

## DETERMINAÇÃO DOS TEORES DE CLOROFILAS, ESTÔMATOS E PARÊNQUIMA EM ACEROLEIRA

### (DETERMINATION OF THE CHLOROPHYLL CONTENTS, ESTÔMATOS AND PARÊNQUIMA IN ACEROLA PLANTS)

José Márcilio da Silva<sup>1</sup>; Márcia Cristina Figueira da Silva<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Pernambuco (IFPE Campus Barreiros)

<sup>2</sup>Secretaria de Educação e Cultura do Estado do Tocantins (SEDUC)  
marciliocilo@yahoo.com.br; manacilo@yahoo.com.br

**Abstract.** *The cherry has if outstanding for her high vitamin value C in their fruits. In this work, chlorophyll contents were verified the, quantification estomática, and thickness of the parenquimático woven. Anatomical studies were accomplished, using 50 sun leaves and of shade. Traverse and longitudinal cuts were made in the medium portion for measurements of the thickness of the parênquima paliçádico and lacunoso, epidermises and estômatos number. There was not significant difference among chlorophyll a contents the, chlorophyll b end total chlorophyll in sun leaves and shade leaves for unit of area. The thickness of the parênquima paliçádico and parênquima lacunoso are larger in sun leaves. In the epidermises, upper and inferior there was not significant difference. The estômatos number in sun leaves is large, due to larger exhibition of the leaves to the solar radiation.*

**Keywords.** *Malpighia emarginata D.C.; sun leaf; shade leaf; leaf anatomy.*

**Resumo.** *A acerola tem se destacado pelo seu alto valor de vitamina C em seus frutos. Neste trabalho, foram verificados os teores de clorofila, quantificação estomática, e espessura do tecido parenquimático. Foram realizados estudos anatômicos, utilizando 50 folhas de sol e de sombra. Foram efetuados cortes transversais e longitudinais na porção mediana para medições da espessura do parênquima paliçádico e lacunoso, epidermes e número de estômatos. Não houve diferença significativa entre os teores de clorofila a, clorofila b e clorofila total em folhas de sol e folhas de sombra por unidade de área. A espessura do parênquima paliçádico e parênquima lacunoso são maiores em folhas de sol. Nas epidermes, superior e inferior não houve diferença significativa. O número de estômatos em folhas de sol é maior, devido a maior exposição das folhas à radiação solar.*

**Palavras-chave.** *Malpighia emarginata D.C.; folhas de sol; folhas de sombra; anatomia foliar.*

## 1. Introdução

A aceroleira (*Malpighia emarginata* D.C.) é uma frutífera nativa das ilhas do caribe, América Central e norte da América do Sul, tem se destacado pelo seu alto valor de ácido ascórbico em seus frutos (CARVALHO & MANICA, 1993). É uma das principais fontes naturais de vitamina C, podendo variar de 695 a 4.827 mg/100g (SANTOS et al., 1999; GOMES et al., 2000), além de conter vitamina A, ferro, cálcio e vitaminas do complexo B (Tiamina, Riboflavina e Niacina) (SOARES FILHO & OLIVEIRA, 2003). No Brasil, se adapta bem tanto na região Norte, Nordeste como na região Sul, sendo conhecida a mais de 50 anos, porém só no início dos anos 80, a cultura mostrou uma expansão para o cultivo, devido ao interesse comercial pelos seus frutos (NETO et al., 1995).

As plantas têm uma capacidade de se adaptarem a uma amplitude de regime de luz, elas crescem como plantas de sol nas áreas ensolaradas e plantas de sombra nas áreas sombrias, em alguns desse habitat recebem menos do que um por cento da Radiação Fotossinteticamente Ativa (RFA) disponível em ambientes exposto. As folhas que se adaptaram a ambientes ensolarados ou sombrios são muitas vezes incapazes de sobreviver em outro habitat (TAIZ & ZEIGER, 2004).

A acerola é bastante exigente à insolação, e a estrutura da folha pode ser influenciada pelo nível de luz durante seu crescimento. A produção de vitamina C pela planta é influenciada pela radiação solar e com o aumento no nível de luz vai haver um aumento na espessura da folha, na massa foliar específica, no desenvolvimento da epiderme e do parênquima e no número total de células das folhas (BJORKMAN, 1981; CUTTER, 1987).

O objetivo deste trabalho foi estudar os teores de clorofila, estômatos e parênquimas em folhas de acerola expostas ao sol e folhas sombreadas.

## 2. Material e Métodos

O estudo foi realizado no Núcleo de Estudos e de Difusão de Tecnologia em Floresta, Recursos Hídricos e Agricultura Sustentável (NEDTEC) do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Espírito Santo (CCA-UFES-ES), localizado no município de Jerônimo Monteiro, ES, com Latitude Sul de 20° 47' 25'' e Longitude Oeste de 41° 23' 48'', com altitude média de 120 m.

Para a consecução deste trabalho foram utilizadas 50 folhas de sol e 50 folhas de sombra de uma planta de acerola coletadas no dia 25/11/2005 na área experimental do CCA-UFES e realizados estudos anatômicos. De cada folha foram extraídos cinco discos totalizando 50 discos com 0,5 cm de matéria fresca por repetição, num total de cinco repetições. Os discos foram colocados em almofariz de porcelana juntamente com um grama de areia lavada, 10 ml de solução de acetona contendo um grama de carbonato de cálcio (CaCO<sub>3</sub>) por litro de solução de acetona, esse material foi macerado até que todo o líquido estivesse incorporado à massa verde (ARNON, 1949).

A extração da clorofila foi realizada em acetona 80% utilizando-se cerca de meio centímetro de matéria fresca de folhas maduras expostas ao sol coletadas da parte superior e folhas sombreadas coletadas da parte inferior da planta. A quantificação dos teores de clorofila *a* e *b* e clorofila total (mg L<sup>-1</sup>) foram procedidos por espectrofotometria de emissão a 470 nm, 647 nm e 663 nm, através das equações dadas a seguir conforme metodologia de Arnon (1949), onde *A* é a absorvância no comprimento de onda utilizado. Os resultados obtidos foram expressos em miligramas de clorofila por grama de matéria fresca.

$$Ca = 12,7A_{663nm} - 2,64A_{645nm} \text{ (mg L}^{-1}\text{)}$$

$$Cb = 22,9A_{645nm} - 4,68A_{663nm} \text{ (mg L}^{-1}\text{)}$$

$$CT = Ca + Cb \text{ (mg L}^{-1}\text{)}$$

A partir de cortes transversais e longitudinais da porção mediana foram efetuadas medições tanto nas folhas expostas ao sol quanto nas folhas sombreadas da espessura da epiderme superior mais cutícula, parênquima paliçádico e parênquima lacunoso e epiderme inferior mais cutícula e o número de estômatos. Os cortes foram feitos manualmente e as imagens, visualizadas em microscópio ótico, para posterior captura com auxílio de micro câmera acoplada ao microscópio e placa de captura conectada ao microcomputador. A medição dos dados foi realizada com auxílio de programa gráfico.

Para análise comparativa entre as médias, utilizou-se ANOVA e, para separação, o teste de Tukey a 5% de probabilidade para avaliação dos estratos estudados.

### 3. Resultados e Discussão

Nas Tabelas 1 e 2 são apresentados os resultados da análise descritiva dos teores de clorofilas presentes em folhas expostas ao sol e de sombra na aceroleira a partir da média obtida de cinco repetições e da espessura do tecido parenquimático e a quantificação de estômatos.

Na Tabela 1 verifica-se que não há diferença significativa entre os teores de clorofila *a* que foram em média de 3639,8 mg L<sup>-1</sup> em folhas de sombra e nas folhas de sol de 3666,2 mg L<sup>-1</sup>, embora a clorofila *a* apresentar ocorrência generalizada em todas as células fotossintetizadoras e desempenhar um papel fundamental no processo de bioconversão de energia (MAGALHÃES, 1985), e entre os teores de clorofila *b* que foram em média de 3028,2 mg L<sup>-1</sup> nas folhas de sombra e nas folhas de sol de 3047,4 mg L<sup>-1</sup>, o mesmo ocorrendo com os teores de clorofila total de 2070,2 mg L<sup>-1</sup> e 2083,4 mg L<sup>-1</sup> em folhas de sombra e folhas de sol, respectivamente. Os resultados encontrados neste trabalho estão de acordo com os estudos de Nogueira & Silva Jr. (2001), que não encontraram diferença significativa entre os teores de clorofila *a* nos genótipos de gravioleira (Comum e Morada), havendo diferença apenas para os teores de clorofila *b* (0,57 e 0,43 mg L<sup>-1</sup>, respectivamente para Comum e Morada), e com os de Conforto & Andreoli (2005), que verificaram não haver diferença significativa no teor de clorofila total em folhas de sol e folhas de sombra de seringueira nas cultivares RRIM 600, exceto para os clones de Fx 3864. Segundo Lee (1988), os teores de clorofilas variam muito entre as espécies, bem como entre genótipos de mesma espécie.

De acordo com Larcher (1995), nas folhas de sol os cloroplastos são mais numerosos, menores e com menor conteúdo de clorofila. Quanto ao total de clorofila por unidade de área, não é possível perceber uma diferença significativa entre folhas de sol e folhas de sombra (LARCHER, 1995). O que fica claro é a maneira diferenciada quanto à composição e organização da clorofila.

**Tabela 1. Valores médios, desvio padrão e análise de variância do teor de clorofilas *a*, *b* e total em folhas de sol e folhas de sombra de *Malpighia emarginata* D.C.**

Parâmetros (mg L <sup>-1</sup> )	Estratos				F
	Folhas de Sol		Folhas de Sombra		
	Média	S	Média	S	
Clorofila <i>a</i>	3666,2 a	265,5	3639,8 a	353,1	1,77 <sup>ns</sup>
Clorofila <i>b</i>	3047,4 a	401,2	3028,2 a	151,8	2,11 <sup>ns</sup>
Clorofila <i>total</i>	2083,4 a	151,8	2070,2 a	205,5	1,83 <sup>ns</sup>

Médias seguidas pela mesma letra na linha, nas folhas de sol e nas folhas de sombra, não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. S: desvio padrão; ns: não significativo.

Observa-se na Tabela 2 que as epidermes, superior e inferior em folhas de sol e folhas de sombra não apresentam diferença significativa. O parênquima paliçádico apresenta-se com maior espessura nas folhas de sol (38,211 $\mu$ m) quando comparado com as folhas de sombra (15,190  $\mu$ m) e o parênquima lacunoso em folhas de sol (56,388 $\mu$ m) apresenta maiores valores em relação às folhas de sombra (35,758  $\mu$ m), havendo diferença significativa entre os estratos avaliados. O número de estômatos em folhas de sol (203.012 mm<sup>2</sup>) e folhas de sombra (149.439 mm<sup>2</sup>) de aceroleira apresenta diferença significativa entre os estratos avaliados. Segundo Larcher (2000), as altas intensidades luminosas podem interferir na espessura dos parênquimas em folhas de sol. Segundo Taiz & Zeiger (2004), as folhas de sombra geralmente são mais finas que as folhas expostas ao sol. De uma maneira geral pode-se dizer que as folhas de sol em relação às folhas de sombra, são menores, com maior espessura (PEZZOPANE, 2001).

A quantificação do número de estômatos em folhas de sol apresenta-se com valor maior do que em folhas de sombra (Tabela 2). Este fato pode ter ocorrido devido a maior exposição das folhas a radiação solar. O aumento no número de estômatos/mm<sup>2</sup> geralmente é observado em folhas de plantas expostas ao sol, como visto por vários autores (SILVIA & ANDERSON, 1985; CASTRO et al., 1998; ALMEIDA, 2001; ZANELA, 2001), e esta pode ser um indicativo de um mecanismo de adaptação das plantas às condições de baixa disponibilidade hídrica no solo. Segundo Medri & Lleras (1980), pode assegurar as plantas uma maior eficiência de trocas gasosas em horários caracterizados por maior umidade relativa do ar.

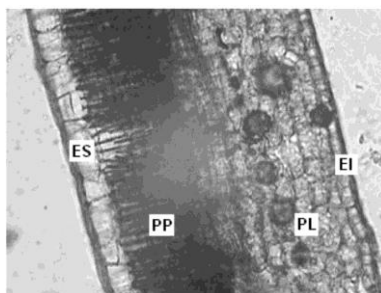
**Tabela 2. Valores médios da espessura da epiderme superior e inferior, parênquima paliçádico e lacunoso e número de estômatos em folhas de sol e folhas de sombra de *Malpighia emarginata* D.C.**

Estratos	Epidermes		Parênquimas ( $\mu$ m)		Estômatos (mm <sup>2</sup> )
	Superior	Inferior	Paliçádico	Lacunoso	
Folhas de Sol	14,212 a	6,481 a	38,211 a	56,388 a	203.012 a
Folhas de Sombra	12,793 a	7,409 a	15,190 b	35,758 b	149.439 b

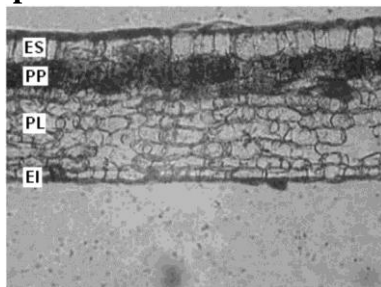
Médias seguidas pela mesma letra na coluna, nas folhas de sol e nas folhas de sombra, não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

A partir dos cortes transversais realizados em folhas de sol (Figura 1), verifica-se que a espessura do parênquima paliçádico apresentou-se mais alongado quando comparado com as folhas de sombra de acerola (Figura 2). Resultados semelhantes foram encontrados nos estudos de Noveline & Conforto (2006), que encontraram maior espessura para folhas de sol em relação às folhas de sombra de seringueira.

De acordo com Whatley & Whatley (1982), as folhas expostas ao sol apresentam pequeno espaço intercelular entre as células da camada inferior do mesófilo, o que foi observado neste trabalho (Figuras 1 e 2). Este tipo de estrutura interna observado nas folhas de sol visa um melhor aproveitamento dos altos fluxos de energia incidente, e como também a reflexão do excesso de radiação e um melhor controle da transpiração. O aumento em espessura das células do parênquima paliçádico é resultante de um alongamento deste tecido no sentido abaxial, o que segundo Bjorkman (1981), não altera a área do mesófilo em relação à área foliar, mais aumenta significativamente o volume do mesófilo por área foliar e o volume do mesófilo por volume foliar.

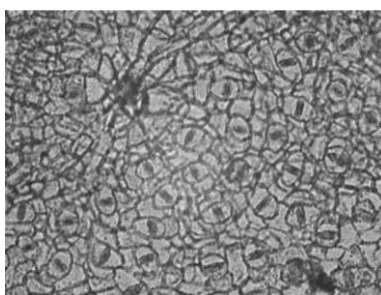


**Figura 1.** Cortes transversais em folhas de sol de *Malpighia emarginata* D.C. ES: epiderme superior; PP: parênquima paliçádico; PL: parênquima lacunoso e EI: epiderme inferior.

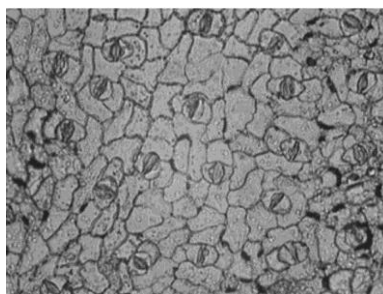


**Figura 2.** Cortes transversais em folhas de sombra de *Malpighia emarginata* D.C. ES: epiderme superior; PP: parênquima paliçádico; PL: parênquima lacunoso e EI: epiderme inferior.

A partir dos cortes longitudinais realizados na parte dorsal nas folhas da aceroleira para visualização do número de estômatos, verificou-se que em folhas de sol (Figura 3) o valor é superior ao número de estômatos em folhas de sombra (Figura 4). Valor semelhante foi verificado por Engel (1989), que encontrou em folhas de sol maior número de estômatos por unidade de área superficial da folha. O aumento da frequência de estômatos pode ser correlacionado com uma maior condutância estomática visto que o potencial de fixação de carbono e também de transpiração é muito maior na folha de sol.



**Figura 3.** Cortes longitudinais em folhas de sol de *Malpighia emarginata* D.C. para visualização do número de estômatos.





**Figura 4. Cortes longitudinais em folhas de sombra de *Malpighia emarginata* D.C. para visualização do número de estômatos.**

#### 4. Considerações Finais

Os teores de clorofila *a*, clorofila *b*, e clorofila total por unidade de área e epidermes, superior e inferior, não apresentam diferença significativa em folhas expostas ao sol e folhas de sombra de acerola.

A espessura do parênquima paliçádico e parênquima lacunoso são maiores em folhas de sol em relação às folhas de sombra.

O número de estômatos em folhas expostas ao sol é maior em relação às folhas de sombra de acerola.

#### 5. Agradecimentos

Ao Núcleo de Estudos e de Difusão de Tecnologia em Floresta, Recursos Hídricos e Agricultura Sustentável (NEDTEC) do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Espírito Santo (CCA-UFES/ES).

#### Referências

- ALMEIDA, L.P. **Germinação, crescimento inicial e anatomia foliar de plantas jovens de *Cryptocarya aschersoniana* Mez. Sob diferentes níveis de radiação.** 2001. 96p. Dissertação (Mestrado em Fisiologia Vegetal) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2001.
- ARNON, D.I. **Copper enzymes in isolated chloroplasts Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*.** Plant Physiology. Maryland, v.24, n.1, p. 1-15, Jan. 1949.
- 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, 1981, v.12a. (New series), p.57-107.
- CARVALHO, R.I.N.; MANICA, I. **Acerola, composição e armazenamento de frutos.** Cadernos de Horticultura. Porto Alegre, ano1, n.1, 1993, 7p.
- CASTRO, E.M. de; GAVILANES, M.L.; ALVARENGA, A.A. de; CASTRO, D.M. de; GAVILANES, T.O.T. Aspectos da anatomia foliar de mudas de *Guarea guidonea* L. Sleumer, sob diferentes níveis de sombreamento. **Daphne**, Belo Horizonte, v. 8, n.4, p.31-35, 1998.
- CONFORTO, E.C.; ANDREOLI, R.P. Trocas gasosas e teor de clorofila em folhas autossombreadas de plantas jovens de seringueira (*Hevea brasiliensis* Muell.Arg.) cultivares RRIM 600 e FX 3864, In: XX CONGRESSO BRASILEIRO DE FISILOGIA VEGETAL, E XXII CONGRESSO LATINO-AMERICANO DE FISILOGIA VEGETAL. **Resumo expandido.** Recife, 2005, meio digital.
- CUTTER, E.G. **Anatomia Vegetal: Órgãos-Experimentos e Interpretação**, Trad. Gabriela Vera Maria Caruso Catena. São Paulo, Roca, v.2, 1987, 336p.
- ENGEL, V.L. **Influência do sombreamento sobre o crescimento de essências nativas, concentração de clorofila nas folhas e aspectos de anatomia.** Piracicaba, São Paulo: ESALQ, 1989. 202p. Dissertação (Mestrado)-Universidade de São Paulo, 1989.
- GOMES, E.; DILERMANDO, P.; MARTINS, A.B.G.; FERRAUDO, A.S. Análise de grupamentos e de componentes principais no processo seletivo em genótipos de acerola (*Malpighia emarginata* D.C.). **Revista Brasileira de Fruticultura.** Jaboticabal, v.22, n.1, p.36-39, abr. 2000.
- LARCHER, W. **Physiological plant ecology.** Springer, 3. ed, 1995. 506p.

- LARCHER, W. **Ecofisiologia vegetal**. São Carlos, SP, Rima, 2000. 531p.
- LEE, D.W.; Simulating forest shade to study the development ecology of tropical: juvenile growth in three vines in India. **Journal of Tropical Ecology**, v.4, p.281-292, 1988.
- MAGALHÃES, A.C.N. Fotossíntese. In: FERRI, M.G. (Ed). **Fisiologia Vegetal 1**. 2.ed. v.1, São Paulo, EPU, 1985. p.117-166.
- MEDRI, M.E.; LLERAS, E. Aspectos da anatomia ecológica de folhas de *Hevea brasiliensis* Muell. Arg. **Acta Amazônia**, Manaus, v.10, n.3, p.463-493, 1980.
- NETO, L.G.; SOARES, M.S.; CHOUDHURY, M.M.; LEAL, L.M. **A cultura da acerola**. Brasília: Plantar, EMBRAPA – SPI, 1995. 101p.
- NOGUEIRA, R.J.M.C. & SILVA JR, J.F. da. Resistência estomática, tensão de água no xilema e teor de clorofila em genótipos de gravioleira. **Scientia Agrícola**, v.58, n.3, p.491-495, jul/set. 2001.
- NOVELINE, A.C. & CONFORTO, E.C. Comparação anatômica e fisiológica entre folhas de seringueira de sol e de sombra. **Revista Hispeci & Lema**, Bebedouro, SP, v.9, p.28-30, 2006.
- PEZZOPANE, J.E.M. **Caracterização microclimática, ecofisiológica e fitossociológica em uma floresta secundária, em Viçosa, MG**. Viçosa - MG, 2001. 225 f. Tese (Doutorado em Ciência Florestal) – Área de concentração: Ciência Florestal, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2001.
- SANTOS, A.R.L.; REINHARDT, D.H.; SILVEIRA, W.R.; OLIVEIRA, J.R.P.; CALDAS, R.C. Qualidade pós-colheita de acerola para processamento em função de estádios de maturação e condições de armazenamento. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.21, n.3, p.365-371, dez. 1999.
- SILVIA, E.A.M.; ANDERSON, C.E. **Influência da luz no desenvolvimento foliar do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.)**. Revista Ceres, Viçosa, v.32, n.179, p.1-11, 1985.
- SOARES FILHO, W. dos S.; OLIVEIRA, J.R.P. Introdução. In: RITZINGER, R.; KOBAYASHI, A.K.; OLIVEIRA, J.R.P. (Ed.). **A cultura da aceroleira**. Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura, p.15 e 16, 2003.
- TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. 3. ed. Porto Alegre, Artmed, 2004. 718p.
- WHATLEY, J.M.; WHATLEY, F.R. **A luz e a vida das plantas**. São Paulo, EPU-EDUSP, 1982. 101p. (Temas de Biologia, 30).
- ZANELA, S.M. **Respostas ecofisiológicas e anatômicas ao sobreamento em plantas jovens de diferentes grupos ecológicos**. 2001. 79 p. Dissertação (Mestrado em Fisiologia Vegetal) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2001.