

QUANTIFICAÇÃO DE ESTÔMATOS E TEOR DE CLOROFILA EM FOLHAS DE SOL E DE SOMBRA EM ACEROLA

José Marcílio da SILVA (1); Fabiana Augusta Santiago BELTRÃO (2); Antonio da Lapa Rocha PASSOS (3); Cleofan Cardoso GUIMARÃES (4)

(1) IFPE, Campus Barreiros, Fazenda Sapé S/N, Zona Rural, Barreiros, PE, CEP 55560-000, (81)3675-1117, fax

(81)3675-2000, e-mail: marciliocilo@yahoo.com.br

(2) UFPB-CAVN, e-mail: fasb.15@hotmail.com

(3) IFTO, e-mail: dalapa7a@hotmail.com

(4) IFTO, e-mail: cleofancg@hotmail.com

RESUMO

A acerola é uma frutífera que tem se destacado pelo seu alto valor de vitamina C em seus frutos; é nativa das ilhas do caribe, América Central e norte da América do Sul. Objetivou-se avaliar a quantificação do número de estômatos e teores de clorofila em folhas de sol e folhas de sombra em aceroleira. Foram realizados estudos anatômicos, utilizando 50 folhas de sol e 50 folhas de sombra. Os estômatos foram quantificados a partir de cortes longitudinais da porção mediana das folhas de sol e folhas de sombra e as clorofilas foram procedidos por espectrofotometria. As análises foram realizadas no laboratório do NEDTEC. O número de estômatos em folhas de sol em média de 203.012 mm² foi maior em relação às folhas de sombra, que apresentou em média de 149.439 mm². Embora sem diferenças significativas entre os teores de clorofila *a*, clorofila *b*, e clorofila *total* as folhas expostas ao sol apresentaram maiores teores de clorofila *a*, *b* e *total* em relação as folhas sombreadas de acerola.

Palavras-chave: *Malpighia emarginata* D.C., anatomia foliar, estômatos, clorofilas.

1. INTRODUÇÃO

A acerola (*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 vitamina C em seus frutos (CARVALHO e MANICA, 1993). 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 1% da Radiação Fotossinteticamente Ativa (RFA) disponível em ambiente exposto. As folhas que se adaptaram a ambientes ensolarados ou sombrios, são muitas vezes incapazes de sobreviver em outro habitat (TAIZ e ZEIGER, 2004). A estrutura da folha de acerola pode ser influenciada pelo nível de luz durante seu crescimento. 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 e OLIVEIRA, 2003).

O objetivo deste trabalho foi quantificar os teores de clorofila e estômatos em folhas de acerola expostas ao sol e de folhas exposta a sombra.

2. MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi realizado no campo experimental do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Espírito Santo. Foi escolhida uma planta de acerola da qual foram coletadas 50 folhas exposta ao sol e 50 folhas exposta a sombra no dia 25/11/2005, e levadas para o laboratório do Núcleo de Estudos e de Difusão de Tecnologia em Floresta, Recursos Hídricos e Agricultura Sustentável (NEDTEC) da Universidade Federal do Espírito Santo, localizado na região de Jerônimo Monteiro-ES, situado geograficamente a 20° 47' 25'' de latitude Sul e 41° 23' 48'' de longitude Oeste, com altitude média de 120 m., para realização de estudos anatômicos. A quantificação dos teores de clorofila *a* e *b* e clorofila *total* (mg L⁻¹) foram procedidos por espectrofotometria de emissão a 470 nm, 647 nm e 663 nm, através das equações 1, 2 e 3, 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.

$$Ca = 12,7A_{663nm} - 2,64A_{645nm} \text{ (mg L}^{-1}\text{)} \quad [\text{Eq. 01}]$$

$$Cb = 22,9A_{645nm} - 4,68A_{663nm} \text{ (mg L}^{-1}\text{)} \quad [\text{Eq. 02}]$$

$$CT = Ca + Cb \text{ (mg L}^{-1}\text{)} \quad [\text{Eq. 03}]$$

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 (CaCO₃) 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 partir de cortes longitudinais da porção mediana foram quantificados nas folhas expostas ao sol e nas folhas sombreadas 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

Os resultados da análise estatística descritiva do teor de clorofila e quantificação de estômatos presente em folhas exposta ao sol e folhas sombreadas na aceroleira foram obtidos a partir da média de cinco repetições, estão descritos 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⁻¹ em folhas de sombra e nas folhas de sol de 3666,2 mg L⁻¹, 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⁻¹ nas folhas de sombra e nas folhas de sol de 3047,4 mg L⁻¹, o mesmo ocorrendo com os teores de clorofila total de 2070,2 mg L⁻¹ e 2083,4 mg L⁻¹ em folhas de sombra e folhas de sol, respectivamente. Os resultados encontrados neste trabalho estão de acordo com os estudos de Nogueira e Silva Jr. (2001), que não encontraram diferença significativa entre os teores de clorofila *a* nos genótipos de graviroleira (Comum e Morada), havendo diferença apenas para os teores de clorofila *b* (0,57 e 0,43 mg L⁻¹, 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 e que não é possível perceber uma diferença significativa entre folhas de sol e folhas de sombra por unidade de área; o que fica claro é a maneira diferenciada quanto à composição e organização da clorofila. Embora sem diferenças significativas entre os teores de clorofila, as folhas expostas ao sol apresentaram maiores teores de clorofila *a*, *b* e *total* em relação as folhas sombreadas de acerola, o que pode ser visto na Figura 1.

Tabela 1 – Análise da estatística descritiva dos teores de clorofila e estômatos em folhas de sol e de sombra de acerola

Parâmetros (mg L ⁻¹)	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**
Clorofila <i>b</i>	3047,4 a	401,2	3028,2 a	151,8	2,11**
Clorofila <i>total</i>	2083,4 a	151,8	2070,2 a	205,5	1,83**
Estômatos (mm ²)	203.012 a	22,3	149.439 b	46,2	4,29*

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; **: não significativo, *: significativo.

A quantificação do número de estômatos em folhas de sol (203.012 mm²) apresenta-se com valor maior do que em folhas de sombra (149.439 mm²) de aceroleira ocorrendo diferença significativa entre os estratos avaliados (Tabela 1). Este fato pode ter ocorrido devido à maior exposição das folhas a radiação solar. O aumento no número de estômatos/mm² geralmente é observado em folhas de plantas expostas ao sol, como visto por vários autores (SILVA e ANDERSON, 1985; CASTRO et al., 1998; ALMEIDA, 2001; ZANELLA, 2001), e esta pode ser um indicativo de um mecanismo de adaptação das plantas às condições de baixa disponibilidade hídrica no solo. Segundo Medri e Lleras (1980), pode assegurar as plantas uma maior eficiência de trocas gasosas em horários caracterizados por maior umidade relativa do ar.

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 2) o valor é superior ao número de estômatos em folhas de sombra (Figura 3). 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.

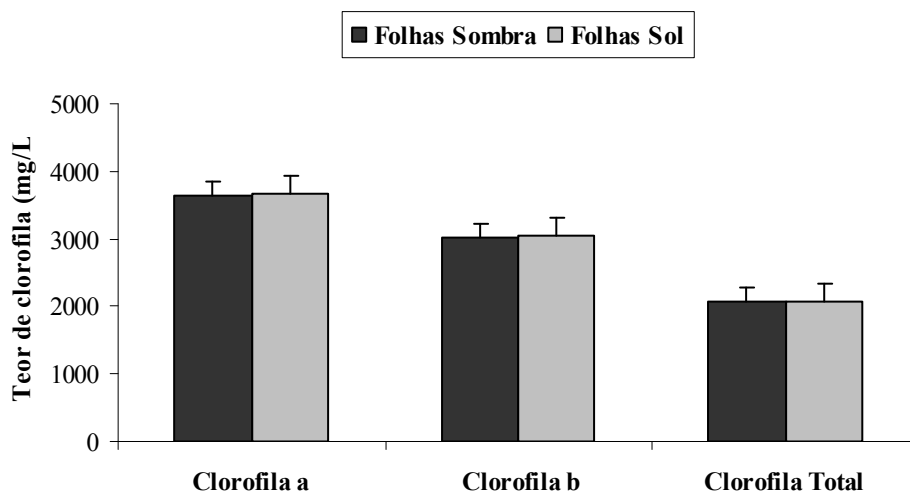


Figura 1 – Teor de clorofila em folhas expostas ao sol e sombreadas

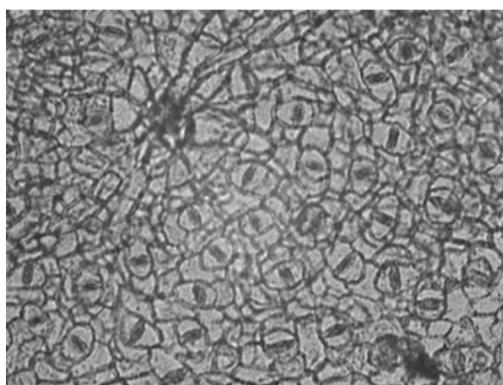


Figura 2 – Estômatos em folhas de sol de acerola

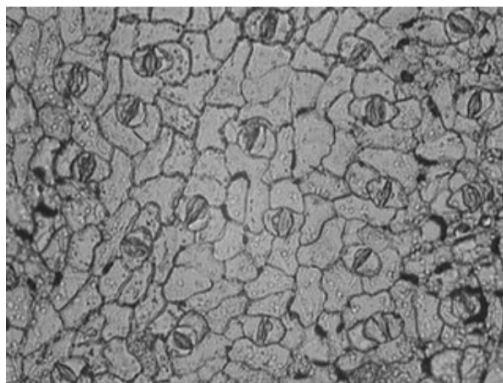


Figura 3 – Estômatos em folhas de sombra de acerola

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O número de estômatos em folhas expostas ao sol é maior em relação às folhas sombreadas de acerola. Os teores de clorofila *a*, clorofila *b*, e clorofila total por unidade de área não apresentam diferença significativa em folhas expostas ao sol e folhas de sombra de acerola.

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.
- 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. **Resumos...** Recife, 2005, meio digital.
- ENGEL, V.L. **Influência do sombreamento sobre o crescimento de essências nativas, concentração de clorofila nas folhas e aspectos de anatomia.** 1989. 202p. Dissertação (Mestrado)- Piracicaba, São Paulo: ESALQ, 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.
- 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 Amazônica**, 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 graviroleira. **Scientia Agrícola**, v.58, n.3, p.491-495, jul/set. 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.

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.

AGRADECIMENTOS

Ao NEDTEC (CCA-UFES/ES).