa. Proporcionalmente ao volume do mesofilo, o parênquima esponjoso nas folhas de sol da restinga ocupa 56%, nas folhas de sombra da restinga 61% e nas folhas de sombra da floresta 79%, observando-se um gradiente com relação à luminosidade. De acordo com Lee *et al.* (1990), folhas de sombra são mais delgadas, com reduzido número de camadas paliçádicas e, proporcionalmente, com mais parênquima esponjoso. DeLucia *et al.* (1996) salientam que o significado funcional da maior proporção de parênquima esponjoso no mesofilo, em folhas de sombra, ainda não está esclarecido. Porém, os autores referem que os feixes de luz que entram colimados no mesofilo tornam-se difusos, por múltiplas reflexões, nos numerosos espaços intercelulares. Como descrito no item 3.2, em *G. opposita*, o parênquima esponjoso apresenta espaços intercelulares mais conspícuos, quando a intensidade luminosa é reduzida. A maior proporção de espaços intercelulares e a forma arredondada das células do parênquima esponjoso de folhas de sombra devem aumentar a dispersão dos raios luminosos e aumentar o comprimento de onda (DeLucia *et al.*, *op cit.*), podendo ser capturados pelos pigmentos fotossintéticos que absorvem em comprimento de onda mais longos. O aumento da absorção devido à maior

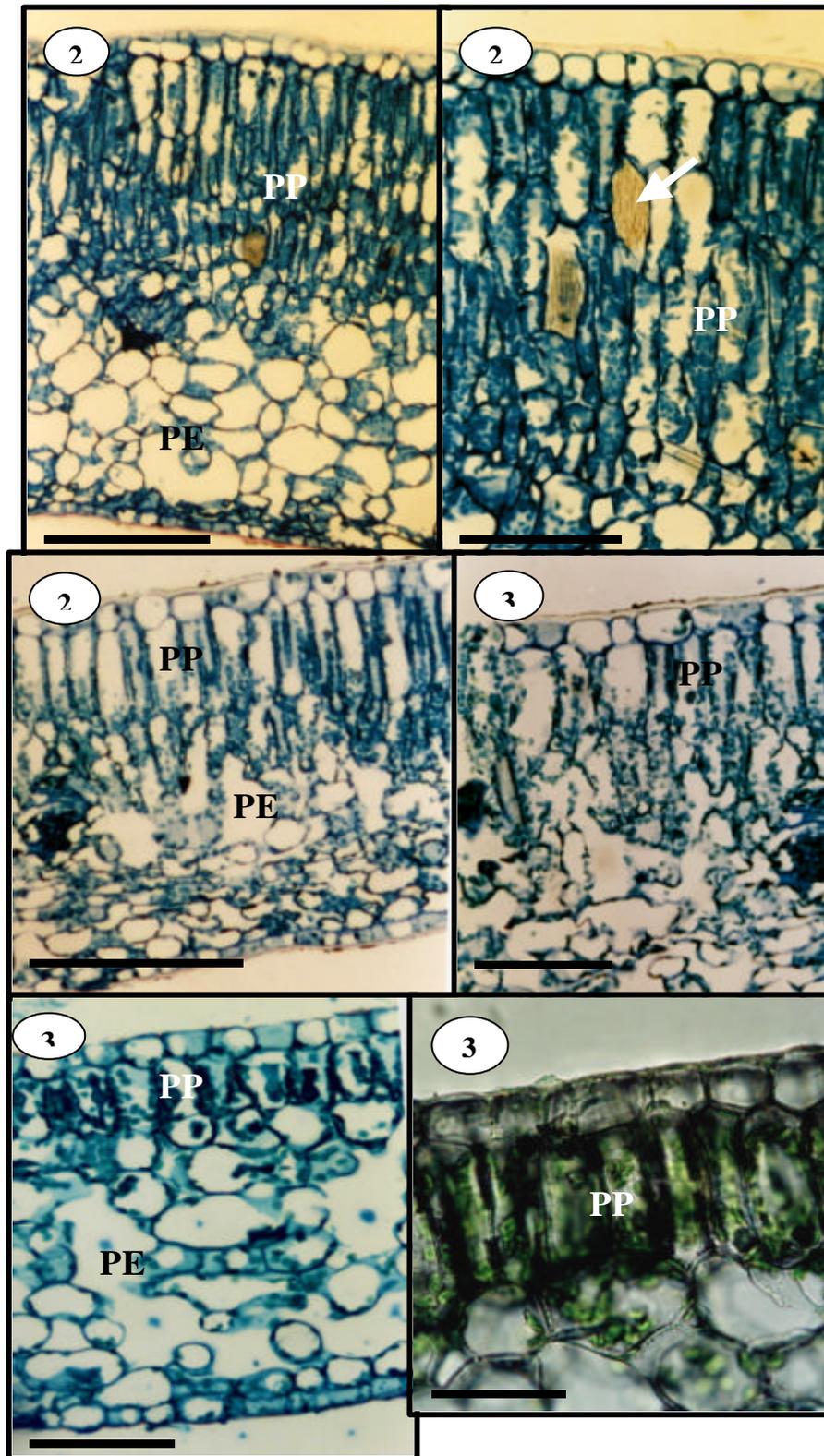
dispersão da luz pode ser uma estratégia adaptativa de *G. opposita*, em habitats sombreados com limitação de luz, como na floresta.

Com relação à sazonalidade, nas folhas de indivíduos da Floresta Ombrófila Densa, as diferenças nas espessuras do parênquima esponjoso, observadas nos dois períodos considerados, podem estar relacionadas à variação na intensidade luminosa. No período de outono-inverno, o fotoperíodo e a intensidade de luz são menores em relação ao período primavera-verão, fato que ocorre nos dois ecossistemas. Entretanto, como discutido anteriormente para área foliar (item 2), provavelmente as diferenças na luminosidade foram suficientes para afetar a espessura do parênquima esponjoso na floresta, enquanto na restinga, mesmo no inverno esta intensidade ainda é alta, levando a manutenção de menor espessura.

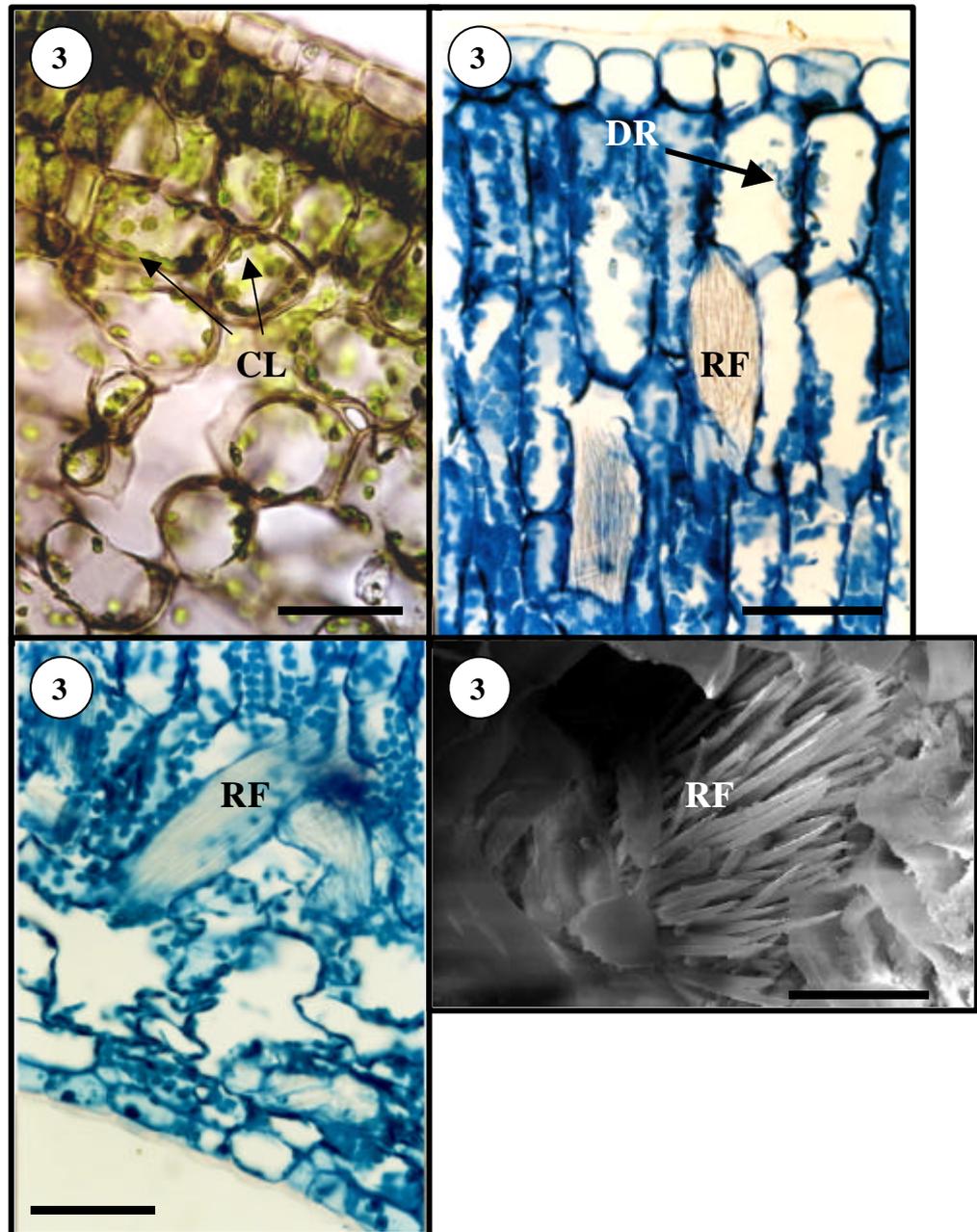
Tabela 6. Espessura da lâmina foliar (LF), mesofilo (MS), parênquima paliádico (PP), parênquima esponjoso (PE), em μm , em folhas de *Guapira opposita* (Vell.) Reitz da restinga (R) e da Floresta Ombrófila Densa (F), no outono-inverno e primavera-verão.

	LF	MS	PP	PE
OUTONO-INVERNO				
R-sol	696±44 c	634±42 c	275±26 c	359±24 c
R-sombra	419±28 b	354±17 b	153±16 b	218±16 a
F-sombra	377±14 a	320±13 a	65±6 a	255±14 b
PRIMAVERA-VERÃO				
R-sol	700±30 c	642±31 c	284±23 c	352±23 c
R-sombra	421±34 b	348±21 b	154±14 b	216±18 a
F-sombra	362±23 a	307±19 a	67±8 a	228±19 a

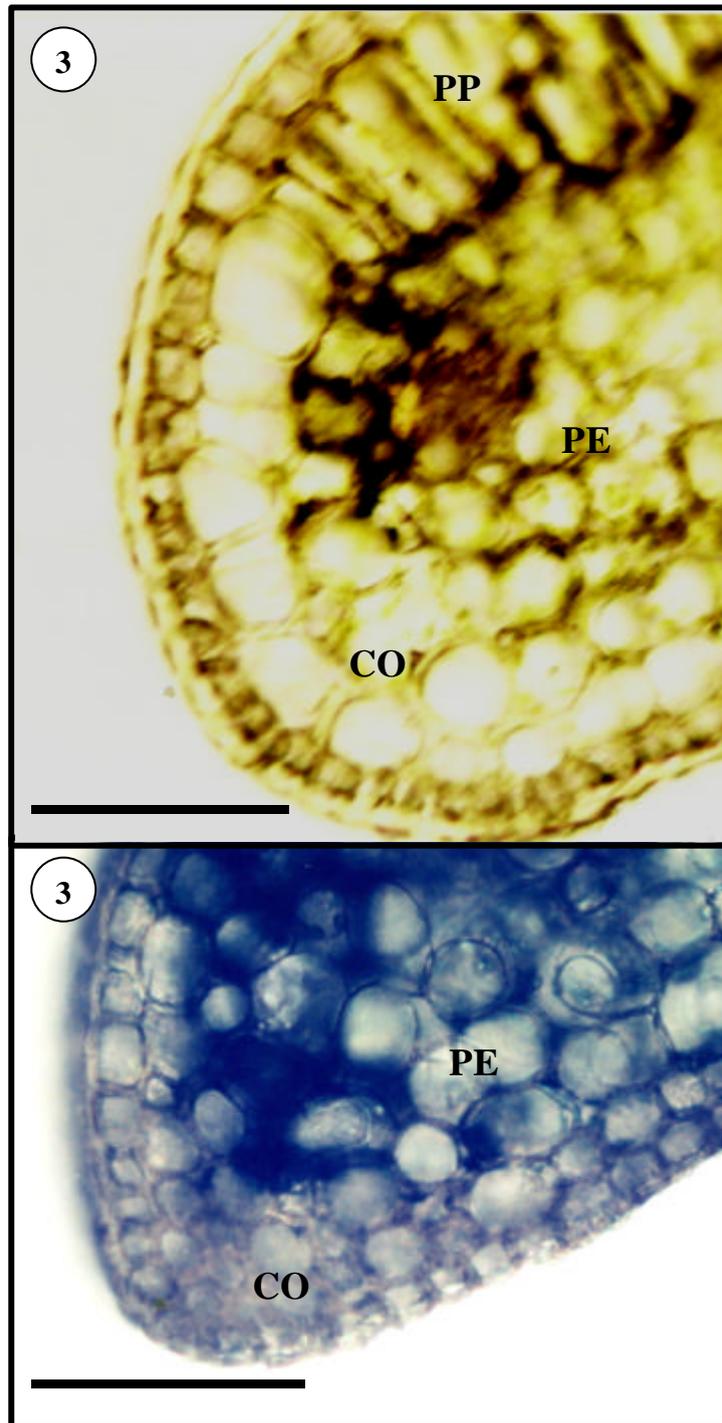
Nota: n=30 para cada parâmetro. Letras diferentes comparadas na vertical indicam diferenças estatisticamente significativas pelo teste de Tukey (ao nível de 5% de significância).



Figuras 27-32. Secções transversais de lâminas foliares de *Guapira opposita* (Vell.) Reitz. **27-28.** Folhas de sol da restinga: 27. Epiderme e mesofilo (Barra= 200 μ m); 28. Detalhe do parênquima paliçádico (Barra= 50 μ m). **29-30.** Folha de sombra da restinga: 29. Epiderme e mesofilo (Barra= 200 μ m); 30. Detalhe do parênquima paliçádico (Barra= 50 μ m). **31-32.** Folha de sombra da Floresta Ombrófila Densa: 31. Epiderme e mesofilo (Barra= 200 μ m); 32. Detalhe do parênquima paliçádico (Barra= 50 μ m). Legenda: PP= parênquima paliçádico; PE= Parênquima esponjoso. Seta indica ráfide.



Figuras 33-36. Detalhes do mesofilo de folhas de *Guapira opposita* (Vell.) Reitz. **33.** Folha de sombra da Floresta Ombrófila Densa evidenciando a localização dos cloroplastos (seta) nas células do mesofilo (Barra= 50 μ m). **34.** Folha de sol da restinga com ráfides, nos idioblastos, e drusa (Barra= 50 μ m). **35.** Folha de sombra da Floresta Ombrófila Densa, destacando as ráfides (Barra= 50 μ m). **36.** Ráfides em folha de sombra da Floresta Ombrófila Densa, visto em microscópio eletrônico de varredura (Barra= 20 μ m).



Figuras 37-38. Secções transversais do bordo foliar de *Guapira opposita* (Vell.) Reitz. **37.** Folha de sol da restinga. **38.** Folha de sombra da Floresta Ombrófila Densa. Barras = 100 μ m. Legenda: CO = colênquima; PP = parênquima paliçádico; PE = parênquima esponjoso.

3.4. TEOR DE CLOROFILA

As concentrações de clorofilas *a*, *b* e total nas folhas de *Guapira opposita* (Vell.) Reitz, nos indivíduos de restinga e Floresta Ombrófila Densa, mostram variações (Tab. 7).

As concentrações de clorofilas *a*, *b* e total são maiores em folhas de sombra de indivíduos da Floresta Ombrófila Densa e menores em folhas de sol da restinga. As concentrações de clorofilas nas folhas de sombra da restinga mostram ou valores intermediários às demais condições, ou similares, ora com as folhas de sombra da floresta, ora com as de sol da restinga. Tais variações, nas concentrações de clorofilas, parecem evidenciar a oscilação de luminosidade (12-15 % da luz total) que atinge as folhas de sombra da restinga, através das manchas de luz, a qual é proporcionada pela ação dos ventos movimentando a copa. Por conseguinte, em *G. opposita*, as concentrações de clorofilas *a*, *b* e total mostram um gradiente com relação à luminosidade, ou seja, quanto menor é a luminosidade maiores são as concentrações de clorofilas.

A luz é um importante recurso para organismos fotoautotróficos na sua sobrevivência, desenvolvimento e distribuição (Chazdon *et al.*, 1996; Whitmore, 1996). Nos diferentes habitats, a densidade do fluxo de fótons fotossintéticos varia temporal (sazonal e diurnamente) e espacialmente, provocando nas plantas o desenvolvimento de mecanismos de plasticidade para o estabelecimento em locais sob diferentes regimes de luminosidade (Zhang *et al.*, 2003). A fotossíntese em folhas sob baixa intensidade luminosa requer maximização na absorção de luz e tomada de gás carbônico, enquanto minimiza a perda de carbono por respiração (Zhang, *op cit.*).

Segundo Paulilo (2000), em ambientes com menor luminosidade, há modificações na folha para aumentar a captação de luz e, por conseqüência, leva a um aumento no teor de clorofila e diminuição na razão Cl_a/b . Nas folhas de *G. opposita*, as maiores concentrações de clorofilas, em ambientes mais sombreados, como o de floresta e de sombra de restinga, podem funcionar como um importante mecanismo fisiológico adaptativo que permite maior captação da baixa intensidade luminosa. Nesse sentido, segundo Barber & Anderson (1992), altas intensidades de luz podem levar a um decréscimo na eficiência fotossintética, fenômeno conhecido como fotoinibição, sendo o principal alvo deste processo a proteína D1, presente no centro de reação do fotossistema II. A fotoinibição leva a perdas na produtividade agrícola e em ecossistemas naturais (Ögren, 1994). A diminuição da antena coletora de luz pode ser um mecanismo para reduzir o aporte de energia para os fotossistemas, ao contrário do que ocorre em baixas

intensidades luminosas (Kirk, 1994). Portanto, em *G. opposita*, a menor concentração de clorofilas, em folhas de sol, talvez atue como um mecanismo redutor da fotoinibição.

Folhas de sombra são relativamente enriquecidas em clorofila *b* e possuem a relação clorofila *a/b* reduzida (Chow *et al.*, 1991; Chazdon, 1992). A redução da relação clorofila *a/b* tem sido interpretada como uma adaptação cromática auxiliando o balanço de absorção de luz entre os fotossistemas I e II (Björkman, 1981; Anderson, 1986). A diminuição na quantidade de luz incidente nas folhas resulta na diminuição da proporção de clorofila *a* em relação à clorofila *b*, devido ao aumento das antenas coletoras de luz do fotossistema II, as quais são ricas em clorofila *b* (Anderson, 1986; Chow & Anderson, 1987; Givnish, 1988; Paulilo, 2000). Observando os resultados obtidos para a razão entre clorofila *a/b* percebe-se que a variação de luz não foi suficiente para alterar tal razão.

Tabela 7. Teor de clorofila *a* (Cla), clorofila *b* (Clb), clorofila total (Cl total), em µg/mg, e razão *a/b*, em folhas de *Guapira opposita* (Vell.) Reitz da restinga (R) e da Floresta Ombrófila Densa (F), no outono-inverno e primavera-verão.

	Cla	Clb	Cl total	Razão a/b
OUTONO-INVERNO				
R-sol	0,7±0,04 a	0,3±0,04 a	0,9±0,03 a	2,53
R-sombra	0,7±0,04 ab	0,5±0,07 bcd	1,2±0,07 bc	1,64
F-sombra	0,9±0,07 c	0,4±0,05 b	1,3±0,06 c	2,42
PRIMAVERA-VERÃO				
R-sol	0,7±0,10 a	0,4±0,11 bc	1,1±0,20 b	1,78
R-sombra	0,8±0,05 b	0,5±0,05 cd	1,3±0,08 c	1,71
F-sombra	1,1±0,04 d	0,5±0,03 d	1,5±0,05 d	2,1

Nota: n=09 para cada parâmetro. Letras diferentes comparadas na vertical indicam diferenças estatisticamente significativas pelo teste de Tukey (ao nível de 5% de significância).

3.5 NERVURA MEDIANA

A nervura mediana em folhas de *Guapira opposita* (Vell.) Reitz é bastante semelhante histologicamente nos indivíduos dos diferentes tratamentos (Figs. 39-41).

Sob a epiderme, em ambas as faces, ocorre colênquima angular (Fig. 42 e 43).

Na face adaxial, entre o colênquima e o sistema vascular, há continuidade do clorênquima presente no mesofilo. Porém, esta é a única distinção estrutural observada dependendo da procedência. Este clorênquima apresenta-se tipicamente em paliçada, com células mais alongadas e justapostas, nas folhas de sol da restinga (Fig. 39); mostra-se com células menos alongadas e menos justapostas, em folhas de sombra da restinga (Fig. 40); e com uma camada de células curtas justapostas e outras mais internas que lembram o parênquima esponjoso, nas folhas de sombra da floresta (Figs. 42 e 43). Na face abaxial, sob o colênquima ocorre um parênquima (Fig. 43), aclorofilado, tecido este que também preenche os espaços entre os feixes vasculares (Figs. 39-41).

O sistema vascular é formado por feixes vasculares colaterais (Fig. 44), os quais assumem forma espiralada (Figs. 39-41), devido ao deslocamento de um feixe em direção ao centro. Não foram observadas diferenças estruturais entre folhas procedentes das distintas condições ambientais consideradas.

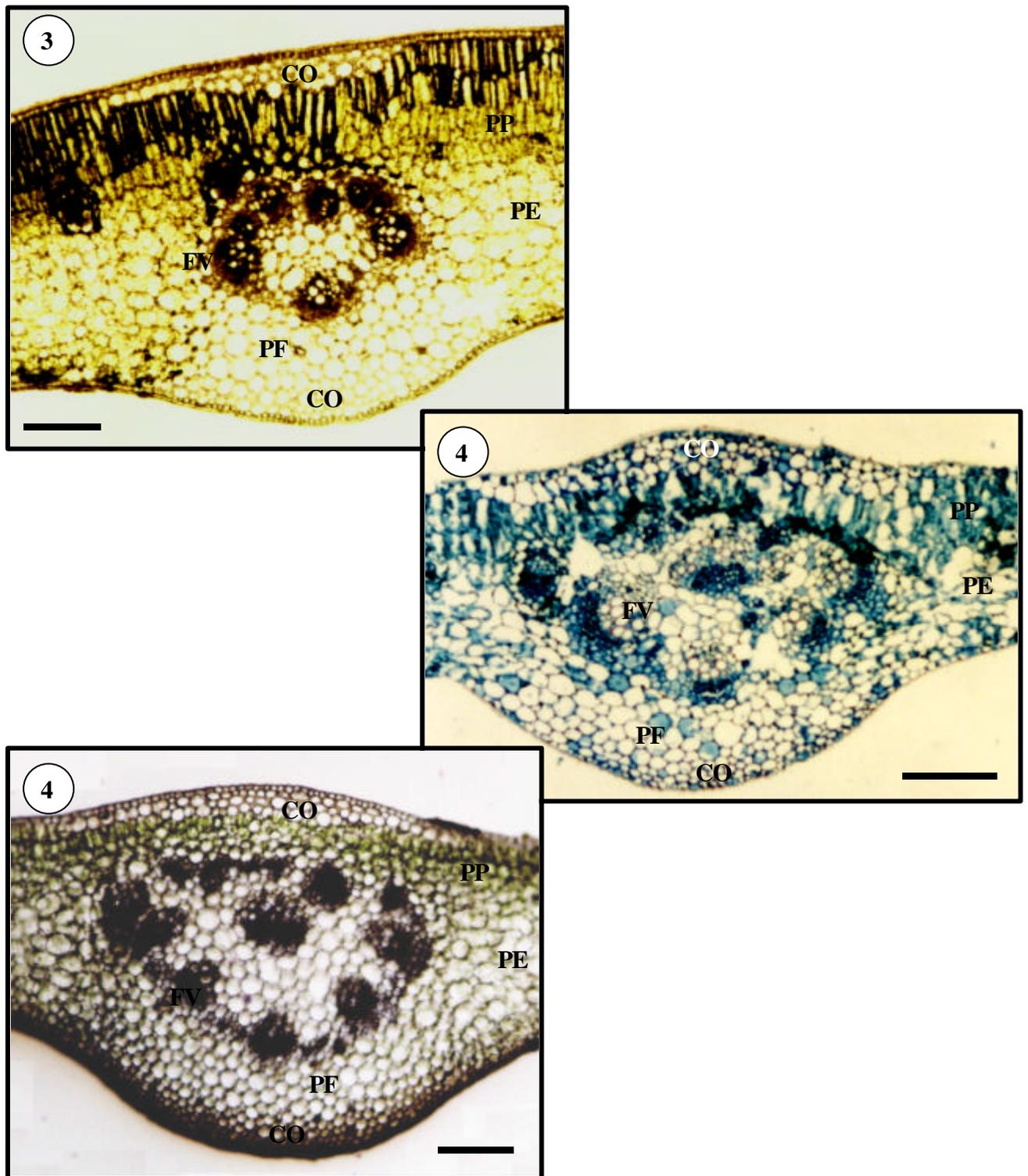
4. PECÍOLO

O pecíolo em folhas de *Guapira opposita* (Vell.) Reitz é bastante semelhante histologicamente nos indivíduos dos diferentes tratamentos (Figs. 45-47).

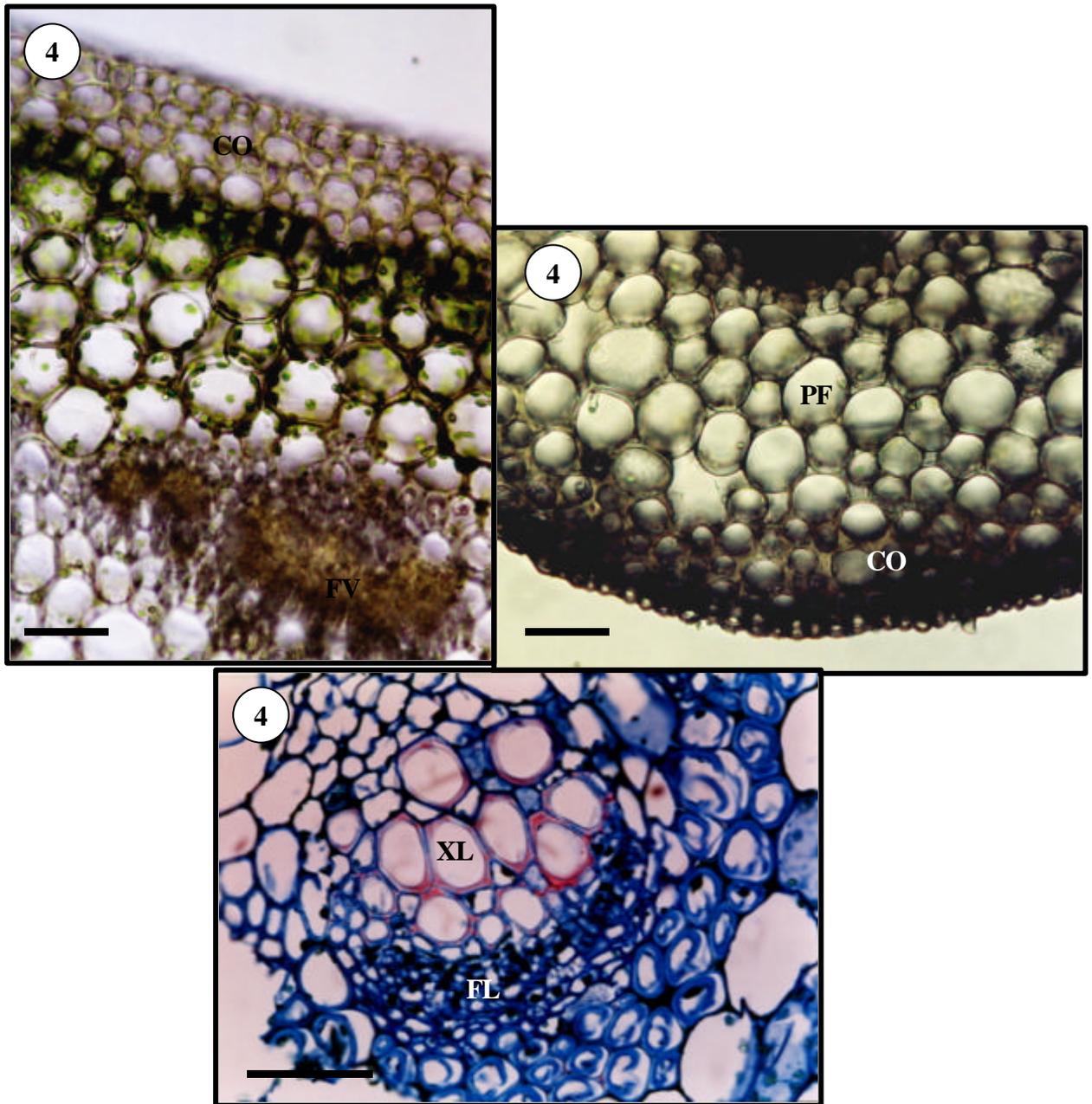
O revestimento externo é formado por camada epidérmica unisseriada, com cutícula espessa. Em algumas regiões observa-se a formação de periderme (Fig. 45).

Sob a epiderme, desenvolvem-se algumas camadas celulares de colênquima angular (Fig. 48). Nas células de colênquima observam-se cloroplastos. Sob o colênquima desenvolve-se parênquima, clorofilado, preenchendo a maior parte do pecíolo. Entre os feixes vasculares, ocorre parênquima fundamental, aclorofilado.

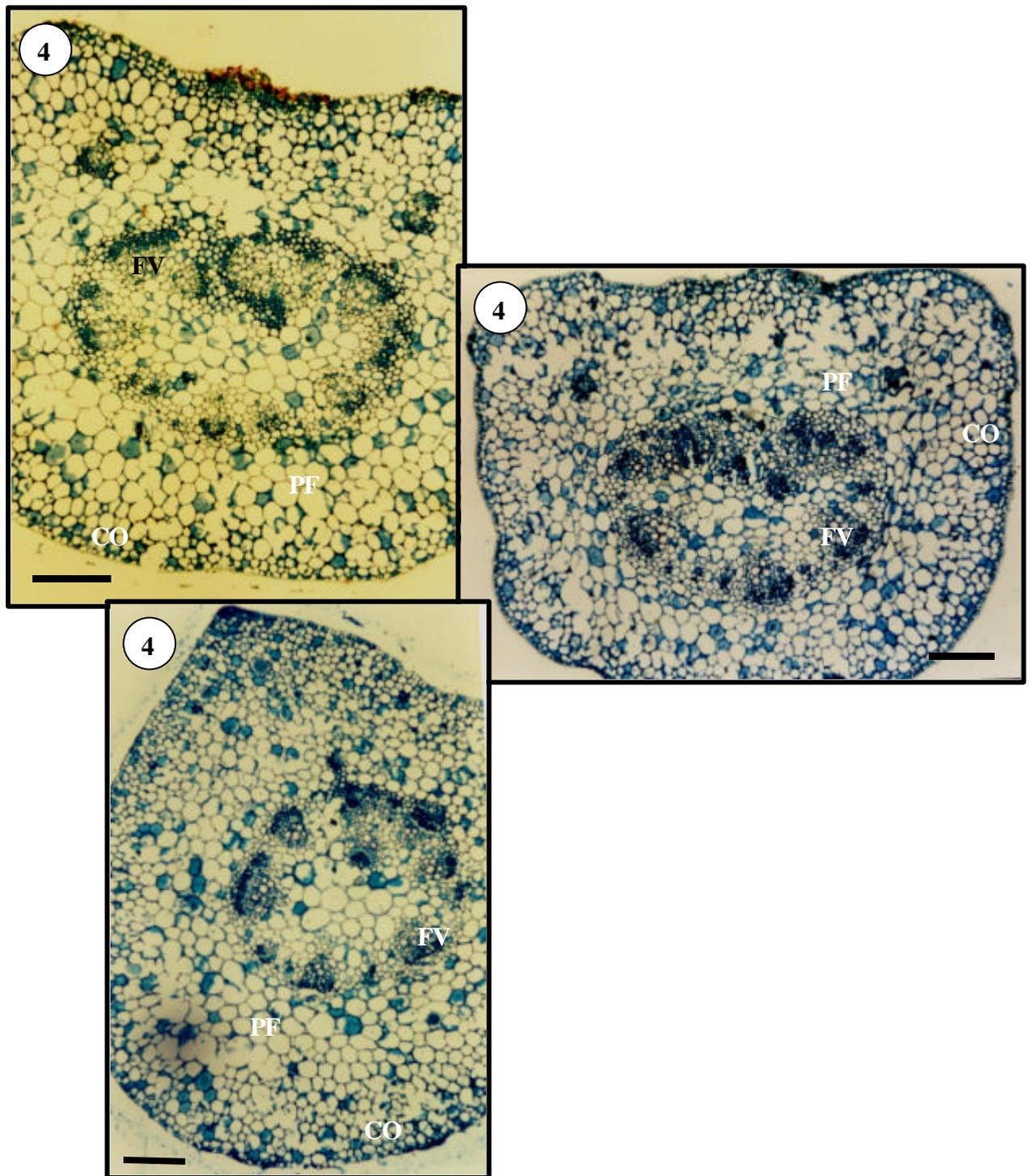
O sistema vascular é formado por feixes vasculares colaterais (Fig. 49), os quais assumem forma espiralada, quando vistos em secção transversal (Figs. 45-47), devido ao deslocamento de um feixe em direção ao centro. Não foram observadas diferenças estruturais entre folhas procedentes das distintas condições ambientais consideradas.



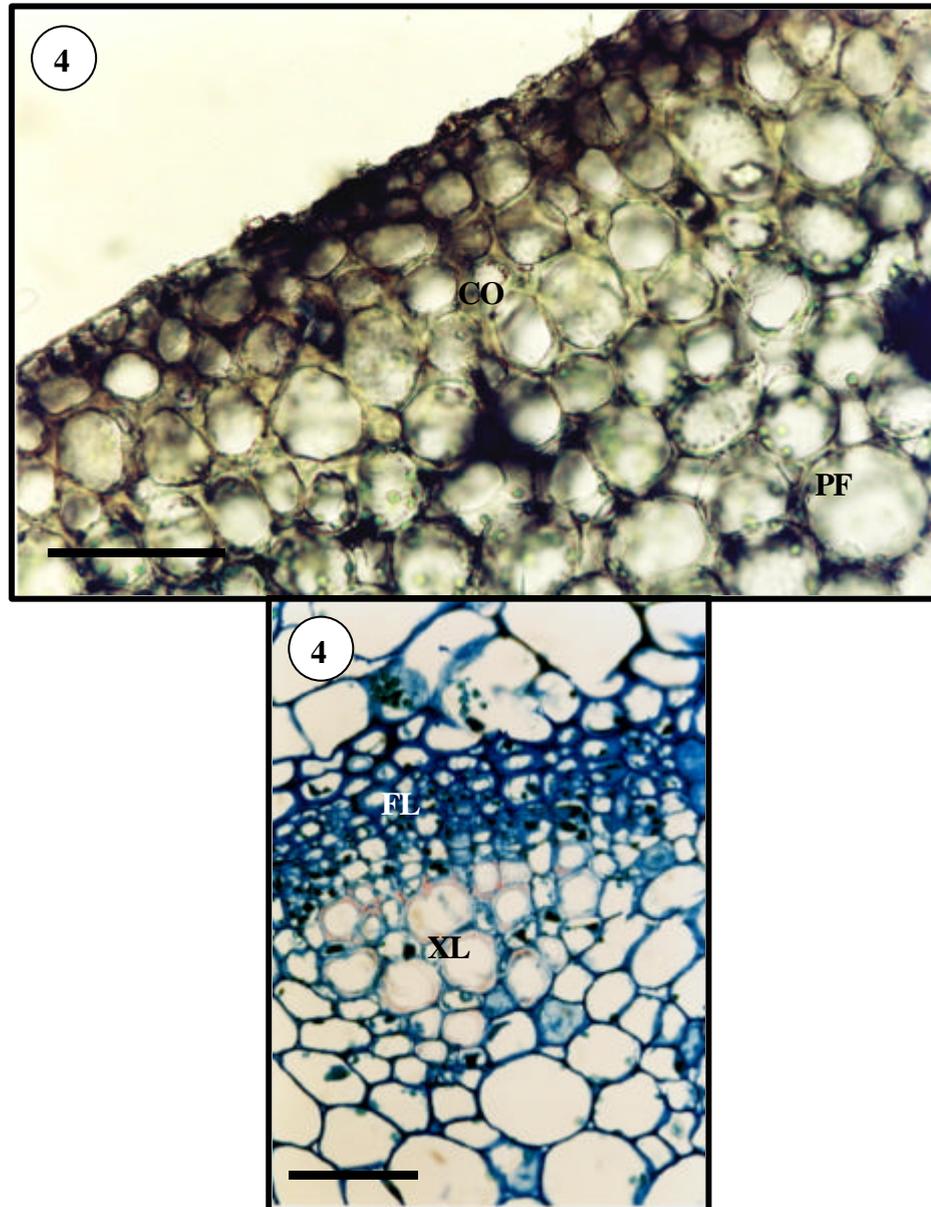
Figuras 39-41. Secções transversais de nervura mediana de folhas de *Guapira opposita* (Vell.) Reitz. **39.** Folhas de sol da restinga. **40.** Folhas de sombra da restinga. **41.** Folhas de sombra da Floresta Ombrófila Densa. Barras = 200 μ m. Legenda: CO = colênquima; FV = feixe vascular; PP = parênquima paliádico; PE = parênquima esponjoso; PF = parênquima aclorofilado.



Figuras 42-44. Detalhes de nervura mediana de folhas de *Guapira opposita* (Vell.) Reitz. **42.** Região adaxial com colênquima em folha de sombra da Floresta Ombrófila Densa. **43.** Região abaxial com colênquima em folha de sombra da Floresta Ombrófila Densa. **44.** Feixe vascular colateral. Barras = 50 μ m. Legenda: CO = colênquima; PF = parênquima aclorofilado; FV = feixe vascular; XL = xilema; FL = floema.



Figuras 45-47. Secções transversais de pecíolo de folhas de *Guapira opposita* (Vell.) Reitz. **45.** Folha de sol da restinga. **46.** Folha de sombra da restinga. **47.** Folha de sombra da Floresta Ombrófila Densa. Barras = 200 μ m. Legenda: CO = colênquima; FV = feixe vascular; PF = parênquima aclorofilado.



Figuras 48-49. Detalhes do pecíolo de folhas de *Guapira opposita* (Vell.) Reitz. **48.** Região cortical com colênquima e parênquima fundamental clorofilados (Barra = 100 μ m). **49.** Feixe vascular colateral (Barra = 50 μ m). Legenda: CO = colênquima, PF = parênquima clorofilado; FL = floema; XL = xilema.

5. CONSIDERAÇÕES GERAIS

As características estruturais relacionadas com processos fisiológicos, em folhas de *Guapira opposita* (Vell.) Reitz, mostrou a existência de diferenças em suas expressões. As espécies que vivem num ecossistema são aquelas que passaram pelos filtros e conseguiram sobreviver durante os eventos evolutivos. Nesse sentido, as adaptações surgidas possuem um papel seletivo, assegurando à planta condições adequadas de funcionamento. As adaptações que as folhas de *G. opposita* possuem indicam a plasticidade desta espécie, possibilitando sua sobrevivência em dois ecossistemas com dinâmicas distintas, Floresta Ombrófila Densa e restinga. O conjunto das características estruturais adaptadas às condições ambientais estudadas possibilitam a harmonia dos mecanismos funcionais. Nesse equilíbrio estão envolvidas as adaptações à coleta de luz, maximizando o processo fotossintético, ao mesmo tempo que protegem contra o excesso de luminosidade, e adaptações ao calor e ao estresse hídrico. Portanto, devemos considerar a integração e a complexidade dos sistemas biológicos no estabelecimento da espécie em um ecossistema.

CONCLUSÕES

Algumas características respondem claramente ao fator luminosidade, revelando um gradiente, sendo direta ou inversamente proporcional ao aumento de luz. Outras características, entretanto, revelaram a modulação de diversas condições ambientais, em cada ecossistema, atuando conjuntamente ao fator luminosidade na expressão dessas características.

A análise da morfologia externa da lâmina foliar de *Guapira opposita* (Vell.) Reitz mostra que a forma da lâmina obovada nas folhas de restinga poderia ser reflexo da redução das lâminas foliares nas plantas da restinga em relação as da floresta.

Em *G. opposita*, as maiores áreas foliares aumentam a superfície receptora de luz, proporcionando uma adaptação à maior captação da luz solar, em locais sombreados, como na floresta. Além do fator luminosidade, outros fatores abióticos, como ventos, altas temperaturas e salinidade, devem influenciar no menor desenvolvimento da lâmina foliar em indivíduos da restinga.

O posicionamento dos estômatos na face abaxial deve reduzir as taxas de transpiração, possibilitando a sobrevivência em habitats sob condições adversas, como a restinga.

A densidade estomática mostra um gradiente em relação à luminosidade, sendo a densidade proporcional ao aumento da luminosidade.

A distância estomática não apresenta variação entre os diferentes tratamentos, através da metodologia usada. Novos estudos, modificando a metodologia proposta nesse trabalho, poderão evidenciar as diferenças esperadas.

As dimensões de célula-guarda e poro estomático são maiores em folhas da restinga e menores em folhas da floresta. As diferenças observadas devem estar relacionadas à luminosidade associada a outros fatores abióticos, evidenciando a complexidade de cada ecossistema.

A espessura das células epidérmicas mostra um gradiente com relação à luminosidade, sendo que folhas expostas a maior luminosidade desenvolvem mais a espessura, em ambas as faces. Em *G. opposita*, o maior espessamento das células epidérmicas, em ambas as faces, nas folhas de sol da restinga deve estar relacionado à proteção contra o excesso de luminosidade.

Um gradiente na espessura da membrana cuticular, diretamente proporcional a incidência luminosa, é evidenciado na face adaxial, superfície exposta à luz incidente. O maior desenvolvimento da membrana cuticular, em folhas de indivíduos de *G. opposita* da restinga, deve atuar como uma estratégia adaptativa, evitando os prejuízos do excesso de radiação e da perda excessiva de água.

A espessura da lâmina foliar e do parênquima paliçádico são proporcionais ao aumento da intensidade luminosa, enquanto que o parênquima esponjoso tem relação inversa. O maior desenvolvimento do parênquima paliçádico possibilita maior atividade fotossintética. Por outro lado, o maior desenvolvimento do parênquima esponjoso possibilita um aumento da absorção de luz, devido à maior dispersão, podendo ser uma estratégia adaptativa de *G. opposita*, em habitats sombreados, com limitação de luz, como na floresta.

As concentrações de clorofilas *a*, *b* e total, em *G. opposita*, mostram um gradiente com relação à luminosidade, ou seja, quanto menor é a luminosidade maiores são as concentrações. As maiores concentrações de clorofilas, em ambientes mais sombreados, como o de floresta e de sombra de restinga, podem funcionar como um importante mecanismo fisiológico adaptativo que permite maior captação da baixa intensidade luminosa.

A ocorrência de *G. opposita*, em diferentes ecossistemas, como na Floresta Ombrófila Densa e na restinga, indica que a espécie apresenta plasticidade de caracteres morfológicos e fisiológicos, no sentido de que os filtros seletivos não restringiram seu estabelecimento e sobrevivência nos processos evolutivos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abrams, M. C.; Kloeppel, B.D. & Kubiske, M.E. 1992. Ecophysiological and morphological responses to shade and drought in two contrasting ecotypes of *Prunus serotina*. **Tree Physiology**, **10**: 343-355.
- Allard, G.; Nelson, C.J. & Pallardy, S.G. 1991. Shade effects on growth of tall fescue: I. leaf anatomy and dry matter partitioning. **Crop Science**, **31**: 163-167.
- Anderson, I.M. 1986. Photoregulation of the composition, function and structure of the thylacoid membranes. **Annual Review of Plant Physiology**, **37**: 93-136.
- Aranda, I.; Bergasa, L.F.; Gil, L. & Pardos, J.A. 2001. Effects of relative irradiance on the leaf structure of *Fagus sylvatica* L. seedlings planted in the understory of a *Pinus sylvestris* L. stand after thinning. **Annals Forestry Sciences**, **58**: 673-680.
- Aron, D. J. 1949. Copper enzymes in isolated chloroplasts polyphenoloxidases in *Beta vulgaris*. **Plant Physiology**, **24**: 1-15.
- Ashton, P. M. S. & Berlyn, G.P. 1994. A comparison of leaf physiology and anatomy of *Quercus* (section Erythrobalanus- Fagaceae) species in different light environments. **American Journal of Botany**, **81**: 589-597.
- Atlas de Santa Catarina**. 1986. Governo do Estado de Santa Catarina. Gabinete de Planejamento e Coordenação Geral. Rio de Janeiro: Aerofoto Cruzeiro. 173p.
- Barber, J.; Anderson, B. 1992. Too much of a good thing: light can be bad for photosynthesis. **Trends in Biochemical Sciences**, **17**: 61-66.
- Bissing, D.R. 1974. Haupt's Gelatin Adhesive Mixed with Formalin for Affixing Paraffin Sections to Slides. **Stain Technology**, **49**: 116-7.
- Björkman, O. 1981. Responses to different quantum densities. In: Lange, O.L.; Nobel, P.S.; Osmond, C.B.; Ziegler, H. (Eds.), Encyclopedia of Plant Physiology. New series. **Physiological Plant Ecology I, vol. 12 A**. New York, Springer. pp. 57-108.
- Boardman N.K. 1977. Comparative photosynthesis of sun and shade plants. **Annual Review of Plant Physiology**, **28**: 355-377.
- Bongers, F.; Popma, J. 1988. **Is exposure-related variation in leaf characteristics of tropical rain forest species adaptive ?** In: Werger, M.J.A.; Aart, P.J.M.; During, H.J.; Verhoeven, J.T.A. Plant form and vegetation structure. Netherlands, SPB Academic publishing. pp. 191-200.
- Bozzola, J.J. & Russel, L.D. 1991. **Electron Microscopy**. Principles and Techniques for Biologists. Boston, Jones and Barlett Publishers. 542p.
- Bresolin, A. 1979. Flora da Restinga da Ilha de Santa Catarina. **Insula**, **10**: 1-54.
- Bussad, W.O. & Morettin, P.A. 1995. **Estatística Básica**. Métodos Quantitativos. 4^o Ed. São Paulo, Atual Editora. 321p.
- Campostrini, E.; Yamanishi, O.K. e Martinez, C.A. 2001. Leaf gas exchange characteristics of four papaya genotypes during different stages of development. **Revista Brasileira de Fruticultura**, **23**: 522-525.

- Cao, K.F. 2000. Leaf anatomy and chlorophyll content of 12 woody species in contrasting light conditions in a Bornean heath forest. **Canadian Journal of Botany**, **78**: 1245-1253.
- CECCA- Centro de Estudos, Cultura e Cidadania 1997. **Unidades de Conservação e Áreas Protegidas da Ilha de Santa Catarina**. Florianópolis, Editora Insular. 160p.
- Chazdon, R.L. 1992. Photosynthetic plasticity of two rainforest shrubs across natural gap transects. **Oecologia**, **92**: 586-595.
- Chazdon, R.L.; Pearcy, R.W.; Lee, D.W.; Fetcher, N. 1996. Photosynthetic responses of tropical forest plants to contrasting light environments. In: Mulkey, S.S.; Chazdon, R.L.; Smith, A.P. (Eds.). **Tropical Forest Plant Ecophysiology**. New York, Chapman and Hall. pp. 5-55.
- Chow, W.S. & Anderson, J.M. 1987. Photosynthetic responses of *Pisum sativum* to an increase in irradiance during growth I. Photosynthetic activities. **Australian Journal of Plant Physiology**, **14**: 1-18.
- Chow, W.S.; Adamson, H.Y.; Anderson, J.M. 1991. Photosynthetic acclimation of *Tradescantia albiflora* to growth irradiance: lack of adjustment of light-harvesting components and its consequences. **Physiologia Plantarum**, **81**: 175-182.
- Colinvaux, P. 1993. **Ecology 2**. USA, John Wiley & Sons, Inc. 642p.
- Costa, A. F. 1982. **Farmacognosia**. Vol.III. Farmacognosia Experimental. 2ªEd. Lisboa, Fundação Calouste Gulbenkian. 1032 p.
- Cutter, E.G. 1978. **Plant Anatomy**. Part 1: Cells and tissues. 2ªEd. London, William Clowes & Sons, Limited. 315 p.
- DeLucia, E.H.; Nelson, K.; Vogelmann, T.C.; Smith, W.K. 1996. Contribution of intercellular reflectance to photosynthesis in shade leaves. **Plant, Cell and Environment**, **19**: 159-170.
- Demmig-Adams, B. & Adams, W.W. 1996. The role of xanthophyll cycle carotenoids in the protection of photosynthesis. **Trends in Plant Science**, **1**: 21-26.
- Dickison, W.C. 2000. **Integrative Plant Anatomy**. USA, Academic Press. 533p.
- Duz, S. R. 2001. **Respostas de Crescimento de três espécies arbóreas da Floresta Atlântica à variação na quantidade de luz**. Dissertação de Mestrado em Biologia Vegetal, Florianópolis, UFSC, 76p.
- Esau, K. 1974. **Anatomia das Plantas com Sementes**. São Paulo, Ed. Edgard Blücher Ltda. 293p.
- Fahn, A. 1978, **Anatomia Vegetal**. Madrid, H. Blume Ediciones. 643p.
- Falkenberg, D. B. 1999. Aspectos da Flora e da vegetação secundária da restinga de Santa Catarina, sul do Brasil. **Insula**, **28**: 1-30.
- Fermino-Jr., P.C.P. 2002. **Densidade estomática e outras características morfológicas em quatro espécies arbóreas de diferentes estádios sucessionais da Floresta Atlântica**. Trabalho de conclusão de curso de graduação em Ciências Biológicas, Florianópolis, UFSC, 44p.
- Ferris, R. & Taylor, G. 1994. Stomatal Characteristics of four Native Herbs Following Exposure to Elevated CO₂. **Annals of Botany**, **73**: 447-453.

- Givnish, T.J. 1988. Adaptation to sun and shade: a whole perspective. **Australian Journal of Plant Physiology**, **15**: 63-92.
- Gutschick, V.P. 1999. Biotic and abiotic consequences of differences in leaf structure. **New Phytologist**, **143**: 3-18.
- Hallam, N.D. 1981. Fine structure of the leaf cuticle and the origin of leaf waxes. In: Cutler, D.F.; Alvin, K.L. & Price, C.E. (eds.) 1981. **The Plant Cuticle**. London, Academic Press, Linnean Society Symposium Series. N° 10. pp. 197-214.
- Hickey, L.J. 1979. A revised classification of the architecture of Dicotyledonous leaves. In: C.r. Metcalfe & L. Chalk, (Eds.). 1979. **Anatomy of the Dicotyledons**. 2ª ed., vol.1, Oxford, Clarendon Press.
- Hiscox, J. D. & Israesltan, G.F. 1979. A method for extratction of chlorophyll from leaf without maceration. **Canadian Journal of Botany**, **57**: 1332-1334.
- Holloway, P.J. 1981. Structure and histochemistry of plant cuticular membranes: an overview. In: Cutler, D.F.; Alvin, K.L. & Price, C.E. (eds.) 1981. **The Plant Cuticle**. London, Academic Press, Linnean Society Symposium Series. N° 10. pp. 1-32.
- Holroyd, G.H.; Hetherington, A.M. & Gray, J.E. 2002. A role for the cuticular waxes in the environmental control of stomatal development. **New Phytologist**, **153**: 433-439.
- Horn Filho, N.O.; Leal, P.C. & Oliveira, J.S. 2000. Problemas de degradação nos ecossistemas costeiros da Ilha de Santa Catarina, Florianópolis, SC. Publicação ACIESP 109 (1). **Anais do V Simpósio de Ecossistemas brasileiros: Conservação**. Universidade Federal do Espírito Santo. Vitória. pp.124-131.
- Johansen, D.A. 1940. **Plant microtechnique**. New York, McGraw Hill Book Company, Inc. 523p.
- Jones, H.G. 1998. Stomatal control of photosynthesis and transpiration. **Journal of Experimental Botany**, **49**: 387-398.
- Kamaludin, M. & Grace, J. 1992. Photoinhibition and light acclimation in seedlings of *Bischofia javanica*, a tropical forest tree from Asia. **Annals of Botany**, **69**: 47-52.
- Kirk, J.T.O. 1994. **Light and photosynthesis in aquatic ecosystems**. 2ª ed. Cambridge, Cambridge university Press. 509 p.
- Kitajima, K. 1996. **Ecophysiology of tropical tree seedlings**. In: Mulkey, S.S.; Chazdon, R.L.; Smith, A.P. Tropical forest plant ecophysiology. New York, Chapman & Hall, pp. 559-595.
- Kitajima, K.; Hogan, K.P. 2003. Increases of chlorophyll a/b ratios during acclimation of tropical woody seedlings to nitrogen limitation and high light. **Plant, Cell and Environment**, **26**: 857-865.
- Klein, R.M. 1969. Centro de Pesquisas e Estudos Botânicos. **Insula**, **1**: 1-19.
- Klein, R.M. 1980. Ecologia da Flora e Vegetação do Vale do Itajaí. **Sellowia**, **32**: 165-389.
- Kraus, J.E. & Arduin, M. 1997. **Manual Básico de Métodos em Morfologia Vegetal**. Seropédia, RJ, Editora Universidade Rural. 194p.
- Lambers, H.; Chapin III, F.S. & Pons, T.L. 1998. **Plant Physiological Ecology**. Springers-Verlag New York. 540p.
- Larcher, W. 2000. **Ecofisiologia Vegetal**. São Carlos, Rima Artes e Textos. 531p.

- Lee, D.W.; Oberbauer, S.F.; Krishnapilay, B.; Mansor, M.; Mohamad, H. & Yap, S.K. 1997. Effects of irradiance and spectral quality on seedling development of two Southeast Asian *Hopea* species. **Oecologia**, **110**: 1-9.
- Lee, D.W.; Baskaran, K.; Mansor, M.; Mohamad, H.; Yap, S.K. 1996. Irradiance and spectral quality affect Asian tropical rain forest tree seedling development. **Ecology**, **77**: 568-580.
- Lillie, R.D. 1965. **Histopathologic Technic and Practical Histochemistry**. New York, McGraw-Hill. 715p.
- Malone, S.R.; Mayeux, H.S.; Johnson, H.B. & Polley, H.W. 1993. Stomatal density and aperture length in four plant species grown across a subambient CO₂ gradient. **American Journal of Botany**, **80**: 1413-1418.
- Mauseth, J.D. 1988. **Plant Anatomy**. USA, The Benjamin/Cummings Publishing Company, Inc. 560p.
- Metcalf, C.R. & Chalk, L. 1957. **Anatomy of the Dicotyledons**. Vol. II. Oxford, University Press. pp. 725-1500.
- Mott, K.A. 1988. Do stomata respond to CO₂ concentrations other than intercellular ? **Plant Physiology**, **86**: 200-203.
- Muchow, R.C. & Sinclair, T.R. 1989. Epidermal conductance, stomatal density and stomatal size among genotypes of *Sorghum-bicolor* (L.) Moench. **Plant, Cell and Environment**, **12**: 425-431.
- Murtaza, M.G. & Paul, N.K. 1989. Effect of nitrogen nutrition on the stomatal and anatomical characteristics of leaf of rape (*Brasica campestris* L.). **Bangladesh Journal of Botany**, **18**: 39-44.
- Napp-Zinn, K. 1984. **Handbuch der Pflanzenanatomie. VIII Anatomie des Blattes, 2.** Blattanatomie der Angiospermen, B. Experimentelle und ökologische Anatomie des Angiospermenblattes. Germany, Gbdr. Borntraeger. 520p.
- Nishio J.N.; Sun, J.; Vogelmann, T.C. 1993. Carbon fixation gradients across spinach leaves do not follow internal light gradients. **The Plant Cell**, **5**: 953-961.
- Nultsch, W. 2000. **Botânica Geral**. 10^a Ed. Porto Alegre, Artmed editora. 489p.
- O'Brien, T.P. & McCully, M.E. 1981. **The study of plant structure: principles and selected method**. Melbourne, Termacarphi Pty. Ltd. 345p.
- Ögren, E. 1994. **The significance of photoinhibition for photosynthetic productivity**. In: Baker, N.R.; Bowyer, J.R. Photoinhibition of photosynthesis – from Molecular Mechanisms to the Field. Oxford, Bios Scientific publishers. pp. 433-447.
- Oguchi, R.; Hikosaka, K.; Hirose, T. 2003. Does the photosynthetic light-acclimation need change in leaf anatomy ? **Plant, Cell and Environment**, **26**: 505-512.
- Paoletti, E. & Gellini, R. 1993. Stomatal density variation in beech and holm oak leaves collected over the last 200 years. **Acta Oecologica**, **14**: 173-178.
- Parkhurst, D.F. 1978. Adaptive significance of stomatal occurrence on one or both surfaces of leaves. **Journal of Ecology**, **66**: 367-383.
- Parkhurst, D.F. 1994. Diffusion of CO₂ and other gases inside leaves. **New Phytologist**, **126**: 449-479.

- Paulilo, M.T.S. 2000. Ecofisiologia de plântulas e plantas jovens de *Euterpe edulis* Mart. (Arecaceae): Comportamento em relação à variação de radiação solar. **Sellowia**, **49-52**: 93-105.
- Peat, H.J. & Fitter, A.H. 1994. A comparative study of the distribution and density of stomata in the British flora. **Biological Journal of the Linnean Society**, **52**: 377-93.
- Piña-Rodrigues, F.C.M.; Costa, L.G.S. & Reis, A. 1990. Estratégias de estabelecimento de espécies arbóreas e o manejo de Florestas Tropicais. **Anais do 6º Congresso Florestal Brasileiro**, Campos do Jordão, SP, 22 a 27 de setembro de 1990, pp.676-684.
- Poorter, L. 1999. Growth responses of 15 rain-forest tree species to a light gradient: the relative importance of morphological and physiological traits. **Functional Ecology**, **13**: 396-410.
- Raven, P.H.; Evert, R.F. & Eicchorn S.E. 2000. **Biologia Vegetal**. 6ª Ed. Rio de Janeiro. Editora Guanabara-Koogan S.A. 906p.
- Reed, D.W. & Tukey, Jr. H.B. 1981. Permeability of Brussels sprouts and carnation cuticles from leaves developed in different temperatures and light intensities. In: Cutler, D.F.; Alvin, K.L. & Price, C.E. (eds.) 1981. **The Plant Cuticle**. London, Academic Press, Linnean Society Symposium Series. N° 10. pp. 267-278.
- Reitz, R. 1970. **Flora Ilustrada Catarinense**. Nictagináceas. Itajaí, Herbário Barbosa Rodrigues. 52p.
- Reis, A. 1993. **Manejo e conservação das Florestas Catarinenses**. Tese de Professor Titular do Departamento de Botânica – UFSC, Florianópolis, SC. 137p.
- Rôças, G.; Scarano, F.R. e Barros, C.F. 2001. Leaf anatomical variation in *Alchornea triplinervia* (Spreng.) Müll. Arg. (Euphorbiaceae) under distinct light and soil water regimes. **Botanical Journal of the Linnean Society**, **136**: 231-238.
- Romero-Aranda, R.; Cantó-Garay, R. & Martinez, P.F. 1994. Distribution and density of stomata in two cultivars of *Gerbera jamesonii* and its relation to leaf conductance. **Scientia Horticulturae**, **58**: 167-173.
- Rowland-Bamford, A. J.; Nordenbrock, C.; Baker, J.T.; Bowes, G. & Allen, L.H. 1990. Changes in stomatal density in rice grown under various CO₂ regimes with natural solar irradiance. **Environmental and Experimental Botany**, **2**: 175-180.
- Scarano, F.R. 2002. Structure, function and floristic relationships of plant communities in stressful habitats marginal to the Brazilian Atlantic Rainforest. **Annals of Botany**, **90**: 517-524.
- Silva, H.; Martinez, J.P.; Baginsky, C. & Pinto, M. 1999. Efecto del déficit hídrico en la anatomía foliar de seis cultivares de poroto *Phaseolus vulgaris*. **Revista Chilena de Historia Natural**, **72**: 219-235.
- Sokal, R. R. & Rohlf, F. J. 1969. **Biometry**. San Francisco, Freeman and Company, 776p.
- Solereider, H. 1908. **Systematic anatomy of the dicotyledons**. Vol.II. Oxford, Clarendon Press. pp.645-1181.
- Souza, L.A. 2003. **Morfologia e Anatomia Vegetal: célula, tecidos, órgãos e plântula**. Ponta Grossa, PR, Editora UEPG. 259p.

- Souza-Mosimann, R.M.; Roos-Oliveira, A.M. 1998. Diatomáceas (Bacillariophyceae) planctônicas do Ribeirão da Fazenda- Manguezal do Rio Tavares, Florianópolis-SC-Brasil. **Insula**, **27**: 59-98.
- Syvertsen, J.P.; Lloyd, J.; McConchie, C.; Kriedemann, P.E. & Farquhar, G.D. 1995. On the relationship between leaf anatomy and CO₂ diffusion through the mesophyll of hypostomatous leaves. **Plant, Cell and Environment**, **18**: 149-157.
- Statgraphics Statistical Graphics System**. 1993. USA, Ed. Statistical Graphics Corporation Copyright Version 7.
- Tabarelli, M.; Villani, J.P. & Mantovani, W. 1993. Aspectos da sucessão secundária em trecho da Floresta Atlântica no Parque Estadual da Serra do Mar, SP. **Revista do Instituto Florestal**, **5**: 99-112.
- Taiz, L. & Zeiger, E. 2004. **Fisiologia vegetal**. 4ª edição. Porto Alegre. Editora Artmed. 790 p.
- Terashima I. & Inoue Y. 1984. Palisade tissue chloroplasts and spongy tissue chloroplasts in spinach: biochemical and ultra-structural differences. **Plant and Cell Physiology**, **26**: 63-75.
- Tichá, I.; Radochová, B. & Kadlecek, P. 1999. Stomatal morphology during acclimatization of tobacco plantlets to *ex vitro* conditions. **Biologia Plantarum**, **42**: 469-474.
- Thompson, W. A.; Huang, L. K. & Kriedemann, P. E. 1992. Photosynthetic response to light and nutrients in sun-tolerant and shade tolerant rainforest trees. II. Leaf gas exchange and component processes of photosynthesis. **Australian Journal of Plant Physiology**, **19**: 19-42.
- Tiscoski, A. 2001. Eng. Agrônomo. Administrador do Parque Florestal do Rio Vermelho.
- Vieira, R.C. 1995. Anatomia da folha de *Bauhinia radiata* Vell. Em diferentes ambientes. **Arq. Biol. Tecnol.**, **38**: 63-107.
- Vogelmann T.C. & Martin G. 1993. The functional significance of palisade tissue: penetration of directional versus diffuse light. **Plant, Cell and Environment**, **16**: 65-72.
- Vogelmann, T.C.; Bornman, J.R. & Yates, D.J. 1996. Focusing of light by leaf epidermal cells. **Physiologia Plantarum**, **98**: 43-56.
- Waechter, J.L. 1985. Aspectos ecológicos da vegetação de restinga no Rio Grande do Sul, Brasil. **Comunicações do Museu de Ciências da PUCRS**, série Botânica, **33**: 49-68.
- Waechter, J.L. 1990. Comunidades vegetais das restingas do Rio Grande do Sul. II **Simpósio de Ecossistemas da Costa Sul e Sudeste Brasileira: estrutura, função e manejo**. pp.228-248.
- Whitmore, T.C. 1996. A review of some aspects of tropical rain forest seedling ecology with suggestions for further enquiry. In: Swaine, M.D. (eds.), **The Ecology of tropical Forest Tree Seedlings**. Paris, Parthenon Publishing Group, pp. 3-39.
- Woodward, F.I. 1986. Ecophysiological studies on the shrub *Vaccinium myrtillus* L. taken from a wide altitudinal range. **Oecologia**, **70**: 580-586.
- Woodward, F.I. 1987. Stomatal numbers are sensitive to increases in CO₂ from pre-industrial levels. **Nature**, **327**: 617-618.

- Woodward, F.I. & Bazzaz, F.A. 1988. The responses of stomatal density to CO₂ partial pressure. **Journal of Experimental Botany**, **39**: 1771-1781.
- Yin, Z. & Johnson, G. 2000. Photosynthetic acclimation of higher plants to growth in fluctuating light environments. **Photosynthesis Research**, **63**: 97-107.
- Zhang S.; Ma, K.; Chen, L. 2003. Response of photosynthetic plasticity of *Paeonia suffruticosa* to changed light environments. **Environmental and Experimental Botany**, **49**: 121-133.