

UNESP - UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
CÂMPUS DE BOTUCATU
INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS

**INFLUÊNCIA DO USO DE TELAS DE SOMBREAMENTO COLORIDAS
(AZUL, VERMELHA E PRETA) NA FISIOLOGIA DA PRODUÇÃO DE MUDAS
DE GUANANDI (*Calophyllum brasiliensis*).**

GUSTAVO FRANCISCO ROSALIN SARAIVA

**Dissertação apresentada ao Instituto de
Biociências, Câmpus de Botucatu,
UNESP, para obtenção do título de
Mestre em Ciências Biológicas
(Botânica), AC: Fisiologia Vegetal.**

BOTUCATU - SP
(Fevereiro – 2013)

UNESP - UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
CÂMPUS DE BOTUCATU
INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS

INFLUÊNCIA DO USO DE TELAS DE SOMBREAMENTO COLORIDAS
(AZUL,VERMELHA E PRETA) NA FISIOLOGIA DA PRODUÇÃO DE MUDAS
DE GUANANDI (*Calophyllum brasiliensis*).

GUSTAVO FRANCISCO ROSALIN SARAIVA

PROF^a DR. JOÃO DOMINGOS RODRIGUES

ORIENTADOR

Dissertação apresentada ao Instituto de
Biociências, Câmpus de Botucatu,
UNESP, para obtenção do título de
Mestre em Ciências Biológicas
(Botânica), AC: Fisiologia Vegetal.

BOTUCATU - SP
(Fevereiro – 2013)

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉCNICA DE AQUISIÇÃO E TRATAMENTO DA
INFORMAÇÃO
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CAMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: SELMA MARIA DE JESUS

Saraiva, Gustavo Francidco Rosalin.

INFLUÊNCIA DO USO DE TELAS DE SOMBREAMENTO COLORIDAS
(AZUL, VERMELHA E PRETA) NA FISIOLOGIA DA PRODUÇÃO DE MUDAS
DE GUANANDI (*Calophyllum brasiliensis*).. – 2013.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências de Botucatu, 2013.

Orientador: João Domingos Rodrigues

Co-orientadora:

Assunto CAPES:

1. Fisiologia vegetal

CDD 581.1

Palavras-chave: Trocas gasosas, sombreamento, telas coloridas, mudas, aclimação, nitrato redutase.

*Dedico esse trabalho aos meus pais Francisco e Marli,
Minha irmã Graziela e ao meu cunhado Pedro, por estarem
sempre ao meu lado me dando força para concluir mais essa
importante etapa em minha vida.*

AGRADECIMENTOS

Agradeço em primeiro lugar á Deus e a meu anjo da guarda, que estiveram presentes comigo em todos os momentos dessa discertação, iluminando minha cabeça e me ajudando a entender cada vez mais os mistérios da vida.

Agradeço à natureza que me proporciona a sobrevivência e me fornece constante material de estudo, me contemplando a cada dia com um novo enigma acerca da perfeição de seu funcionamento.

Agradeço aos meus pais, Francisco e Marli, por serem parte fundamental da minha vida, me educarem da melhor maneira possível, me formando com o caráter que hoje tenho, por estarem comigo em todas as dificuldades, alegrias e por toda a eternidade.

Agradeço a minha irmã Grazielle e meu cunhado Pedro, por todos os momentos bons e ruins que passamos juntos e que também são fundamentais em minhas vidas.

Agradeço a todos os meus amigos e colegas de república, aos “irmãos” que convivem comigo todos os dias, tornando-se minha família também e que com certeza tem um papel fundamental da minha construção como pessoa, como profissional e como pesquisador.

Agradeço aos amigos Ana Claudia, Alexandre, Amanda, Anamaria, Angélica por toda a ajuda prestada nas dificuldades e auxílio em medidas e procedimentos utilizados nessa discertação.

Agradeço aos professores Elisabete Ono, Gisela Ferreira, Carmem Boaro, Magali Ferreira e Gustavo Maia, por todo o conhecimento que me tranmitiram ao logo dos anos, me tornando um Fisiologista vegetal cada vez melhor e mais realizado, por conhecer pessoas como vocês.

Agradeço em especial ao meu orientador João Domingos, por todo o conhecimento e experiência de vida que me passou, por me fazer ser uma pessoa apaixonada pela fisiologia vegetal e me guiar pelos seus passos, para quem sabe um dia ter a sabedoria que o senhor carrega.

No princípio criou Deus os céus e a terra. E a terra era sem forma e vazia; e havia trevas sobre a face do abismo; e o Espírito de Deus se movia sobre a face das águas. E disse Deus: Haja luz; e houve luz. E viu Deus que era boa a luz; e fez Deus separação entre a luz e as trevas.

Gênesis 1:1-4

SUMÁRIO

RESUMO.....	01
SUMMARY	02
1 Introdução	03
1.1 Objetivos	05
2 Revisão de Literatura	06
2.1 Influência da luminosidade	06
2.2 Aclimação	08
2.3 Espécies Reativas de Oxigênio(EROs).....	10
2.4 Nitrato Redutase.....	12
2.5 Teor de Pigmentos.....	14
2.6 Produção de mudas	14
2.7 Guanandi (<i>Calophyllum brasiliensis</i>).....	16
3 Materiais e Métodos.....	17
3.1 Local do experimento.....	17
3.2 Delineamento Experimental.....	17
3.3 Trocas Gasosas.....	17
3.4 Análises bioquímicas.....	18
3.5 Determinação do teor de proteínas solúveis.....	19
3.6 Atividade da enzima Peroxidase (POD)	19
3.7 Atividade da enzima Catalase (CAT)	19
3.8 Atividade da enzima Superóxido Dismutase (SOD).....	20
3.9 Atividade da enzima Nitrato Redutase (NR)	20
3.10 Quantificação de pigmentos.....	20
3.11 Área Foliar.....	21
3.12 Massa fresca e massa seca.....	21
3.13 Índice de Qualidade de Dickson.....	21
3.14 Análise Estatística.....	22
4 Resultados.....	22
4.1 Biometria.....	22
4.2 índice de qualidade das mudas.....	26
4.3 Trocas gasosas.....	27
4.4 Teores de pigmentos.....	29
4.5 Atividade Enzimática.....	32
4.4.1Catalase (CAT).....	32
4.4.2 Superóxido Dismutase (SOD).....	33
4.4.3 Peroxidase (POD).....	33
4.4.4 Nitrato Redutase.....	35
4.5 Fluorescência da clorofila a.....	36
5. Discussão.....	37
6. Conclusão.....	43
7. Referências Bibliográficas.....	44

Índice de Tabelas

Tabela 1. Massa seca total (g) das mudas de Guanandi aos 120, 150 e 180 DAT (Dias após transplante), cultivadas no viveiro da FCA-UNESP-Botucatu, 2012.

Tabela 2. Massa seca de raiz (g) das mudas de Guanandi aos 120, 150 e 180 DAT (Dias após transplante), cultivadas no viveiro da FCA-UNESP-Botucatu, 2012.

Tabela 3. Massa seca caule (g) das mudas de Guanandi aos 120, 150 e 180 DAT (Dias após transplante), cultivadas no viveiro da FCA-UNESP-Botucatu, 2012.

Tabela 4. Massa seca de folhas (g) das mudas de Guanandi aos 120, 150 e 180 DAT (Dias após transplante), cultivadas no viveiro da FCA-UNESP-Botucatu, 2012.

Tabela 5. Altura média das mudas de Guanandi aos 120, 150 e 180 DAT (Dias após transplante), cultivadas no viveiro da FCA-UNESP-Botucatu, 2012.

Tabela 6. Diâmetro de colo médio das mudas de Guanandi aos 120, 150 e 180 DAT (Dias após transplante), cultivadas no viveiro da FCA-UNESP-Botucatu, 2012.

Tabela 7. Área foliar média das mudas de Guanandi aos 120, 150 e 180 DAT (Dias após transplante), cultivadas no viveiro da FCA-UNESP-Botucatu, 2012.

Tabela 8. Índice de qualidade de Dickson das mudas de Guanandi aos 180 DAT (Dias após transplante), cultivadas no viveiro da FCA-UNESP-Botucatu, 2012.

Tabela 9. Taxa de Assimilação líquida de CO₂ (**A**, $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) das mudas de Guanandi aos 120, 150 e 180 DAT (Dias após transplante), cultivadas no viveiro da FCA-UNESP-Botucatu, 2012.

Tabela 10. Condutância estomática (**gs**, $\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) das mudas de Guanandi aos 120, 150 e 180 DAT (Dias após transplante), cultivadas no viveiro da FCA-UNESP-Botucatu, 2012.

Tabela 11. Teor total de Clorofila a ($\mu\text{mol/g}$) das mudas de Guanandi aos 120, 150 e 180 DAT (Dias após transplante), cultivadas no viveiro da FCA-UNESP-Botucatu, 2012.

Tabela 12. Teor total de Clorofila b ($\mu\text{mol/g}$) das mudas de Guanandi aos 120, 150 e 180 DAT (Dias após transplante), cultivadas no viveiro da FCA-UNESP-Botucatu, 2012.

Tabela 13. Teor total Antocianina ($\mu\text{mol/g}$) das mudas de Guanandi aos 120, 150 e 180 DAT (Dias após transplante), cultivadas no viveiro da FCA-UNESP-Botucatu, 2012

.

Tabela 14. Teor total Carotenóides ($\mu\text{mol/g}$) das mudas de Guanandi aos 120, 150 e 180 DAT (Dias após transplante), cultivadas no viveiro da FCA-UNESP-Botucatu, 2012

.

Tabela 15. Atividade da Catalase (**Kat**)mKat μg proteína) das mudas de Guanandi aos 120, 150 e 180 DAT (Dias após transplante), cultivadas no viveiro da FCA-UNESP-Botucatu, 2012.

Tabela 16. Atividade da Superóxido dismutase (SOD) (U/mg prot) das mudas de Guanandi aos 120, 150 e 180 DAT (Dias após transplante), cultivadas no viveiro da FCA-UNESP-Botucatu, 2012.

Tabela 17. Atividade da Peroxidase POD (umol/min/ mg prot) das mudas de Guanandi aos 120, 150 e 180 DAT (Dias após transplante), cultivadas no viveiro da FCA-UNESP-Botucatu, 2012.

Tabela 18. Atividade da Nitrato redutase (μg nitrito/min/g MF) das mudas de Guanandi aos 120, 150 e 180 DAT (Dias após transplante), cultivadas no viveiro da FCA-UNESP-Botucatu, 2012.

Tabela 19. Eficiência quântica do FS II (F_V/F_M) das mudas de Guanandi aos 120, 180 DAT (Dias após transplante), cultivadas no viveiro da FCA-UNESP-Botucatu, 2012.

Índice de Figuras

Figura 1. Massa seca total (g) das mudas de Guanandi aos 120, 150 e 180 DAT (Dias após transplante), cultivadas no viveiro da FCA-UNESP-Botucatu, 2011.

SARAIVA, G.F.R.. INFLUÊNCIA DO USO DE TELAS DE SOMBREAMENTO COLORIDAS (AZUL,VERMELHA E PRETA) NA FISIOLOGIA DA PRODUÇÃO DE MUDAS DE GUANANDI (*Calophyllum brasiliensis*) 2013. 55P. DISCERTAÇÃO (MESTRADO) – INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS, UNESP - UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA, BOTUCATU.

RESUMO - As florestas têm um papel fundamental na ciclagem do carbono e, em consequência, nos processos de mudanças climáticas. O crescimento e a produtividade de mudas podem ser influenciados pelas taxas de transpiração e assimilação fotossintética. Atualmente, sabe-se que, com o aumento da radiação, tanto a luz vermelha quanto a azul influenciam a abertura estomática e, conseqüentemente, a taxa fotossintética. Entretanto, há maior eficiência da luz azul do que a luz vermelha na estimulação da abertura estomática. Tendo em vista a necessidade de uma melhoria na produção e qualidade de mudas de espécies nativas, torna-se imprescindível o estudo cada vez mais detalhado dos processos envolvidos, além de buscar novas tecnologias. Nesse sentido, este trabalho busca avaliar a influência de telas de sombreamento coloridas (azul, vermelho e preto), no desenvolvimento inicial e fisiologia em mudas de *Calophyllum brasiliensis*, que é uma espécie secundária tardia á clímax. O trabalho foi realizado nos Departamentos de Botânica do Instituto de Biociências e Departamento de Ciências Florestais da FCA, Universidade Estadual Paulista (UNESP), *Campus* de Botucatu-SP. O delineamento experimental empregado foi inteiramente casualizado com quatro tratamentos, cada um contendo 80 unidades amostrais. Os tratamentos foram determinados da seguinte forma: mudas sem tela de sombreamento (pleno sol), mudas cobertas com tela de sombreamento a 50% azul, vermelha e preta. As avaliações foram feitas aos 120, 150 e 180 dias após o transplante para o viveiro (DAT), sendo selecionadas algumas mudas de cada tratamento, e, em cada uma, o segundo par de folhas, totalmente expandido foi amostrado para realização de medidas de fotossíntese e emissão de fluorescência da clorofila, juntamente com análises biométricas, de pigmentos, análise bioquímica e, utilizando o Índice de qualidade de Dickson (IQD), foi avaliado qual tratamento proporcionou mudas de melhor qualidade. As mudas cultivadas a pleno sol apresentaram melhor desempenho em todas as características biométricas, na taxa de assimilação de CO₂ e, principalmente, na atividade da enzima nitrato redutase, que auxiliou na aclimação das mudas, tornando o tratamento a pleno sol o que apresentou as mudas com melhor qualidade segundo o IQD.

Palavras-chave: Trocas gasosas, sombreamento, telas coloridas, mudas, aclimação, nitrato redutase.

SARAIVA, G.F.R. INFLUENCE OF USE OF SCREENS FOR COLORED SHADE (BLUE, RED AND BLACK) IN PHYSIOLOGY OF SEEDLING PRODUCTION OF GUANANDI (*Calophyllum brasiliensis*) 2013. 55P. DISCERTAÇÃO (MESTRADO) – INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS, UNESP - UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA, BOTUCATU.

ABSTRACT: Forests play a key role in the cycling of carbon and, consequently, in the processes of climate change. The growth and productivity of seedlings can be influenced by the rates of transpiration and photosynthetic assimilation. Currently, it is known that with increasing irradiation, both light blue to red as stomatal aperture and cause an increase in photosynthetic rate. However, there is greater efficiency of light blue on the red light in stimulating stomatal opening. Given the need to improve the production and quality of native species seedlings, it is essential to study increasingly detailed the processes involved, and seek new technologies. Thus, this work seeks to observe the influence of shade screens colored (blue, red and black), the initial development and physiology in the seedlings *Calophyllum brasiliensis*, late secondary species will climax. The work was performed in the Department of Botany, Institute of Biosciences and Department of Forest Sciences FCA, Universidade Estadual Paulista (UNESP), Botucatu-SP. The statistical design will be in four blocks, each containing 80 sample units of each treatment (without shade cloth seedlings, saplings covered with blue screen, red and black). Assessments are made at 120, 150 and 180 days after transplantation in the nursery (DAT), with some selected seedlings from each treatment, and each of the second pair of leaves fully expanded, was subjected to controlled chamber infrared gas analyzer (IRGA LI 6400, Licor) for performing measurements of photosynthesis and chlorophyll fluorescence emission, along with biometric analysis, analysis of pigments, and biochemical analysis using the Dickson quality index (IQD) to determine which treatment provided best seedlings. Seedlings grown in full sun had advantages in all biometric characteristics, assimilation rate and especially the role of the enzyme nitrate reductase, which helped the acclimation of plants making treatment in full sun which presented the seedlings with best quality according to the IQD.

Keywords: Gas exchange, shading, color screens, seedlings, acclimation, nitrate reductase.

Introdução

Os projetos de reflorestamento em áreas degradadas já ocorrem no Brasil em diversas escalas e com várias finalidades; muitas instituições têm demandado atenção e dinheiro nessa atividade, como empresas de vários setores, organizações e, inclusive, o meio acadêmico, os quais atuam visando obter reparos ambientais, atendimento da demanda de matéria-prima para indústrias, melhora na qualidade de produção e até a participação em um futuro mercado do carbono (SCARPINELLA, 2002).

Os programas públicos e privados que desenvolvem o setor de produção de mudas no Brasil destinam poucos recursos e investimentos na produção de mudas nativas, com fins conservacionistas e de reflorestamento, principalmente aquelas para recuperação de matas ciliares e áreas degradadas. Isso porque, as maiores parcelas do setor se aterm à produção de essências exóticas (eucalipto e pinus), que são utilizadas em programas de reflorestamento monoespecífico e na produção de papel e celulose, setor esse muito rentável nos dias atuais, o que explica a maior atenção a ele destinada (GOMES, 1996).

Dentre as vantagens de se utilizar espécies nativas, podemos citar: a contribuição para a conservação da biodiversidade regional, protegendo, ou expandindo as fontes naturais de diversidade genética da flora em questão, e da fauna a ela associada, podendo, também, representar importantes vantagens técnicas e econômicas devido à proximidade da fonte de propágulos, facilidade de aclimação e perpetuação das espécies (OLIVEIRA-FILHO, 1994).

Os sistemas de produção de mudas vêm se tornando cada vez mais técnicos, visando aumento de produtividade e qualidade das mudas. Eles atendem, principalmente, aos grandes empreendimentos, os quais possuem mais capital e acesso à tecnologia, fazendo, assim, com que os pequenos produtores não tenham acesso a essa tecnologia, o que dificulta a execução de plantações florestais e programas corretos de reflorestamentos em pequenas propriedades (MATTEI, 1993).

A demanda cada vez maior por mudas de espécies florestais a um menor custo fez com que a qualidade das mudas fosse relegada à segundo plano. A melhoria nas técnicas de produção de mudas é uma prática em franca expansão e vem mostrando sua importância na evolução da produção silvicultural brasileira (GOMES et al.,1991).

A fotossíntese é um processo de fundamental importância para todos os vegetais, pois através dele as plantas conseguem obter a energia que precisam para processos vitais e reprodutivos que demandam energia. Em virtude disso, a qualidade e a

intensidade da luz são fatores ambientais que podem influenciar diretamente nas trocas gasosas, e em diversos processos e vias metabólicas nas plantas (COSTA & MARENCO, 2007).

Em virtude de seu estilo sésstil de vida, as plantas têm uma capacidade muito grande de perceber e responder a mudanças na composição da luz do ambiente. Para isso utilizam-se de sinalizadores biológicos que promovem determinados padrões nas reações químicas ocorridas no metabolismo vegetal, os quais respondem à quantidade e qualidade da luz, representadas pela irradiância e comprimento de ondas, respectivamente (ALMEIDA & MONDSTOCK, 2001).

No entanto, nem todos os comprimentos de onda da luz visível (400 a 700 nm) são importantes para que ocorra uma resposta da planta em decorrência da modificação do espectro de luz. Há uma maior eficiência da luz azul (500 nm) em relação à luz vermelha (700 nm) na estimulação da abertura estomática. Isso se deve às células-guarda possuírem um fotorreceptor específico para luz azul (ASSMANN & SHIMAZAKI, 1999), contribuindo para melhor desempenho fotossintético por parte da planta, pois a fotossíntese líquida final pode ser alterada se houverem modificações nas concentrações dos substratos iniciais da reação, sendo o gás carbônico um dos principais deles. Existem também os fitocromos que respondem à radiações na frequência do vermelho, promovendo ajustes morfológicos e fisiológicos (LI et al., 2000), causando alterações em órgãos vegetativos, reprodutivos e de armazenamento (FRANKLIN & WHITELAM, 2005).

A luminosidade é um dos fatores físicos mais importantes no controle do desenvolvimento de plântulas de espécies arbóreas em florestas tropicais úmidas (LEE *et al.* 1997). Ao nível do solo as condições de luz são extremamente variáveis, pois há uma atenuação e modificação da radiação através dos vários estratos da cobertura vegetal, e isso leva a uma grande plasticidade por parte das plantas em relação à variação de luminosidade, característica que é inerente a cada espécie e pode ter um papel fundamental na sobrevivência em ambientes diversos e heterogêneos, como o encontrado nas florestas tropicais (PETIT *et al.* 1996).

O sombreamento no processo de produção de mudas é necessário, pois o excesso de radiação pode diminuir drasticamente a capacidade fotossintética das mudas, contribuindo para a ocorrência de fotoinibição (KITAO et al., 2000). Os danos fotoinibitórios estão, sobretudo, relacionados com mudanças nas propriedades físico-químicas das membranas dos tilacóides e também por desvios na cadeia de transporte de

elétrons. Estes fatores provocam redução do rendimento quântico do fotossistema II (FSII), aumento da dissipação da energia não-fotoquímica e diminuição da eficiência de carboxilação (GILMORE & GOVINDJEE, 1999).

Sabendo-se isso, muitos pesquisadores e produtores de mudas têm optado pela utilização de telas de sombreamento coloridas, principalmente nas cores azul, vermelho e preto em diferentes taxas de transmitância, fazendo com que desta forma, o comprimento de onda e a quantidade de energia incidente sejam alterados em benefício das plantas. Essas telas são hoje comercializadas em toda parte e, segundo vários estudos, elas podem proporcionar respostas variadas conforme a espécie vegetal e o tipo de produto explorado.

Baseado nisto, faz-se necessário o estudo da utilização de telas coloridas no sombreamento de mudas de espécies nativas, para obter-se melhor desempenho na produção e maior sucesso no plantio destas, que são de extrema importância nos processos de reflorestamento e recuperação de áreas degradadas.

Objetivos

- **Objetivo geral**

Este trabalho teve como objetivo avaliar a influência do uso de telas de sombreamento preta e colorida (azul e vermelho) comparadas ao ambiente de pleno sol, na produção e fisiologia de mudas de Guanandi (*Calophyllum brasiliensis*).

- **Objetivos específicos**

Foram avaliados, a fim de se averiguar o sucesso de cada tratamento, as trocas gasosas foliares, a fluorescência da clorofila *a*, a biometria das mudas, os teores totais de pigmentos foliares e análise bioquímica, podendo assim determinar o tratamento que resultou em mudas de Guanandi de melhor qualidade.

2. Revisão de Literatura

2.1 Influência da luminosidade

Apenas 5% da energia total que incide na superfície terrestre é aproveitada pelas plantas para formação de carboidratos, o restante é emitida em comprimentos de ondas maiores, perdida na forma de calor e refletida (TAIZ & ZIEGER, 2009). Sendo assim, verifica-se que 1,3% da radiação incidente ao topo da atmosfera é utilizada pelas plantas para a fotossíntese e “apenas” essa fração da energia da luz é responsável por toda a vida na terra.

A produtividade vegetal é diretamente influenciada por características morfológicas e fisiológicas dos órgãos fotossintetizantes, conhecidos como fonte, e dos órgãos consumidores dos produtos fotossintetizados, conhecidos como dreno. Os fotoassimilados constituem mais de 90% da massa seca da planta, sendo uma parte utilizada durante o crescimento e desenvolvimento da planta e outra parte é oxidada na respiração celular, servindo como fonte de energia para o crescimento e funcionamento dos processos biológicos (POPOV et al., 2003).

As características e condições ambientais influenciam diretamente as taxas metabólicas das plantas e assim determinam as taxas e proporções da fotossíntese e respiração, que significam ganhos e perdas no balanço das trocas gasosas, respectivamente, levando assim a exercer uma influência direta na produtividade biológica e econômica dessas plantas, visto que a fotossíntese líquida é um ótimo indicador da taxa de assimilação de carbono por um organismo fotossintetizante (POPOV et al., 2003).

A fotossíntese é um processo vital às plantas, sendo um processo de extrema eficiência na conversão de matéria inorgânica em matéria orgânica, utilizando-se da energia fornecida pelo ambiente. Para que seja cada vez mais eficiente, as plantas têm mecanismos de fotoresposta como o movimento dos cloroplastos nas células em respostas à variação da luz, buscando um melhor posicionamento, e a abertura e fechamento dos estômatos para que ocorra uma melhor absorção de CO₂ ou redução na perda de água (KAWAI et al., 2003). Os poros estomáticos permitem a troca de vapor de água entre a planta e a atmosfera, sendo importantes no processo de transpiração e fotossíntese (VAVASSEUR & RAGHAVENDRA, 2005).

As células-guarda dos estômatos apresentam uma sensibilidade muito refinada para uma infinidade de sinais ambientais e endógenos, os quais incluem temperatura, umidade, quantidade de água na planta, CO₂ e principalmente a luz. Por isso há um fino controle sobre a abertura estomática para que não ocorra perda excessiva de água pela planta, ou que ela fique privada de CO₂, fatores esse que prejudicariam a capacidade fotosintética da planta (ASSMANN & SHIMAZAKI, 1999).

A luz tem influência direta na modulação de diversas enzimas estromais que estão ligadas ao transporte de elétrons e fixação do CO₂, tais como a rubisco, Frutose-1,6-bifosfato fosfatase, ribulose-5-fosfato quinase, NADP-gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase, entre outras, e essa modulação da luz fornece uma chave tipo liga-desliga para essas enzimas-chave do ciclo de Calvin (TAIZ & ZEIGER, 2009).

O estudo da luminosidade e a sua relação com a fotossíntese é fundamental para avaliação do potencial das espécies arbóreas e a sua utilização comercial e em programas de reflorestamento, pois a disponibilidade e qualidade da luz constituem fatores importantes e críticos para o desenvolvimento da planta. O crescimento e a forma com que a planta se adapta aos diferentes ambientes luminosos ao longo do tempo se relaciona com a sua eficiência metabólica em se capturar e converter a energia e isso está associado, entre outros fatores, aos teores de pigmentos e enzimas foliares (ALMEIDA et al., 2004). Os teores de clorofila e carotenóides nas folhas são utilizados para estimar o potencial fotossintético das plantas, pela sua ligação direta com a absorção e transferência de energia luminosa e ao crescimento e à adaptação a diversos ambientes.

A luz é primordial para o crescimento e desenvolvimento dos vegetais, não só por fornecer energia através da fotossíntese, mas também por fornecer sinais que regulam seu metabolismo por meio de receptores sensíveis a luz a diferentes intensidades, qualidade espectral e estado de polarização. Dessa forma, qualquer modificação no nível de luminosidade aos quais uma espécie está aclimatada, pode condicionar diferentes respostas fisiológicas em suas características bioquímicas, anatômicas e de crescimento (ATROCH et al., 2001).

A importância de se estudar espécies arbóreas está muito relacionado ao ambiente em que vivem. Por exemplo, em um ambiente de clareira a variação da irradiância depende, entre outros fatores, da posição do sol, altura das árvores que estão ao redor e dinâmica de passagem das nuvens, apresentando uma faixa de variação que vai de 25 a 2.300 $\mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ao longo de um \u00fanico dia, enquanto que a

irradiância em um subbosque é predominantemente baixa e difusa, com pontuações de faixas de luz através das copas das árvores (Chazdon *et al.* 1996). Por isso o uso eficiente da luz pode ser uma característica fundamental para propiciar às plantas vantagem competitiva entre populações no que se refere ao maior aproveitamento da transformação de energia luminosa em energia química, tendo assim uma importante vantagem evolutiva.

Assim, ao longo de um gradiente de regeneração de clareiras, a utilização fotossintética da luz é um componente fundamental para a distribuição das espécies, e esse fato nos ajuda a agrupar as espécies em grupos seccionais. De uma maneira geral, as espécies que demandam mais luz, possuem uma alta taxa de crescimento e altos valores de fotossíntese máxima, sendo consideradas pioneiras. E por outro lado, existem espécies mais tolerantes ao sombreamento, com taxas fotossintéticas mais baixas, estas são classificadas como espécies intermediárias ou secundárias (Strauss-Debenedeti & Bazzaz 1996).

2.2 Aclimação

O Pesquisador polonês Daniel Arnon nunca deixou de admirar e se encantar com o “grande projeto da fotossíntese”, seja através de suas próprias conquistas ou de outros pesquisadores no campo da fotossíntese. Uma parte fundamental do grande projeto da fotossíntese envolve uma requintada aclimação do aparato fotossintético, devido às constantes mudanças no estímulos ambientais (Arnon, 1982).

Quando as plantas experimentam uma mudança nas condições de luz, a maioria delas é capaz, em maior ou menor grau, de se aclimatar à mudança ocorrida (Kitajima 1996), isso porque primeiramente elas podem mudar a fração de biomassa investida em raízes, caule e folha. Em segundo lugar, elas são capazes de modular a área foliar por unidade de biomassa, através de alterações em sua anatomia e, em terceiro lugar, elas podem mudar o investimento relativo de nitrogênio entre os componentes fotossintéticos.

As mudanças da planta como um todo em resposta ao aumento na luz consistem em uma menor alocação de biomassa para as folhas e um aumento da translocação para as raízes (Brouwer, 1962; Poorter & Nagel 2000), pois essa mudança na alocação de biomassa mantém uma taxa de transpiração constante por unidade de massa de raiz (Sims & Pearcy, 1994), podendo também sustentar a maior demanda de nutrientes necessários para o crescimento em altas irradiações. No entanto, em muitos casos, a

alocação de biomassa em folhas não é particularmente sensível ao crescimento da irradiação e é um fator de importância no que diz respeito às alterações da taxa de crescimento da planta (Poorter & Nagel, 2000).

Outra mudança ao nível de folha, é a alteração da área foliar específica (AFE), onde uma determinada quantidade de biomassa pode ser espalhada sobre uma pequena ou uma grande área foliar. As plantas cultivadas sob alta irradiância geralmente possuem as folhas grossas com uma AFE baixa (Björkman 1981), em parte devido ao fato de possuir camadas extras de parênquima paliçádico (Hanson, 1917). Isto aumenta o número de cloroplastos e a quantidade de enzimas fotossintéticas e, portanto, melhora a capacidade fotossintética por unidade de área foliar. No entanto, por ter mais biomassa alocada em uma determinada área, o aumento da capacidade fotossintética das folhas sob alta irradiância tem um custo maior para a construção de mais tecido fotossintetizante (Poorter & Nagel, 2000).

O último estágio de aclimação ocorre no nível celular, onde há uma realocação do nitrogênio entre os vários “pools” envolvidos na fotossíntese. As características mais importantes de folhas crescidas sob alta irradiação, comparadas com aquelas de pouca luz são: menos clorofila por unidade de nitrogênio, maior razão de clorofila a/b, aumento na capacidade de transporte de elétrons por unidade de clorofila e uma taxa ligeiramente maior de transporte de elétrons para a atividade da rubisco. Em trabalhos anteriores foi demonstrado que a partição do nitrogênio dentro das folhas muda com o crescimento da irradiância, de tal forma a maximizar a fotossíntese (Evans & Seemann 1989).

Durante a vida da planta, ela passa por inúmeras situações que podem levá-la a uma condição de estresse, portanto fatores relacionados à irradiância excessiva, que frequentemente está associada a altas temperaturas e alta demanda atmosférica por vapor de água são causadores de estresse. O estresse é considerado um desvio significativo nas condições ótimas para a vida, e induz mudanças e respostas em todos os níveis funcionais do organismo (LACHER, 2004).

Os estresses ambientais causados por diversos fatores, incluindo a disponibilidade de luz, dependendo da intensidade, podem acarretar em um desenvolvimento anormal da planta. Em contra partida, os sistemas biológicos possuem uma tendência inerente de buscar a manutenção de sua estabilidade, que é compreendida como a capacidade do sistema manter sua individualidade e organização,

mesmo em face de todas as alterações morfo-fisiológicas que são estimuladas pelas variações do ambiente (Souza & Oliveira 2004).

2.3 Espécies Reativas de Oxigênio (EROs)

As chamadas espécies reativas de oxigênio (“Reactive Oxygen Species” - ROS), ou EROs, são produzidas constantemente como subprodutos de várias vias metabólicas das plantas, em diferentes compartimentos celulares de órgãos e tecidos. Alguns representantes são o superóxido (O^{2-}), peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e o radical hidroxila (OH^{\cdot}) que ocorrem normalmente devido ao metabolismo do oxigênio, de modo que ao longo da vida do vegetal há um delicado balanço entre a produção de EROs e a atividade do sistema anti-oxidante que os neutraliza (APEL; HIRT, 2004).

Nas células vegetais as EROs, principalmente o H_2O_2 , são geradas no citosol, cloroplastos, mitocôndrias, peroxissomas e espaço apoplástico (NAVROT, et al., 2007) e ocorrem normalmente no metabolismo celular. Porém, quando acumuladas tornam-se tóxicas (QUAN et al., 2008), podendo causar danos aos componentes celulares, como membranas e ácidos nucléicos (DIAS et al., 2007), bem como danos aos constituintes celulares, como os lipídios das membranas, proteínas, pigmentos dos cloroplastos e enzimas (VERMA et al., 2003). Recentes investigações têm revelado que as EROs, especialmente o H_2O_2 , são componentes centrais de sinais de transdução em cascata, envolvidos em adaptações a mudanças ambientais (NEILL et al., 2002b), as quais ocorrem sob vários estresses bióticos e abióticos (NEILL et al., 2002a), podendo exibir também uma função sinalizadora nas células para os genes de proteção celular e participar diretamente do sistema de defesa contra infecções através de efeito tóxico direto ao patógeno, ou na formação de precursores de polímeros de lignina e da resistência sistêmica adquirida (SAR) (RESENDE et al., 2003).

Para minimizar os efeitos deletérios das EROs e adequar a sua quantidade nas células, os organismos aeróbios desenvolveram um eficiente sistema defensivo antioxidante, também conhecido como “scavengers”, constituídos por componentes enzimáticos e não-enzimáticos. As defesas não-enzimáticas incluem as vitaminas C e E, glutathione (GSH), β - caroteno, compostos fenólicos, tocoferóis e poliaminas. Já o sistema enzimático envolve as superóxidos dismutases (SOD), catalases (CAT), peroxidases (POD), glutathione peroxidase (GPX), ascorbato peroxidase (APX),

glutathione redutase (GR) e glutathione S-transferase (GSTs). (SCANDALIOS, 2005; BLOKHINA et al., 2003). Ao lado de outros mecanismos fisiológicos, a eficiência do sistema antioxidante aumenta a capacidade de tolerância e aclimação da planta, devido à diminuição dos efeitos nocivos causados pelas EROs e pela participação desses no sistema de defesa e proteção da planta.

Foi observado que em várias espécies vegetais há uma super expressão da atividade da enzima superóxido dismutase em resposta a diversos fatores estressantes, sendo por isso consideradas importantes na tolerância ao estresse, conforme Broetto et al. (2002). A enzima superóxido dismutase (SOD) atua na primeira linha de defesa contra a toxicidade causada pelas EROs, catalisando a dismutação de radicais superóxido ($O_2^{\cdot-}$) em peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e oxigênio (O_2), representando assim, um dos principais mecanismos de defesa contra o estresse oxidativo celular (HASSAN, 1988). O peróxido de hidrogênio formado nessa reação é, a seguir, reduzido à água pelas peroxidases na presença de ácido ascórbico (Bowler et al. (1992).

A SOD pode ser encontrada em três classes diferenciadas, de acordo com o metal presente em seu sítio ativo: 1- associada ao Cu(II) e ao Zn(II) (Cu/ZnSOD) que são localizadas no citosol e cloroplastos; 2- associada ao Fe(III) (FeSOD) localizadas nos cloroplastos; e 3- associada ao Mn(III) (MnSOD) localizadas na matriz dos cloroplastos (SCANDALIOS, 2005).

As peroxidases e catalases são as mais importantes enzimas reguladoras dos níveis intercelulares de H_2O_2 , e estas enzimas se encontram espalhadas por todas as partes da planta (BLOKHINA et al., 2003).

Peroxisomos e glioxissomas são as organelas onde a catalase é comumente encontrada, possuindo a capacidade de degradar rapidamente o peróxido de hidrogênio em H_2O e O_2 , tendo papel fundamental no sistema antioxidativo. As catalases são separadas em três classes: as catalases da classe I são as responsáveis por remover o H_2O_2 que é produzido durante o processo de fotorrespiração; as da classe II participam do processo de lignificação e estão localizadas nos tecidos vasculares; as catalases da classe III são mais comumente encontradas nas sementes e plantas jovens e também participam da degradação do H_2O_2 , mas daqueles que são resultantes da degradação dos ácidos no glioxissoma (RESENDE et al., 2003). A catalase também apresenta uma função combinada com as SODs, pois ela converte o H_2O_2 , originado pela atividade da SOD, em H_2O e O_2 (CATANEO, 2008).

A catalase é uma enzima que apresenta sensibilidade à luz, a qual pode ocasionar sua inativação, assim como situações de estresse promovidas por baixas ou altas temperaturas; condições que suprimem a síntese protéica também causam sua inativação (CHANG et al., 1998).

As peroxidases também atuam na prevenção e proteção aos efeitos deletérios causados por radicais livres e pela peroxidação dos lipídios (CHANG et al., 1998). Elas participam de inúmeros processos fisiológicos da planta como lignificação, suberização, catabolismo da auxina, tolerância à salinidade e mecanismos de defesa contra patógenos (HIRAGA et al., 2001). Desta forma, um aumento na atividade da enzima peroxidase pode ser considerado uma ação protetora, pois elas neutralizariam as EROs em água e oxigênio molecular, evitando assim a peroxidação dos lipídios. A POD é uma enzima que está envolvida em muitas reações metabólicas e processos fisiológicos dos tecidos vegetais, por isso Gaspar (1986) afirma que a peroxidase é uma molécula chave nos processos de aclimação das plantas ou de adaptação de alguns de seus órgãos separadamente, às mudanças do meio ambiente.

2.4 Nitrato Redutase

A enzima nitrato redutase (NR) é formada por duas subunidades idênticas com três grupos prostéticos cada (flavina adenina dinucleotídeo – FAD, heme e complexo formado por molibdênio, mais uma molécula orgânica chamada pterina) e está presente no citoplasma (TAIZ & ZEIGER, 2009).

O elemento químico nitrogênio está entre os principais elementos minerais, pois junto ao Carbono, Oxigênio e Hidrogênio formam os componentes principais de biomassa. O Nitrogênio apresenta uma íntima relação de interdependência com o processo de fotossíntese, pois a energia e estrutura molecular necessárias para a incorporação do nitrogênio provêm do metabolismo dos carboidratos, e esse por sua vez é dependente de vários compostos que contêm nitrogênio, como por exemplo, as clorofilas, que tem um papel fundamental na fotossíntese (LARCHER, 2006).

O processo de assimilação de nitrogênio é o segundo maior processo metabólico nas plantas, sendo superado apenas pela fotossíntese. A principal forma de nitrogênio inorgânico disponível para a planta é o que é absorvido do solo na forma de amônio e principalmente nitrato, elemento esse que tem uma absorção dependente do pH no solo,

e sob pH baixo, a sua absorção é mais prejudicada que a de amônio (BUCHANAN et al., 2000).

A nitrato redutase (NR) catalisa o processo de redução do nitrato (NO_3) absorvido pelas raízes em nitrito (NO_2) (LARCHER, 2006). Contudo para realizar essa função a forma mais comum da NR usa o NADH como doador de elétrons, mas em tecidos não clorofilados ela pode utilizar tanto o NADH quanto o NADPH (YANG & MIDMORE, 2005).

Após a redução do nitrato para nitrito, este deve ser transportado e reduzido rapidamente, pois o nitrito é um íon altamente reativo e potencialmente tóxico para a planta, sendo então transportado do citosol para o interior dos cloroplastos (em tecidos clorofilados) e plastídeos (não clorofilados), onde é reduzido à amônia pela enzima nitrito redutase (NiR), que se utiliza de uma ferredoxina reduzida como doadora de elétrons. Essa ferredoxina reduzida é proveniente do transporte de elétrons da fotossíntese nos cloroplastos e do NADPH formado na rota da oxidação das pentose-fosfato nos tecidos aclorofilados (YANG & MIDMORE, 2005; TAIZ & ZEIGER, 2009). Esse amônio que é produzido é incorporado em moléculas orgânicas, como aminoácidos e nucleotídeos, por meio da ação conjunta de outras duas enzimas, a glutamina sintetase (GS) e glutamato sintase (GOGAT) (LARCHER, 2006).

A produção da enzima nitrato redutase é muito rápida e ocorre de acordo com as necessidades da planta, sendo que o nitrato, a luz e os carboidratos interferem na sua tradução e transcrição (TAIZ e ZEIGER, 2009). A sua atividade varia de acordo com a fase de vida da planta, possuindo maior atividade em órgãos de crescimento, durante a fase jovem, visto que esses requerem uma grande quantidade de N.

As alterações diárias na fotossíntese interferem na expressão e atividade da nitrato redutase, variando de acordo com o dia e com a noite, sendo que, geralmente, possui um pico de produção no final da noite e nas primeiras horas do dia. Para um grande número de espécies, mesmo se elas forem colocadas em condições de luz constante, as oscilações circadianas da atividade da nitrato redutase permanecerão por aproximadamente 24 horas, indicando que esse ritmo é endógeno (YANG & MIDMORE, 2005). A citocinina também estimula a produção de nitrato redutase, além de ser regulada pelas alternâncias entre luz e escuro (LARCHER, 2006).

2.5 Teor de Pigmentos

Dos pigmentos que se encontram nas folhas das árvores, merece principal atenção a clorofila, pela função essencial que desempenha na fotossíntese e no crescimento das plantas (Kramer & Kozlowski, 1979). Este parâmetro é frequentemente utilizado por pesquisadores para estimar a eficiência fotossintética das plantas e, conseqüentemente, seu reflexo sobre o crescimento e adaptabilidade delas aos diversos ambientes (Engel, 1989 e Carvalho, 1996). Embora ocorram vários tipos de clorofila nos vegetais verdes, são a clorofila *a* e a clorofila *b* que têm a maior importância. A estrutura de ambas é basicamente a mesma, porém, a clorofila *a* é de ocorrência generalizada em todas as células fotossintetizadoras e desempenha um papel fundamental no processo de bioconversão de energia. Enquanto que, os outros pigmentos, entre eles a clorofila *b*, são chamados *pigmentos acessórios* e estão associados à transferência de energia para o processo fotossintético (Magalhães, 1979). A presença de clorofila *b* em quantidades relativamente grandes nas plantas umbrófilas é justificada pelas suas características de absorção, cujos picos máximos (453 e 643 nm) aproximam-se mais da região do verde comparados com a clorofila *a* (430 e 660 nm).

Os carotenóides protegem as plantas contra processos fotooxidativos potencialmente nocivos. São componentes essenciais da estrutura das antenas dos fotossistemas. Alguns destes compostos são precursores de ácido abscísico (ABA), uma fitohormônio que modula processos de desenvolvimento e de estresse nas plantas (Koornneef, 1986).

As antocianinas também possuem um papel muito importante nos vegetais, pois estudos recentes têm fornecido suporte tanto para a perspectiva de que elas desempenham muito mais que um papel benéfico nas plantas, além de atuarem como pigmento acessório dando cor a folhas e frutos. Estudos sugerem que as antocianinas podem conferir um grau significativo de proteção contra danos fotooxidativos causados pela luz, agindo também como antioxidantes e atenuadores de luz (Neill *et al.* , 2002; Pietrini *et al.* , 2002; Neill & Gould, 2003) .

2.6 Produção de mudas

Nos últimos anos os viveiros florestais evoluíram significativamente, buscando racionalizar a produção de mudas através da melhoria das condições de trabalho dos funcionários, aumento dos rendimentos operacionais e principalmente melhorando a qualidade fisiológica das mudas. Um dos principais problemas encontrados pelos

viveiristas ou produtores de mudas florestais é determinar os fatores que aumentem a sobrevivência e melhorem o desenvolvimento inicial das mudas no campo e na fase de viveiro, assim como as características fisiológicas das plantas que melhor se correlacionam a essas variáveis.

A importância de se produzir mudas mais vigorosas é que elas têm uma maior chance de sucesso no estabelecimento nas condições de campo, bem como o fato de maximizar o seu crescimento ao diminuir tempo de transplante. Há várias maneiras de se alcançar mudas mais vigorosas de maneira prática, rápida e fácil, apenas observando-se parâmetros morfológicos (Fonseca et al., 2002) ou realizando análises do crescimento em mudas sob diferentes condições de luminosidade, nutrientes e água.

A luz, por ser uma fonte primária de energia relacionada à fotossíntese (Campos & Uchida, 2002) e fenômenos morfogenéticos (Taiz & Zeiger, 2009), é um dos principais fatores que influenciam o crescimento e o desenvolvimento dos vegetais. Todas as plantas tem uma habilidade muito grande para modificar o seu modelo de desenvolvimento em resposta ao ambiente luminoso (Holt, 1995). Contudo a natureza e intensidade da resposta morfogênica pode variar consideravelmente entre espécies de acordo com a capacidade de aclimação e a dependência da quantidade ou qualidade da luz (Groninger et al., 1996; Taiz & Zeiger, 2009). Desta forma, a eficiência do crescimento pode muito bem ser relacionada à capacidade de adaptação das mudas às condições luminosas do ambiente, sendo o crescimento ideal de algumas espécies em ambientes com baixa ou alta luminosidade, atribuído à plasticidade da espécie em ajustar rapidamente seu modelo de alocação de biomassa e comportamento fisiológico (Dias-Filho, 1999).

Nos programas de povoamentos florestais, a qualidade das mudas usadas é fator preponderante para o sucesso ser alcançado, por isso busca-se sempre produzir mudas em grandes quantidades, mas que possam superar as adversidades do ambiente após plantio no campo e atingir altos percentuais de sobrevivência. Na natureza, a resposta das mudas varia em relação à luminosidade, e por ser uma fonte primária de energia relacionada à fotossíntese, a luz no ambiente de viveiro influencia o crescimento das mudas e, para muitas espécies, ainda não são conhecidas as suas condições ótimas de cultivo.

A taxa fotossintética da planta é diretamente afetada pela luz, por meio de sua intensidade, qualidade e período de exposição, mas, a intensidade constitui o fator de maior relevância, pois quando acima de um limite adequado à planta, prejudica a

fotossíntese, pois causa mudanças morfológicas e fisiológicas, que levam a uma fotoinibição da planta (Moraes Neto et al., 2000).

O grau de plasticidade em relação à variação de luz inerente a cada espécie, pode ter papel fundamental na sobrevivência de plantas em ambientes heterogêneos e variáveis, como o das florestas tropicais, e pode explicar diferenças na distribuição ecológica e geográfica das espécies (Petit *et al.* 1996). Assim posto, a melhor qualidade de uma muda pode ser alcançada de maneira diferente para cada espécie.

2.7 Guanandi (*Calophyllum brasiliensis*)

Árvore nativa do Brasil, o Guanandi (*Calophyllum brasiliensis*) foi a primeira espécie a receber o título de “madeira de lei” no país, em 1835; sua madeira ainda é pouco utilizada no Brasil, em contraste com sua popularidade em outros países da América do Sul e Caribe, podendo esteticamente substituir o mogno (*Swietenia* spp.) e o cedro (*Cedrela* spp.) (CARVALHO, 2011).

O Guanandi ocorre do México até a América do Sul tropical, desde o nível do mar até 1500m de altitude; no Brasil é encontrada na Amazônia, no Cerrado e na Mata Atlântica, desde o Estado do Amazonas até Santa Catarina. Na Amazônia, é freqüentemente observada nas várzeas e igapós. Já nos cerrados, habita as matas de galeria.

Essa espécie cresce bem em solos aluviais, argilosos, sílico-argilosos ou arenosos, ácidos (pH 4,5-6,0), e apresenta excelente adaptação tanto a ambientes encharcados quanto a locais secos. Sua madeira possui boa durabilidade e resistência, o que permite seu uso na construção civil e naval, na produção de cabos de ferramentas, móveis finos, dormentes, pontes, postes, chapas, lâminas faqueadas decorativas, barris para depósito de vinhos e em trabalhos gerais de carpintaria e marcenaria.” (LORENZI, 2002).

É considerada uma espécie secundária/intermediária tardia (DURIGAN & NOGUEIRA, 1990) ou clímax tolerante à sombra (RONDON NETO et al., 1999). Apresenta regeneração natural abundante na sombra, mostrando ser uma espécie que está em expansão em matas que não sofrem pressão antrópica (KAWAGUICI & SCHIAVINI, 1995). Na produção de mudas de Guanandi, recomenda-se usar sombreamento com 50% de intensidade luminosa, na fase de viveiro (CARVALHO, 1996).

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Local do experimento

O experimento foi desenvolvido no viveiro de mudas do Departamento de Ciências Florestais da Faculdade de Ciências Agronômicas (FCA) de Botucatu, que possui Latitude 22°52'47" S, longitude 48°25'12" W e a altitude média de 810m, com um clima Cfb transição para Cwb, de acordo com sistema de classificação climático de Koppen.

3.2 Delineamento Experimental

Para a realização do experimento, as sementes de Guanandi foram coletadas de um único indivíduo adulto e saudável, na área da fazenda experimental Lageado, da FCA-UNESP, em de 2011. As sementes foram preparadas e colocadas para germinar em casa de germinação, sob umidade e luminosidade controladas.

Após o início da germinação as sementes foram transferidas para os tubetes de 250 cm³ com o substrato comercial Plantmax®, onde permaneceram na casa de germinação até o surgimento do primeiro par de folhas verdadeiras e logo após foram transferidas para o viveiro e colocadas sob malha de sombreamento (50%) para garantir que desde o início todas estivessem sobre a mesma condição de luminosidade.

No viveiro, as mudas foram divididas em 4 tratamentos com 4 repetições possuindo 10 plantas úteis cada. Os tratamentos foram: malhas de sombreamento preta 50%, azul 50%, vermelho 50% e o controle a pleno sol, onde permaneceram pelo período de 180 dias após o transplante para o viveiro (DAT). As mudas foram regadas no mínimo 3 vezes ao dia para garantir a disponibilidade de água e não receberam nenhum tipo de adubação especial, para garantir que a única variável entre os tratamentos fosse a qualidade da luz.

3.3 Trocas Gasosas

As avaliações de trocas gasosas foram realizadas das 09:00 as 11:00 horas da manhã, utilizando-se equipamento com sistema aberto de fotossíntese com analisador de

CO₂ e vapor d'água por radiação infravermelha (“*Infra Red Gas Analyser – IRGA*”, modelo LI-6400, LI-COR).

As medidas foram calculadas a partir da diferença entre a concentração de CO₂ e vapor d'água do ar da referência (valor presente na câmara sem a folha) e da amostra (valor com a folha presente na câmara), obtendo-se as concentrações de vapor d'água e CO₂ que foram liberados (transpiração – vapor d'água) e assimilados (assimilação de CO₂) pelos estômatos das folhas.

Para as avaliações foram selecionadas 8 plantas de cada tratamento, as quais foram escolhidas e padronizadas as segundas folhas totalmente expandidas.

A concentração de CO₂ de referência utilizada durante as avaliações foi a presente no ambiente, a qual variou de 380 a 400 $\mu\text{mol CO}_2 \text{ mol}^{-1}$ de ar. A fim de homogeneizar as repetições, a densidade de fluxo de fótons fotossinteticamente ativos (DFFFA), foi gerada por um diodo emissor de luz acoplado à câmara de amostragem de torcas gasosas, padronizando a luminosidade que estava presente no ambiente em cada período de avaliação, para que todas as plantas estivessem sob as mesmas condições de luz. Durante as avaliações, foram coletados dados de temperatura e umidade relativa do ar utilizando o próprio medidor de trocas gasosas.

As características de trocas gasosas analisadas foram: taxa de assimilação de CO₂ (**A**, $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), taxa de transpiração (**E**, $\text{mmol vapor d'água m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), condutância estomática (**gs**, $\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) e concentração interna de CO₂ na folha (**Ci**, $\mu\text{mol CO}_2 \text{ mol}^{-1} \text{ ar}$). Essas variáveis foram calculadas pelo programa de análise de dados do equipamento de trocas gasosas, que utiliza a equação geral de trocas gasosas de Von Caemmerer & Farquhar (1981).

As medidas de fluorescência da clorofila a foram feitas com o aparelho Fluorômetro PAM – Junior (Chlorophyll – Fluorometer) WALZ/Alemanha.

3.4 Análises bioquímicas

Para as análises bioquímicas foram realizadas coletadas em 3 períodos, aos 120, 150 e 180 dias após o transplante para o viveiro. As coletas foram realizadas as 14:00 hs, logo após o período de maior estresse oxidativo das plantas. Após a coleta, as folhas foram embrulhadas em papel alumínio e sacos plásticos, sendo posteriormente imersas em nitrogênio líquido e armazenadas em ultra *freezer* a -80 °C.

A obtenção do extrato bruto se deu através da ressuspensão do material vegetal processado (200 mg) em 2,0 mL de tampão fosfato de potássio 0,1 M com pH 6,8. Após a maceração as amostras foram colocadas para centrifugar por 10 minutos a 10000 rpm, sendo então, o sobrenadante coletado em microtubos e armazenado em ultra *freezer* a -80°C.

3.5 Determinação do teor de proteínas solúveis

A determinação, em triplicata, foi realizada de acordo com o método de Bradford (1976) utilizando o extrato obtido para determinação das enzimas. Como padrão utilizou-se a albumina de soro bovino - BSA (1 mg mL⁻¹). A leitura foi feita em 595 nm, sendo o teor de proteínas expresso em mg g massa fresca⁻¹ (M.F.).

3.6 Atividade da enzima Peroxidase (POD)

A atividade da POD foi analisada utilizando o método descrito por Lima et al. (1999) utilizando o mesmo extrato bruto das demais enzimas. Alíquotas de 1,0 mL foram colocadas em tubos de ensaio contendo H₂O₂, aminoantipirina e fenol e mantidas em banho maria a 40° C por 5 minutos. Etanol absoluto (2 mL) foi utilizado para interromper a reação e a leitura foi feita em espectrofotômetro a 505 nm. A atividade da enzima foi expressa em µmoles H₂O₂ decomposto g M.F.⁻¹.

3.7 Atividade da enzima Catalase (CAT)

A determinação da CAT foi realizada por medição em um aparelho de espectrofotômetro a um comprimento de onda de 240 nm pelo monitoramento da variação da absorção do peróxido de hidrogênio, conforme Peixoto et al. (1999). Para o teste, 50 µL de extrato bruto foram adicionados a 950 µL de tampão fosfato de potássio 50 mM pH 7,0, suplementado com peróxido de hidrogênio a uma concentração final de 12,5 mM. A variação da absorção (ΔE) foi calculada em um intervalo de 80 segundos, sendo a atividade da enzima calculada utilizando-se um coeficiente de extinção molar

$\epsilon=39,4 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$. A atividade específica ($\mu\text{Kat } \mu\text{g prot}^{-1}$) da catalase levou em consideração a concentração de proteína solúvel no teste.

3.8 Atividade da enzima Superóxido Dismutase (SOD)

A determinação da atividade da SOD leva em consideração a capacidade da enzima em inibir a fotorredução do NBT (azul de cloreto de nitrotetrazólio). A atividade foi determinada pela adição de 50 μL de extrato bruto a uma solução contendo 13 mM de metionina, 75 μL de NBT, 100 nM de EDTA e 2 μM de riboflavina em 3,0 mL de tampão fosfato de potássio 50 mM, pH 7,8. A reação iniciou pela iluminação dos tubos, em câmara composta por lâmpadas fluorescentes (15 W), a 25°C. Após 5 minutos de incubação, o final da catálise foi determinado pela interrupção da luz (GIANNOPOLITIS; RIES, 1977). O composto azul formado (formazana) pela fotorredução do NBT foi determinado pela leitura em espectrofotômetro a 560 nm. Uma unidade de SOD é definida como a atividade da enzima necessária para a inibição de 50% da fotorredução do NBT. Para o cálculo da atividade específica da enzima considera-se a porcentagem de inibição obtida, o volume da amostra e a concentração de proteína na amostra ($\mu\text{g } \mu\text{L}^{-1}$).

3.9 Atividade da enzima Nitrato Redutase (NR)

A análise da atividade da redutase de nitrato foi efetuado pelo método proposto por Brachtvogel (2010). Foram pesados 200 mg de material vegetal macerado e incubado em tubos de ensaio com 5 mL de solução tampão fosfato ($\text{K}_2\text{HPO}_4 + \text{KH}_2\text{PO}_4$, 0,1mol L⁻¹), pH 7,0 contendo 0,5 mM de KNO_3 1% de propanol e 0,5 mM de nicotinamida adenina dinucleotídeo na forma reduzida (NADH; Sigma cat. no N-605). Os tubos foram cobertos com tampa de silicone e as amostras foram submetidas à vácuo por três ciclos de um minuto com intervalo de 30 segundos, para permitir a infiltração da solução de incubação na amostra. Após, foi realizada a incubação das amostras em banho maria a 32°C por 30 minutos, mantendo as amostras no escuro. Com o término da incubação, pipetou-se uma alíquota de 1mL da solução de incubação e adicionou-se 1 mL da solução de sulfanilamida a 1% e 1 mL de solução den-naftil a 0,02%, ambas diluídas em solução de HCl a 25%. Após a filtragem em papel filtro

qualitativo, procedeu-se a quantificação do produto formado (de cor violeta/púrpura) pela leitura em espectrofotômetro de absorção atômica no comprimento de onda de 540 nm. A atividade da enzima redutase foi expressa em micromol de nitrito produzido por grama de massa fresca (M.F.) por hora ($\mu\text{mol de NO}_2 \text{ g M.F.}^{-1} \text{ h}^{-1}$).

3.10 Quantificação de pigmentos

Para a quantificação dos pigmentos foi utilizado o método proposto por Sims e Gamon, 2002, onde o extrato foi obtido utilizando solução TRIS (hydroximetil) aminomethan e acetona 80%, onde as amostras foram deixadas na geladeira por uma hora e após foi realizada a leitura no comprimentos de onda de 663 nm para Clorofila a, 647 nm para clorofila b, 537 nm para antocianina e 470 nm para os carotenóides.

3.11 Área Foliar

A área foliar de planta inteira foi determinada por intermédio de um integrador de área, Area Meter modelo Li-3100, da LI-COR e expressa em cm^2 .

3.12 Massa fresca e massa seca

A massa seca da parte aérea foi determinada após a pesagem da massa fresca, sendo as amostras colocadas em estufa com circulação de ar a 72°C onde permaneceram até atingir peso constante. Tanto a massa fresca como a massa seca foram expressas em gramas.

3.13 Índice de Qualidade de Dickson

Para se averiguar a qualidade das mudas foi utilizado o índice de qualidade de Dickson (IQD), que foi determinado em função da altura da parte aérea (H), do diâmetro do coleto (DC), do peso de matéria seca da parte aérea (PMSPA) e do peso de matéria seca das raízes (PMSR), por meio da fórmula (Dickson et al., 1960):

$$IQD = \frac{PMST (g)}{H(cm) / DC(mm) + PMSPA (g) / PMSR (g)}$$

3.14 Análise Estatística

Para análise estatística, todos os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância (teste F), sendo as médias comparadas pelo teste Tukey a 5% de probabilidade, utilizando o programa de computador SISVAR.

4. RESULTADOS

4.1 BIOMETRIA

Foram analisadas as características biométricas das mudas submetidas aos quatro tratamentos, sendo elas a massa seca de raiz, caule e folha, altura, diâmetro de colo e área foliar aos 120, 150 e 180 dias após o transplante. Diversos parâmetros têm sido utilizados para estabelecer as bases da adaptabilidade das plantas às condições de maior ou menor grau de sombreamento. Dentre estes, parâmetros fisiológicos, morfológicos e ecológicos são frequentemente avaliados, onde as variáveis de crescimento têm ocupado posição de destaque (Engel, 1990).

O acúmulo de massa seca foi maior para as plantas cultivadas sob pleno sol em todas as épocas analisadas, tendo uma massa seca total superior aos outros tratamentos (Tabela 1), concordando com Ferreira *et al.* (1977), os quais utilizando sombreamento de 70%, 50%, 25% e a pleno sol, concluíram que este último tratamento proporcionou maior produção de massa seca total em mudas de faveira (*Peltophorum dubium*) e em mudas de Jatobá (*Hymenaea stigonocarpa*).

Tratamentos	120 DAT	150 DAT	180 DAT
Pleno Sol	47,37 a	53,96 a	69,76 a
50% Azul	40,62 ab	49,35 a	46,39 b
50% Vermelho	28,91 bc	41,67 a	56,00 ab
50% Preto	30,33 c	47,17 a	53,14 ab
C.V(%)	21,74	15,06	16,75

Tabela 7. Área foliar média das mudas de Guanandi aos 120, 150 e 180 DAT (Dias após transplante), cultivadas no viveiro da FCA-UNESP-Botucatu, 2012.

É importante se destacar o fato de que a maior área foliar apresentada pelas mudas cultivadas a pleno sol pode ter sido favorecida pelo aumento da média do número de folhas por planta e não pelo aumento da área foliar individual, revelando uma característica de adaptação da planta à luminosidade do ambiente, modificando a sua morfologia em benefício de seu metabolismo em face do ambiente luminoso ao qual as mudas foram submetidas.

4.2 ÍNDICE DE QUALIDADE DAS MUDAS

Além das características biométricas, utilizou-se um índice que se baseia nessas características para se identificar o tratamento que proporcionou mudas de melhor qualidade. O Índice de qualidade de Dickson (IQD), leva em consideração o peso total de massa seca e a altura, diâmetro de colo, massa seca de parte aérea e radicular.

Como esperado, as plantas cultivadas a pleno sol obtiveram melhor IQD ao chegarem aos 180 DAT (Figura X), sendo seguidas pelas mudas sob tela 50% vermelha.

Tratamentos	120 DAT	150 DAT	180 DAT
Pleno Sol	1,87 ab	1,42 b	1,88 ab
50% Azul	1,71 ab	2,01 a	1,88 ab
50% Vermelho	1,31 b	1,11 b	0,99 c
50% Preto	3,22 a	1,97 a	2,64 a
C.V(%)	42.71	14.53	43.39

Tabela 12. Teor total de Clorofila b ($\mu\text{mol/g}$) das mudas de Guanandi aos 120, 150 e 180 DAT (Dias após transplante), cultivadas no viveiro da FCA-UNESP-Botucatu, 2012.

Os teores de antocianinas encontrados evidenciam que o tratamento sob tela 50 % vermelha obteve desempenho inferior aos outros tratamentos, tendo os piores resultados aos 120 e 180 DAT (Tabela 13). Notamos também que os teores de antocianina encontrados possuem uma relação grande com os teores de carotenóides (Tabela 14) e ao observarmos o desempenho das mudas ao longo das épocas, notamos a grande semelhança entre os comportamentos apresentados entre o teor desses pigmentos.

Tratamentos	120 DAT	150 DAT	180 DAT
Pleno Sol	28,63 a	17,80 b	19,13 a
50% Azul	21,16 ab	29,54 a	22,65 a
50% Vermelho	19,23 b	17,38 b	15,11 b
50% Preto	22,62 ab	15,38 b	24,28 a
C.V(%)	16.02	10.21	26.46

Tabela 13. Teor total Antocianina ($\mu\text{mol/g}$) das mudas de Guanandi aos 120, 150 e 180 DAT (Dias após transplante), cultivadas no viveiro da FCA-UNESP-Botucatu, 2012.

Essa similaridade nos teores de antocianinas e carotenóides encontrada nos tratamentos ao longo das épocas pode ser explicada pelo fato de ambos possuírem funções biológicas muito importantes como, a função de antioxidantes, proteção à ação

da luz, mecanismo de defesa entre outras funções no metabolismo e fisiologia das mudas.

Tratamentos	120 DAT	150 DAT	180 DAT
Pleno Sol	1204,31 a	796,82 ab	867,50 ab
50% Azul	924,95 bc	1181,65 a	887,24 ab
50% Vermelho	607,52 c	761,45 b	642,65 b
50% Preto	1115,08 ab	628,29 b	995,91 a
C.V(%)	12.92	23.49	18.08

Tabela 14. Teor total Carotenóides ($\mu\text{mol/g}$) das mudas de Guanandi aos 120, 150 e 180 DAT (Dias após transplante), cultivadas no viveiro da FCA-UNESP-Botucatu, 2012.

4.5 Atividade Enzimática

4.5.1 Catalase

Após a dismutação do superóxido em peróxido de hidrogênio pela SOD, os níveis intracelulares de H_2O_2 necessitam serem regulados e isso ocorre através de uma grande variedade de enzimas, sendo as mais importantes as peroxidases e as catalases, localizadas em quase todas as partes da célula (BLOKHINA et al., 2003), isso mostra a intensa relação entre as três principais enzimas antioxidantes.

A Catalase não apresentou diferença significativa entre os tratamentos em nenhuma época (Tabela 15), mas o tratamento a pleno sol chega aos 180 DAT com uma atividade maior da CAT em relação aos outros tratamentos (Figura 15), mesmo essa diferença não sendo significativa estatisticamente.

Tratamentos	120 DAT	150 DAT	180 DAT
Pleno Sol	0,30 a	0,24 a	0,34 a
50% Azul	0,35 a	0,36 a	0,23 a
50% Vermelho	0,20 a	0,31 a	0,19 a
50% Preto	0,27 a	0,24 a	0,25 a
C.V(%)	54.22	46.08	51.08

Tabela 15. Atividade da Catalase ((Kat)mKat µg proteína) das mudas de Guanandi aos 120, 150 e 180 DAT (Dias após transplante), cultivadas no viveiro da FCA-UNESP-Botucatu, 2012

A catalase, juntamente com a SOD é considerada a mais eficiente entre as enzimas antioxidantes. Ambas apresentam uma função combinada, de modo que a CAT converte o H₂O₂, originado em função da atividade da SOD, em H₂O e O₂ (SCANDALIOS, 1993), e isso pode explicar a relação apresentada entre as duas enzimas em todos os tratamentos aplicados às mudas de Guanandi.

4.5.2 Superóxido dismutase (SOD)

Similarmente ao encontrado com a catalase, a enzima Superóxido dismutase (SOD) também não apresentou diferença significativa entre os tratamentos ao final dos 180 DAT (Tabela 16), As atividades da CAT e da SOD para o tratamento a pleno sol tiveram um aumento ao longo do tempo tendo a CAT um aumento mais acentuado,.

Tratamentos	120 DAT	150 DAT	180 DAT
Pleno Sol	1065,30 b	1233,29 a	1217,08 a
50% Azul	1759,21 a	1321,28 a	1218,38 a
50% Vermelho	1577,56 ab	1307,08 a	1074,02 a
50% Preto	1650,07 a	1134,16 a	1228,46 a
C.V(%)	17.58	19.59	13,34

Tabela 16. Atividade da Superóxido dismutase (SOD) (U/mg prot) das mudas de Guanandi aos 120, 150 e 180 DAT (Dias após transplante), cultivadas no viveiro da FCA-UNESP-Botucatu, 2012.

4.5.3 Peroxidase (POD)

As peroxidases são consideradas as mais importantes na eliminação de H_2O_2 no citosol e nos cloroplastos. Sua atividade é frequentemente aumentada em resposta ao estresse, pois a proteção celular contra as reações oxidativas é uma das principais funções dessa enzima (SIEGEL, 1993).

Os tratamentos Azul e pleno sol apresentaram uma maior atividade da peroxidase (POD), em relação aos outros tratamentos em todas as épocas (Tabela 16).

Tratamentos	120 DAT	150 DAT	180 DAT
Pleno Sol	18,56 a	19,36 a	13,05 ab
50 % Azul	20,60 a	18,20 ab	16,90 a
50% Vermelho	17,38 ab	12,02 bc	7,86 bc
50% Preto	9,84 b	8,63 c	4,99 c
C.V(%)	22.31	22.24	24.88

Tabela 17. Atividade da Peroxidase POD ($\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg prot}$) das mudas de Guanandi aos 120, 150 e 180 DAT (Dias após transplante), cultivadas no viveiro da FCA-UNESP-Botucatu, 2012.

Os resultados encontrados nas atividades das enzimas SOD, POD e CAT, apresentaram uma grande similaridade entre os tratamentos no geral, mostrando que a diferença de luminosidade entre os tratamentos não causou um estresse oxidativo nas plantas a ponto de ser necessário uma atuação mais contundente do sistema anti oxidante nos tratamentos, contudo todas as enzimas tiveram seu papel na aclimação das mudas ao ambiente luminoso imposto.

4.5.4 Nitrato redutase

O nitrogênio, dentre os elementos minerais, é o mais abundante nas plantas e é geralmente, um dos principais fatores limitantes para o seu crescimento. É encontrado em moléculas importantes, tais como proteínas e ácidos nucleicos (RNA e DNA). As plantas têm a capacidade de assimilar o nitrogênio inorgânico do ambiente e sintetizar os 22 aminoácidos encontrados nas proteínas, bem como todos os outros compostos orgânicos nitrogenados (KERBAUY, 2004).

A atividade da enzima Nitrato redutase foi consideravelmente maior no tratamento a pleno sol com relação aos outros tratamentos (Tabela 18) tendo o tratamento sob tela 50% vermelha como segundo melhor. fato esse que nos ajuda a entender a maior assimilação líquida de CO₂ pelas mudas de Guanandi a pleno sol e em segundo pela tela vermelha, visto que a atividade da enzima é influenciada pela luz e as alterações diárias na fotossíntese influenciam a expressão e a atividade da nitrato redutase, variando de acordo com o dia e a noite, levando a enzima a ter um pico de produção no final da noite e nas primeiras horas do dia (YANG & MIDMORE, 2005), revelando sua importância e influência nas taxas assimilatórias das mudas.

Tratamentos	120 DAT	150 DAT	180 DAT
Pleno Sol	6,21 a	4,89 a	5,85 a
50% Azul	5,17 c	2,78 b	2,61 c
50% Vermelho	2,87 b	4,44 a	4,90 b
50% Preto	2,82 c	2,74 b	2,99 c
C.V(%)	11.45	19.72	10.37

Tabela 18. Atividade da Nitrato redutase (μg nitrito/min/g MF) das mudas de Guanandi aos 120, 150 e 180 DAT (Dias após transplante), cultivadas no viveiro da FCA-UNESP-

5. Fluorescência da Clorofila a

Devido a problemas com o aparelho de medidas, só foi possível realizar medidas de fluorescência da clorofila aos 120 e 180 DAT. Os resultados apresentados nos mostram que não houveram diferenças significativas entre os tratamentos (Tabela 17), porém o tratamento Vermelho apresentou uma ligeira inferioridade em relação aos outros tratamentos nas duas medidas.

Os dados mostram que os tratamentos não causaram uma fotoinibição das mudas, nem mesmo pela alta luminosidade do pleno sol, que mostrou não prejudicar as mudas, não causando dissipação do excesso de energia pela fluorescência. Até mesmos as mudas cultivadas sob tela vermelha, que apresentaram uma aparente fotoinibição, não tiveram suas taxas assimilatórias e seu crescimento afetados, mostrando a capacidade de aclimação e resposta da planta, utilizando sua maquinaria bioquímica.

Tratamentos	120 DAT	180 DAT
Sol	0.71 a	0.72 a
Azul	0.72 a	0.72 a
Vermelho	0.63 a	0.60 a
Preto	0.75 a	0.74 a
C.V(%)	15.65	13.29

Tabela 19. Eficiência quântica do FS II (F_V/F_M) das mudas de Guanandi aos 120, 180 DAT (Dias após transplante), cultivadas no viveiro da FCA-UNESP-Botucatu, 2012.

6. Discussão

De acordo com os resultados apresentados, o tratamento a pleno sol proporcionou mudas com maior vigor e maior qualidade, pois a resposta da planta à luz solar pode ser avaliada por meio da análise de características de crescimento, como a altura, o peso da matéria seca, a relação raiz/parte aérea e o diâmetro do coleto (FELFILI *et al.*, 1999). Todos os principais resultados biométricos mostraram que o sombreamento das mudas de Guanandi, até os 180 dias após o transplante para o viveiro, apresentaram um desempenho inferior às mudas cultivadas a pleno sol. É sabido que os ganhos de biomassa e crescimento das plantas estão fortemente relacionados às taxas fotossintéticas das plantas. As mudas cultivadas a pleno sol apresentaram uma maior taxa de assimilação líquida de CO₂ e maiores taxas na fotossíntese e mesmo expostas a radiação máxima, não apresentaram uma fotoinibição do aparato fotossintético. Segundo Long *et al.* (1994), a fotoinibição é um processo fisiológico caracterizado pela redução lenta e reversível da fotossíntese como resultado da exposição à luz solar plena, fato esse que não foi encontrado nas mudas, que ao contrário apresentaram aumento na taxa fotossintética (Tabela 9).

Quando ocorre a fotoinibição, a sua intensidade pode ser avaliada por redução na eficiência quântica do fotossistema II (relação Fv/Fm), pois comumente, esta característica da fluorescência é usada como indicador de estresse, quando fatores bióticos ou abióticos alteram a funcionalidade do fotossistema II (FSII) e esse foi um outro aspecto que não foi observado nas mudas de guanandi a pleno sol, pois em todas as avaliações de fluorescência realizadas, as medidas não indicaram a ocorrência de fotoinibição (Tabela 19). Um fato importante que há de ser ressaltado é que a suscetibilidade à fotoinibição depende, principalmente, da espécie em questão e do ambiente de luz de crescimento (Osmond, 1994), pois a característica de aclimação e adaptação a um determinado ambiente é inerente a cada espécie, podendo ser variável até mesmo dentro de uma mesma espécie, a depender do ambiente que a cerca.

Algumas das principais mudanças, decorrentes de aumento na quantidade de luz, são aumento na maior alocação de biomassa para as raízes (Osunkoya *et al.* 1994); variação na altura do caule (Poorter 1999), características que foram apresentadas pelas plantas a pleno sol, como mostrado nas Tabelas 2 e 5 respectivamente.

Outra característica importante na taxa de assimilação de uma planta é a área foliar, e as plantas cultivadas a pleno apresentaram uma área foliar superior aos outros tratamentos em todas as épocas de avaliação (Tabela 7). É importante ressaltar que a maior área foliar apresentada pelas mudas a pleno sol se deu por aumento do número médio de folhas por planta, e não pelo aumento da área individual das folhas, mostrando que a capacidade de alterar a estrutura das folhas em resposta a diferentes níveis de luz é um atributo comum das espécies que apresentam amplo potencial de aclimatação (Bjorkman, 1981). Todos os índices mostrados anteriormente dão o suporte necessário para calcularmos um importante índice de qualidade das mudas, o índice de qualidade de Dickson (IQD), que foi superior para as mudas cultivadas a pleno sol aos 180 DAT (Figura 1), ressaltando que morfologicamente, as mudas cultivadas a pleno sol apresentaram melhor qualidade em relação às mudas que foram sombreadas, indicando que após serem levadas ao campo alcançariam maior taxa de sobrevivência.

Para as mudas de Guanandi utilizadas para esse trabalho, ficou muito claro que a intensidade luminosa gerada pelo tratamento a pleno sol favoreceu a fotossíntese, com aumento na taxa de assimilação de CO₂ alcançando resultado melhor que os outros tratamentos em todas as épocas (Tabela 9), esse fato demonstra que a evolução natural das plantas tem seguido um caminho entre maximizar a captura de luz para aumentar a fotossíntese e minimizar o dano potencial que resulta de excesso de luz no aparelho fotossintético (Long et al., 1994), visto que a luz difere dos outros elementos climáticos na natureza pela sua amplitude e taxa de sua variação ao longo até mesmo de um dia.

Um fator que é essencial no controle das trocas gasosas é a abertura estomática, pois através dos estômatos ocorre a entrada e saída dos gases fundamentais à planta. As mudas cultivadas sob tela 50% azul apresentaram ao final dos 180 DAT maior abertura estomática comparadas aos outros tratamentos (Tabela 10). Esse fato é explicado pelo fato de a abertura estomática ser mediada por acumulação de sal K⁺ nas células-guarda, e esse acúmulo de K⁺ através do canal de K⁺ voltagem-dependente é acionada por um potencial elétrico através da membrana plasmática (Hedrich e Schroeder, 1989; Assmann, 1993). Este potencial elétrico é criado por uma bomba de H⁺ ativada pela luz azul, que tem sido sugerida ser H⁺-ATPase da membrana plasmática (Assmann et al, 1985;. Shimazaki et al, 1986;. Schroeder, 1988;. Schwartz et al, 1991 ; Amodeo et al, 1992).

É importante notar que a partir dos 150 DAT as mudas a pleno sol mostraram diminuição na abertura estomática, mas isso não acarretou em uma queda na taxa

assimilatória, mostrando que o CO₂ não foi um fator limitante para as plantas; em contra partida o aumento da condutância estomática nas mudas sob tela azul não resultou em aumento na taxa assimilatória líquida, mostrando que o CO₂ disponível não foi suficiente para proporcionar aumento na fotossíntese.

As alterações luminosas no ambiente de cultivo proporcionam ajustes do aparelho fotossintético das plantas, os quais resultam na maior eficiência na absorção e transferência de energia para os processos fotossintéticos. Nesse contexto, os teores dos pigmentos cloroplastídicos como a clorofila e carotenóides, podem ser utilizados como importantes marcadores de ambientação do vegetal, sendo o conteúdo de clorofila nas folhas frequentemente utilizado para estimar o potencial fotossintético das plantas, pela sua ligação direta com a absorção e transferência de energia luminosa. Entretanto, nem sempre esta relação existe pois a etapa bioquímica da fotossíntese (fase escura) pode limitar o processo (PORRA et al, 1989; CHAPPELLE & KIM, 1992).

Os resultados apresentados pelas mudas avaliadas não mostraram correlação entre os teores de clorofila e as taxas de assimilação de CO₂ para as mudas cultivadas a pleno sol, pois apresentaram redução nos teores de clorofila (Tabela 11), mas não apresentaram redução similar na taxa de assimilação líquida das mesmas. Por outro lado, as mudas cultivadas sob tela 50% azul e 50% vermelha apresentaram um padrão entre os teores de clorofila a e a assimilação líquida. Os teores de clorofila b mostraram um padrão semelhante aos da clorofila a para todos os tratamentos (Tabela 12), mostrando que uma correlação entre os teores das clorofilas não foi influenciada pelos tratamentos.

O estresse provocado na planta pela luz é frequente sob condições tropicais, sendo a concentração de clorofilas e carotenóides indicadores da suscetibilidade da planta à intensidade da luz (VIEIRA, 1996). As clorofilas tendem a ser foto-oxidadas sob alta irradiação e, devido aos carotenóides poderem prevenir a foto-oxidação das clorofilas, a relação entre as clorofilas e carotenóides pode ser usada como um indicador potencial de perdas foto-oxidativas causadas por fortes irradiações (HENDRY & PRICE, 1993); isso explica a relação apresentada entre os teores de clorofila a e carotenóides em todos os tratamentos (Tabela 14).

Os teores de antocianinas e os carotenóides mostraram resultados muito semelhantes, pois aos 150 DAT as mudas sob tela 50% azul apresentavam os maiores teores de antocianina apresentando queda em seguida, chegando aos 180 DAT com teor inferior aos das mudas sob tela 50% preta (Tabela 13). Essa relação entre os teores de

antocianina e carotenóides pode ser explicada por ambos desempenharem um papel importante na defesa da planta ao estresse oxidativo e como fotoprotetores. Evidências da participação das antocianinas na fotoproteção foram obtidas a partir de estudos sobre plântulas de pinheiro sujeitas a pressões variáveis de luminosidade (Krol et al., 1995).

Recentemente, Smillie & Hetherington (1999) demonstraram que, agindo como tela de luz visível, as antocianinas podem proteger tecidos fotossintéticos contra fotoinibição. Posteriormente, eles propuseram que as antocianinas têm uma função geral na fotoproteção de tecidos vegetativos que estão predispostos a fotoinibição, pois antocianinas podem modificar significativamente a quantidade e a qualidade da luz incidente sobre os cloroplastos (Krol et al, 1995; Ntefidou & Manetas, 1996); além disso a proteção contra danos oxidativos pode ocorrer às expensas de aumento na dissipação térmica da energia de excitação, por meio de carotenóides, ou via metabolismo das ERO's (e.g., peróxido de hidrogênio, oxigênio singleto, radical hidroxil), em função da maior atividade do sistema antioxidativo (Asada 1999).

A fotossíntese é uma fonte muito bem estabelecida de espécies reativas de oxigênio (EROs) em plantas. A cadeia de transporte de elétrons na fotossíntese opera em um ambiente aeróbico, assim, sistemas de regulação são necessários para minimizar a produção de EROs. Além disso, sistema antioxidante eficiente é também essencial para o processamento eficaz das EROs, e evitar que elas possam causar danos ao metabolismos celular e prejudicar o crescimento das plantas.

Os ensaios mostraram que o tratamento a pleno sol chegou aos 180 DAT com uma maior atividade da catalase em relação aos outros tratamentos, iniciando o aumento aos 150 DAT, mesma época em que os tratamentos 50% azul e 50% vermelho começaram a apresentar declínio na atividade da catalase (Tabela 15), mostrando que o aumento na atividade da enzima nas mudas cultivadas a pleno sol pode ter tido papel importante na aclimação e no melhor desempenho fotossintético das mudas em questão, visto que já estavam há muitos dias sob a luz ambiente e seu aparato enzimático se mostrou preparado para tal condição.

Os radicais hidroxila (e seus derivados) são uma das espécies químicas mais reativas conhecidas (Halliwell 1987; Cadenas 1989; Halliwell e Gutteridge 1989;), capaz de reagir de forma indiscriminada e causar a peroxidação lipídica, a desnaturação das proteínas, e a mutação de DNA. A peroxidação de lípidos é geralmente utilizada como um indicador de estresse oxidativo, embora esse possa ser causado também por outras espécies reativas.

Por isso, a quantidade de estresse oxidativo potencial é dependente do estado fotossintético do cloroplasto. Em geral, os radicais superóxido são mais suscetíveis a serem formados durante os períodos de atividade fotossintética elevada, onde distúrbios de reações fotossintéticas normais aumentam ainda mais essa probabilidade. É interessante notar que a atividade da Superóxido dismutase nos tratamentos 50% azul, 50% vermelho e 50% preto teve um início alto e foi diminuindo ao longo dos períodos (Tabela 16), mostrando relação inversa com a taxa de assimilação líquida desses mesmos tratamentos (Tabela 9), mostrando que inicialmente as telas podem ter gerado estresse, mas ao longo do tempo a planta se adaptou e aumentou sua assimilação. Por outro lado para as mudas a pleno sol a atividade da SOD acompanhou a taxa de assimilação, mostrando uma outra estratégia da planta para maximizar suas taxas fotossintéticas.

Os tratamentos 50% azul e a pleno sol apresentaram atividade da peroxidase superior aos outros tratamentos (Tabela 17), e devido ao seu papel na prevenção e proteção aos efeitos do estresse oxidativo torna-se uma enzima chave no processo de aclimação das mudas, visto que os tratamentos acima mencionados obtiveram as melhores taxas de assimilação líquida.

A capacidade fotossintética das folhas está correlacionada positivamente com o seu teor de Nitrogênio, presumivelmente pelo fato de a maior parte do Nitrogênio ser utilizado na síntese de componentes do aparato fotossintético. As relações entre a assimilação de carbono fotossintético e a assimilação de Nitrogênio nas folhas já foram estudadas extensivamente (Bloom et al, 1989,.. De LaTorre et al, 1991). Nas folhas a modulação das atividades da PEP carboxilase e da Nitrato redutase apontam uma contribuição para a sincronização da assimilação de Nitrogênio, a fixação de carbono e o seu fracionamento . (Champigny e Foyer, 1992; Huber et al., 1992; Manh et al, 1994). Burstrom em 1943, obteve evidências de que folhas de trigo reduzem nitrato à luz, mas não no escuro, concluindo que a redução de nitrato estava diretamente ligada a uma reação fotoquímica, ou que ocorre comcomitantemente com a fixação e redução do CO₂. Em contrapartida, Delwiche (1951) utilizando Nitrogênio iônico demonstrou que as plantas de tabaco metabolizam o nitrato de amônia no escuro, bem como à luz, e esses estudos nos mostram que a utilização do nitrogênio e de seus compostos depende da espécie em questão.

As mudas de Guanandi cultivadas a pleno sol apresentaram atividade da enzima Nitrato redutase superior aos outros tratamentos em todas as épocas (Tabela 18),

mostrando íntima relação entre a atividade da enzima com as taxa fotossintéticas, demonstrando a importância do Nitrogênio no processo de fotossíntese. Outro fato a ser ressaltado é que as mudas a pleno sol e sob tela 50% vermelha apresentaram as maiores atividades da nitrato redutase, o que levou essas mudas a obterem ao final dos 180 DAT as maiores médias de área foliar (Tabela 7), massa seca total (Tabela 1), massa seca de raiz (Tabela 2), altura média (Tabela 5), diâmetro de colo (Tabela 6) e por fim os melhores IQD (Figura 1), demonstrando a importância da enzima Nitrato redutase para o desempenho das mudas de Guanandi.

A importância da nitrato redutase para se obter mudas de melhor qualidade fica mais evidente quando observamos os resultados apresentados pelas mudas com relação à fluorescência da clorofila *a*, pois as mudas cultivadas sob tela 50% vermelha apresentaram uma eficiência quântica do FS II (F_v/F_M) menor que os outros tratamentos, mostrando que mesmo com essa pequena fotoinibição, talvez causada em decorrência da luz modulada pela tela 50% vermelha, as plantas souberam mudar sua fisiologia buscando alcançar melhor desempenho metabólico.

7. Conclusão

Considerando a importância da fase de produção de mudas para o cultivo de espécies florestais nativas e a carência de conhecimentos básicos para sua produção, o objetivo deste trabalho foi avaliar parâmetros fisiológicos de mudas de Guanandi produzidas sob o efeito de sombreamento. Em nosso estudo foi constatado que o tratamento a pleno sol foi o que proporcionou mudas de melhor qualidade, mostrando que uma espécie considerada de secundária tardia à climax mostrou um grande poder de aclimação e usou a grande quantidade de radiação para maximizar seu metabolismo, visto que sua aclimação à luz incidente ocorre no sentido de maximizar o ganho total de carbono. Entretanto essa resposta pode variar consideravelmente entre espécies, de acordo com sua capacidade de aclimação e a dependência da quantidade ou qualidade da luz (PACHECO & PAULILO, 2009) e que a capacidade de aclimação à mudanças na intensidade de luz é variável de espécie para espécie e pode depender do gradiente de luz que as espécies recebem (Poorter 1999).

7. Referências Bibliográficas

ALMEIDA, L. P. De, ALVARENGA, A. A. De; CASTRO, E. M. De; ZANELA, S. M.; VIEIRA, C. V. **Crescimento inicial de plantas de *Cryptocaria aschersoniana* Mez. Submetidas a níveis de radiação solar.** *Ciência Rural*, Santa Maria, v. 34, n. 1, p. 83-88, 2004.

ALMEIDA, M. L.; MUNDSTOCK, C. M. **O afilhamento da aveia afetado pela qualidade de luz em plantas sob competição.** *Ciência Rural*, v. 31, n. 3, p. 393-400, 2001.

AMODEO,G., SRIVASTAVA,A. AND ZEIGER, E. **Vanadate inhibits blue light-stimulated swelling of *Vicia* guard cell protoplasts.** *Plant Physiol.*, 100, 1567–1570., 1992.

APEL, K.; HIRT, H. **Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and signal transduction.** *Annual Review of Plant Biology*, Palo Alto, v. 55, p. 373-399, 2004.

ARNON , D. I. **Sunlight, earth, life: The grand design of photosynthesis.** *The sciences* (Oct): 22-27, 1982.

ASADA K. **The water-water cycle in chloroplasts: scavenging of active oxygens and dissipation of excess photons.** *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*, 50, 601-639, 1999.

ASSMANN, S.M.; SHYMAZAKI, K. **The multisensory guard cell. Stomatal responses to blue light and abscisic acid.** *Plant Physiology*, American Society of Plant Physiologists, v. 119, p. 809-815, 1999.

ASSMANN, S. M. **Signal transduction in guard cells.** *Annu. Rev. Cell Biol.*, 9, 345–375., 1993.

ASSMANN, S. M., SIMONCINI, L. AND SCHROEDER ,J. I. **Blue light activates electrogenic ion pumping in guard cell protoplasts of *Vicia* with vanadate uptake.** *Planta*, 183, 590–596, 1981.

ATROCH, E. M. A. C.; SOARES, A. M.; ALVARENGA, A. A. De; CASTRO, E. M, **Análise de. Crescimento, teor de clorofilas, distribuição de biomassa e características anatômicas de plantas jovens de *Bauhinia forticata* LINK submetidas à diferentes condições de sombreamento.** *Ciência e Agrotecnologia*, Lavras, v. 25, n. 4, p. 853–862, 2001

BJÖRKMAN O. **Responses to different quantum flux densities.** In *Physiological Plant Ecology I. Responses to the Physical Environment* (eds O.L. Lange, P.S. Nobel, C.B. Osmond & H. Ziegler). *Encyclopedia of Plant Physiology, New Series, Vol. 12A*, pp. 57–107. Springer-Verlag, Berlin, 1981

BJORKMAN, O. **Responses to different quantum flux densities.** in: LANGE, O.L.; NOBEL, P.S.; OSMOND, C.B. & ZIEGLER, H. (eds). *Encyclopedia of Plant Physiology: Physiological Plant Ecology I.* New York, Springer-Verlag, V.12a. (New series), p.57-107, 1981.

BLOKHINA, O.; VIROLAINEN, E.; FAGERSTEDT, K. V. **Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress: a review.** *Annals of Botany, London*, v. 91, n. 2, p. 179-194, 2003.

BLOKHINA, O.; VIROLAINEN, E.; FAGERSTEDT, K. V. **Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress: a review.** *Annals of Botany, London*, v. 91, n. 2, p. 179-194, 2003.

BLOKHINA, O.; VIROLAINEN, E.; FAGERSTEDT, K. V. **Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress: a review.** *Annals of Botany, London*, v. 91, n. 2, p. 179-194, 2003.

BLOOM AJ, CALDWELL RM, FINAZZO J, WARNER RL, WEISSBART J. **Oxygen and carbon dioxide fluxes from barley shoots depend on nitrate assimilation.** *Plant Physiol*91: 352-356, 1989.

BOWLER, C.; MONTAGU, M. V.; INZÉ, D. **Superoxide dismutase and stress tolerance.** *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology, Palo Alto*, v. 43, p. 83-116, 1992.

BROUWER R. **Distribution of dry matter in the plant.** *Netherlands Journal of Agricultural Sciences* **10**, 361–376, 1962.

BUCHANAN, B. B., GRUISSEM, W.; JONES, R. L. **Biochemistry and molecular biology of plants**. Rockville: American Society of Plant Physiologists, 2000. 1367p

BURSTROM, H. **Photosynthesis and assimilation of nitrate by wheat leaves**. Ann. Rev. Agr. Coll. Sweden II. 1-50, 1943.

CADENAS, E. **Biochemistry of oxygen toxicity**. Annu. Rev. Biochem. 58:79-110, 1989.

CAMPOS, M.A.A.; UCHIDA, T. **Influência do sombreamento no crescimento de mudas de três espécies amazônicas**. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 37 (3): 281-288, 2002.

CARVALHO, D.A. de; OLIVEIRA-FILHO, A.T. de; VILELA, E. De A. **Flora arbustivo-arbórea de mata ripária do médio Rio Grande (Conquista, Estado de Minas Gerais)**. *Cerne*, Lavras, v.2, n.2, p.48-68, 1996.

CARVALHO, P. E. R. **Influência da intensidade luminosa e do substrato no crescimento, no conteúdo de clorofila e na fotossíntese de *Cabralea canjerana* (Vell.) Mart. *Calophyllum brasiliense* Camb. e *Centrolobium robustum* (Vell.) Mart. ex Benth., na fase juvenil**. 157 f. Tese (Doutorado) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 1996.

CARVALHO, P. E, R. **Espécies Arbóreas Brasileiras. Volume IV**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica; Colombo, PR: Embrapa, 2011.

CATANEO, A. C. **Métodos espectrofotométricos para a determinação de enzimas relacionadas ao estresse em material vegetal**. Material didático, 2008. Não paginado.

CHAMPIGNY M. L., FOYER C. H. **Nitrate activation of cytosolic protein kinases diverts photosynthetic carbon from sucrose to amino acid biosynthesis**. Basis for a new concept. *Plant Physiol*, 100: 7-12, 1992.

CHANG, C. J.; KAO, C.H. **H₂O₂ metabolism during senescence of rice leaves: changes in enzyme activities in light and darkness**. *Plant Growth Regulation*, Dordrecht, v. 25, p. 11-15, 1998.

CHAPPELLE, E. W.; KIM, M. S. **Ratio analysis of reflectance spectra (RARS): na algorithm for a remote estimation of the concentrations of chlorophyll A,**

chlorophyll B, and carotenoids in soybean leaves. Remote Sensing of Environment, New York, v. 39, p. 239- 247, 1992.

CHAZDON, R. L.; PEARCY, R. W.; LEE, D. W. & FETCHER, N. **Photosynthetic responses of tropical forest plants to contrasting light environments.** P. 643. In: S.S. Mulkey.; R.L. Chazdon. & A.P. Smith. Tropical forest plant ecophysiology. New York, Chapman & Hall., 1996.

COSTA, G. F.; MARENCO, R. A. **Fotossíntese, condutância estomática e potencial hídrico foliar em árvores jovens de andiroba (*Carapa guianensis*).** Acta Amazonica . 37: 229-234, 2007.

DE LATORRE A, DELGADO B, LARA C **Nitrate-dependent θ , evolution in intact leaves.** Plant Physiol. 96 898-901, 1991.

DELUWICHE, C. C. **The assimilation of ammonia and nitrate ions by tobacco plants.** Jour. Biol. Chem. 189: 167-175,1951.

DIAS, A. P. S.; RINALDI, M. C. S.; MORAES, R. M. **Alterações bioquímicas associadas a injúrias foliares visíveis em plantas jovens de *Psidium guajava* ‘Paluma’ mantidas em ambiente contaminado por ozônio.** Hoehnea, São Paulo, v. 34, n. 2, p. 231-238, 2007.

DIAS-FILHO, M. B. **Physiological responses of two tropical weeds to shade. I. Growth and biomass allocation.** *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 34 (6): 945-952, 1999.

DICKSON, A.; LEAF, A. L.; HOSNER, J. F. **Quality appraisal of white spruce and white pine seedling stock in nurseries.** For. Chron., v. 36, p. 10-13,1960.

DURIGAN, G.; NOGUEIRA, J.C.B. **Recomposição de matas ciliares.** São Paulo: Instituto Florestal, 14p., 1990.

ENGEL, V. L. **Influência do sombreamento sobre o crescimento de mudas de essências nativas, concentração de clorofila nas folhas e aspectos de anatomia.** 202 f. Tese (Mestrado) - ESALQ, Piracicaba, 1989.

ENGEL, V. L., POGGIANI F. **Influência do sombreamento sobre o crescimento de mudas de algumas essências nativas e suas implicações ecológicas e silviculturais.** IPEF, n.43/44, p.1-10, jan./dez, 1990.

EVANS J. R. & SEEMANN J. R. **The allocation of protein nitrogen in the photosynthetic apparatus: costs, consequences, and control.** In *Photosynthesis* (ed. W.R. Briggs), pp. 183–205. A.R. Liss, New York, 1989.

FELFILI, J. M.; HILGBERT, L. F.; FRANCO, A. C.; SOUZA-SILVA, J. C.; RESENDE, A. V. & NOGUEIRA, M. V. P. **Comportamento de plântulas de *Sclerolobium paniculatum* Vog. Var. *Rubiginosum* (Tul.) Benth. Sob diferentes níveis de sombreamento, em viveiro.** Revista Brasileira de Botânica, v.22, n.2, p.297-301, 1999.

FERREIRA, M.G.M.; CÂNDIDO, J.F; CANO, M.A. & CONDE, A.R **Feito do sombreamento na produção de mudas de quatro espécies florestais nativas.** Revista *Árvore*, Viçosa, 1(2):121-34, 1977.

FONSECA, E. P.; VALÉRI, S. V.; MIGLIORANZA, É.; FONSECA, N. A. N.; COUTO, L. **Padrão de qualidade de mudas de *Trema micrantha* (L.) Blume. Produzidas sob diferentes períodos de sombreamento.** *Revista Árvore*, 26 (4): 515-523, 2002.

FRANKLIN, K. A.; WHITELAM, G. C. **Phytochromes and shade-avoidance responses in plants.** *Annals of Botany*, 96:169–175, 2005.

GASPAR, T. Et al. **A two-step control of basic and acidic peroxidases and its significance for growth and development.** *Physiologia Plantarum*, Copenhagen, v. 64, p. 418-423, 1986.

GILMORE, A. M.; GOVINDJEE, G. **How plants respond to excess light: energy dissipation in photosystem II.** In: SINGHAL, G. Et al. (Eds) **Concepts in photobiology: photosynthesis and photomorphogenesis**, Índia: Narosa Pub, 1999.

GOMES, J. M.; COUTO, L.; BORGES, R. C. G.; FONSECA, E. P. **Efeitos de diferentes substratos na produção de mudas de *Eucalyptus grandis* W.Hill ex Maiden, em Win-Strip .** *Revista Árvore*, Viçosa, v. 15, n. 1, p. 35-41,1991.

- GOMES, J. M.; PAIVA, H. N de.; COUTO, L. **Produção de mudas de eucalipto 1.** Informe agropecuário, Belo Horizonte, v.18, n.185, p.15-23, 1996.
- GOMES, J.M.; FERREIRA, M.G.M.; BRANDI, R.M.; NETO, F.P. **Influência do sombreamento no desenvolvimento de *Eucalyptus grandis* W. Hill ex Marden.** Revista Árvore, 2(1):68-75, 1978.
- GRONINGER, J.W.; SEILER, J.R., PETERSON, J.A.; KREH, R.E. **Growth and photosynthesis responses of four Virginia Piedmont tree species to shade.** *Tree Physiology*, 16 (9): 773-778, 1996.
- HALLIWELL, B . , GUTTERIDGE, I. M. C., EDS. **Free Radicals in Biology and Medicine.** Oxford: Clarendon Press, 1989.
- HALLIWELL, B . **Oxidants and human disease: some new concepts.** FASEB 1. 1 :358-64, 1987.
- HANSON H.C. **Leaf-structure as related to environment.** *American Journal of Botany* **4**, 533–560, 1917.
- HASSAN, H.M. **Biosynthesis and regulation of superoxide dismutases.** *Free Radical Biology & Medicine*, Philadelphia, v. 5, p. 377-385, 1988.
- HEDRICH, R. And Schroeder, J. I. **The physiology of ion channels and electrogenic pumps in higher plants.** *Annu. Rev. Plant Physiol.*, 40, 539–569., 1989.
- HENDRY, G.A.F.; PRICE, A.H. **Stress indicators: chlorophylls and carotenoids.** In: HENDRY, G.A.F.; GRIME J.P. (Eds.) **Methods in comparative plant ecology.** London : Chapman & Hall, p.148-152., 1993.
- HIRAGA, S. Et al. **A large family of class III plant peroxidases.** *Plant Cell Physiology*, Oxford, v. 42, n. 5, p. 462-468, 2001.
- HOLT, J. S. **Plant response to light: a potencial tool for weed management.** *Weed Science*, 43: 474-482, 1995.
- HUBER J. L., HUBER S. C., CAMPBELL W. H., REDINBAUGH M. G. **Reversible light/dark modulation of spinach leaf nitrate reductase activity involves protein phosphorylation.** *Arch Biochem Biophys*, 295: 58- 65, 1992.

KAWAI, H. et al. **Responses of ferns to red light are mediate by an unconventional photoreceptor**. Nature, London, v. 421, p. 287-290, 2003

KAWAGUICI, C.B.; SCHIAVINI, I.; RANAL, M.A. **Germinação de sementes de *Calophyllum brasiliense* Camb. (Clusiaceae): novas informações**. In: CONGRESSO NACIONAL DE BOTÂNICA, 46., 1995, Ribeirão Preto. Resumos. Ribeirão Preto: FFCLRP / Universidade de São Paulo, p.251-252, 1995.

KERBAUY, G. B. **Fisiologia vegetal**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 452p., 2004.

KITAO, M.; LEI, T. T.; KOIKE, T.; TOBITA, H.; MARUYAMA, Y.; MATSUMOTO, Y.; ANG, L. H. **Temperature response and photoinhibition investigated by chlorophyll fluorescence measurements for four distinct species of dipterocarp trees**. Physiologia Plantarum, n. 109, p. 284 - 290, 2000

KOORNNEET, M. **Genetic aspects of abscisic acid**. In **A Genetic Approach to Plant Biochemistry**, A.D. Blonstein and P.J. King, eds (New York: Springer-Verlag), pp. 35-54, 1986.

KRAMER, P. J.; KOZLOWSKI, T. T. **Fisiologia das árvores**. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 745 p., 1979.

KROL M., GRAY G. R., HURRY V. M., ÖQUIST G., MALEK L., HUNER N. P. A. **Low-temperature stress and photoperiod effect an increased tolerance to photoinhibition in *Pinus banksiana* seedlings**. *Canadian Journal of Botany* 73: 1119–1127.,1995.

LARCHER, W. **Ecofisiologia Vegetal**. São Carlos: rima, 550p, 2006.

LEE, D.W. **Simulating forest shade to study the development ecology of tropical plants: Juvenile growth in three vines in India**. *Journal of Tropical Ecology*, Cambridge, 4:281-92, 1988.

LEE, D.W., OBERBAUER, S.F., BASKARAN, K., MANSOR,M., MOHAMAD, H. & YAP, S.K. **Effects of irradiance and spectral quality on seedling development of two Southeast Asian *Hopea* species**. *Oecologia* 110:1-9, 1997.

LI, S.; KURATA, K.; TAKAKURA, T. **Direct solar radiation into row crop canopies in a lean-to greenhouse.** Agricultural and Forest Meteorology, n.100, p.243-253, 2000.

LONG, S. P., S. HUMPHRIES & P. G. FALKOWSKI. **Photoinhibition of photosynthesis in nature.** Annual Rev. Pl. Physiol. Pl. Molec. Biol. 45: 633-662., 1994.

LONG, S. P.; HUMPHRIES, S.; FALKOWSKI, P. G. **Photoinhibition of photosynthesis in nature.** Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology, v.45, p.633-662, 1994.

LORENZI, H. **Árvores Brasileiras: Manual de Identificação e Cultivo de Plantas Arbóreas do Brasil.** Volume I. Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum, 2002.

MAGALHÃES, A. C. N. Fotossíntese. In: FERRI, M. G. (Coord.). **Fisiologia vegetal.** São Paulo: EPU, v 1, p. 117-163, 1979.

MANH C. T., BOUTIN J. P., PROVOT M., CHAMPIGNY M. L.. **Metabolite effectors for short-term nitrogen-dependent enhancement of phosphoenolpyruvate carboxylase activation and decrease of net sucrose synthesis in wheat leaves.** Physiol Plant (in press), 1994.

MATTEI, V.L. **Comparação entre semeadura direta e plantio de mudas produzidas em tubetes, na implantação de povoamento de *Pinus taeda* L.** 149p. Tese (Doutorado em Ciência Florestal) - Curso de Engenharia Florestal, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 1993.

MORAIS NETO, S. P.; GONÇALVES, J. L. DE M.; TAKAKI, M.; CENCI, S.; GONÇALVES, J. C. **Crescimento de mudas de algumas espécies arbóreas que ocorrem na mata atlântica em função do nível de luminosidade.** Revista Árvore, Viçosa, v.24, n.1, p.35-45, 2000.

NAVROT, N. Et al. **Reactive oxygen species generation and antioxidant systems in plant mitochondria.** Physiologia Plantarum, Malden, v. 129, p. 253-266, 2007.

NEILL, S. J. Et al. **Hydrogen peroxide and nitric oxide as signalling molecules in plants.** Journal of Experimental Botany, Oxford, v. 53, p. 1237-1247, 2002a.

NEILL, S. J.; DESIKAN, R.; HANCOCK., J. T. **Hydrogen peroxide signaling**. *Current Opinion in Plant Biology*, London, v. 5, p. 388-395, 2002b.

NEILL S. O., GOULD K. S., KILMARTIN P. A., MITCHELL K. A., MARKHAM K. R. **Antioxidant activities of red versus green leaves in *Elatostema rugosum***. *Plant, Cell & Environment* 25: 539–547, 2002.

NEILL S. O, GOULD K. S. **Anthocyanins in leaves: light attenuators or antioxidants?**. *Functional Plant Biology* 30: 865–873, 2003.

NTEFIDOU M., MANETAS Y. **Optical properties of hairs during the early growth stages of leaf development in *Platanus orientalis***. *Australian Journal of Plant Physiology* 23: 535–538, 1996.

OLIVEIRA-FILHO, A. T.. **Estudos ecológicos da vegetação como subsídios para programas de revegetação com espécies nativas: uma proposta metodológica**. Lavras-MG, Revista Cerne, v.1, n.1, p.64 a 72, 1994.

OSMOND, C. B. **What is photoinhibition? Some insights from comparison of shade and sun plants**. In: BAKER, R.R.; BOWYER, J.R. (Ed.). **Photoinhibition of photosynthesis: from molecular mechanisms to the field**. Oxford: Bios Scientific Publ., p.1-24, 1994.

PETIT, C., THOMPSON, J. D. & BRETAGNOLLE, F. **Phenotypic plasticity in relation to ploidy level and corn production in the perennial grass *Arrhenatherum elatius***. *Canadian Journal of Botany* 74:1964-1963, 1996.

PIETRINI F., IANNELLI M. A., MASSACCI A. **Anthocyanin accumulation in the illuminated surface of maize leaves enhances protection from photo-inhibitory risks at low temperature, without further limitation to photosynthesis**. *Plant, Cell & Environment* 25: 1251–1259, 2002.

POORTER H. & NAGEL O.W. **The role of biomass allocation in the growth response of plants to different levels of light, CO₂, nutrients and water: a quantitative review.** *Australian Journal of Plant Physiology* **27**, 595–607, 2000.

POORTER, L. **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., 1999.

POPOV, E.G. et al. **Effect of temperature on diurnal changes in CO₂ Exchange in intact cucumber plants.** *Russian Journal of Plant Physiology*, Moscow, v. 50, n. 2, p. 178-182, 2003.

PORRA, R. J.; THOMPSON, W. A.; KRIDEMANN, P. E. **Determination of accurate extinction coefficients and simultaneous equations for assaying a and b extracted with four different solvents: verification of the concentration of chlorophyll standards by atomic absorption spectroscopy.** *Biochimic et Biophysica Acta*, Amsterdam, v. 975, p. 384-394, 1989.

QUAN, L. J. Et al. **Hydrogen peroxide in plants: a versatile molecule of the reactive oxygen species network.** *Journal of Integrative Plant Biology*, Beijing, v. 50, n. 1, p. 2-18, 2008.

RESENDE, M. L. V.; SALGADO, S. M. L.; CHAVES, Z. M. **Espécies ativas de oxigênio na resposta de defesa de plantas à patógenos.** *Fitopatologia Brasileira*. Brasília, v. 28, n. 2, p. 123-130, 2003.

RESENDE, M. L. V.; SALGADO, S. M. L.; CHAVES, Z. M. **Espécies ativas de oxigênio na resposta de defesa de plantas à patógenos.** *Fitopatologia Brasileira*. Brasília, v. 28, n. 2, p. 123-130, 2003.

RONDON NETO, R.M.; BOTELHO, S.A.; DAVIDE, A.C.; FONTES, M.A.L.; FARIA, J.M.R. **Estudos básicos para propostas de tratamentos silviculturais para acelerar o processo de recomposição da vegetação de uma clareira de formação antrópica, em Lavras, MG - Brasil.** In: CICLO DE ATUALIZAÇÃO FLORESTAL DO CONE-SUL, 1999, Santa Maria. Anais. Santa Maria: Universidade Federal de Santa Maria, p.165-176, 1999.

SCANDALIOS, J. G. **Oxidative stress: molecular perception and transduction of signals triggering antioxidant gene defenses.** Brazilian Journal of Medical and Biological Research, Ribeirão Preto, v. 38, n. 7, p. 995-1014, 2005.

SCANDALIOS, J.G. **Oxygen stress and superoxide dismutases.** Plant Physiology, Minneapolis, v. 101, p. 7-12, 1993.

SCARPINELLA, G. D., **Reflorestamento no Brasil e o protocolo de Quioto,** In. Dissertação, Programa de Pós-graduação em Energia, USP. 2002.

SCHROEDER, J. I. **K1 transport properties of K1 channels in the plasma membrane of *Vicia faba* guard cells.** *J. Gen. Physiol.*, **92**, 667–683., 1988.

SCHWARTZ, A., ILLAN, N. AND ASSMANN, S. M. **Vanadate inhibition of opening in epidermal peels of *Commelina communis*. Cl⁻ interferes *faba* L.** *Nature*, 318, 285–287., 1985.

SHIMAZAKI, K., IINO, M. AND ZEIGER, E. **Blue light-dependent proton extrusion by guard-cell protoplasts of *Vicia faba*.** *Nature*, 319, 324–326., 1986.

SIEGEL, B.Z. **Plant peroxidases: an organism perspective.** Plant Growth Regulation, Dordrecht, v. 12, p. 303-312, 1993.

SIMS D.A. & PEARCY R.W. **Scaling sun and shade photosynthetic acclimation of *Alocasia macrorrhiza* to wholeplant performance – I. Carbon balance and allocation at different daily photon flux densities.** *Plant, Cell and Environment* 17, 881–887, 1994.

SOUZA, G. M. & OLIVEIRA R. F. **Estabilidade e complexidade em sistemas biológicos.** Pp. 123-134. In: G.M. Souza; I.M.L. D'Ottaviano & M.E.Q. Gonzales (orgs.). Auto-Organização: estudos interdisciplinares. Coleção CLE, v.38. Campinas, 2004.

SMILLIE R. M., HETHERINGTON S. E. **Photoabatement by anthocyanin shields photosynthetic systems from light stress.** *Photosynthetica* **36**: 451–463, 1999.

STRAUSS-DEBENEDETTI, S. & BAZZAZ, F. A. **Photosynthetic characteristics of tropical trees along successional gradients.** Pp. 162-186. In: S.S. Mulkey; R.L.

Chazdon & A.P. Smith (eds.). Tropical forest plant ecophysiology. New York, Chapman & Hall, 1996.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 4.ed. Porto Alegre: Artmed, 820 p., 2009.

TINOCO, C.O. & VASQUEZ-YANES, C. **Diferencias em poblaciones de *Piper hispidum* bajo condiciones de luz contrastante en una selva alta perenifolia**. In: WHATLEY, J.M. & WHATLEY, F.R. *A luz e a vida das plantas*. São Paulo, EPU-EDUSP, 101p. (temas de biologia, 30), 1982.

VAVASSEUR, A.; RAGHAVENDRA, A. S. **Guard cell metabolism and CO₂ sensing**. New Phytologist, Cambridge, v. 165, n. 3, p. 665-682, 2005.

VERMAS, S.; DUBEY, R. S. **Lead toxicity lipid peroxidation and alters the activities of antioxidant enzymes in growing rice plants**. Plant Science, Limerick, v. 164, p. 645-655, 2003.

VIEIRA, G. **Gap dynamics in managed Amazonian forest: Structural and ecophysiological aspects**. Tese (Doutorado em Ecologia Tropical) - University of Oxford, Grã-Bretanha. 162f. 1996.

YANG, Z.; MIDMORE, D. J. **A model for the circadian oscillations in expression and activity of nitrate reductase in higher plants**. Annals of Botany, London, v. 96, n. 6, p. 1019-1026, 2005.

YANG, Z.; MIDMORE, D. J. **A model for the circadian oscillations in expression and activity of nitrate reductase in higher plants**. Annals of Botany, London, v. 96, n. 6, p. 1019-1026, 2005.

.

.