

Comparação Anatômica e Fisiológica entre Folhas de Seringueira de Sol e de Sombra

A. C. Novelini¹ : E. C. Conforto²

¹ Centro Universitário do Norte Paulista
ananovel@terra.com.br

² Departamento de Zoologia e Botânica – IBILCE – UNESP
elenice@ibilce.unesp.br

Abstract. *Rubber tree has ecological importance due to its high capacity for carbon sequestration. This study aimed to analyze and compare anatomy structure and chlorophyll contents between sun and shade leaves. Although it was verified no significant differences in terms of leaf thickness and total chlorophyll, the sun leaves showed a positive correlation between total and palisade parenchyma thickness as well as highest chlorophyll (a) content.*

Keywords. *Rubber tree; sun leaf; shade leaf; leaf anatomy; chlorophyll content.*

Resumo. *A seringueira possui importância ecológica pela sua grande capacidade de sequestrar carbono. Neste estudo, foram analisadas e comparadas estruturas anatômicas e os teores de clorofila em folhas de sol e de sombra. Embora sem diferenças significativas na espessura foliar e teor de clorofila total, as folhas de sol apresentaram uma correlação positiva entre espessura foliar total e espessura do parênquima paliçádico inferior, bem como maior teor de clorofila (a).*

Palavras-chave. *Seringueira; folhas de sol; folhas de sombra; anatomia foliar; teor de clorofila*

1. Introdução

A planta lactescente *Hevea brasiliensis*, da família Euphorbiaceae, recebe vulgarmente o nome de seringueira, seringueira-branca ou árvore-da-borracha e, dentre as outras 10 espécies de seringueiras encontradas no Brasil atualmente, é a de maior importância comercial. Embora tenha sido extraída bem antes do descobrimento do Brasil pelos indígenas latino-americanos (CIIAGRO,2005), a borracha ganhou grande importância na economia nacional entre 1880 e 1910, quando constituiu o segundo produto na pauta de exportações brasileiras (Virgens Filho, 1983, *apud* Gasparotto *et al.*, 1997).

Além do interesse econômico, visto que o Brasil, em 2001, contribuiu com somente 1,3% da produção mundial, enquanto que sua participação no consumo mundial, do mesmo ano, girou em torno de 3,5% (International Rubber Study Group, 2002 *apud* Moreno *et al.*, 2003), a heveicultura pode ser considerada uma fonte minimizadora dos problemas ambientais, promovendo sua estabilização e recuperação, pois através da fotossíntese, a planta retira carbono da atmosfera, transformando-o em biomassa vegetal. Estudos apontam um novo caminho para o entendimento da fisiologia da seringueira, cuja importância ecológica

tem se revelado muito grande devido à sua capacidade cerca de três vezes maior de fixação de CO₂ em igual área com plantação de eucalipto, indicando seu papel fundamental como “seqüestradora” de carbono (Borracha Natural Brasileira, 2003).

Em seringueiras adultas, o papel das folhas autosombreadas na produção fotossintética é de especial importância, visto que a maior parte das folhas encontra-se sob situação de irradiação sub-saturante (Nataraja, Jacob, 1999; Senevirathna *et al.*, 2003), o que justifica a necessidade de estudos detalhados sobre sua anatomia e fisiologia, sobretudo quando realizados durante o período seco, pois o estado hídrico do solo influi em vários aspectos do desenvolvimento da planta.

Diante do exposto, o objetivo do presente trabalho é analisar e comparar as folhas de sol e de sombra quanto a sua estrutura anatômica e o conteúdo de clorofila, no período seco.

2. Material e Métodos

Foram utilizadas plantas adultas de *Hevea brasiliensis*, Müell.Arg., de um seringal localizado às margens da Rodovia Washington Luis (SP 310) em São José do Rio Preto, norte do Estado de São Paulo, Brasil, cujas coordenadas geográficas são 20° 49' 11'' de latitude Sul e 49° 22' 46'' de longitude Oeste. As plantas estão distribuídas de modo intermitente numa extensão de 3 km (do km 437 ao 440), onde foram introduzidas em 1988. No início dos estudos, as plantas do local de coleta encontravam-se enfolhadas e, posteriormente, iniciou-se o período de senescência foliar.

Os experimentos foram conduzidos em laboratórios da UNESP-IBILCE-São José do Rio Preto/SP. Os parâmetros ambientais e climáticos relativos às datas de coleta do material, 19/08/2005 e 17/09/2005, foram obtidos no site do Centro Integrado de Informações Agrometeorológicas (CIIAGRO,2005). A determinação dos valores da radiação fotossinteticamente ativa (RFA) foi feita com uso do analisador portátil de trocas gasosas por infravermelho (LCA-4, ADC-Company, Hoddesdon, UK).

As folhas utilizadas para o estudo foram obtidas a partir de cinco árvores em bom estado fitossanitário, a uma altura de três metros e meio acima do solo, sendo coletados três pequenos ramos contendo folhas mais externas (folhas de sol) e três mais internos (folhas de sombra), totalizando 15 folhas sob cada radiação.

Na região mediana dos folíolos medianos foi inscrito um quadrado com dois centímetros de lados, fixado em álcool 70% até o momento de preparo. Cortes manuais foram executados, com uso de lâminas de aço inoxidável, descoloridos com hipoclorito de sódio 20%, coloridos duplamente (verde-iodo 1% durante 1 a 3 minutos, para corar a lignina e em seguida, coloração com vermelho-congo 1% durante 1 a 3 minutos, para corar a celulose). Três amostras foram utilizadas para montagem em lâmina com gelatina glicerinada (Medri, 1980), recoberta com lamínula. Dois campos por corte, em região distante da nervura, foram examinados sob microscópio ótico com retículo, para mensuração da espessura total do limbo, parênquima paliçádico (superior e inferior) e parênquima lacunoso.

Para a extração e determinação do conteúdo de clorofila, foram utilizados os folíolos laterais, segundo a rotina descrita por Borghezan *et al.* (2003). De cada folíolo foram colhidas amostras de 100 mg de material fresco, as quais foram incubadas em banho-maria com 7 mL de DMSO (dimetilsulfóxido) por duas horas a 65° C, sem maceração foliar. Após filtragem, o volume foi corrigido para 10 mL e realizada a leitura em espectrofotômetro considerando-se a densidade ótica medida a 645 e 663 nm (Hiscox, Israelstam, 1979 *apud* Borghezan *et al.*, 2003). No cálculo de clorofila a “Chla” e clorofila b “Chlb” foram utilizadas as fórmulas: $Chl\ a = [0,0127x(663nm) - 0,00269x(645nm)]$ e $Chl\ b = [0,0229x(645nm) - 0,00468x(663nm)]$ (Arnon, 1949 *apud* Borghezan *et al.*, 2003). A clorofila total foi a soma da “Chla” e Chlb”.

Os dados de anatomia foliar foram transformados em log X antes de serem submetidos à análise estatística, e indicados na tabela em seus valores originais. Tais valores ainda foram plotados aos pares e um ajuste linear dos pontos foi realizado com uso do software Microcal Origin 3.5. A análise dos valores médios das características anatômicas, bem como do teor de clorofila, foi realizada com uso dos de “softwares” Minitab e Microcal Origin (1995), segundo Zar (1999).

3. Resultados e Discussões

3.1. Parâmetros Climáticos

Os parâmetros ambientais e climáticos relativos às datas de coleta do material, em 19/08/2005 e 17/09/2005, são mostrados na Tabela 1, caracterizando um período de déficit hídrico. A atenuação da radiação fotossinteticamente ativa, sob condição de sombra, foi, em média, de 68,16%, com um mínimo de 42,02% e um máximo de 84,58%.

Tabela 1. Balanço hídrico semanal na cidade de São José do Rio Preto, SP.

Período	Temperatura Média (°C)	Precipitação (mm)	Evapotranspiração Real	Déficit hídrico
15/08/2005 a 21/08/2005	24,2	0	10	9
12/09/2005 a 18/09/2005	25,6	2	8	15

3.2. Anatomia Foliolar

O limbo foliolar é formado pela epiderme superior, parênquima paliçádico, parênquima lacunoso (também chamando de esponjoso) e epiderme inferior. O tecido paliçádico apresenta-se na forma de células justapostas, clorofiladas e diferenciado em parênquima paliçádico superior e inferior, em camadas únicas. O tecido lacunoso localiza-se entre as duas camadas de paliçádico, formado de 2 a 3 camadas de células compactas. São observadas, na cutícula da epiderme inferior, formações que se assemelham a pêlos, mas são apenas rugosidades da cutícula (Rao, 1963 *apud* Conforto, 1995; Medri, Lleras, 1983). Os valores mensurados são mostrados na Tabela 2.

Tabela 2. Valores médios, desvio padrão e análise de variância da espessura foliar total (EFT), parênquima paliçádico superior (PPS), parênquima lacunoso (PL), parênquima paliçádico inferior (PPI), para folhas de seringueira de sol e de sombra. Valores em µm.

Parâmetro	SOL	SOMBRA	F
EFT	159,59 (14,62)	139,62 (17,72)	0,03 ns
PPS	58,84 (7,14)	48,91 (7,36)	0,29 ns
PL	23,89 (6,38)	28,20 (7,72)	1,11 ns
PPI	46,92 (9,89)	40,38 (10,59)	0,01 ns

ns = não significativo, para 5% de probabilidade.

Segundo Taiz e Zeiger (2004), as folhas de sombra geralmente são mais finas que as folhas de sol. Embora não tenham sido verificadas diferenças estatisticamente significativas, as fotomicrografias, obtidas sob igual aumento, indicam maior espessura para as folhas de sol

(Figuras 1 e 2). Ainda em relação a estas folhas, o parênquima paliçádico apresentou-se mais alongado quando comparado com as folhas de sombra.

As correlações entre as variáveis anatômicas são indicadas na Tabela 3.

Tabela 3. Correlações entre as variáveis anatômicas mensuradas para as folhas de seringueira de sol e de sombra. (EFT = espessura foliar total; PPS = parênquima paliçádico superior; PL = parênquima lacunoso; PPI = parênquima paliçádico inferior)

Variáveis	SOL			SOMBRA		
	EFT	PPS	PPI	EFT	PPS	PPI
PPS	0,541*			0,556*		
PPI	0,404*	0,398*		ns	0,398*	
PL	0,430*	ns	Ns	0,368*	ns	ns

* significativo para 5%

A relação direta e significativa entre a espessura foliar total (EFT) e o parênquima lacunoso (PL) foi relatada por Medri e Lleras (1983), que também encontraram relação entre EFT e o parênquima paliçádico (PP); contudo, não indicaram se o PP encontrava-se diferenciado em PP superior e PP inferior.

A diferença observada quanto à correlação entre EFT e PPI para as folhas de sol, não ocorrida para as folhas de sombra, constitui uma observação relevante sobre a anatomia foliar nestas condições de irradiação. Contudo, na literatura consultada, não foram encontrados resultados que pudessem subsidiar a continuidade desta discussão.

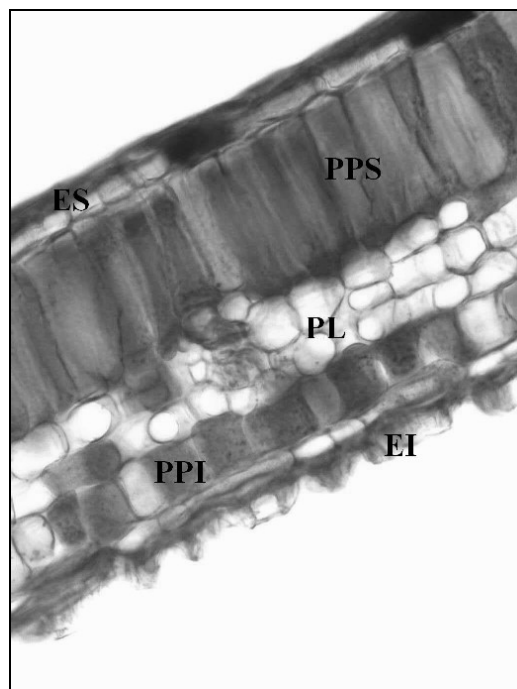


Figura 1. Fotomicrografia de corte transversal de *Hevea brasiliensis*. Folha de sombra. ES – epiderme superior; PPS – parênquima paliçádico superior; PL – parênquima lacunoso; PPI – parênquima paliçádico inferior; EI – epiderme inferior. Objetiva 40x.

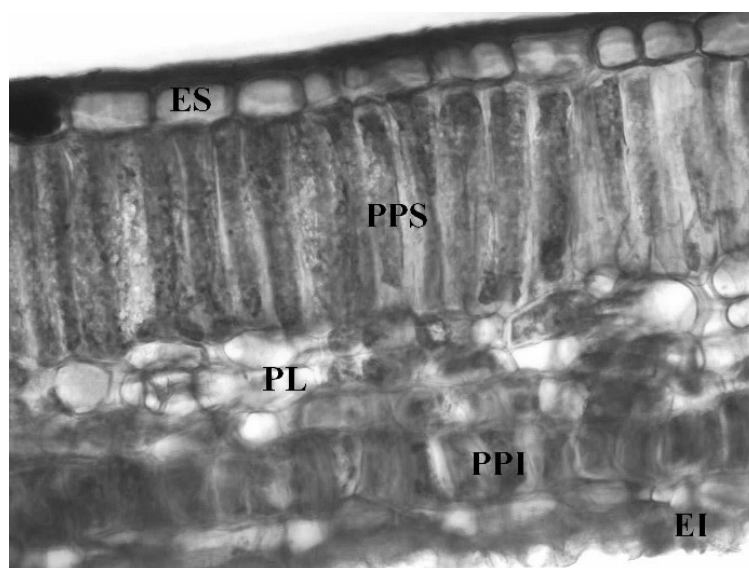


Figura 2. Fotomicrografia de corte transversal de *Hevea brasiliensis*. Folha de sol. ES – epiderme superior; PPS – parênquima paliçádico superior; PL – parênquima lacunoso; PPI – parênquima paliçádico inferior; EI – epiderme inferior. Objetiva 40x.

3.3. Quantificação dos teores de clorofila

Os resultados obtidos são mostrados na Tabela 4. Não houve diferença significativa para o teor de clorofila total em folhas de sol e de sombra. Para plantas de RRIM 600 de outro local de cultivo, Conforto e Andreoli (2005) também verificaram que não houve diferenças no teor de clorofila total, mas esta diferença foi encontrada em clones de Fx 3864.

Tabela 4. Valores médios, desvio padrão e análise de variância do teor de clorofila a (Chl a), clorofila b (Chl b) e clorofila total (Chl total) para folhas de seringueira de sol e de sombra. Valores expressos em mg/g de matéria fresca.

Parâmetro	SOL	SOMBRA	F
Chl a	1,268 (0,031)	1,114 (0,014)	4,15 *
Chl b	0,740 (0,027)	0,794 (0,031)	0,42 ns
Chl total	2,007 (0,031)	1,934 (0,031)	0,66 ns

* = significativo para 5%

ns = não significativo

Deste modo, para o seringal em estudo, o nível de sombreamento existente (em média de 68%), não foi suficiente para causar alterações na anatomia e no conteúdo total de clorofila. Este resultado está de acordo com os estudos de Senevirathna *et al.* (2003), que observaram decréscimos significativos nestas variáveis apenas quando o nível de sombreamento imposto foi de 77%, e que não houve alterações significativas para níveis de 33 e 55% de sombreamento.

Estudos realizados por Ribeiro (2003), para plantas do mesmo local de cultivo, indicaram que apesar da falta de tratos culturais, está havendo um incremento na espessura e no diâmetro do caule, até maiores que alguns relatados na literatura. Considerando-se o papel relevante das folhas autossombreadas para o ganho de carbono total da planta, verifica-se que,

de fato, o nível de sombreamento a que estão sujeitas não têm causado interferência no desenvolvimento destas plantas.

Contudo, dois fatores devem ser levados em consideração. Em primeiro lugar, que as coletas foram realizadas no período seco, onde a densidade da copa é menor; outra condição local importante é que o espaçamento entre as plantas é bastante irregular. Assim, no período úmido, e em áreas mais adensadas, o nível de auto-sombreamento pode atingir os valores limitantes, como observados por Senevirathna, *et al.* (2003), indicando a necessidade que estes estudos sejam continuados.

4. Conclusões

Para o seringal em questão, e nas condições em que os experimentos foram conduzidos, as folhas de sol e de sombra foram diferentes quanto à correlação entre parênquima paliçádico inferior (PPI) e espessura foliar total (EFT) e quanto ao teor de clorofila a (Chl a).

5. Referências

- BORGHEZAN, M.; MORAES, L. K. A.; MOREIRA, F.M.; SILVA, A. L. . C. Propagação *in vitro* e avaliação dos parâmetros morfofisiológicos de porta-enxertos de videira. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 38, n.7, p. 783-789, 2003.
- BORRACHA NATURAL BRASILEIRA. **Borracha via e-mail**, ano IV, n. 139, 14/outubro/2003. <http://borrachanatural.agr.br>, acessado em 14/10/2003.
- CIIAGRO. Centro Integrado de Informações Agrometeorológicas. <http://ciiagro.iac.sp.gov.br/ciiagroonline>, acessada em 07/10/2005.
- CONFORTO, E. C. **Estado hídrico e alguns parâmetros fenológicos, anatômicos, biométricos e produtivos de três cultivares de seringueira (*Hevea spp*) em Piracicaba**. Rio Claro, 1995, 192p. Tese de Doutorado. UNESP, Rio Claro, 1995.
- CONFORTO, E. C.; ANDREOLI, R. P. Trocas gasosas e teor de clorofila em folhas autossombreadas de plantas jovens de Seringueira (*Hevea brasiliensis*, Müell. Arg.) cultivares RRIM 600 e Fx 3864. In: Congresso Brasileiro de Fisiologia Vegetal, X e Congresso Latino-Americano de Fisiologia Vegetal, XII. **Resumo expandido**. Recife, 2005, meio digital.
- GASPAROTTO, L.; SANTOS, A. F.; PEREIRA, J. C. R.; FERREIRA, F. A. **Doenças da Seringueira no Brasil**. EMBRAPA: Brasília, 1997.
- MEDRI, M. E. **Anatomia comparada e correlações anatomo-fisio-ecológicas de seis clones de *Hevea spp***. Amazonas, 1980, 442p. Tese de Doutorado. Fundação Universidade do Amazonas, 1980.
- MEDRI, M. E.; LLERAS, E. Quantificação e uso de caracteres anatômicos e fisiológicos de folhas na determinação de eficiência hídrica em clones de *Hevea spp*. **Acta Amazônica**, Manaus, v. 13, n. 2, p. 261-288, 1983
- MICROCAL ORIGIN. Origin Version 4.0. Microcal Software, Inc: Northampton, MA, USA. 1995. Número de Série 6025888.
- MORENO, R. M. B.; FERREIRA, M.; GONÇALVES, P. S.; MATTOSO, L. H. C. Avaliação do látex e da borracha natural de clones de seringueira no Estado de São Paulo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.38, n.5, p. 583-590, 2003.
- NATARAJA, K. N.; JACOB, J. Clonal differences in photosynthesis in *Hevea brasiliensis* Müell. Arg. **Photosynthetica**, Prague, v. 36, n.1-2, p. 89-98, 1999.
- RIBEIRO, S. L. C. **Estudos biológicos em seringal às margens da SP 310, em São José do Rio Preto**, 60p. Monografia de conclusão de curso. Ciências Biológicas - UNESP-IBILCE, São José do Rio Preto, 2003.

SENEVIRATHNA, A. M. W. K.; STILING, C. X. M.; RODRIGO, V. H. L. Growth, photosynthetic performance and shade adaptation of rubber (*Hevea brasiliensis*) grown in natural shade. **Tree Physiology**, Victoria, Canada, v.23, p.705-712, 2003.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. 3ª Edição; Tradução de Eliane Romanato Santarén ... [et al.]. Porto Alegre, Artmed, 2004.

ZAR, J.H. **Biostatistical Analysis**. New Jersey: Prentice Hall, 1999.