

## PLASTICIDADE FENOTÍPICA EM FOLHAS DE *Eucalyptus dunnii* Maiden E *Eucalyptus benthamii* Maiden & Cambage SOB DIFERENTES NÍVEIS DE SOMBREAMENTO<sup>1</sup>

### FENOTYPIC PLASTICITY IN LEAVES OF *Eucalyptus dunnii* Maiden AND *Eucalyptus benthamii* Maiden & Cambage UNDER DIFFERENT SHADING LEVELS

Aline BIREAHLS<sup>2</sup>; Paulo Cesar Poeta FERMINO JUNIOR<sup>2,3</sup>

**RESUMO** - *Eucalyptus dunnii* Maiden e *Eucalyptus benthamii* Maiden & Cambage são espécies de interesse madeireiro cultivadas no Sul do Brasil, adaptadas ao clima frio. O crescimento inicial de plantas jovens é influenciado pela luminosidade promovendo modificações na morfoanatomia e fisiologia da folha. O objetivo do trabalho foi avaliar as modificações morfofisiológicas de folhas de plantas jovens de *E. dunnii* e *E. benthamii* desenvolvidas sob diferentes intensidades luminosas em viveiro, na Mesorregião Serrana de Santa Catarina/Brasil. Folhas de plantas jovens cultivadas por seis meses desenvolvidas em diferentes intensidades luminosas (0%, 50% e 80% de sombreamento) foram avaliadas em secções paradérmicas e transversais em microscopia de luz. Os caracteres anatômicos com maior variação em relação aos diferentes níveis de sombreamento em *E. dunnii* foram na epiderme (cutícula, estômatos, células epidérmicas ordinárias), enquanto em *E. benthamii* foram na epiderme e no mesofilo. A plasticidade fenotípica em folhas de *E. dunnii* e de *E. benthamii* indicaram os caracteres relacionados ao sistema de revestimento (cutícula e estômatos) como os de maior expressividade em relação aos caracteres do sistema fundamental (parênquima paliçádico e esponjoso). As folhas de *E. dunnii* e *E. benthamii* apresentam estratégias adaptativas distintas com relação a plasticidade de caracteres morfofisiológicos.

Palavras-chave: Luminosidade; Aclimação; Anatomia de folha.

**ABSTRACT** - *Eucalyptus dunnii* Maiden and *Eucalyptus benthamii* Maiden & Cambage are species of timber interest cultivated in southern Brazil, adapted to the cold climate. Initial growth of young plants is influenced by the luminosity promoting modifications in leaf morphoanatomy and physiology. The objective of this work was to evaluate the morphophysiological changes from young plants leaves of *E. dunnii* and *E. benthamii* grown under different luminous intensities in nursery, in the Southern Mesoregion of Santa Catarina, Brazil. Leaves of young plants cultivated for six months developed in different light intensities (0%, 50% and 80% of shading) were evaluated in paradermic and transverse sections under light microscopy. Anatomical characters with greater variation in the different levels of shading in *E. dunnii* were in the epidermis (cuticle, stomata, ordinary epidermal cells), whereas in *E. benthamii* they were in the epidermis and mesophyll. The phenotypic plasticity in leaves of *E. dunnii* and *E. benthamii* indicated the characteristics related to the coating system (cuticle and stomata) as the most expressive in relation to the characteristics of the fundamental system (palisade and spongy parenchyma). The leaves of *E. dunnii* and *E. benthamii* present different adaptive strategies regarding the plasticity of morphophysiological characters.

Keywords: Luminosity; Acclimation; Leaf Anatomy.

<sup>1</sup> Recebido para análise em 03.05.2020. Aceito para publicação em 31.07.2020.

<sup>2</sup> Programa de Pós-graduação em Ecossistemas Agrícolas e Naturais, Universidade Federal de Santa Catarina, Rodovia Ulysses Gaboardi, Km 3, Campus de Curitibanos, 89520 000, Curitibanos, SC, Brasil.

<sup>3</sup> Autor para correspondência: Paulo Cesar Poeta Fermينو Junior - paulo.fermino@ufsc.br

## 1 INTRODUÇÃO

O gênero *Eucalyptus*, pertencente à família Myrtaceae, é de grande importância para o Brasil, sendo cultivado em várias regiões do país para múltiplas finalidades, tais como a produção de celulose e carvão, laminação, mourões e madeira serrada (Resende et al., 2011). O Brasil possui a maior coleção ex-situ de germoplasma de eucaliptos do mundo e possibilitou aumentos expressivos na produtividade quantitativa e qualitativa das florestas cultivadas (Pinto-Junior et al., 2011).

Diversas espécies de eucalipto se adaptaram a variados tipos de solos e clima, sendo as florestas desse gênero muito produtivas devido a seu ciclo de curto e rápido crescimento, garantindo retorno econômico. Em regiões onde há ocorrência de geadas fortes o estabelecimento e a adaptação de espécies de *Eucalyptus* ficam comprometidos. Nessa situação, período de cinco dias de geada pode causar danos severos, desde a queda das folhas, morte dos meristemas apicais ou até a morte dos indivíduos pelo frio intenso (Pitz Floriani et al., 2013). As espécies *Eucalyptus dunnii* Maiden e *Eucalyptus benthamii* Maiden & Cambage são alternativas para plantios florestais, nestes locais devido a sua tolerância e resistência às geadas.

A produção de mudas a partir de sementes em ambientes de viveiros é um método comum e viável para propagação de espécies florestais (Pacheco et al., 2006). A radiação solar é um fator relevante na produção de mudas bem como no estabelecimento e desenvolvimento de espécies arbóreas jovens em florestas tropicais influenciando na morfologia e fisiologia dos vegetais. O sombreamento artificial em viveiros, com telas de polietileno proporciona diferentes níveis de passagem de luz, auxiliando no crescimento das mudas de espécies florestais. As espécies arbóreas têm padrões de respostas morfofisiológicas em relação à luminosidade (Ribeiro et al., 2020). Alterações na intensidade luminosa que determinada espécie está adaptada proporcionam respostas fisiológicas, bioquímicas e anatômicas diferentes as quais ocorrem devido à absorção de luz, através de fotorreceptores específicos (Carvalho et al., 2006).

A maioria das plantas desenvolve mecanismos para se adaptar aos ambientes aos quais estão se desenvolvendo, sobretudo no que diz respeito às mudanças na temperatura e luminosidade (Casal

e Questa, 2018). Essa capacidade de adaptação é devido à sua flexibilidade de fenótipos, denominada de plasticidade fenotípica (Valladares et al., 2006). Os ajustes podem ser morfológicos, anatômicos e fisiológicos, promovendo variação conforme a exposição à radiação e as características de cada espécie (Kelly et al., 2009). Plantas jovens são mais plásticas em relação às plantas adultas, sendo relevante para o estabelecimento da espécie em um ambiente (Valladares et al., 2006). As florestas tropicais com ampla variedade de ambientes luminosos proporcionam um contexto ideal para testar a hipótese de especialização e plasticidade, bem como explorar o papel evolutivo da plasticidade fenotípica nos vegetais (Valladares et al., 2000). A importância fundamental de conhecer a plasticidade fenotípica de uma espécie está relacionada com a capacidade de a planta responder às mudanças climáticas globais (Rehfeldt et al., 2001), bem como prever práticas do seu manejo e interações com outras espécies (Callaway et al., 2003).

As folhas são os órgãos das plantas responsáveis em absorver a luz sendo possível observar alterações em suas características em vários níveis, tais como alterações nos seus pigmentos responsáveis pela fotossíntese, área foliar, massa fresca, e na sua anatomia foliar. Na literatura existem diversos relatos de variação na densidade estomática, dimensões dos estômatos, espessura da cutícula, da epiderme, do parênquima paliçádico e esponjoso com relação aos diferentes níveis de sombreamento (Aragão et al., 2014; Novelli et al., 2015; Fermino Junior e Fockink, 2017).

O objetivo do trabalho foi analisar as modificações morfofisiológicas em folhas de plantas jovens de *E. dunnii* e *E. benthamii*, cultivadas sob diferentes níveis de sombreamento em viveiro na Mesorregião Serrana de Santa Catarina/Brasil.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 Material botânico e condições experimentais

Plantas jovens de *Eucalyptus dunnii* e *Eucalyptus benthamii* com idade de 130 dias após a germinação foram adquiridas de viveiro particular em Fraiburgo/SC, com cerca de 30 cm de altura, plantados em tubetes com substrato comercial. A área de estudo está inserida no bioma da Floresta Ombrófila Mista, e suas características específicas podem ser visualizadas na Tabela 1.

Tabela 1. Características climáticas da área de condução do experimento com plantas jovens de *Eucalyptus dunnii* Maiden e *Eucalyptus benthamii* Maiden & Cambage desenvolvidas sob diferentes níveis de sombreamento, em telado preto, na Mesorregião Serrana de Santa Catarina.

Table 1. Climatic characteristics of the area of conduct experiment with young plants of *Eucalyptus dunnii* Maiden and *Eucalyptus benthamii* Maiden & Cambage developed under different levels of shading, of black roof shading in nursery in Santa Catarina Mesoregion Highlands.

Parâmetros	Especificidades
Localização geográfica	27°16'58" S e 50°35'04" W
Altitude	987 m
Clima	Temperado (Cfb), mesotérmico úmido, com inverno e verão bem definidos
Temperatura média anual	15°C (10,5°C a 19,1°C)
Pluviosidade média anual	1.676 mm

A área experimental com viveiro em diferentes níveis de sombreamento fica localizada no Campus de Curitibanos da Universidade Federal de Santa Catarina, montadas com telas de sombrite preta para recobrimento.

Inicialmente, as plantas foram acondicionadas em vasos plásticos (10 L), com furos na base, e plantadas em substrato comercial Mecplant® em casa de vegetação com cobertura plástica (ambiente protegido). Após o período de trinta dias de aclimação em casa

de vegetação, dez indivíduos de cada espécie foram colocados em viveiro nos diferentes níveis de sombreamento (Figura 1) em sombrite preto, sob 80%, 50% e 0% de sombra. O sistema de irrigação utilizado foi o automático por bicos aspersores com três irrigações por dia, por 1 minuto cada, com a vazão de 1 litro/minuto. O crescimento e desenvolvimento das plantas jovens em diferentes níveis de sombreamento ocorreram nos meses de fevereiro a agosto (verão/outono/inverno).

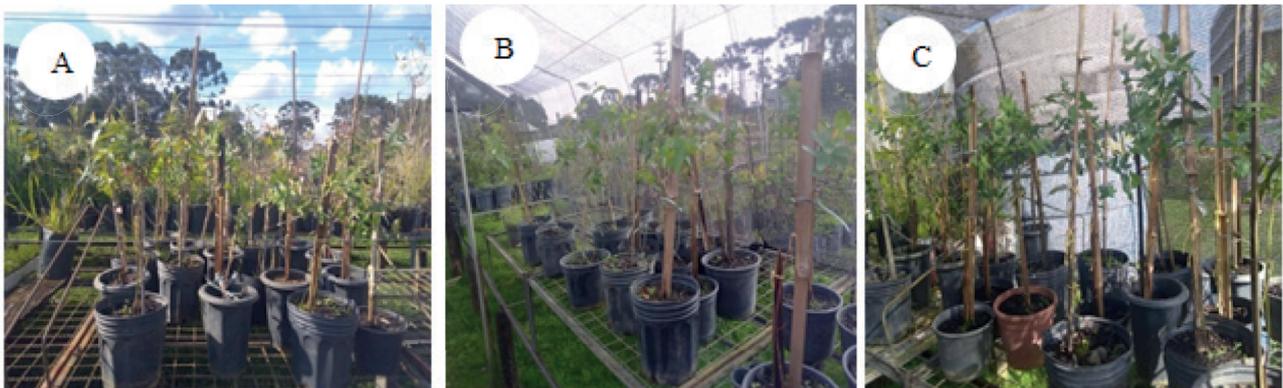


Figura 1. Plantas jovens de *Eucalyptus dunnii* Maiden e *Eucalyptus benthamii* Maiden & Cambage em diferentes níveis de sombreamento com telado preto em viveiro na Mesorregião Serrana de Santa Catarina. (A) plantas em 0% de sombreamento artificial; (B) plantas com 50% de sombreamento; (C) plantas com 80% de sombreamento.

Figure 1. Young plants of *Eucalyptus dunnii* Maiden and *Eucalyptus benthamii* Maiden & Cambage in different levels of black roof shading in nursery in Santa Catarina Mesoregion Highlands. (A) plants in 0% artificial shade; (B) plants with 50% shading; (C) plants with 80% shading.

## 2.2 Análises morfo-anatômicas

Após seis meses de desenvolvimento nas diferentes condições de sombreamento as folhas foram retiradas e analisadas com relação aos parâmetros morfofisiológicos. A determinação da Área Foliar - AF foi realizada com a coleta total de trinta folhas, obtidas de dez plantas jovens, totalmente expandidas variando do terceiro ao quinto nós caulinares, de cada um dos níveis de sombreamento (80%, 50% e 0% de sombreamento) para cada espécie (*E. dunnii* e *E. benthamii*). Em cada folha, foi realizado o seu contorno em papel com peso constante (tamanho ofício padrão 75 g/m<sup>2</sup>). Os moldes foram recortados e pesados em balança digital, relacionando o peso destes moldes, com o peso médio de área conhecida em centímetros quadrados do mesmo papel, para determinar a área foliar em centímetros quadrados (Nakazono et al, 2001).

As análises histológicas foram realizadas a partir de trinta folhas totalmente expandidas de dez plantas jovens, oriundas do terceiro ao quinto nós caulinares, as quais foram seccionadas com lâminas de aço para utilização do terço mediano. Em seguida, os fragmentos foliares foram fixados em FAA 70 (Johansen, 1940). Após 48 horas de fixação os segmentos de folhas foram imersos em etanol 70% para conservação. Lâminas temporárias para observação em microscopia de luz foram preparadas a partir de folhas recém-coletadas (in vivo), seccionadas a mão livre para a análise dos estômatos em vista frontal, e também para a análise da cutícula, em secção transversal. Para a detecção da cutícula na epiderme foi utilizado Sudan IV (O'Brien et al., 1965).

Lâminas permanentes foram preparadas para a análise dos tecidos do mesófilo, em secção transversal por meio da microscopia de luz. Segmentos do terço mediano de lâminas foliares conservados em etanol 70% foram desidratados totalmente em série etílica crescente, e incluídos em blocos de parafina histológica em estufa (60°C). Posteriormente, os blocos foram seccionados em micrótomo de rotação com 10 µm de espessura, e os cortes distendidos em lâminas de vidro, sobre chapa aquecedora (40°C) com adesivo de Bissing para a adesão (Bissing, 1974). Após a secagem das

lâminas realizou-se a coloração com safranina/fast-green e posteriormente, estas foram montadas entre lâmina-lamínula com bálsamo do Canadá sintético. As mensurações das estruturas histológicas foram feitas em microscópio de luz, com sistema digital de captura de imagem. As análises morfométricas histológicas para cada espécie foram feitas por meio de seis repetições por tratamento (80%, 50% e 0% de sombreamento), e cada repetição foi constituída da média de cinco lâminas histológicas.

## 2.3 Extração e análise de pigmentos fotossintéticos

A avaliação do teor de clorofila a e b, clorofila total e o teor de carotenoides totais foi realizada conforme a metodologia descrita por Hiscox e Israelstam (1979). Inicialmente, foi realizada a incubação em banho-maria de amostras de 100 mg de folhas frescas, sadias, com 7 mL de Dimetilsulfóxido - DMSO, pelo período de duas horas a 65°C, sem maceração. Após a filtragem, o volume total foi corrigido para 10 mL. A obtenção dos valores foi realizada por meio de espectrofotometria de UV- visível em microplaca (SpectraMax® Paradigm® Multi-mode Detection Plataforma) levando-se em conta a densidade óptica medida a 480 nm, 649 nm e 665 nm. Foram realizadas cinco repetições para cada nível de sombreamento em cada uma das duas espécies.

## 2.4 Índice de plasticidade fenotípica

Para cada parâmetro morfofisiológico avaliado em cada espécie foi calculado o índice de plasticidade fenotípica de acordo com Valladares et al. (2000), variando de zero a um, de acordo com a equação  $IP = (M - m) / M$ , considerando M o valor da maior média e m o valor da menor média.

## 2.5 Análises estatísticas

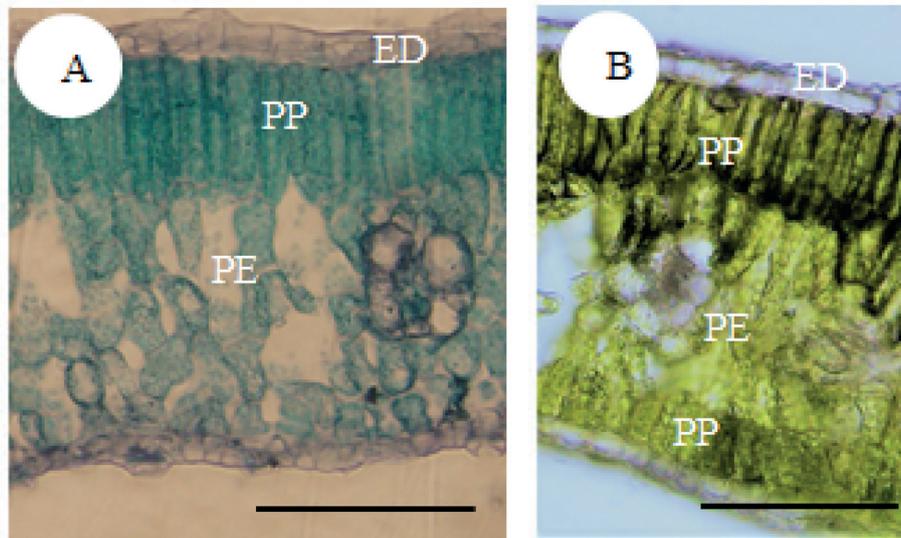
Os dados obtidos em todos os parâmetros foram submetidos à análise de variância (ANOVA), seguido do teste de separação de médias de Tukey a 5% de probabilidade, para cada espécie (não foram comparados dados entre as diferentes espécies), com auxílio do programa estatístico SISVAR (Ferreira, 2015).

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

As folhas de *Eucalyptus dunnii* Maiden nos diferentes níveis de sombreamento exibiram mesofilo de organização dorsiventral, com parênquima paliçádico biestratificado voltado para a face adaxial, e parênquima esponjoso voltado para a face abaxial (Figura 2A), com amplos espaços intercelulares. As folhas de plantas jovens de *E. dunnii* são hipoestomáticas. Em *Eucalyptus benthamii* Maiden & Cabbage, as folhas em diferentes níveis de sombreamento exibiram mesofilo isobilateral, com parênquima paliçádico biestratificado voltado

para a face adaxial e uniestratificado voltado para a face abaxial, e parênquima esponjoso na região intermediária do mesofilo (Figura 2B), com pequenos espaços intercelulares. As folhas de plantas jovens de *E. benthamii* são anfiestomáticas.

De acordo com MetCalfe e Chalk (1950), na família das Mirtáceas o mesofilo é usualmente isobilateral. Os resultados obtidos do mesofilo isobilateral para *E. benthamii* estão de acordo com as descrições de Migacz et al. (2018). A ocorrência de mesofilo com duas a três camadas de parênquima paliçádico em *E. dunnii* e *E. benthamii* também foram descritas por Migacz et al. (2018).



Fonte: os próprios autores.

Figura 2. Secção transversal de lâminas foliares de plantas jovens de *Eucalyptus dunnii* Maiden (A) e *Eucalyptus benthamii* Maiden & Cabbage (B) Barra = 50 µm. Legendas: Parênquima Paliçádico – PP; Parênquima Esponjoso – PE; Epiderme Adaxial – ED.

Figure 2. Cross section of leaf blades of young *Eucalyptus dunnii* Maiden (A) and *Eucalyptus benthamii* Maiden & Cabbage (B) plants. Bar = 50 µm. Subtitles: Palisade Parenchyma – PP; Spongy Parenchyma - PE; Adaxial Epidermis - ED.

Em estudo com *E. globulus* Malinowski et al. (2009) apresentam que folhas de plantas jovens possuem mesofilo dorsiventral, e folhas de plantas adultas tem mesofilo isobilateral. Nesse sentido, os resultados obtidos nesse estudo fazem o primeiro relato de folhas dorsiventrals em plantas jovens de *E. dunnii*, independente da condição luminosa. No estudo com folhas de plantas adultas de *E. dunnii*, Migacz et al. (2018) descrevem o mesofilo como isobilateral.

Entretanto, esse dimorfismo foliar não ocorre em *E. benthamii*. A existência de organização distinta no mesofilo de *E. dunnii* e *E. benthamii* evidenciam estratégias evolutivas diferentes para a captura e difusão da luminosidade e gás carbônico no interior de suas folhas. Essas diferenças podem indicar a necessidade de maior luminosidade na fase juvenil de *E. dunnii*, uma vez que o padrão dorsiventral é típico de folhas expostas a alta luminosidade em espécies arbóreas tropicais.

A distribuição dos estômatos em folhas do gênero *Eucalyptus* usualmente é classificada como anfiestomáticas (Saulle et al., 2018). A ocorrência de folhas hipoestomáticas em folhas de plantas jovens, e anfiestomáticas em plantas adultas foram observadas em *E. globulus* por Malinowski et al. (2009). No estudo com folhas de plantas adultas de *E. dunnii*, Migacz et al. (2018) descrevem folhas anfiestomáticas. Nesse presente estudo foi registrado pela primeira vez em *E. dunnii* a ocorrência de hipoestomatia em folhas de plantas jovens. A hipoestomatia em folhas de plantas jovens de *E. dunnii* podem estar relacionadas com uma estratégia de redução da perda de água por transpiração, considerando a menor área de trocas gasosas (aberturas estomáticas) na lâmina inteira. A organização dorsiventral e a hipoestomatia em folhas jovens de *E. dunnii* reforçam a interpretação de uma necessidade maior de luminosidade na fase

juvenil da planta, sendo que a primeira característica favorece a maior captura de luz, e a segunda característica favorece redução na perda de água.

A espessura da cutícula na face adaxial não diferiu estatisticamente, entre os níveis de sombreamento para *E. dunnii* (Figura 3). Entretanto, em *E. benthamii* o aumento do sombreamento promoveu aumento na espessura da cutícula da face adaxial. A cutícula na face abaxial não apresentou diferenças estatísticas, em ambas as espécies. As células epidérmicas de *E. dunnii* não tiveram variação estatisticamente significativa na face adaxial (Figura 3), porém foram mais espessas na face abaxial no tratamento com maior sombreamento (80% de sombreamento). Em *E. benthamii*, as células epidérmicas na face adaxial foram mais espessas no tratamento com maior sombreamento (80%), enquanto que na face abaxial não existiram diferenças estatisticamente significativas.

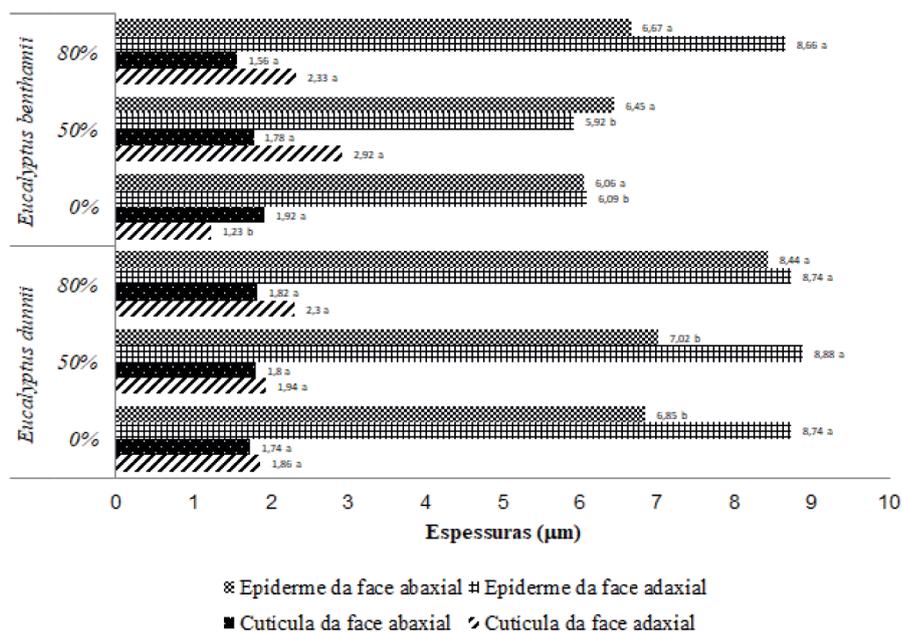


Figura 3. Espessuras da cutícula e células epidérmicas em folhas de plantas jovens de *Eucalyptus dunnii* Maiden e *Eucalyptus benthamii* Maiden & Cambage desenvolvidas sob diferentes níveis de sombreamento (0%, 50%, 80%), em telado preto, na Mesoregião Serrana de Santa Catarina. Valores em µm. Letras diferentes para cada espécie indicam diferenças estatisticamente significativas pelo teste Tukey a 5%.

Figure 3. Cuticle and epidermal cell thickness in leaves of young *Eucalyptus dunnii* Maiden and *Eucalyptus benthamii* Maiden & Cambage plants developed under different shading levels (0%, 50%, 80%), in black roof, in Santa Catarina Mesoregion Highlands. Values in µm. Different letters for each species indicate statistically significant differences by the 5% Tukey test.

A plasticidade da epiderme é uma característica que tem relação com a intensidade luminosa, podendo diminuir ou aumentar sua espessura dependendo do grau de sombreamento (Larcher, 2004). O aumento da espessura da cutícula e das células epidérmicas em *Eucalyptus benthamii* em ambiente mais sombreado pode estar associado com a manutenção de maior conteúdo de água na folha, o que possibilita o equilíbrio térmico nesses ambientes de temperaturas médias mais amenas. Em *E. dunnii*, o investimento no ajuste desses caracteres em aclimação a ambientes mais sombreados não se expressa.

A densidade estomática em folhas de *E. dunnii* foi maior nas maiores intensidades luminosas (Figura 4). Em *E. benthamii* o aumento da densidade estomática com o aumento da luminosidade também foi observado para a face adaxial, entretanto, na face abaxial o comportamento não foi o mesmo (Figura 4). A densidade estomática é um parâmetro de grande relevância ecofisiológica que influencia na fotossíntese e nas trocas gasosas (Camargo e Marengo, 2012). Algumas espécies vegetais utilizam o processo de fechamento dos estômatos

para retardar a perda de água, o que torna possível classificá-las como espécies com maior sensibilidade estomática. Porém a redução do volume de água perdida pelas plantas tem influência no tamanho e distribuição dos estômatos. Resultados semelhantes foram descritos por Camargo e Marengo (2012) em *Carapa guianensis* Aubl. (Meliaceae), onde encontraram maior densidade estomática em folhas submetidas à alta irradiância. A densidade estomática tende a se elevar em plantas expostas a altas irradiâncias, o que proporciona um aumento na absorção de CO<sub>2</sub>, mas também diminuição na transpiração, devido a sobreposição da área de difusão do vapor d'água devido a maior proximidade dos estômatos (Larcher, 2004). Em *E. dunnii* e *E. benthamii* o aumento da luminosidade deve aumentar o metabolismo fotossintético exigindo maior captura de gás carbônico, visto que a densidade estomática teve aumento significativo. O ajuste na densidade estomática em *E. benthamii* na face adaxial (exposta diretamente a radiação solar) foi suficiente para a aclimação a maiores intensidades luminosas, mantendo a densidade na face abaxial.

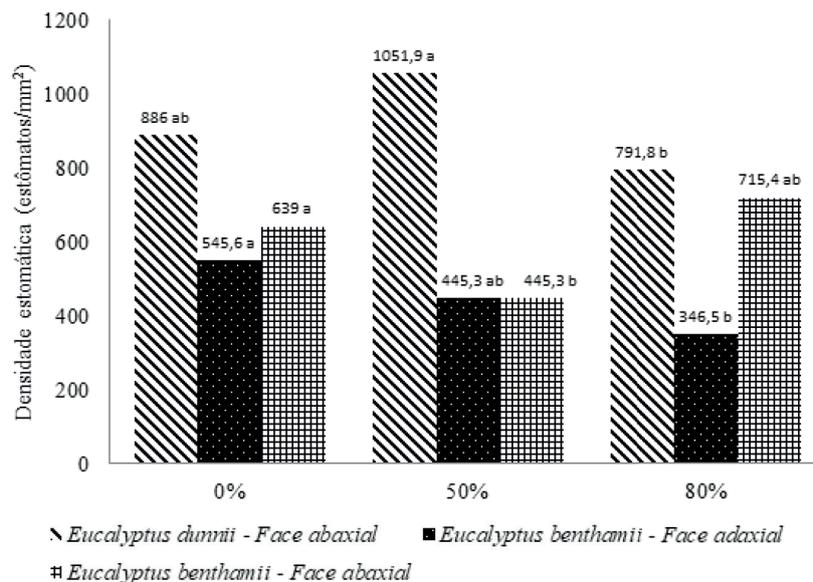


Figura 4. Densidade estomática em folhas de plantas jovens de *Eucalyptus dunnii* Maiden e *Eucalyptus benthamii* Maiden & Cambage desenvolvidas sob diferentes níveis de sombreamento (0%, 50%, 80%), em telado preto, na Mesoregião Serrana de Santa Catarina. Densidade estomática em est.mm<sup>-2</sup>. Letras diferentes para cada espécie indicam diferenças estatisticamente significativas pelo teste Tukey a 5%.

Figure 4. Stomatal density in leaves of young plants *Eucalyptus dunnii* Maiden and *Eucalyptus benthamii* Maiden & Cambage plants developed under different shading levels (0%, 50%, 80%), in black roof, in Santa Catarina Mesoregion Highlands. Stomatal density in est.mm<sup>-2</sup>. Different letters for each species indicate statistically significant differences by the 5% Tukey test.

O comprimento e a largura dos estômatos em *E. dunnii* não tiveram diferenças significativas (Figura 5A). Em *E. benthamii* o maior comprimento dos estômatos foi registrado na face adaxial em maior luminosidade (0% de sombreamento) (Figura 5B). O comprimento dos estômatos na face abaxial, e a largura dos estômatos em ambas as faces de *E. benthamii* não tiveram diferenças

estatisticamente significativas. Em *E. dunnii* o poro estomático não teve variação significativa nas diferentes condições luminosas. Em *E. benthamii* o menor comprimento e largura do poro estomático foi observado na face adaxial em condição de menor luminosidade (80% de sombreamento), entretanto, na face abaxial, o comprimento e largura não tiveram diferenças significativas.

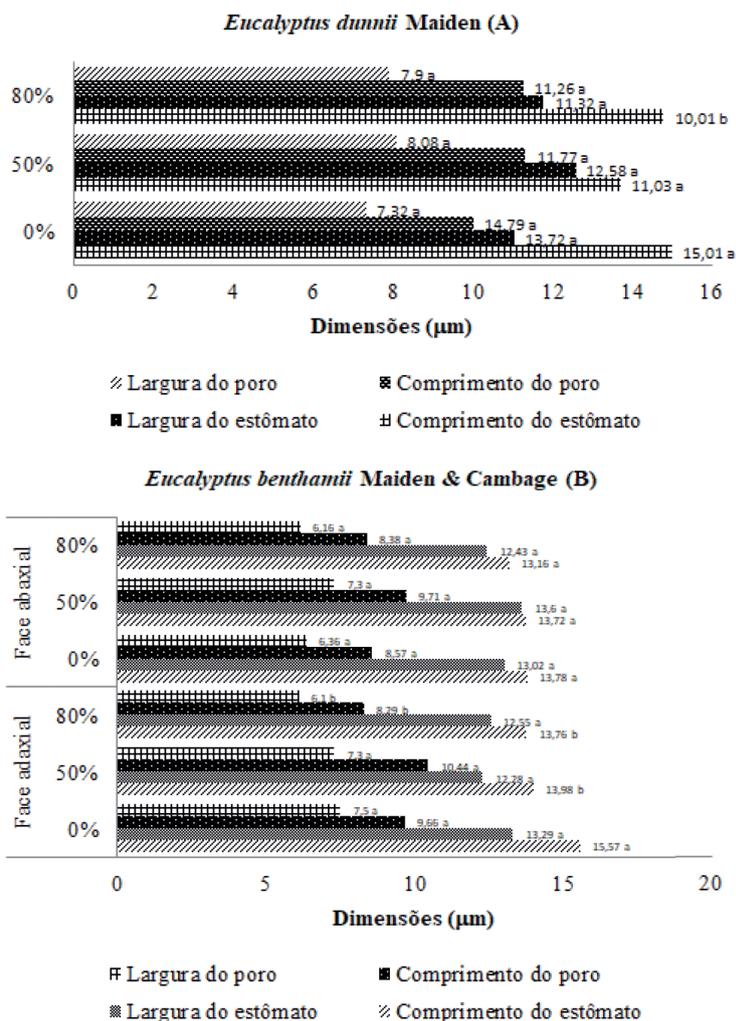


Figura 5. Dimensões dos estômatos e poros estomáticos em folhas de plantas jovens de *Eucalyptus dunnii* Maiden (A) e *Eucalyptus benthamii* Maiden & Cambage (B) desenvolvidas sob diferentes níveis de sombreamento (0%, 50%, 80%), em telado preto, na Mesoregião Serrana de Santa Catarina. Valores em  $\mu\text{m}$ . Letras diferentes para cada espécie indicam diferenças estatisticamente significativas pelo teste Tukey a 5%.

Figure 5. Dimensions of stomata and stomatal pores in leaves of young plants *Eucalyptus dunnii* Maiden (A) and *Eucalyptus benthamii* Maiden & Cambage (B) plants developed under different shading levels (0%, 50%, 80%) on black roof, in Santa Catarina Mesoregion Highlands. Values in  $\mu\text{m}$ . Different letters for each species indicate statistically significant differences by the 5% Tukey test.

O aumento do poro estomático em condições de maior luminosidade, como visto em *E. benthamii*, foram registrados em *Quercus ilex* e *Phillyrea latifolia* (Gratani et al, 2006), e em *Carapa guianensis* Aubl. (Aragão et al., 2014). A redução nas dimensões estomáticas deve promover aumento da resistência à passagem de água por transpiração, mantendo a capacidade de captura de CO<sub>2</sub> e evitando um estresse hídrico em ambientes com maior luminosidade (Fermino Junior e Fockink, 2017), entretanto, espécies do mesmo gênero, como *E. dunnii* e *E. benthamii*, as estratégias adaptativas são distintas. Em *E. dunnii*, os efeitos de variação na luminosidade não promovem alteração nas dimensões do poro estomático, porém conforme apresentado anteriormente, a densidade estomática aumentou com o aumento

da luminosidade. Para *E. benthamii*, assim como visto para a densidade estomática, a dimensão dos estômatos sofreu ajuste apenas na face adaxial, indicando como suficiente para a aclimação, sem alterar os parâmetros na face abaxial.

O parênquima paliçádico em folhas de plantas jovens de *E. dunnii* não apresentou diferenças estatisticamente significativas entre os níveis de sombreamento (Figura 6). Em *E. benthamii*, o parênquima paliçádico foi mais espesso na condição de 50% de sombreamento. O parênquima esponjoso não apresentou diferenças significativas na espessura em ambas as espécies, nos diferentes níveis de sombreamento. O mesofilo também não apresentou espessuras com diferenças significativas nos diferentes níveis de sombreamento, em ambas as espécies.

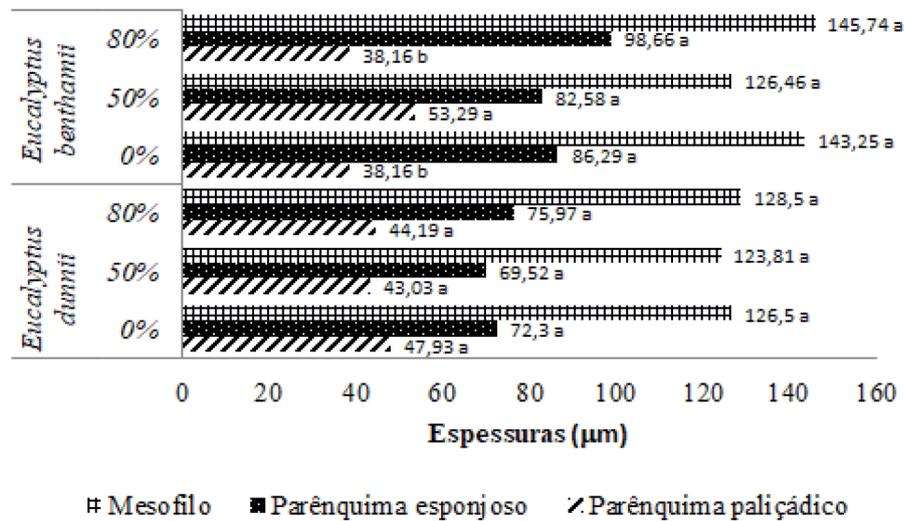


Figura 6. Espessuras dos tecidos do mesofilo de folhas de plantas jovens de *Eucalyptus dunnii* Maiden e *Eucalyptus benthamii* Maiden & Cambage desenvolvidas sob diferentes níveis de sombreamento (0%, 50%, 80%), em telado preto, na Mesoregião Serrana de Santa Catarina. Valores em µm. Letras diferentes para cada espécie indicam diferenças estatisticamente significativas pelo teste Tukey a 5%.

Figure 6. Mesophyll thickness of *Eucalyptus dunnii* Maiden and *Eucalyptus benthamii* Maiden & Cambage young plants developed under different shading levels (0%, 50%, 80%) in black roof, in Santa Catarina Mesoregion Highlands. Values in µm. Different letters for each species indicate statistically significant differences by the 5% Tukey test.

Existem ocorrências de alterações do mesofilo sob diferentes intensidades luminosas em diversas espécies arbóreas (Novelli et al., 2015). Em folhas expostas à maior luminosidade, o aumento na espessura do parênquima paliçádico está associado com o aumento da superfície celular para trocas gasosas de CO<sub>2</sub>, acarretando aumento na atividade fotossintética (Tomas et al., 2013). Em *E. dunnii* os diferentes níveis de sombreamento não promoveram alterações na espessura do parênquima paliçádico. Em *E. benthamii*, é possível que o uso de telado com redução de 50% de sombreamento induziu uma aclimatação no sentido de otimizar a captura de energia luminosa, em níveis energéticos mais adequados para os processos fotossintéticos, tornando as células mais alongadas (espessas), fato que favorece a captura de CO<sub>2</sub>.

De acordo com Terashima et al. (2011), o parênquima esponjoso apresenta estrutura organizacional que possibilita o espalhamento da

radiação luminosa e facilita a difusão lateral do CO<sub>2</sub> a partir das câmaras subestomáticas. Entretanto, em *E. dunnii* e *E. benthamii* não existiram alterações significativas no parênquima esponjoso sob os diferentes níveis de sombreamento.

A área foliar não exibiu diferenças estatisticamente significativas entre os diferentes níveis de sombreamento, em ambas as espécies (Tabela 2). De acordo com Nascimento et al. (2006), a área foliar apresenta função importante na determinação da quantidade de luz que a planta intercepta, na fixação de carbono e na perda de água. Plantas que se desenvolvem em altas intensidades luminosas exibem uma tendência em apresentar folhas com áreas menores, isto aumenta a convecção de calor dissipado, característica relevante para garantir a sobrevivência, evitando o superaquecimento interno da folha e desidratação (Larcher, 2004). Em plantas jovens de *E. dunnii* e *E. benthamii* as folhas não responderam à variação da área foliar em diferentes níveis de sombreamento.

Tabela 2. Área foliar e concentrações dos pigmentos fotossintéticos de folhas de plantas jovens de *Eucalyptus dunnii* Maiden e *Eucalyptus benthamii* Maiden & Cambage desenvolvidas sob diferentes níveis de sombreamento, em telado preto, na Mesorregião Serrana de Santa Catarina.

Table 2. Leaf area and photosynthetic pigment concentrations of leaves of *Eucalyptus dunnii* Maiden and *Eucalyptus benthamii* Maiden & Cambage young plants developed under different shading levels, in black roof, in Santa Catarina Mesoregion Highlands.

Parâmetros / Sombreamento	<i>Eucalyptus dunnii</i>			<i>Eucalyptus benthamii</i>		
	0%	50%	80%	0%	50%	80%
Área foliar (cm <sup>2</sup> )	51,42 a	65,62 a	69,69 a	42,90 a	53,21 a	38,33 a
Clorofila <i>a</i> (mg/100 mg)	13,3 a	14,35 a	13,23 a	13,28 a	10,99 b	12,86 a
Clorofila <i>b</i> (mg/100 mg)	4,60 c	8,07 a	6,50 b	7,86 a	4,41 c	6,20 b
Clorofilas totais(mg/100 mg)	17,9 b	22,4 a	17,9 b	21,1 a	15,4 c	19,0 b
Carotenóides (mg/100 mg)	3,92 a	1,18 c	2,93 b	2,18 a	2,54 a	2,47 a
Razão Cl.a/Cl.b	2,9	1,8	2,1	1,7	2,5	2,1

Nota: Letras diferentes na horizontal para cada espécie indicam diferenças estatisticamente significativas pelo teste Tukey a 5%.

Note: Different horizontal letters for each species indicate statistically significant differences by the 5% Tukey test.

A concentração de clorofila a em folhas de *E. dunnii* não apresentou diferenças significativas entre os níveis de sombreamento (Tabela 2), entretanto, menores concentrações de clorofila b e totais foram observadas em condições de menor nível de sombreamento (50% e 80% de sombreamento).

Em folhas de *E. benthamii*, a concentração de clorofila a foi menor no tratamento com 50% de sombreamento. Ainda em *E. benthamii*, as maiores concentrações de clorofila b e totais foram registradas em condições de maior luminosidade (0% de sombreamento). A concentração de carotenóides (Tabela 2) em folhas de *E. dunnii* foi maior em condições de maior luminosidade (0% de sombreamento), e em folhas de *E. benthamii* não existiram diferenças significativas.

Alterações na disponibilidade de radiação influenciam diretamente na concentração de pigmentos fotossintéticos, alterando a quantidade de clorofila total, assim como a razão de clorofila a em relação à clorofila b e carotenóides (Demmig-Adams e Adams, 1996). Sob condições luminosas normais, a taxa de síntese e degradação de clorofilas é a mesma, mas a degradação de clorofilas pode ser acelerada por excesso de radiação solar (Ferreira et al., 2012). De acordo com Larcher (2004) as folhas de sombra apresentam maior concentração

de clorofila por grama de massa seca do que folhas expostas diretamente ao sol, assim, a combinação das clorofilas a e dos pigmentos acessórios possibilitam que as plantas capturem maior quantidade de radiação solar fotossinteticamente ativa, como visto em *E. dunnii*. Os teores de carotenóides específicos que participam do ciclo da xantofila (violaxantina, zeaxantina e anteroxantina) são maiores em folhas crescidas ao sol, pela maior atuação destes carotenóides na dissipação de energia na forma de calor (Larcher, 2004), corroborando os resultados vistos em *E. dunnii*. Entretanto, os carotenóides não variaram significativamente em *E. benthamii*.

A análise do Índice de Plasticidade Fenotípica (Tabela 3) em folhas de *E. dunnii* indica que os Carotenóides apresentaram o maior índice (0,77) seguido pela Área Foliar (0,61), enquanto a Clorofila a tem o menor índice (0,21). Dentre os parâmetros relacionados aos estômatos, os maiores IP foram registrados para a Densidade estomática (0,46) e a Largura do poro estomático (0,45). Com relação às espessuras dos tecidos da folha, os maiores IP foram observados na espessura da Cutícula da Face Adaxial (0,52) e espessura da Cutícula da Face Abaxial (0,46). A espessura do Parênquima Paliçádico apresenta IP maior (0,42) que a espessura do Parênquima Esponjoso (0,34).

Tabela 3. Índice de Plasticidade Fenotípica - IP de características morfométricas e fisiológicas em folhas de plantas jovens de *Eucalyptus dunnii* Maiden na Mesorregião Serrana de Santa Catarina desenvolvidas sob diferentes níveis de sombreamento 0%, 50% e 80%.

Table 3. Phenotypic Plasticity Index - PI of morphometric and physiological characteristics in leaves of young *Eucalyptus dunnii* Maiden plants in Santa Catarina Mesoregion Highlands developed under different shading levels 0%, 50% and 80%.

Parâmetros avaliados	IP
Carotenóides	0,77
Área foliar	0,61
Clorofila b	0,52
Cutícula Adaxial	0,52
Densidade estomática	0,46
Cutícula Abaxial	0,46
Largura do poro estomático	0,45
Parênquima Paliçádico	0,42
Mesofilo	0,36
Epiderme Abaxial	0,35

continua  
to be continued

continuação - Tabela 3

continuation - Table 3

Parâmetros avaliados	IP
Parênquima Esponjoso	0,34
Clorofila Total	0,3
Comprimento do poro estomático	0,25
Largura do estômato	0,24
Comprimento do estômato	0,23
Epiderme Abaxial	0,22
Clorofila <i>a</i>	0,21

A análise dos Índices de Plasticidade Fenotípica em *E. benthamii* (Tabela 4) indicam que os maiores valores foram registrados para a espessura da Cutícula Adaxial (0,79) e a Área Foliar (0,72), enquanto que os menores valores foram para o Comprimento dos estômatos na face adaxial (0,19). Com relação aos parâmetros estomáticos, os maiores IP tendem a ser para aqueles na

face adaxial em comparação a face abaxial. Os maiores IP foram para a Densidade estomática adaxial (0,55). Com relação às espessuras dos tecidos da folha em *E. benthamii*, os maiores IP foram identificados para a Cutícula Adaxial (0,79) e a Cutícula Abaxial (0,55). A espessura do Parênquima Paliçádico apresenta IP maior (0,41) que a espessura do Parênquima Esponjoso (0,40).

Tabela 4. Índice de Plasticidade Fenotípica - IP de características morfométricas e fisiológicas em folhas de plantas jovens de *Eucalyptus benthamii* Maiden & Cambage na Mesorregião Serrana de Santa Catarina desenvolvidas sob diferentes níveis de sombreamento 0%, 50% e 80%.

Table 4. Phenotypic Plasticity Index - PI of morphometric and physiological characteristics in leaves of young *Eucalyptus benthamii* Maiden & Cambage plants in Santa Catarina Mesoregion Highlands developed under different shading levels 0%, 50% and 80%.

Parâmetros avaliados	IP
Cutícula Adaxial	0,79
Área foliar	0,72
Densidade estomática adaxial	0,55
Cutícula Abaxial	0,55
Clorofila <i>b</i>	0,54
Epiderme Adaxial	0,52
Densidade estomática abaxial	0,48
Largura do poro estomático abaxial	0,43
Parênquima Paliçádico	0,41
Comprimento do poro estomático abaxial	0,40
Parênquima Esponjoso	0,40
Epiderme Abaxial	0,39
Comprimento do poro estomático adaxial	0,36
Clorofila Total	0,36

continua  
to be continued

continuação - Tabela 4

continuation - Table 4

Parâmetros avaliados	IP
Lâmina Foliar	0,33
Carotenoides	0,33
Largura do poro estomático adaxial	0,33
Comprimento do estômato abaxial	0,26
Mesofilo	0,25
Largura do estômato abaxial	0,25
Clorofila <i>a</i>	0,25
Largura do estômato adaxial	0,22
Comprimento do estômato adaxial	0,19

Resultados semelhantes aos apresentados por *E. dunnii* e *E. benthamii* foram observados em *Handroanthus crysotrichus* Mart. ex DC. (Bignoniaceae) por Soares (2012), e em *Calophyllum brasiliense* Camb. (Calophyllaceae) por Bächtold e Mello Junior (2015), com a área foliar e os caracteres estomáticos sendo uns dos mais plásticos.

Espécies mais plásticas possuem maior probabilidade de sobreviver às condições ambientais adversas devido a suas adaptações morfológicas, fisiológicas e bioquímicas (Valladares et al., 2006). Segundo Valladares (2000) espécies que apresentam características com índices de plasticidade acima de 0,6 são consideradas altamente plásticas. Nesse contexto, em folhas de *E. dunnii*, os carotenóides e a área foliar, e em *E. benthamii*, a espessura da cutícula na face adaxial e a área foliar são caracteres altamente plásticos. A plasticidade fenotípica em folhas de *E. dunnii* e de *E. benthamii* indicaram os caracteres relacionados ao sistema de revestimento (cutícula e estômatos) como os de maior expressividade em relação aos caracteres do sistema fundamental (parênquima paliçádico e esponjoso), corroborando a concepção de que os tecidos de revestimento são indicadores sensíveis a aclimação, uma vez que estão em contato direto com o ambiente.

#### 4 CONCLUSÕES

A organização do mesofilo e a distribuição dos estômatos na lâmina foliar indicam que *E. dunnii* na fase juvenil tem adaptações para suportar maior luminosidade em comparação com *E. benthamii*.

A cutícula e a epiderme em *E. benthamii* sofrem alterações com relação aos níveis de luminosidade, enquanto que em *E. dunnii* as alterações não são significativas.

A densidade estomática aumenta com o aumento da luminosidade em ambas as espécies. A dimensão dos estômatos tem alterações significativas com a variação de luminosidade em *E. benthamii*, entretanto, não ocorrem em *E. dunnii*.

Os tecidos do mesofilo não respondem significativamente em *E. dunnii*, porém em *E. benthamii* o maior desenvolvimento ocorre com 50% de sombreamento.

A área foliar não tem alterações significativas em relação aos níveis de luminosidade para ambas as espécies. As concentrações de clorofilas totais em *E. dunnii* são maiores a 50% de luminosidade, e em *E. benthamii* são maiores a 0% de sombreamento. Os carotenóides têm maior concentração em *E. dunnii* a 0% de sombreamento, porém não tem variações significativas em *E. benthamii*.

Os caracteres anatômicos com maior variação em relação aos diferentes níveis de sombreamento em *E. dunnii* foram na epiderme (cutícula, estômatos, células epidérmicas ordinárias), enquanto em *E. benthamii* foram na epiderme e no mesofilo.

A plasticidade fenotípica em folhas de *E. dunnii* e de *E. benthamii* indicaram os caracteres relacionados ao sistema de revestimento (cutícula e estômatos) como os de maior variação em relação aos caracteres do sistema fundamental (parênquima paliçádico e esponjoso).

## 5 AGRADECIMENTOS

À Secretaria de Estado de Educação de Santa Catarina pela concessão da Bolsa UniEdu para a mestranda.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARAGÃO, D.S. et al. Efeito do sombreamento na anatomia foliar de plantas jovens de andiroba (*Carapa guianensis* Aubl.). **Revista Árvore**, v. 38, n. 4, p. 631-639, 2014.

BÄCHTOLD, B.A.; MELO JUNIOR, J.C.F. DE. Plasticidade morfológica de *Calophyllum brasiliense* Camb. (Calophyllaceae) em duas formações de restinga no sul do Brasil. **Acta Biológica Catarinense**, v. 2, n. 2, p. 21-32, 2015.

BISSING, D.R. Haupt's Gelatin Adhesive Mixed with Formalin for Affixing Paraffin Sections to Slides. **Stain Technology**, v. 49, n. 1, p. 116-117, 1974.

CALLAWAY, R.; PENNING, S.C.; RICHARDS, C.L. Phenotypic plasticity and interactions among plants. **Ecology**, v. 84, n. 2, p. 115-1128, 2003.

CAMARGO, M.A.B.; MARENCO, R.A. Growth, leaf and stomatal traits of crabwood (*Carapa guianensis* Aubl.) in central Amazonia. **Revista Árvore**, v. 36, n. 1, p. 7-16, 2012.

CARVALHO, N.O.S. et al. Crescimento inicial de plantas de licuri (*Syagrus coronata* (Mart.) Becc.) em diferentes níveis de luminosidade. **Revista Árvore**, v. 30, n. 3, p. 351-357, 2006.

CASAL, J.J.; QUESTA, J.I. Light and temperature cues: multitasking receptors and transcriptional integrators. **New Phytologist**, v. 217, n. 3, p. 1029-1034, 2018.

DEMMIG-ADAMS, B.; ADAMS, W.W. Using chlorophyll fluorescence to assess the fraction of absorbed light allocated to thermal dissipation of excess excitation. **Physiologia Plantarum**, v. 2, n. 3, p. 253-264, 1996.

FERMINO JUNIOR, P.C.P.; FOCKINK, G.D. Anatomia foliar de plantas jovens de erva mate (*Ilex paraguariensis* A.St.Hil.) sob diferentes níveis de sombreamento. **Scientia Agraria Paranaensis**, v. 16, n. 3, p. 335-341, 2017.

FERREIRA, D.F. **Programa Sisvar.exe**: sistema de análise de variância. Versão 3.04. Lavras, 2015. 32p.

FERREIRA, W.N. et al. Crescimento inicial de *Piptadenia stipulacea* (Benth.) Ducke (Mimosaceae) e *Anadenanthera colubrina* (Vell.) Brenan var. cebil (Griseb.) Altshul (Mimosaceae) sob diferentes níveis de sombreamento. **Acta Botanica Brasilica**, v. 26, n. 2, p. 408-414, 2012.

GRATANI, L.; COVONE, F.; LARCHER, W. Leaf plasticity in response to light of three evergreen species of the Mediterranean maquis. **Trees**, v. 20, n. 5, p. 549-558, 2006.

HISCOX, J.D.; ISRAELSTAM, G.F. A method for the extraction of chlorophyll from leaf tissue without maceration. **Canadian Journal of Botany**, v. 57, n. 12, p. 1332-1334, 1979.

JOHANSEN, D.A. **Plant microtechnique**. New York: McGraw Hill Book Company, Inc, 1940. 523p.

KELLY, J. et al. Growth and physiological response of six Australian rainforest tree species to a light gradient. **Forest Ecology and Management**, v. 257, n. 1, p. 287-293, 2009.

LARCHER, W. **Ecofisiologia Vegetal**. São Carlos: Rima, 2004. 531 p.

MALINOWSKI, L.R.L., NAKASSHIMA, T., ALQUINI, Y. Caracterização morfo-anatômica de folhas jovens de *Eucalyptus globulus* Labill ssp. bicostata (Maidenet al.) J.B. Kirkpat (Myrtaceae). **Latin American Journal Pharmacy**, v. 28, n. 4, p. 756-761, 2009.

METCALFE, C.R.; CHALK, L. *Anatomy of Dicotyledons*. 1 ed. Oxford: Clarendon Press, 1950. v. 2, 806 p.

MIGACZ, I.P. et al. Comparative leaf morpho-anatomy of six species of *Eucalyptus* cultivated in Brazil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 28, n. 3, p. 273-281, 2018.

NAKAZONO, E.M. et al. Crescimento inicial de *Euterpe edulis* Mart. em diferentes regimes de luz. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 24, n. 2, p. 1-7, 2001.

NASCIMENTO, E.A. et al. Alterações morfológicas em folhas de café ( *Coffea arabica* L.) consorciado com seringueira ( *Hevea brasiliensis* Muell. Arg.). **Ciência Rural**, v. 36, n. 3, p. 852-857, 2006.

NOVELLI, D.S. et al. Morfoanatomia foliar de cupuaçuzeiros estabelecidos por diferentes métodos de propagação e sombreamento. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 37, n. 4, p. 934-942, 2015.

O'BRIEN, T.P.; FEDER, N.; MCCULLY, M. E. Polychromatic staining of plant cell walls by toluidine blue O. **Protoplasma**, v. 59, n. 2, p. 368-373, 1965.

PACHECO, M.V. et al. Efeito de temperatura e substratos na germinação de sementes de *Myracrodruon urundeuva* Fr. All. (Anacardiaceae). **Revista Árvore**, v. 30, n. 3, p. 359-367, 2006.

PINTO-JÚNIOR, J.E.P. et al. **Genética florestal**. Viçosa, MG: Arka, 2011. 318p.

PITZ FLORIANI, M.M. et al. Relação entre concentrações foliares de carboidratos solúveis totais e tolerância ao frio em diferentes espécies de *Eucalyptus* spp. **Ciência Florestal**, v. 23, n. 1, p. 165-174, 2013.

REHFELDT, G.; WYKOFF, W.R.; YING, C.C. Physiological plasticity, evolution, and impacts of a changing climate on *Pinus contorta*. **Climatic Change**, v. 50, n. 4, p. 355-376, 2001.

RESENDE, M.D.V.; PIRES, I.E.; SILVA, R.L. Melhoria do Eucalipto. In: LOPES, M.A. et al. **Pré-melhoramento de plantas: estado da arte e experiências de sucesso**. Planaltina: Embrapa Informação Tecnológica; Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia; Brasília: Embrapa Cerrados, 2011. 614p.

RIBEIRO, L.; CATEN, A.T.; FERMINO JUNIOR, P.C.P. Plasticidade fenotípica de caracteres morfofisiológicos e reflexão espectral de folhas de *Ilex paraguariensis* A. St.-Hil. **Enciclopédia Biosfera**, v. 17, n. 31, p. 170-185, 2020.

SAULLE, C.C. et al. Anatomy and volatile oil chemistry of *Eucalyptus saligna* cultivated in South Brazil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 28, n. 2, p. 125-134, 2018.

SOARES, M. G. **Plasticidade fenotípica de plantas jovens de *Handroanthus chrysotrichus* (Mart. ex DC.) Matos (Bignoniaceae) em resposta a radiação solar**. 2012. 91 f. Dissertação (Mestrado em Biologia Vegetal) – Centro de Ciências Humanas e Naturais, Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória.

TERASHIMA, I. et al. Leaf functional anatomy in relation to photosynthesis. **Plant Physiology**, v. 155, n. 1, p. 108-116, 2011.

TOMAS, M. et al. Importance of leaf anatomy in determining mesophyll diffusion conductance to CO<sub>2</sub> across species: quantitative limitations and scaling up by models. **Journal of Experimental Botany**, v. 64, n. 8, p. 2269-2281, 2013.

VALLADARES, F. et al. Plastic phenotypic response to light of 16 congeneric shrubs from Panamanian rainforest. **Ecology**, v. 8, n. 4, p. 1925-1936, 2000.

\_\_\_\_\_. GOMEZ, D.; ZAVALA, M.A. Quantitative estimation of phenotypic plasticity: bridging the gap between the evolutionary concept and its ecological applications. **Journal of Ecology**, v. 94, n. 4, p. 1103-1116, 2006.