

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO  
CENTRO DE CIÊNCIAS HUMANAS E NATURAIS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA VEGETAL**

**LÁIZA ARAUJO VALFRÉ**

**RESPOSTAS MORFOFISIOLÓGICAS DE *Allagoptera arenaria*  
(ARECACEAE) ÀS MUDANÇAS CLIMÁTICAS GLOBAIS EM UM  
AMBIENTE DE RESTINGA**

VITÓRIA - ES

2018

LÁIZA ARAUJO VALFRÉ

**RESPOSTAS MORFOFISIOLÓGICAS DE *Allagoptera arenaria*  
(ARECACEAE) ÀS MUDANÇAS CLIMÁTICAS GLOBAIS EM UM  
AMBIENTE DE RESTINGA**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal do Centro de Ciências Humanas e Naturais da Universidade Federal do Espírito Santo como parte dos requisitos exigidos para a obtenção do título de Mestre em Biologia Vegetal.

Área de concentração: Fisiologia Vegetal.

Orientador: Prof. Dr. Luis Fernando Tavares de Menezes

Coorientadora: Prof.<sup>a</sup>. Dr.<sup>a</sup> Elisa Mitsuko Aoyama

VITÓRIA - ES

2018

V135r Valfré, Láiza, 1993-  
RESPOSTAS MORFOFISIOLÓGICAS DE *Allagoptera*  
*arenaria* (ARECACEAE) ÀS MUDANÇAS CLIMÁTICAS  
GLOBAIS EM UM AMBIENTE DE RESTINGA / Láiza  
Valfré. - 2018.  
74 f. : il.

Orientador: Luis Fernando Tavares de Menezes.

Coorientadora: Elisa Mitsuko Aoyama.

Dissertação (Mestrado em Biologia Vegetal) - Universidade  
Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências Humanas e  
Naturais.

1. Anatomia. 2. Guriri. 3. Restinga. 4. Temperatura. 5.  
OTC's. I. Tavares de Menezes, Luis Fernando. II. Mitsuko  
Aoyama, Elisa. III. Universidade Federal do Espírito Santo.  
Centro de Ciências Humanas e Naturais. IV. Título.

CDU: 57

---

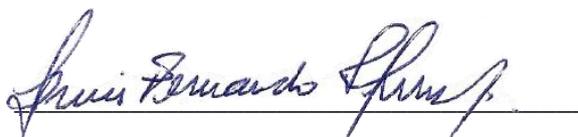
# RESPOSTAS MORFOFISIOLÓGICAS DE *Allagoptera arenaria* (ARECACEAE) ÀS MUDANÇAS CLIMÁTICAS GLOBAIS EM UM AMBIENTE DE RESTINGA

LÁIZA ARAUJO VALFRÉ

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal do Centro de Ciências Humanas e Naturais da Universidade Federal do Espírito Santo como parte dos requisitos exigidos para a obtenção do título de Mestre em Biologia Vegetal na área de concentração Fisiologia Vegetal.

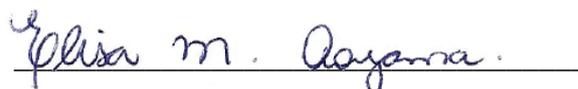
Aprovada em 09 de 03 de 2018.

**Comissão Examinadora:**



**Prof. Dr. Luis Fernando Tavares de Menezes - UFES**

Orientador e Presidente da Comissão



**Prof.<sup>a</sup>. Dr.<sup>a</sup>. Elisa Mitsuko Aoyama - UFES**

Coorientadora



**Prof. Dr. Antelmo Ralph Falqueto - UFES**

Examinador Interno



Prof. Dr. Luis Fernando Tavares de Menezes - UFES

Por **Prof. Dr. Luis Fernando Silva Magnago - UFV**

Examinador Externo

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço a Deus pela minha vida e por me permitir completar mais uma etapa;

Aos meus pais, Alair e Margaret pela dedicação, paciência, pelo incentivo e, esforço contínuo para que tudo isso fosse possível. Sei que vocês não mediram esforços para que eu chegasse até aqui. Obrigada por ensinarem o que eu carrego de melhor;

À minha irmã Larissa, por todos os momentos de amizade, carinho e amor. Obrigada por sempre acreditar em mim;

A minha família e amigos de sangue e coração, obrigada pela ajuda, apoio, amor e pelos momentos de descontração;

À Universidade Federal do Espírito Santo - UFES e ao Programa de Pós-graduação em Biologia Vegetal-PPGBV pelo ensino, infraestrutura disponibilizada e pela oportunidade de fazer esta pós-graduação;

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES pela bolsa de mestrado concedida;

Ao Instituto Estadual de Meio Ambiente - IEMA e ao Parque Estadual de Itaúnas-PEI pela disponibilização da área de estudo;

Ao meu orientador, Prof. Dr. Luís Fernando pela orientação, apoio e paciência;

A Professora Dr. Elisa Mitsuko Aoyama e ao laboratório de Biologia Estrutura Ceunes-São Mateus, pelas contribuições e disponibilidade de equipamentos para a realização das análises anatômicas;

Ao Laboratório de Ecologia de Restinga e Mata Atlântica (LERMA), Ceunes-São Mateus, pelo apoio e material disponibilizado;

Ao Laboratório de Fisiologia Vegetal, Goiabeiras – UFES e ao Prof. Dr. Geraldo Rogério Faustini Cuzzuol, pela realização das análises de carboidrato estrutural e lignina;

A todos os professores e profissionais do PPGBV, pelo conhecimento transmitido, dedicação e essenciais contribuições;

A todos os colegas do Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal, pelo apoio e por todos os momentos vividos juntos, em especial a Karina;

Aos membros da banca, que aceitaram corrigir este trabalho e por todas as essenciais contribuições para a melhoria do estudo;

Enfim, agradeço a todos que contribuíram direta ou indiretamente para a realização desse trabalho. Recebam meu muito obrigada por tudo, repleto de amor, carinho e luz.

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** - Área de estudo (18°24'02"S – 39°42'00"W), localizada no Parque Estadual de Itaúnas (PEI). Conceição da Barra, Espírito Santo, Brasil..... 22
- Figura 2** - Área de estudo localizada no Parque Estadual de Itaúnas (PEI), – fisionomia da formação vegetal estudada. .... 23
- Figura 3** - Gráfico com os dados climáticos da área de estudo mostrando os meses mais quentes e os mais chuvosos nos anos de 2015 e 2016. Fonte: INMET. .... 23
- Figura 4** – Arbustos de *Allagoptera arenaria* (Gomes) Kuntze, submetidos aos tratamentos: **(A)** tratamento 3: com OTC (T); **(B)** tratamento 2: com calha (P); **(C)** tratamento 4: com OTC e com calha (TP) e **(D)** tratamento 1: sem OTC e sem calha (controle, C), localizados no Parque Estadual de Itaúnas (PEI). .... 26
- Figura 5** - Coleta dos folíolos de *Allagoptera arenaria* (Gomes) Kuntze. (A) Área de estudo mostrando duas das OTCs ; (B) Folha de *Allagoptera arenaria* evidenciando os folíolos; (C) Coleta dos folíolos; (D) Folíolos sendo armazenados em sacos plásticos. .... 28
- Figura 6** - Secções transversais do limbo dos indivíduos de *Allagoptera arenaria* submetidos aos tratamentos: (A) sem OTC e calha (C), (B) com calha (P), (C) com OTC (T) e (D) com OTC e calha (TP). PC – parênquima clorofiliano. .... 38
- Figura 7** - Secções transversais do limbo dos folíolos de *A. arenaria* em diferentes condições climáticas, submetidas ao reagente cloreto férrico para detecção de compostos fenólicos. (A) tratamento C; (B) tratamento P; (C) tratamento T; (D) tratamento TP. Seta mostrando a reação positiva de cloreto férrico nos estômatos. .41
- Figura 8** - Secções transversais do limbo dos folíolos de *A. arenaria* em diferentes condições climáticas, submetidas ao reagente Sudan IV para detecção de lipídeos

totais. (A) tratamento C; (B) tratamento P; (C) tratamento T; (D) tratamento TP.  
Seta mostrando as gotículas de lipídeos..... 41

**Figura 9** - Detalhes das secções transversais do limbo de *A. arenaria*, submetidas ao (A) reagente cloreto férrico para detecção de compostos fenólicos, (B) submetidas ao reagente Sudan IV para detecção de lipídeos totais. Seta mostrando a reação positiva de cloreto férrico nos estômato (A), (B) reação positiva de lipídios na cutícula e as gotículas de lipídeos. c – cutícula. .... 42

**Figura 10** - Porcentagem de pigmentos fotossintéticos nos folíolos de *A. arenaria*, submetidos aos tratamentos: sem OTC e calha (C), com calha (P), com OTC (T) e com OTC e calha (TP). (a): % do teor de clorofila a; (b): % do teor de clorofila b; (c) % do teor de pigmentos carotenoides. .... 44

**Figura 11** – Porcentagem de celulose (a) e lignina (b) presente nos folíolos de *A. arenaria*, submetidos aos tratamentos: sem OTC e calha (C), com calha (P), com OTC (T) e com OTC e calha (TP). .... 46

## LISTA DE TABELAS

**Tabela 1** - Coordenadas geográficas das plantas que foram utilizadas na montagem dos experimentos do Parque Estadual de Itaúnas - ES. C: tratamento controle; T: tratamento aumento de temperatura; P: tratamento aumento do volume pluviométrico ; TP: tratamento aumento de temperatura e volume pluviométrico..... 24

**Tabela 2** - Área foliar (cm<sup>2</sup>), massa fresca (mg) e massa seca (mg), dos indivíduos de *Allagoptera arenaria* submetidos aos tratamentos: sem OTC e calha (C), com calha (P), com OTC (T) e com OTC e calha (TP)..... 35

**Tabela 3** - Densidade Estomática (mm<sup>2</sup>), índice Estomático (%) e funcionalidade dos Estômatos dos indivíduos de *Allagoptera arenaria* submetidos aos tratamentos: sem OTC e calha (C), com calha (P), com OTC (T) e com OTC e calha (TP)..... 37

**Tabela 4** - Espessura do limbo, cutícula e hipoderme dos indivíduos de *Allagoptera arenaria* submetidos aos tratamentos: sem OTC e calha (C), com calha (P), com OTC (T) e com OTC e calha (TP). ..... 39

**Tabela 5** - Espessura do parênquima paliçádico, parênquima lacunoso, e espaçamento de nervação dos indivíduos de *Allagoptera arenaria* submetidos aos tratamentos: sem OTC e calha (C), com calha (P), com OTC (T) e com OTC e calha (TP)..... 40

**Tabela 6** - Testes histoquímicos da lâmina foliar dos indivíduos de *Allagoptera arenaria* submetidos aos tratamentos: sem OTC e calha (C), com calha (P), com OTC (T) e com OTC e calha (TP). ..... 42

**Tabela 7** - Concentrações de pigmentos fotossintéticos em indivíduos de *Allagoptera arenaria* submetidos aos tratamentos: sem OTC e calha (C), com calha (P), com OTC (T) e com OTC e calha (TP). (Chl a = clorofila a; Chl b =

clorofila b; Carot = carotenoides; Chl a + Chl b = soma total dos valores de clorofila + clorofila b; Chl a / Chl b = razão clorofila a / clorofila b). ..... 43

**Tabela 8** - Valores de média e desvio padrão da determinação de celulose ( $\text{mg g}^{-1}\text{MS}$ ) e lignina ( $\text{mg g}^{-1}\text{MS}$ ) em indivíduos de *Allagoptera arenaria* submetidos aos tratamentos: sem OTC e calha (C), com calha (P), com OTC (T) e com OTC e calha (TP). ..... 45

## RESUMO

Devido às alterações nos padrões climáticos ao redor do mundo, espera-se um cenário de mudanças no clima, como aumento da temperatura e mudança nos padrões de chuva. As plantas possuem mecanismos que permitem a sobrevivência e o desenvolvimento em ambientes complexos onde vivem, dessa forma, respondem às mudanças ambientais, alterando sua morfologia, anatomia e fisiologia. O objetivo foi identificar os possíveis efeitos do aumento de temperatura e volume pluviométrico na estrutura das folhas de *Allagoptera arenaria* (Gomes) Kuntze em um ambiente de restinga. Nesse estudo para simular o aumento de temperatura foram usadas câmaras de topo aberto (*open top chambers* - OTC's) modificadas e para o aumento do volume pluviométrico, calhas coletoras de chuva. Em ambiente natural de restinga foram selecionados 40 arbustos de *A. arenaria* distribuídos em quatro tratamentos, ambiente aberto-controle (C), aumento do volume pluviométrico em 25 % (P), aumento de temperatura em 2 °C (T) e aumento de temperatura em 2 °C e volume pluviométrico em 25 % (TP). Nesses indivíduos foram realizadas análises morfológicas, anatômicas e fisiológicas. Os resultados demonstraram que os indivíduos submetidos aos tratamentos TP e P apresentaram as maiores médias para quase todos os parâmetros analisados, como: área foliar, pigmentos fotossintéticos, densidade estomática, espessura da cutícula etc. Com os resultados alcançados, foi possível concluir que os efeitos do aumento de temperatura e volume pluviométrico isolado e combinado causaram diferentes respostas nos indivíduos de *A. arenaria*, corroborando com a hipótese do estudo. No entanto, apesar dos indivíduos mostrarem alterações nos diferentes tratamentos, essas modificações não foram extremas ao ponto de prejudicar a espécie. Dessa forma, a espécie estudada pode ser indicada para programas de reflorestamento e recuperação de áreas degradadas de restinga devido a sua plasticidade a diferentes condições ambientais.

**Palavras-chave:** Anatomia • Guriri • OTC's • restinga • temperatura.

## ABSTRACT

Due to changes in weather patterns around the world, a scenario of climate change is expected, such as rising temperatures and changing rainfall patterns. Plants have mechanisms that allow survival and development in complex environments where they live, thus responding to environmental changes, altering their morphology, anatomy and physiology. The objective was to identify the possible effects of temperature increase and pluviometric volume on the structure of the leaves of *Allagoptera arenaria* (Gomes) Kuntze in a restinga environment. In this study, to simulate the temperature increase, modified open top chambers (OTC's) were used, and rain gauge was used to increase the rainfall volume. In a natural restinga environment, 40 *A. arenaria* shrubs were selected in four treatments, open-control environment (C), 25% (P) rainfall increase, 2 ° C (T) temperature at 2 ° C and rainfall volume at 25% (TP). Morphological, anatomical and physiological analyzes were performed in these individuals. The results showed that the individuals submitted to the treatments TP and P presented the highest averages for almost all parameters analyzed, such as: leaf area, photosynthetic pigments, stomatal density, cuticle thickness, etc. With the results obtained, it was possible to conclude that the effects of the temperature increase and the isolated and combined rainfall volume caused different responses in the individuals of *A. arenaria*, corroborating with the hypothesis of the study. However, although the individuals showed alterations in the different treatments, these modifications were not extreme to the point of harming the species. Thus, the species studied can be indicated for reforestation and recovery programs in degraded areas of restinga due to their plasticity at different environmental conditions.

**Key words:** Anatomy • Guriri • OTC's • restinga • temperature.

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	14
3. OBJETIVO GERAL .....	19
4. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	19
5. MATERIAL E MÉTODOS .....	21
5.1 Área de estudo.....	21
5.2 Delineamento experimental.....	25
5.3 Material Vegetal.....	27
5.4 Atributos foliares.....	28
5.5 Anatomia foliar.....	29
5.6 Testes histoquímicos.....	30
5.7 Extração de pigmentos fotossintéticos da lâmina foliar.....	30
5.8 Índice de suculência.....	32
5.9 Quantificação de celulose e lignina.....	32
5.10 Análise de dados.....	34
6. RESULTADOS.....	35
6.1 Atributos foliares.....	35
6.2 Anatomia foliar.....	36
6.3 Testes histoquímicos.....	40
6.4 Extração de pigmentos fotossintéticos da lâmina foliar.....	43
6.5 Índice de suculência.....	44
6.6 Quantificação de celulose e lignina.....	45
7. DISCUSSÃO.....	47
8. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	59
9. REFERÊNCIAS.....	60

## 1. INTRODUÇÃO

As alterações nos padrões climáticos ao redor do mundo ganham importância quando avaliamos o curto período de tempo em que se dão (MARTINEZ et al., 2014). Desde a década de 1980 os interesses por maiores conhecimentos relacionados às mudanças climáticas vêm sendo despertado (CAMARGO et al., 2006). A problemática das mudanças climáticas, em 1988 (ASSAD et al., 2004), levou a criação do IPCC (Intergovernmental Panel on Climate Change), órgão responsáveis pelo quadro oficial das mudanças climáticas (BARBOSA, 2007).

Análises da composição atmosférica em épocas passadas indicam que a concentração de dióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ) vem aumentando desde o início da era industrial, em meados do século XVIII, quando era de aproximadamente 270 ppm, alcançando 379 ppm em 2005, excedendo as taxas dos últimos 800 mil anos (180 a 300 ppm) (IPCC, 2007; LUTHI et al., 2008), 397 ppm em 2013 (NOAA, 2013) e 400 ppm em 2014 (IPCC, 2014). A taxa de aumento anual da concentração de  $\text{CO}_2$  atmosférico foi em média 1,9 ppm no período de 1995 a 2005 e a tendência é atingir entre 730 a 1020 ppm até 2100 (IPCC, 2007).

Como o  $\text{CO}_2$  é um dos principais gases responsáveis pelo efeito estufa, sabe-se que o aumento na sua concentração vem sendo associado a um aumento de temperatura na superfície terrestre (IPCC, 2007). Segundo os dados publicados do IPCC (2014), a temperatura na superfície terrestre para o período dos anos de 2016 a 2035 pode variar de 0,3 a 0,7°C, já para o período de 2081 a 2100 pode variar de 0,3°C, no cenário otimista, e de 2 a 4,8°C no cenário pessimista, em decorrência do aumento da concentração dos gases estufas.

Provavelmente, o aumento na temperatura média global cause alterações no derretimento de parte do gelo das calotas polares, elevando o nível oceânico trazendo inúmeros prejuízos para a humanidade e para os ecossistemas. Também serão observadas alterações na umidade atmosférica, nos regimes de precipitação e na circulação atmosférica e oceânica (SIMMS, 2006; IPCC, 2013). A temperatura é considerada um dos principais determinantes da distribuição geográfica das espécies no planeta e da produtividade primária líquida dos ecossistemas (MARTINEZ et al., 2014).

As plantas são diretamente influenciadas pela temperatura do ar e concentração de CO<sub>2</sub> na atmosfera (TAIZ & ZEIGER, 2013). Segundo Thomas et al., (2004), com a elevação das temperaturas, 18 espécies estarão ameaçadas de extinção até o ano de 2050, considerando o cenário mais otimista. Fatores como temperaturas altas e disponibilidade hídrica têm grande influência no crescimento dos vegetais (MACHADO et al., 2005; GONÇALVES et al., 2007; SILVA et al., 2007), podendo esta relacionados em alterações na estrutura da planta, modificações essas que podem serem expressas na morfologia e anatomia foliar (DICKISON, 2000).

O estudo da morfologia e anatomia vegetal pode fornecer informações valiosas a respeito da modificação nas características em função de variáveis ambientais, e é amplamente utilizado para estudos ecológicos (CUTLER et al., 2011). Segundo Roden e Ball (1996), a resposta ecofisiológica de uma espécie a efeitos combinados de fatores como disponibilidade hídrica, concentração de CO<sub>2</sub>, temperatura e outros, depende da intensidade do estresse e da sensibilidade da espécie. A folha é o órgão anatomicamente mais variável da planta, e suas adaptações são comumente utilizadas como indicadoras das condições ambientais (DICKISON, 2000; CASTRO et al., 2009; DANQUAH, 2010).

Dessa forma, como respostas as mudanças climáticas, as plantas sofrerão alterações na morfologia, anatomia e fisiologia para se adaptarem a diferentes condições ambientais (TAIZ & ZEIGER, 2013). Segundo TAIZ & ZEIGER (2013), em ambiente com luz solar intensa e temperaturas altas, as plantas evitam aquecimento excessivo de suas folhas, reduzindo a absorção de radiação solar, dessa forma, adaptações foliares como tricomas refletivos e ceras foliares, enrolamento foliar vertical, folhas pequenas e estômatos na face abaxial visam à minimização da camada de contato e, assim, maximizar a perda condutiva de calor. Em ambiente com deficiência hídrica, as plantas tolerantes a essa condição, podem apresentar alterações morfológicas, como aumento da espessura da folha, redução da área foliar, aumento do número de estômatos por área e espessura da cutícula (DICKISON, 2000; BATISTA et al., 2010).

Análises de características anatômicas e morfológicas foliares tais como: densidade de tricomas e espessura da cutícula, espessura da lâmina foliar, espessura do tecido clorofiliano, suculência, massa por unidade de área e densidade estomática, têm sido amplamente utilizada em estudos que visam

caracterizar o desempenho ecofisiológico de diferentes espécies vegetais ao longo de gradientes de disponibilidade de recursos e condições, devido ao reconhecimento do significado funcional destas características (GARNIER et al., 2001; WRIGHT et al., 2002; ROCHE et al., 2004). Portanto, o estudo da anatomia foliar é de grande importância para a compreensão da plasticidade adaptativa de uma espécie às variações ambientais (LIMA JR et al., 2006).

Análises de características fisiológicas como pigmentos fotossintetizantes e carboidratos são de grande importância. Os pigmentos exercem importante papel na manutenção do bom funcionamento do aparato fotossintético e, conseqüentemente, de toda a planta. Além disso, a redução do teor de clorofila pode estar associada ao estresse ambiental, sendo esta análise um bom indicador de alterações nas plantas (HENDRY & PRICE, 1993). Essas moléculas estão relacionadas com a adaptação das plantas a diversos ambientes (SOUZA et al., 2011).

Os carboidratos são produtos da fotossíntese e tem as suas concentrações reguladas pelas taxas fotossintéticas (MARENCO et al., 2001) e/ou pelas condições ambientais (MARTINAZZO et al., 2007; CUZZUOL & CLIPEL, 2009). Além disso, os carboidratos estão relacionados com as características do ambiente em que as plantas se estabeleceram ou com determinado tipo de estresse ocorrendo, pelo menos, em uma fase do desenvolvimento vegetal (SOUZA et al., 2005).

A maior parte dos carboidratos encontrados na natureza ocorre na forma de polissacarídeos (LEHNINGER, 1991). Dentre estes encontram-se a celulose (LEHNINGER, 1991), que é considerada o polímero vegetal mais abundante (CARPITA & McCANN, 2000; STICKLEN, 2008). Depois da celulose, a lignina é o composto orgânico mais abundante na natureza (DOS SANTOS et al., 2008). A celulose representa cerca de 15 a 30% da massa seca de paredes celulares primárias e até 40% de massa seca de paredes celulares secundárias (CARPITA & McCANN, 2000; STICKLEN, 2008).

A lignina é considerada um poderoso agente cimentante da parede celular, característico de tecidos de plantas lenhosas. Funciona como barreira química e física, responsável pela condução de água nos tubos condutores e de elevado peso molecular (LATORRACA & ABREU, 1997). Durante o desenvolvimento celular, a lignina é incorporada como último componente da parede celular,

interpenetrando nas fibrilas e fortalecendo a parede (TENORIO, 2010) no processo de lignificação. A composição da lignina varia entre as espécies, dentro da espécie e também na mesma planta, pois há variações de célula para célula de acordo com a localização da parede celular, conforme a fase de desenvolvimento e, ainda, com a influência de estresses ambientais (STUDART-GUIMARÃES et al., 2003).

As grandes alterações anatômicas ocorrem nas folhas por se tratar de um órgão muito exposto à atmosfera e suscetível às mudanças ambientais (LIMA JR et al., 2006). Dessa forma, modificações da anatomia da folha, podem permitir a manutenção e proteção do processo fotossintético, mantendo-o em funcionamento mesmo em condições adversas (SOARES, 2012). Além do mais, a avaliação das mudanças na morfologia foliar em resposta às variações ambientais permite compreender melhor alguns aspectos ecofisiológicos das plantas (SANCHES et al., 2009). Contudo, em resposta a essas alterações, os ecossistemas de plantas poderão aumentar sua biodiversidade ou sofrer influências negativas (ASSAD et al., 2004; STRECK et al., 2006).

Com o aumento na temperatura média global, ocorreram inúmeros prejuízos para os ecossistemas principalmente das zonas litorâneas (BUCKERIDGE et al., 2007; IPCC, 2013; SIMMS, 2006). Um importante ecossistema associado ao bioma Mata Atlântica é a restinga, que poderá sofrer com modificações no nível de plantas e animais, processos erosivos e fragmentação (NEVES & MUEHE, 2008).

Restinga é o conjunto da vegetação litorânea estabelecida sobre sedimento arenoso marinho, depositado no Quaternário (SUGUIO & TESSLER, 1984), tanto no Plesitoceno como no Holoceno (MARTIN et al., 1997). A planície litorânea formada pode ou não estar associada a rios (SUGUIO & TESSLER, 1984), apresentando, maior diversidade de espécies no sentido mar continente (MARTIN et al., 1997). Nessa planície, ocorrem plantas de porte variado, desde herbáceas, junto à praia, até formações florísticas em porção mais continentais (PEREIRA, 1990).

No ambiente de restinga destaca-se a *Allagoptera arenaria* (Gomes) Kuntze, 1891 (Arecaceae), uma palmeira típica deste ecossistema (LORENZI & SOUZA, 2008). *A. arenaria* é considerada uma espécie pioneira, ocupando o solo desnudo nas restingas do sudeste do Brasil (LEITE, 1990; MENEZES & ARAUJO,

2000), possui elevado sucesso regenerativo devido à sua forma de vida geófito (CARVALHO & SÁ, 2011) e apresenta-se associada a moitas ou então formando populações extremamente densas em ecossistema alterado pela ação do homem (SYLVESTRE, 1989). *A. arenaria*, desempenha um importante papel no processo de sucessão ecológica nas restingas, atuando, principalmente, como planta facilitadora (MENEZES et al., 2017). Além da importância ecológica, o fruto de *A. arenaria* é utilizado por algumas comunidades pesqueiras como fonte de alimento (FONSECA-KRUEL et al., 2006).

Portanto, ainda não existem estudos que relacionam as modificações anatômicas e morfológicas de *Allagoptera arenaria* em função das mudanças climáticas. Estudos envolvendo experimento com temperatura e espécies nativas são escassos, apesar da problemática que causa esse assunto. Visto que é importante conhecer as características morfofisiológicas da espécie, devido o seu papel ecológico para o ecossistema que está inserida, o presente estudo se propõe a responder a seguinte pergunta: Ocorrerão modificações estruturais (morfologia interna e externa) nas folhas de *Allagoptera arenaria* em função do aumento da temperatura e volume pluviométrico?

Com base neste problema de pesquisa, foi testada a hipótese que indivíduos de *A. arenaria* submetidos aos experimentos de aumento de temperatura e volume pluviométrico, são capazes de apresentar modificações estruturais (morfologia externa e interna) em resposta ao aumento de temperatura e volume pluviométrico. Sabe-se que é característico das espécies vegetais desenvolverem mecanismos para resistir às condições adversas do meio. Portanto, o objetivo do estudo foi compreender como uma espécie importante de um ecossistema responderá frente às mudanças climáticas, buscando contribuir com informações para conservação, reflorestamento e recuperação de áreas degradadas de restinga.

## HIPÓTESES

### Hipótese nula (H0):

As folhas de *A. arenaria* não apresentarão modificações estruturais (morfologia externa e interna) em resposta ao aumento de temperatura (2 °C) e volume pluviométrico (25%).

### Hipótese alternativa (H1):

As folhas de *A. arenaria* apresentarão modificações estruturais (morfologia externa e interna) em resposta ao aumento de temperatura (2 °C) e volume pluviométrico (25%).

## 3. OBJETIVO GERAL

Identificar os possíveis efeitos do aumento de temperatura (2 °C) e volume pluviométrico (25%) na estrutura (morfologia interna e externa) das folhas de *A. arenaria* em um ambiente de restinga do norte do Espírito Santo.

## 4. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Analisar atributos foliares, como massa fresca e seca (mg), área foliar (cm<sup>2</sup>) e índice de succulência (mg/μg) das folhas de *A. arenaria* em resposta ao aumento de temperatura e volume pluviométrico;
- Investigar a anatomia foliar de *A. arenaria* em resposta ao aumento de temperatura e volume pluviométrico;
- Realizar testes histoquímicos para detecção e localização de lipídio e compostos fenólicos bem como possíveis alterações qualitativas desses metabolitos celulares nas folhas dos indivíduos de *A. arenaria* em resposta ao aumento de temperatura e volume pluviométrico;

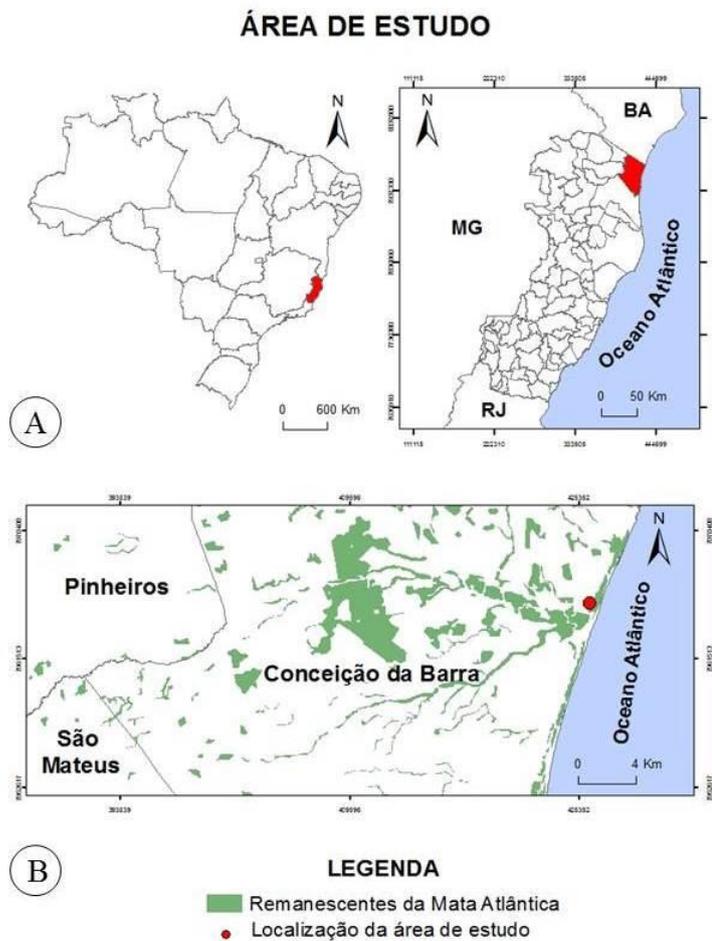
- Calcular a concentração dos pigmentos cloroplastídicos das folhas de *A. arenaria* em resposta ao aumento de temperatura e volume pluviométrico;
- Determinar os teores dos carboidratos estruturais (celulose) e lignina das folhas dos indivíduos de *A. arenaria* em resposta ao aumento de temperatura e volume pluviométrico;
- Identificar as características morfo-fisiológicas das folhas de *A. arenaria*, que podem estabelecer estratégias de defesa contra as mudanças climáticas, garantindo a sobrevivência da espécie.

## 5. MATERIAL E MÉTODOS

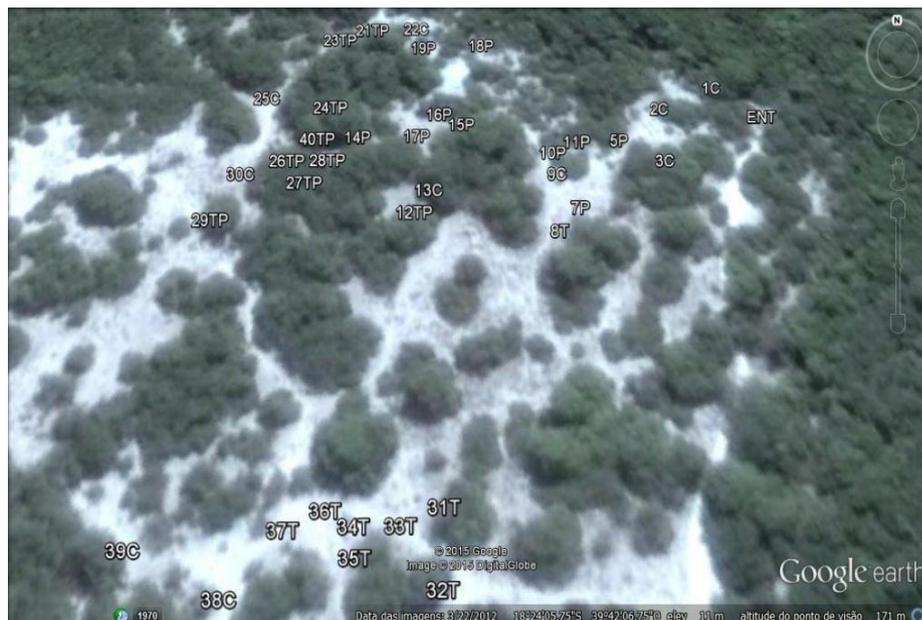
### 5.1 Área de estudo

Dados de campo - O estudo foi desenvolvido dentro dos limites do Parque Estadual de Itaúnas (PEI), em uma formação arbustiva aberta de restinga localizada na Trilha das Borboletas (18°24'02"S – 39°42'00"W) (Figura 2), no norte do ES, no município de Conceição da Barra, na cidade de Itaúnas (Figuras 1). Na tabela 1 mostra as coordenadas das plantas que foram utilizadas para os experimentos. A formação vegetal da área de estudo está estabelecida sobre depósitos arenosos construídos por processos marinhos transgressivos e regressivos que ocorreram durante o Pleistoceno (MARTIN et al., 1981; MARTIN et al., 1997). Segundo Monteiro et al., (2014), nesses depósitos arenosos observam-se algumas áreas com afloramento do lençol freático e outras onde, apesar de não aflorar, o lençol freático pode chegar próximo à superfície, inundando a zona das raízes. Desta forma, esta formação foi designada como arbustiva aberta inundável.

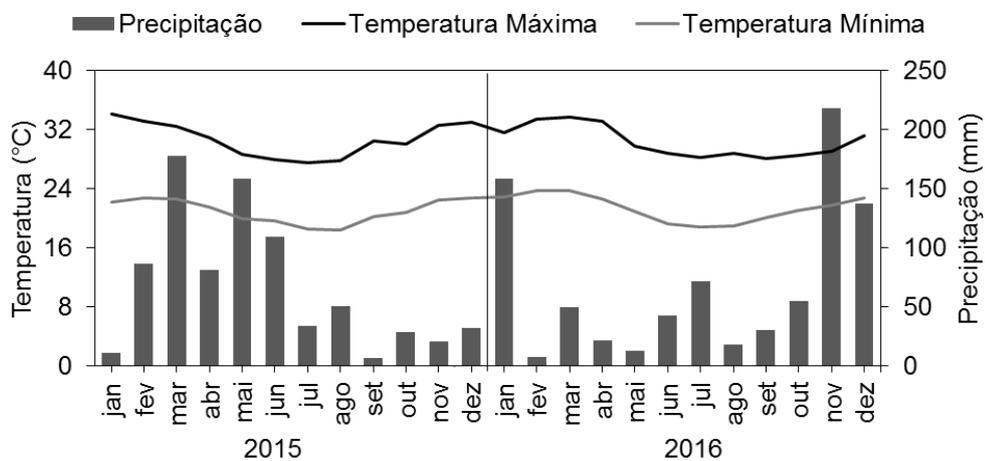
Os dados climáticos da área de estudo foram obtidos pelo site do Instituto Nacional de Meteorologia (INMET, 2017) (Figura 3), a partir da estação do município de São Mateus, a 37 km do PEI. As temperaturas médias anuais já registradas para a região são máximas de 26,7°C e mínimas de 21,7°C, com umidade relativa de 83% e precipitação média anual de 1308 mm. De acordo com a classificação de Köppen (Köppen & Geiger, 1928), o clima da região é tropical sazonal (Aw), com as maiores taxas de precipitação nos meses de verão e as menores taxas nos meses de inverno. Segundo o site do INMET (Figura 3), os meses mais chuvosos no ano de 2016 (ano que a coleta foi realizada), em ordem crescente, foram os meses de novembro, janeiro e dezembro, e os meses mais quentes foram fevereiro, março e abril.



**Figura 1** - Área de estudo ( $18^{\circ}24'02''\text{S}$  –  $39^{\circ}42'00''\text{W}$ ), localizada no Parque Estadual de Itaúnas (PEI). Conceição da Barra, Espírito Santo, Brasil.



**Figura 2** - Área de estudo localizada no Parque Estadual de Itaúnas (PEI), – fisionomia da formação vegetal estudada.



**Figura 3** - Gráfico com os dados climáticos da área de estudo mostrando os meses mais quentes e os mais chuvosos nos anos de 2015 e 2016. Fonte: INMET.

**Tabela 1** - Coordenadas geográficas das plantas que foram utilizadas na montagem dos experimentos do Parque Estadual de Itaúnas - ES. C: tratamento controle; T: tratamento aumento de temperatura; P: tratamento aumento do volume pluviométrico; TP: tratamento aumento de temperatura e volume pluviométrico.

Identificação	Tratamentos	Coord Latitude	Coord Longitude
Indivíduo 1	C	18°24'3.9" S	39°42'4.60"O
Indivíduo 2	C	18°24'4.10"S	39°42'5.10"O
Indivíduo 3	C	18°24'4.40"S	39°42'5.10"O
Indivíduo 4	T	18°24'4.30"S	39°42'5.40"O
Indivíduo 5	P	18°24'4.40"S	39°42'5.50"O
Indivíduo 6	T	18°24'4.90"S	39°42'5.80"O
Indivíduo 7	P	18°24'5.00"S	39°42'5.90"O
Indivíduo 8	T	18°24'5.10"S	39°42'6.00"O
Indivíduo 9	C	18°24'4.70"S	39°42'5.90"O
Indivíduo 10	P	18°24'4.40"S	39°42'6.00"O
Indivíduo 11	P	18°24'4.30"S	39°42'5.90"O
Indivíduo 12	TP	18°24'4.90"S	39°42'7.20"O
Indivíduo 13	C	18°24'4.80"S	39°42'7.20"O
Indivíduo 14	P	18°24'4.20"S	39°42'7.70"O
Indivíduo 15	P	18°24'4.00"S	39°42'6.90"O
Indivíduo 16	P	18°24'4.10"S	39°42'7.10"O
Indivíduo 17	P	18°24'4.10"S	39°42'7.30"O
Indivíduo 18	P	18°24'3.40"S	39°42'6.70"O
Indivíduo 19	P	18°24'3.20"S	39°42'7.00"O
Indivíduo 20	TP	18°24'3.10"S	39°42'7.40"O
Indivíduo 21	TP	18°24'3.10"S	39°42'7.60"O

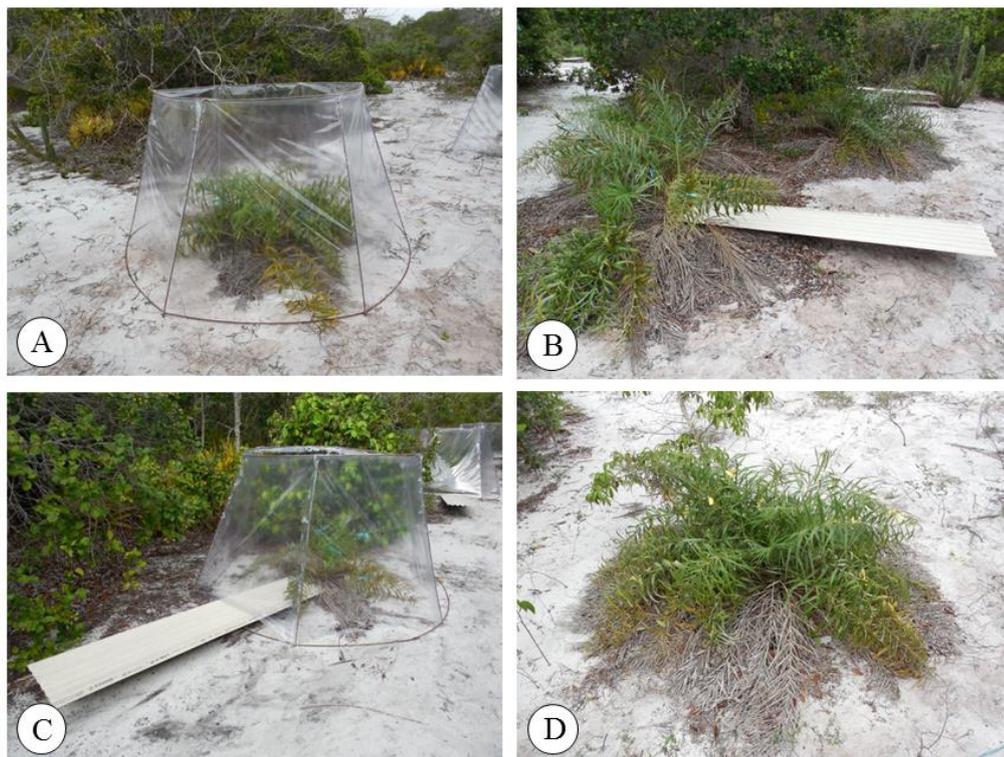
Indivíduo 22	C	18°24'3.20"S	39°42'7.30"O
Indivíduo 23	TP	18°24'3.20"S	39°42'7.90"O
Indivíduo 24	TP	18°24'4.00"S	39°42'8.10"O
Indivíduo 25	C	18°24'3.90"S	39°42'8.40"O
Indivíduo 26	TP	18°24'4.40"S	39°42'8.30"O
Indivíduo 27	TP	18°24'4.50"S	39°42'8.30"O
Indivíduo 28	TP	18°24'4.50"S	39°42'8.10"O
Indivíduo 29	TP	18°24'4.90"S	39°42'8.90"O
Indivíduo 30	C	18°24'4.60"S	39°42'8.80"O
Indivíduo 31	T	18°24'7.10"S	39°42'7.10"O
Indivíduo 32	T	18°24'7.50"S	39°42'7.00"O
Indivíduo 33	T	18°24'7.20"S	39°42'7.40"O
Indivíduo 34	T	18°24'7.20"S	39°42'7.50"O
Indivíduo 35	T	18°24'7.30"S	39°42'7.60"O
Indivíduo 36	T	18°24'7.10"S	39°42'7.70"O
Indivíduo 37	T	18°24'7.20"S	39°42'8.10"O
Indivíduo 38	C	18°24'7.50"S	39°42'8.50"O
Indivíduo 39	C	18°24'7.20"S	39°42'9.20"O
Indivíduo 40	TP	18°24'4.30"S	39°42'8.20"O

## 5.2 Delineamento experimental

Um total de 40 indivíduos de *A. arenaria* com tamanhos de aproximadamente 2,0 m de diâmetro de copa e 1,20 m de altura, distribuídos aleatoriamente em uma mesma região foram selecionados para o experimento em junho de 2015. Foram construídas câmaras de topo aberto (*open top chambers* - OTC's) sem injeção de CO<sub>2</sub>, modificada de Pritchard e Amthor (2005) para simular os efeitos de aumento de temperatura do ar em 2 °C em relação ao

ambiente externo. As OTC's foram construídas em formato circular com 2,5 m de diâmetro da base, 1,0 m de diâmetro no topo e 1,40 m de altura utilizando uma estrutura metálica de ferro-vergalhão de 5/16", envolta por cobertura plástica transparente do tipo PVC (Polyvinyl chloride) de 0,20 mm de espessura. As OTC's foram mantidas elevadas do solo em 5 cm de altura para a circulação de potenciais animais polinizadores e dispersores de frutos.

Para a simulação do aumento do volume pluviométrico foram utilizadas calhas coletoras de chuva de 244,0 cm de comprimento por 50,0 cm de largura, direcionadas para a bases dos indivíduos de *A. arenaria* o que correspondeu a um acréscimo de 25% do volume de chuva. O aumento do volume pluviométrico foi simulado através do cálculo envolvendo área de coleta de chuva da superfície da calha, uma área plana de 1,46 m<sup>2</sup>. O experimento foi instalado seguindo delineamento experimental inteiramente casualizado com quatro tratamentos contendo dez repetições cada: tratamento 1: sem OTC e sem calha (controle, C) (Figura 4D), tratamento 2: com calha (P) (Figura 4B), tratamento 3: com OTC (T) (Figura 4A), tratamento 4: com OTC e com calha (TP) (Figura 4C).



**Figura 4** – Arbustos de *Allagoptera arenaria* (Gomes) Kuntze, submetidos aos tratamentos: (A) tratamento 3: com OTC (T); (B) tratamento 2: com calha (P); (C)

tratamento 4: com OTC e com calha (TP) e (D) tratamento 1: sem OTC e sem calha (controle, C), localizados no Parque Estadual de Itaúnas (PEI).

### 5.3 *Material Vegetal*

Em agosto de 2016, após 365 dias de experimento, os folíolos de *A. arenaria* foram coletados. Três folhas de cada indivíduo foram selecionadas aleatoriamente, buscando uma melhor repetitividade. Com o auxílio de uma tesoura de poda, foram coletados 3 (três) folíolos sem indícios aparentes de lesões da região mediana da 3<sup>a</sup>, 4<sup>a</sup> e 5<sup>a</sup> folha totalmente expandida no sentido ápice-base da folha de cada indivíduo estudado. Dessa forma, foram coletados 3 (três) folíolos por folha, 9 (nove) folíolos por indivíduo, totalizando 90 (noventa) folíolos por tratamento e 360 (trezentos e sessenta) folíolos no total (Figura 5C).

As amostras coletadas em campo foram borrifadas com água, acondicionadas em sacos plásticos e transportadas para o laboratório (Figura 5D). Desses 360 folíolos, 120 foram separados para análises dos atributos foliares e fisiológicas (quantificação de lignina e celulose) e 240 foram separados para análises anatômicas, histoquímicas e fisiológica (extração de pigmentos). Esse método foi utilizado para aproveitar ao máximo os folíolos coletados, sem danificar e prejudicar os indivíduos da espécie estudada.



**Figura 5** - Coleta dos folíolos de *Allagoptera arenaria* (Gomes) Kuntze. (A) Área de estudo mostrando duas das OTCs ; (B) Folha de *Allagoptera arenaria* evidenciando os folíolos; (C) Coleta dos folíolos; (D) Folíolos sendo armazenados em sacos plásticos.

#### 5.4 Atributos foliares

Para análise dos atributos foliares foram analisados os seguintes parâmetros: área foliar ( $\text{cm}^2$ ), massa fresca e seca (mg) e índice de suculência ( $\text{mg}/\mu\text{g}$ ). Para as análises de área foliar ( $\text{cm}^2$ ), massa fresca e seca (mg) foram utilizados três folíolos por indivíduos (1 por folha), totalizando 30 folíolos por tratamento, com  $n=120$ . O primeiro passo foi medir a área foliar, com auxílio de um medidor de área foliar (LI-COR LI-3100), expressa em  $\text{cm}^2$ . Em seguida, os folíolos foram pesados em uma balança analítica de precisão para obtenção da massa fresca, posteriormente, foram acondicionados em saco de papel, etiquetados e levados à estufa com temperatura de  $60^\circ\text{C}$  para secagem por (sete dias, até obtenção da massa constante. Após a secagem, os folíolos foram

pesados novamente para obtenção da massa seca, após essa etapa, as folhas secas foram reservadas para análises fisiológicas (quantificação de lignina e celulose).

### 5.5 Anatomia foliar

Para as análises anatômicas, cinco indivíduos foram selecionados aleatoriamente. Amostras do terço mediano do limbo dos folíolos foram fixadas em FAA 50 (formaldeído: ácido acético: álcool etílico 50%, 2:1:18, v/v), segundo a metodologia de Johansen (1940), mantidas por 48 horas e posteriormente transferidas para etanol 50%. Secções transversais dessas amostras foram preparadas, a mão livre com o auxílio de lâmina de barbear e isopor. Posteriormente, foram clarificadas com solução de hipoclorito de sódio a 50%, lavadas 10 vezes com água, coradas com azul de alcian 0,5% (LUQUE et al., 1996) e montadas em laminas semipermanentes com gelatina glicerinada (KRAUS & ARDUIN, 1997).

Para obtenção da espessura do limbo, espessura da cutícula da face adaxial, espessura da hipoderme da face adaxial e espessura do parênquima clorofiliano (paliçádico e lacunoso) foram obtidas 15 fotos de cada tratamento em microscópio Motic BA 210, acoplada a câmera fotográfica Moticom 3.0MP, na objetiva de 40x. As medições foram realizadas através do Software Image Pro-Plus. Por meio das medidas do parênquima clorofiliano (paliçádico e lacunoso), foi calculado o espaçamento de nervação, que é dependente da proporção entre o parênquima paliçádico e parênquima lacunoso, segundo a fórmula de Castro et al. (2009): espaçamento de nervação (EN) = PP/PL, em que PP é o parênquima paliçádico e PL o parênquima lacunoso.

O estudo da superfície foliar foi realizado através do método de impressão epidérmica da face abaxial em lâminas de vidro com adesivo instantâneo (Tekbond®), sendo depositada uma gota sobre a lâmina e em seguida o limbo na face abaxial foi pressionado contra a lâmina por um tempo de 30 segundos, sendo confeccionadas 20 lâminas.

Para determinação da densidade estomática (mm<sup>2</sup>) e do índice estomático (%), em cada tratamento foi obtida 30 fotos em microscópio Motic BA 210,

acoplada a câmera fotográfica Moticam 3.0MP, na objetiva de 40x. Foi utilizado o Software ANATI-QUANTI (AGUIAR et al., 2007), para calcular a densidade estomática (DE - número de estômatos por unidade de área) e o índice estomático (IE - percentual de estômatos em relação ao total de células epidérmicas por área), o cálculo de índice estomático é realizado pela fórmula:  $(IE\%) = [NE / (NE + CE)] \times 100$ , em que NE é o número de estômatos e CE é o número de células epidérmicas propriamente ditas (CASTRO et al., 2009). Utilizando-se o Software Image Pro-Plus, foi realizada uma estimativa da funcionalidade dos estômatos, considerada como a relação diâmetro polar/diâmetro equatorial dos estômatos segundo Castro *et al.* (2009).

### 5.6 Testes histoquímicos

Para as análises dos testes histoquímicos, as secções transversais da lâmina foliar (obtidas do material fixado em FAA 50), foram submetidas aos seguintes testes: Sudan IV em etanol para lipídeos totais (PEARSE, 1972) e solução aquosa de cloreto férrico para marcação de compostos fenólicos não estruturais (JOHANSEN, 1940). A preparação e os procedimentos dos reagentes foram realizados com embasamento na obra de Kraus e Arduin, (1997). Os reagentes foram inseridos sob as secções diretamente na lâmina e montadas entre lamínulas (lâminas temporárias) de acordo com (KRAUS & ARDUIN, 1997). A fim de comparação, foram utilizadas secções do material fixado não submetidas a reagentes como controle, para comparação com material submetido aos testes. As lâminas foram analisadas em microscópio óptico e as ilustrações foram obtidas em microscópio Motic BA 210, acoplada a câmera fotográfica Moticam 3.0MP, na objetiva de 10x e 40x.

### 5.7 Extração de pigmentos fotossintéticos da lâmina foliar

Para a determinação do teor de pigmentos fotossintéticos e acessórios, foram utilizados 6 (seis) folíolos por indivíduos (2 por folhas), totalizando 60

(sessenta) folíolos por tratamento, com  $n=240$ . Porém, para essa análise, foram utilizadas somente as regiões do ápice e da base dos folíolos (reservando amostras do terço mediano para análises anatômicas e histoquímicas), os fragmentos dos folíolos aqui citados foram seccionados e pesados formando 5 (cinco) amostras para cada indivíduo, totalizando 50 (cinquenta) amostras por tratamento, com no mínimo 0,3 g, de folhas frescas, posteriormente, foram acondicionadas em papel alumínio e congeladas à temperatura de  $-20^{\circ}\text{C}$ , por aproximadamente 6 meses. Para as análises, foram selecionados oito indivíduos de cada tratamento e de cada indivíduo foram utilizadas uma amostra, com um total de oito amostras por tratamento. A extração dos pigmentos foi realizada segundo técnica descrita por Lichtenthaler (1987) sob baixa luminosidade para impedir a degradação pela luz. O material congelado foi macerado com acetona P.A. e em seguida filtrado com papel de filtro. O líquido resultante foi colocado em tubos de ensaio envolvidos com papel alumínio, completando a solução com acetona P.A. Os tubos foram inseridos em um recipiente com gelo até a leitura das amostras. A solução resultante foi transferida para cubetas de vidro e as leituras foram realizadas, sob penumbra, em espectrofotômetro nos comprimentos de onda de 710nm (resíduos), 661,6nm (clorofila *a*), 644,8nm (clorofila *b*) e 470nm (carotenóides). Posteriormente, foram realizadas as seguintes equações apresentadas por Lichtenthaler (1987):

$$Cl_a = [(11,24 A_{661,6}) - (2,04 A_{644,8})] (VM^{-1})$$

$$Cl_b = [(20,13 A_{644,8}) - (4,19 A_{661,6})] (VM^{-1})$$

$$Cl_{a+b} = (7,05 A_{661,6}) + (18,09 A_{644,8})$$

$$Cl_{ab^{-1}} = Cl_a Cl_b^{-1}$$

$$\text{Carotenóides} = [(1000 A_{470}) - (1,90 C_a) - (63,14 C_b)] 214^{-1}$$

Onde:

**A** é a absorbância, **V** é o volume da amostra (mL), **M** é a massa fresca da amostra (mg),

$CI_a$  é o valor de clorofila *a* e  $CI_b$  é o valor de clorofila *b*.

Os conteúdos de clorofilas e carotenoides dos tecidos foram expressos em mg dos pigmentos por grama de massa fresca.

### *5.8 Índice de succulência*

Com os dados obtidos da área foliar, massa fresca, massa seca e da extração de pigmentos, o índice de succulência foi calculado segundo a terminologia de Kluge e Ting (1978), com base na equação: Índice de Succulência = (massa fresca – massa seca) (teor de clorofila *a*+ *b*)<sup>-1</sup>.

### *5.9 Quantificação de celulose e lignina*

Os folíolos secos provenientes da massa seca foram pulverizados em moinho de bola (Modelo TE-350, TECNAL, São Paulo, Brasil) e armazenadas em temperatura ambiente para a determinação de celulose e lignina. Foram utilizadas 5 (cinco) amostras por tratamento.

#### *Celulose*

A determinação de celulose das amostras foi realizada de acordo com Brendel et al. (2000). Foram pesadas 100 mg de amostras pulverizadas em tubos de vidro com tampa rosqueada. Adicionou-se 2 mL de ácido acético 80% e 200 µL de ácido nítrico 69% concentrado. Os tubos foram fechados, as amostras misturadas com cuidado, e acondicionados em placa aquecedora por 1 hora a 100°C. Após esfriar, as amostras foram transferidas para tubos falcon de 15 mL, previamente pesados, e logo em seguida adicionado 2,5 mL de etanol 99%.

As amostras foram então homogeneizadas em agitador vórtex, centrifugadas a 4.500 rpm por 5 minutos (Eppendorf Centrifuge 5810R, Hamburgo, Alemanha) em temperatura ambiente e o sobrenadante descartado cuidadosamente. Em seguida, as amostras foram lavadas sequencialmente da

seguinte forma: (1) 5 mL de etanol 99% para remover os produtos degradados na extração; (2) 5 mL de água deionizada para remover os vestígios do ácido nítrico; (3) 5 mL de NaOH 17% que ficou em repouso em temperatura ambiente por 10 minutos; (4) 5 mL de água deionizada; (5) 2,2 mL de água deionizada e 600 µL de ácido acético. Foi ainda adicionado mais 2,2 mL de água deionizada para retirada de material não celulósico ainda persistente e (6) 5 mL de água deionizada. Entre cada lavagem (1 a 6), as amostras foram centrifugadas a 4.500 rpm por 5 minutos em temperatura ambiente e os sobrenadantes descartados. Por fim as amostras foram secas em estufa a 50°C por 48 horas e pesadas para posterior determinação da porcentagem de celulose.

### *Lignina*

A determinação de lignina foi realizada segundo Dos Santos et al. (2008). Foram pesados 150 mg de amostras pulverizadas em tubos de vidro e homogeneizado em 10 mL de tampão fosfato de sódio e potássio 50 mM em pH 7. As amostras foram transferidas para tubos falcon de 15 mL e o material foi centrifugado por 10 minutos a 6.000 rpm e o sobrenadante descartado. A partir dessa etapa o precipitado passou por 12 (dose) lavagens com diferentes soluções: 3 (três) lavagens com 7 mL cada da solução Tampão Fosfato 50 mM – pH 7,0; 3 (três) lavagens com 7 mL cada da solução Triton® x – 100 (v/v) 1% - pH 7,0 (SIGMA); 2 (duas) lavagens com 7 mL cada da solução tampão NaCl – pH 7,0; 2 (duas) lavagens com 7 mL cada de água destilada; 2 (duas) lavagens com 7 mL cada de acetona 100%, seguindo sempre o mesmo procedimento: a solução foi adicionada, o material foi agitado em vórtex por 5 minutos e o sobrenadante foi descartado.

Após as 12 (dose) lavagem, o precipitado foi seco em estufa a 60°C por 24 horas. Esse material resultante é o que compreende a fração de parede celular livre de proteínas. Do precipitado seco, pesou-se 50 mg em tubos de 15 mL, adicionou-se 1,2 mL de ácido tioglicólico e 6 mL de HCl 2 M. As amostras foram incubadas a 95°C por 4 horas. Após esse tempo as mesmas foram centrifugadas por 15 minutos e lavadas três vezes com água destilada. Adicionou-se 7 mL de NaOH 0,5 M e incubou a 30°C por 18 horas sob agitação constante em agitador

magnético. Depois as amostras foram centrifugadas e reservou-se o sobrenadante. O precipitado foi lavado com 3 mL de NaOH 0,5 M, e centrifugado em seguida. O sobrenadante resultante foi unido ao anterior, acidificado com 1,8 mL de HCl e deixado a 4°C por 12 horas sem agitar para precipitação. Após esse período, as amostras foram centrifugadas e lavadas duas vezes com água destilada, centrifugadas novamente em 6.000 rpm por 10 minutos em temperatura ambiente e descartado o sobrenadante. O precipitado obtido foi seco a 60°C por 24 horas e ressuspendido em 1 mL NaOH 0,5 M.

A determinação do conteúdo de lignina foi realizada através da leitura de absorvância em espectrofotômetro no comprimento de onda de 280 nm. Foi utilizada a solução de lignina (SIGMA) para construção da curva padrão, nas concentrações de 0; 10; 20; 30; 40; 50; 100; 200; 300; 400 e 500 µg/µL.

#### *5.10 Análise de dados*

Os efeitos dos diferentes tratamentos sobre os atributos foliares (área foliar, massa fresca e massa seca), anatomia foliar, extração de pigmentos, quantificação de celulose e lignina, foram avaliados por meio de análise de variância (Anova; realizada por meio de Modelos Gerais Linearizados – GLM), sendo as comparações múltiplas realizadas a posteriori por meio do teste de Tukey. Para as análises acima descritas foram avaliadas a distribuição das variáveis respostas por meio do teste de Shapiro-Wilk e a homocedasticidade utilizando-se o teste de Levene. Por fim, o resíduo de cada modelo gerado foi avaliado pelo teste de Shapiro-Wilk. Todas as análises acima mencionadas foram realizadas utilizando-se o programa R (versão 3.2.5, 2016). Os dados de índice de suculência por serem dados calculados é uma exceção, não obedecem às suposições básicas para a análise de variância. A organização e tabulação dos dados foram executados pelo programa Microsoft Office Excel (2013).

## 6. RESULTADOS

### 6.1 Atributos foliares

De acordo com a estatística descritiva para o parâmetro área foliar, os maiores valores médios foram obtidos para o tratamento P, seguido do tratamento TP (Tabela 2). Para os parâmetros massa fresca e seca, os maiores valores médios foram obtidos para o tratamento TP, em relação aos outros tratamentos, seguido do tratamento P (Tabela 2). Apesar disso, o resultado do teste ANOVA, considerando estes valores médios, não apresentou variância significativa entre os quatros tratamento para os parâmetros analisados, área foliar (Anova,  $F=0.46$ ,  $p=0,71$ ), massa fresca (Anova,  $F=1,04$ ,  $p=0,39$ ) e massa seca (Anova,  $F=0,58$ ,  $p=0,63$ ), sendo assim, não sendo realizado o teste a posteriori (Tukey).

**Tabela 2** - Área foliar ( $\text{cm}^2$ ), massa fresca (mg) e massa seca (mg), dos indivíduos de *Allagoptera arenaria* submetidos aos tratamentos: sem OTC e calha (C), com calha (P), com OTC (T) e com OTC e calha (TP).

Tratamentos	Área Foliar ( $\text{cm}^2$ )	Massa Fresca (mg)	Massa Seca (mg)
Tratamento 1 (C)	37,65±8,47 a	5,39±1,34 a	0,58±0,15 a
Tratamento 2 (P)	43,58±18,83 a	6,11±2,26 a	0,64±0,23 a
Tratamento 3 (T)	41,36±2,94 a	6,01±1,06 a	0,63±0,10 a
Tratamento 4 (TP)	42,67±12,24 a	6,98±2,91 a	0,69±0,26 a

Médias seguidas das mesmas letras não diferem estatisticamente entre si, quando  $p < 0,05$ .

## 6.2 Anatomia foliar

Em vista frontal, os folíolos dos indivíduos submetidos aos quatro tratamentos, C, P, T e TP, na face abaxial, apresentaram estômatos na região intercostal, em três ou mais fileiras contíguas entre si, o complexo estomático é do tipo tetracítico e os folíolos são hipoestomáticos, ou seja, apresentam estômatos somente na face abaxial. Com relação à estatística descritiva, os parâmetros densidade estomática e índice estomático, mostraram que os maiores valores médios foram obtidos para o tratamento P (Tabela 3). Para o parâmetro funcionalidade dos estômatos, os maiores valores médios foram obtidos para o tratamento T (Tabela 3). De acordo com o teste estatístico realizado (ANOVA), não houve diferença significativa na densidade média dos estômatos por  $\text{mm}^2$  entre os quatros tratamentos (Anova,  $F= 2,10$ ,  $p= 0,14$ ). Em relação ao índice estomático, em que se considera a frequência dos estômatos em relação às células epidérmicas (Anova,  $F= 6,83$ ,  $p= 0,00$ ) e, a funcionalidade dos estômatos, que é estimada pela relação entre o diâmetro polar e o diâmetro equatorial dos estômatos (Anova,  $F= 15,14$ ,  $p= 0,00$ ), foi observada uma diferença significativa entre o tratamento T em relação aos demais tratamentos, mostrando uma maior funcionalidade para esse tratamento.

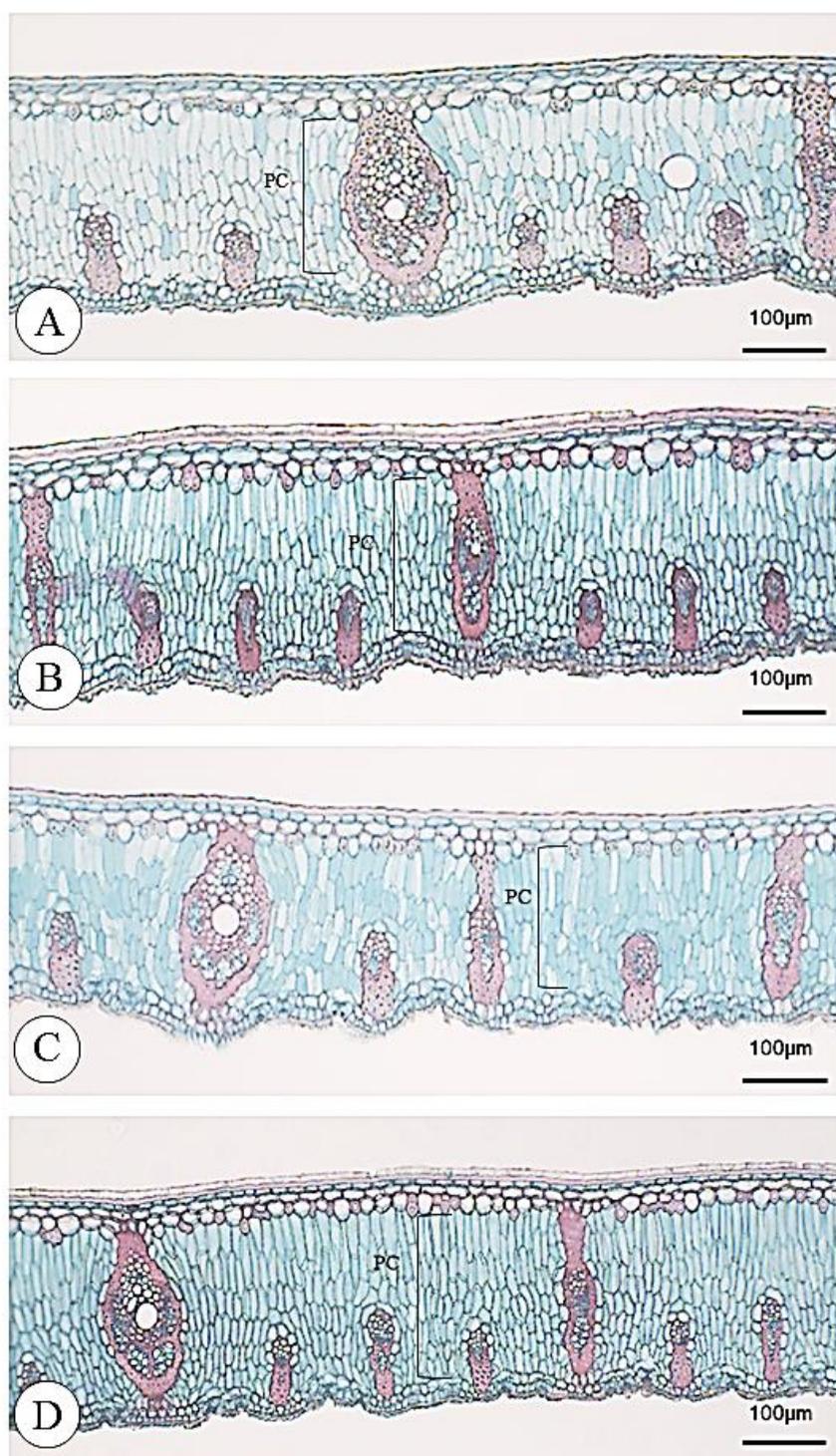
**Tabela 3** - Densidade Estomática (mm<sup>2</sup>), índice Estomático (%) e funcionalidade dos Estômatos dos indivíduos de *Allagoptera arenaria* submetidos aos tratamentos: sem OTC e calha (C), com calha (P), com OTC (T) e com OTC e calha (TP).

<b>Tratamentos</b>	<b>Densidade Estomática (mm<sup>2</sup>)</b>	<b>Índice Estomático (%)</b>	<b>Funcionalidade dos Estômatos</b>
Tratamento 1 (C)	876,03±178,40 a	9,46±0,97 a	1,86±0,07 bc
Tratamento 2 (P)	954,22±151,95 a	9,64±1,25 a	1,94±0,08 b
Tratamento 3 (T)	764,84±61,76 a	7,41±0,42 b	2,33±0,11 a
Tratamento 4 (TP)	813,72±71,43 a	8,35±0,70 b	2,07±0,18 bd

Médias seguidas das mesmas letras não diferem estatisticamente entre si quando  $p < 0,05$ .

Em secção transversal, o limbo dos indivíduos de *A. arenaria* nos quatro tratamentos apresentou epiderme uniestratificada. A epiderme é revestida por uma camada de cutícula menos espessa e com presença de cera epicuticular na face adaxial, já na face abaxial, a cutícula é mais espessa. As células da epiderme da face adaxial são retangulares a trapezoides, o tamanho varia entre si, não foi observada ondulações, nem irregularidades na superfície da lâmina adaxialmente. As células da epiderme da face abaxial são retangulares, tamanho variável entre si, com presença de papilas e criptas estomáticas. Abaxialmente foi observado ondulações formando um padrão em que os estômatos situam-se nas depressões.

O mesofilo é dorsiventral gradativo (mesofilo indistinto), 5-7 camadas de parênquima clorofiliano, sendo mais ou menos de 2-3 camadas de parênquima paliçádico e de 3-4 camadas de parênquima lacunoso. A hipoderme adaxial é mais espessa com células ovoides, grupos de fibras adjacentes à hipoderme adaxial em uma faixa quase continua, hipoderme abaxial com células isodiamétricas (Figura 6 A, B, C, D).



**Figura 6** - Secções transversais do limbo dos indivíduos de *Allagoptera arenaria* submetidos aos tratamentos: (A) sem OTC e calha (C), (B) com calha (P), (C) com OTC (T) e (D) com OTC e calha (TP). PC – parênquima clorofiliano.

Com relação à estatística descritiva, os parâmetros espessura do limbo, cutícula e hipoderme, mostraram que os maiores valores médios foram obtidos para o tratamento P (Tabela 4). De acordo com o resultado do teste ANOVA, não houve diferença significativa entre os parâmetros espessura do limbo (Anova,  $F=0,90$ ,  $p= 0,46$ ) e cutícula (Anova,  $F= 1,31$ ,  $p= 0,31$ ), apenas uma medida foi considerada com diferença entre os tratamentos: a hipoderme (Anova,  $F= 6,95$ ,  $p= 0,00$ ), esse parâmetro apresentou diferença significativa entre o tratamento P em relação aos demais tratamentos.

**Tabela 4** - Espessura do limbo, cutícula e hipoderme dos indivíduos de *Allagoptera arenaria* submetidos aos tratamentos: sem OTC e calha (C), com calha (P), com OTC (T) e com OTC e calha (TP).

Tratamentos	Espessura do limbo ( $\mu\text{m}$ )	Cutícula ( $\mu\text{m}$ )	Hipoderme ( $\mu\text{m}$ )
Tratamentos 1 (C)	125,67 $\pm$ 16,32 a	9,41 $\pm$ 0,79 a	14,75 $\pm$ 0,58 b
Tratamento 2 (P)	139,84 $\pm$ 16,71 a	9,89 $\pm$ 0,35 a	16,40 $\pm$ 0,72 a
Tratamento 3 (T)	134,70 $\pm$ 10,52 a	9,01 $\pm$ 0,53 a	14,75 $\pm$ 0,94 b
Tratamento 4 (TP)	138,71 $\pm$ 16,14 a	9,38 $\pm$ 1,00 a	14,83 $\pm$ 0,40 b

Médias seguidas das mesmas letras não diferem estatisticamente entre si quando  $p < 0,05$ .

A estatística descritiva da espessura do parênquima paliçádico mostrou média maior para o tratamento P, da espessura do parênquima lacunoso para o tratamento T e do espaçamento da nervação, que é dependente da proporção entre o parênquima paliçádico e o parênquima lacunoso, para o tratamento P (Tabela 5). Entretanto, o resultado do teste ANOVA, considerando estes valores médios, não apresentou nenhuma diferença nessas medidas entre os quatro tratamentos, espessura do parênquima paliçádico (Anova,  $F=, 3,01$   $p= 0,06$ ), espessura do parênquima lacunoso (Anova,  $F= 0,45$ ,  $p= 0,72$ ) e o espaçamento de nervação (Anova,  $F= 1,15$ ,  $p= 0,36$ ), sendo assim, não sendo realizado o teste a posteriori (Tukey).

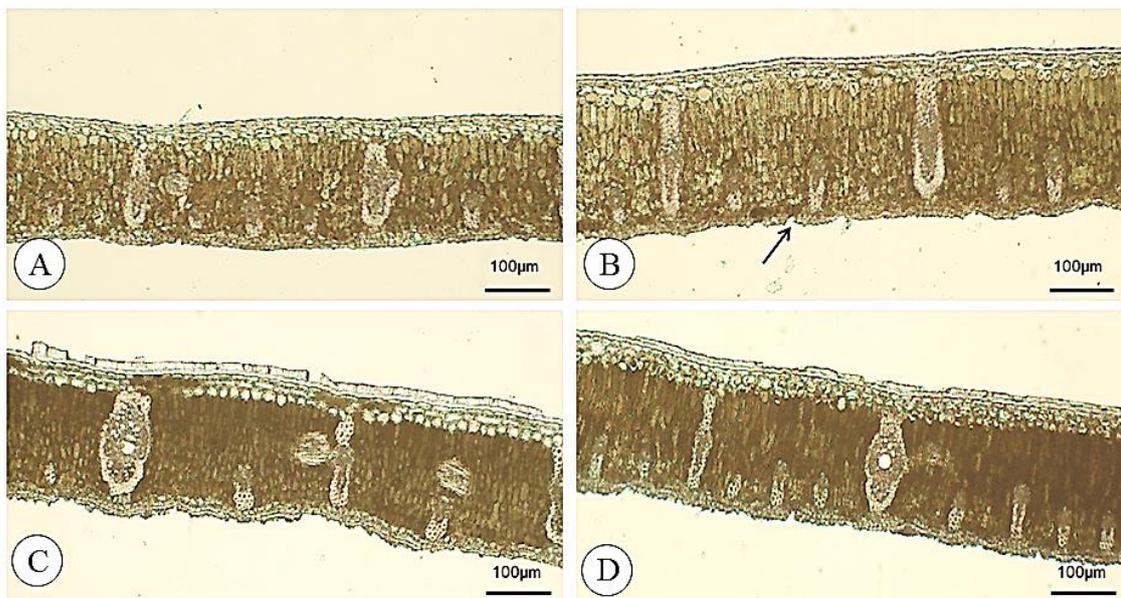
**Tabela 5** - Espessura do parênquima paliçádico, parênquima lacunoso, e espaçamento de nervação dos indivíduos de *Allagoptera arenaria* submetidos aos tratamentos: sem OTC e calha (C), com calha (P), com OTC (T) e com OTC e calha (TP).

<b>Tratamentos</b>	<b>Espessura do Parênquima Paliçádico (<math>\mu\text{m}</math>)</b>	<b>Espessura do Parênquima lacunoso (<math>\mu\text{m}</math>)</b>	<b>Espaçamento de nervação</b>
Tratamento 1 (C)	40,87 $\pm$ 4,26 a	40,71 $\pm$ 5,58 a	1,02 $\pm$ 0,04 a
Tratamento 2 (P)	49,08 $\pm$ 4,66 a	44,65 $\pm$ 7,58 a	1,13 $\pm$ 0,13 a
Tratamento 3 (T)	46,55 $\pm$ 3,24 a	45,04 $\pm$ 7,47 a	1,06 $\pm$ 0,11 a
Tratamento 4 (TP)	48,04 $\pm$ 6,22 a	44,80 $\pm$ 6,62 a	1,08 $\pm$ 0,08 a

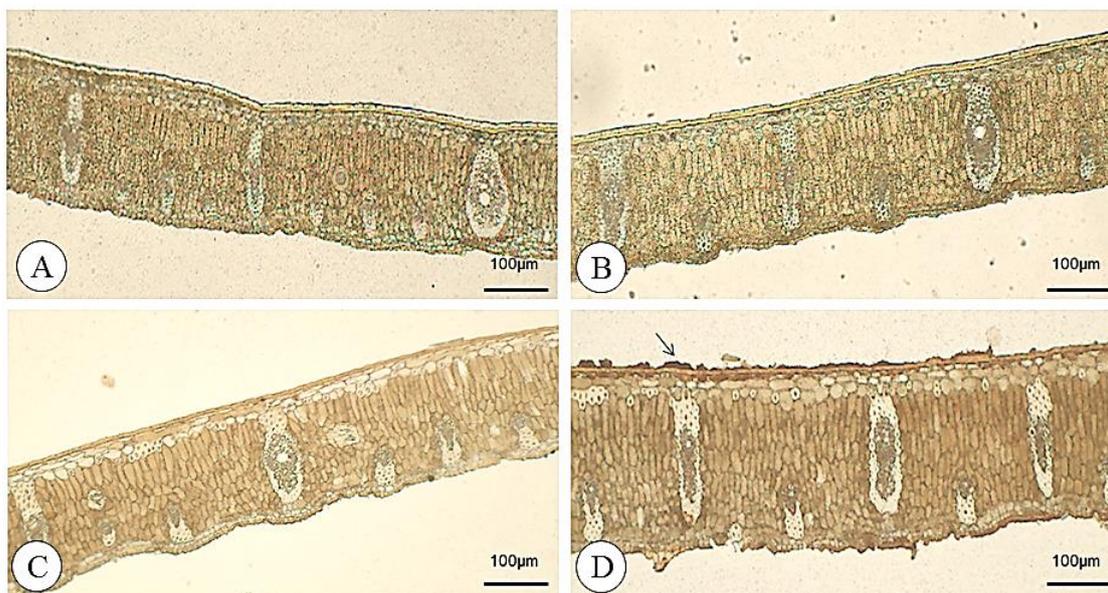
Médias seguidas das mesmas letras não diferem estatisticamente entre si quando  $p < 0,05$ .

### 6.3 Testes histoquímicos

Em secção transversal da lâmina foliar, as análises histoquímicas indicaram a presença de muitos compostos fenólicos, e os testes também deram positivos para a análise de lipídios (Figuras 7 e 8). Em relação ao teste de compostos fenólicos, a reação foi positiva para os indivíduos de todos os tratamentos. Sendo detectada reação positiva nas células guardas dos estômatos e no parênquima clorofiliano (Tabela 6). Em relação ao teste de lipídeos, a cutícula tanto da face adaxial quanto da face abaxial apresentou reação positiva para todos os tratamentos analisados, incluindo o limbo. No tratamento TP, os indivíduos apresentaram reação positiva para gotículas de lipídeos em maior quantidade quando comparado aos demais tratamentos (Figura 8D) (Tabela 6).

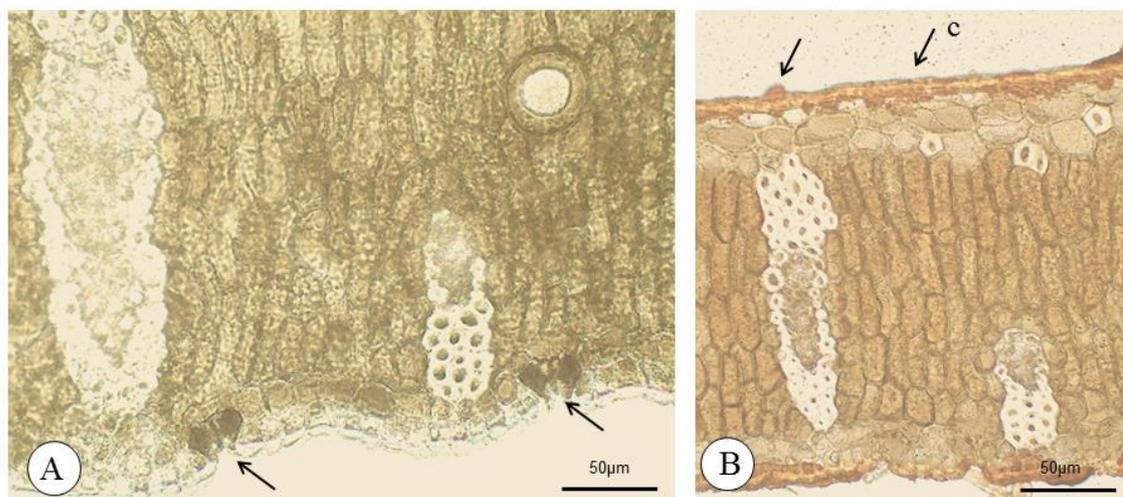


**Figura 7** - Secções transversais do limbo dos folíolos de *A. arenaria* em diferentes condições climáticas, submetidas ao reagente cloreto férrico para detecção de compostos fenólicos. (A) tratamento C; (B) tratamento P; (C) tratamento T; (D) tratamento TP. Seta mostrando a reação positiva de cloreto férrico nos estômatos.



**Figura 8** - Secções transversais do limbo dos folíolos de *A. arenaria* em diferentes condições climáticas, submetidas ao reagente Sudan IV para detecção de lipídeos.

totais. (A) tratamento C; (B) tratamento P; (C) tratamento T; (D) tratamento TP. Seta mostrando as gotículas de lipídeos.



**Figura 9** - Detalhes das secções transversais do limbo de *A. arenaria*, submetidas ao (A) reagente cloreto férrico para detecção de compostos fenólicos, (B) submetidas ao reagente Sudan IV para detecção de lipídeos totais. Seta mostrando a reação positiva de cloreto férrico nos estômatos (A), (B) reação positiva de lipídios na cutícula e as gotículas de lipídeos. c – cutícula.

**Tabela 6** - Testes histoquímicos da lâmina foliar dos indivíduos de *Allagoptera arenaria* submetidos aos tratamentos: sem OTC e calha (C), com calha (P), com OTC (T) e com OTC e calha (TP).

Tratamentos	Compostos fenólicos	Lipídeos
Tratamento 1 (C)	+ (parênquima clorofiliano e estômatos)	+ (cutícula e gotículas de lipídeos)
Tratamento 2 (P)	+ (parênquima clorofiliano e estômatos)	+ (cutícula e gotículas de lipídeos)
Tratamento 4 (T)	+ (parênquima clorofiliano e estômatos)	+ (cutícula e gotículas de lipídeos)
Tratamento 5 (TP)	++ (parênquima clorofiliano e estômatos)	++ (cutícula e gotículas de lipídeos)

Moderadamente positiva (+) Fortemente positiva (++)

#### 6.4 Extração de pigmentos fotossintéticos da lâmina foliar

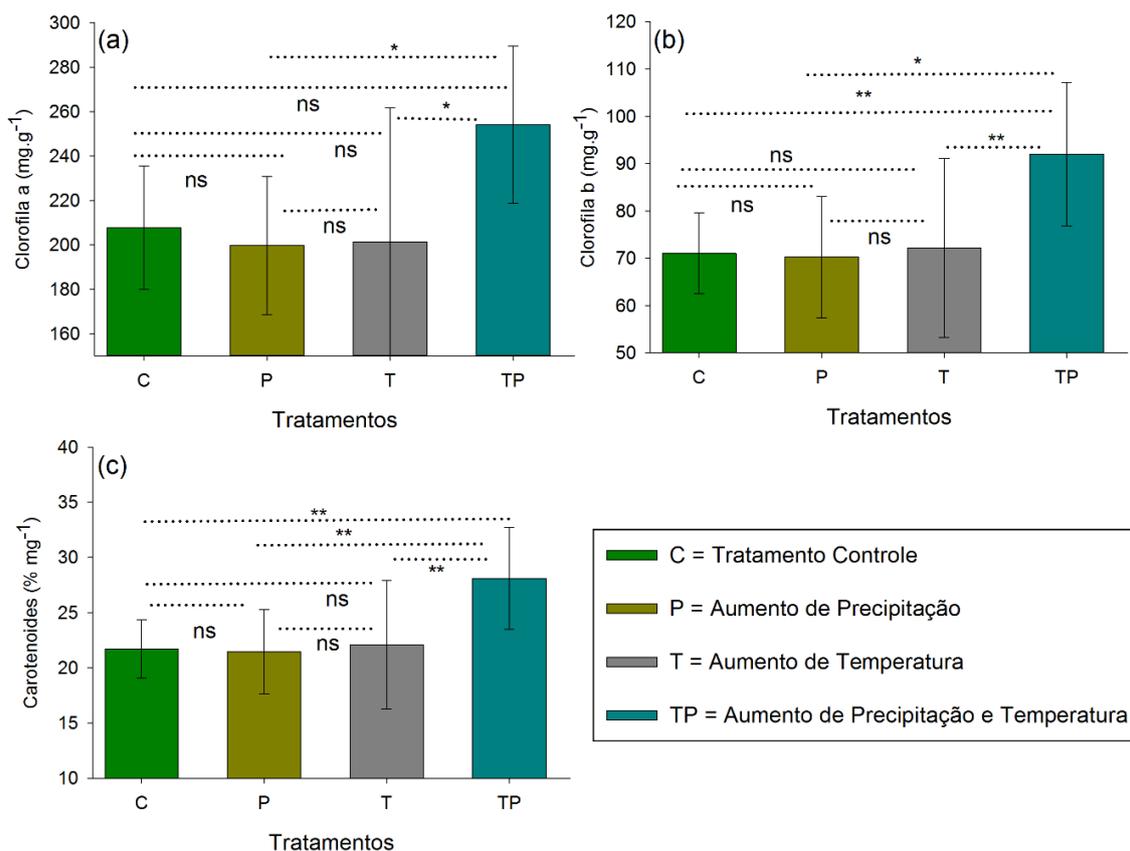
De acordo com a estatística descritiva para a concentração de clorofila a clorofila b, carotenoides e clorofila total (representados pela somatória de Chl a + Chl b), os maiores valores médios observados foram obtidos para o tratamento TP. Já a razão clorofila a/b, apresentou medias maiores para o tratamento C (Tabela 7). O resultado do teste ANOVA, considerando estes valores médios, foi observada uma diferença significativa entre os quatros tratamentos para os parâmetros analisados, clorofila a (Anova,  $F=3,21$ ,  $p=0,04$ ), clorofila b (Anova,  $F=4,26$ ,  $p=0,01$ ) e carotenoides (Anova,  $F=4,24$ ,  $p=0,01$ ).

Na figura 10 estão representados na forma de gráficos os resultados obtidos para a determinação de pigmentos fotossintéticos, no qual pode ser observado que as concentrações de clorofila a apresentou diferença significativa entre os tratamentos TP com uma porcentagem de 256,20% em relação aos tratamentos P (com 199,70%) e T (com 201,45%). No entanto, o tratamento TP destacou-se pelas maiores concentrações de clorofila b e carotenoides, com uma porcentagem de 92,04% para clorofila b e 28,10% para carotenoides, apresentando uma variância significativa em relação aos demais tratamentos analisados, como pode ser observado na Tabela 6 e Figura 10.

**Tabela 7** - Concentrações de pigmentos fotossintéticos em indivíduos de *Allagoptera arenaria* submetidos aos tratamentos: sem OTC e calha (C), com calha (P), com OTC (T) e com OTC e calha (TP). (Chl a = clorofila a; Chl b = clorofila b; Carot = carotenoides; Chl a + Chl b = soma total dos valores de clorofila + clorofila b; Chl a / Chl b = razão clorofila a / clorofila b).

Tratamentos	Chl a (mg gMF)	Chl b (mg gMF)	Carot (mg gMF)	Chl a + Chl b	Chl a / Chl b
Tratamento 1 (C)	207,78±27,84 a	71,05±8,52 b	21,71±2,64 b	3,67±0,51	2,90±0,15
Tratamento 2 (P)	199,70±31,12 ab	70,25±12,80 b	21,46±3,79 b	3,46±0,63	2,89±0,28
Tratamento 3 (T)	201,45±60,43 ab	72,23±18,87 b	22,10±5,84 b	3,49±0,91	2,60±0,34
Tratamento 4 (TP)	254,20±35,50 ac	92,04±15,17 a	28,10±4,60 a	4,95±0,80	2,72±0,16

Médias seguidas das mesmas letras não diferem estatisticamente entre si quando  $p < 0,05$ .



**Figura 10** - Porcentagem de pigmentos fotossintéticos nos folíolos de *A. arenaria*, submetidos aos tratamentos: sem OTC e calha (C), com calha (P), com OTC (T) e com OTC e calha (TP). (a): % do teor de clorofila a; (b): % do teor de clorofila b; (c) % do teor de pigmentos carotenoides.

### 6.5 Índice de suculência

Os resultados do índice de suculência foliar mostraram que os indivíduos do tratamento C apresentaram 1,31 mg $\mu$ -1, do tratamento P 1,58 mg $\mu$ -1, do tratamento T 1,54 mg $\mu$ -1 e do tratamento TP 1,27 mg $\mu$ -1. Assim, comparando os resultados do índice de suculência, observou-se que o tratamento P apresentou um índice de suculência maior quando comparado aos demais tratamentos.

## 6.6 Quantificação de celulose e lignina

### *Celulose*

A estatística descritiva do teor desse polímero de parede celular mostrou que os maiores valores médios observados foram obtidos para o tratamento P, seguido do tratamento com aumento TP (Tabela 8). No resultado do teste ANOVA, considerando estes valores médios, foi observada uma diferença significativa entre os quatros tratamentos (Anova,  $F= 3,89$ ,  $p= 0,03$ ). De acordo com o teste de Tukey, houve uma diferença significativa entre o tratamento P e o tratamento TP em relação ao tratamento C (Tabela 8). Na figura 11 estão representados na forma de gráfico os resultados obtidos para a celulose, dessa forma, comparando os tratamentos, nota-se que o tratamento P apresentou uma porcentagem de 100% de celulose e o tratamento TP 97%, sendo assim a variação da celulose foi maior para esses tratamentos.

### *Lignina*

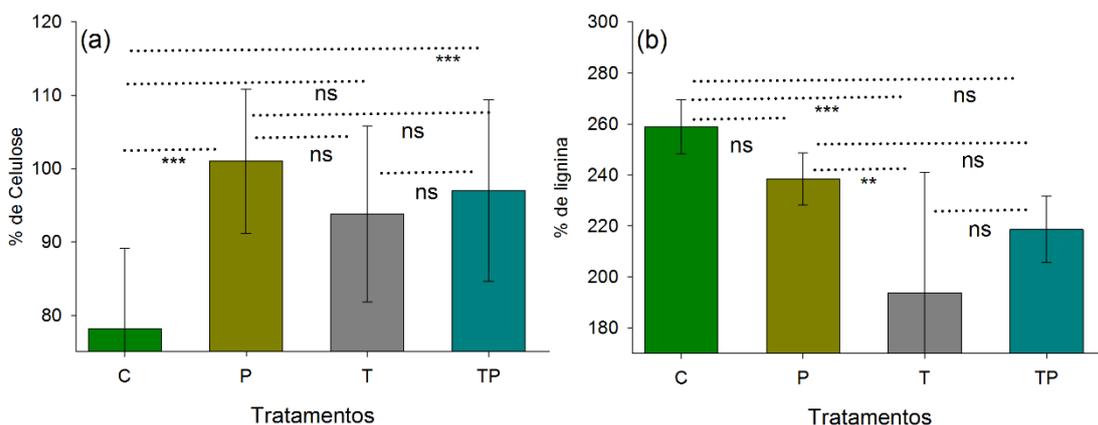
Na estatística descritiva da lignina, os maiores valores médios foram obtidos para o tratamento C, seguido do tratamento P (Tabela 8). No resultado do teste ANOVA, considerando estes valores médios, foi analisada uma diferença significativa entre os quatros tratamentos (Anova,  $F= 5,93$ ,  $p= 0,01$ ). De acordo com o teste de Tukey, houve uma diferença significativa entre o tratamento T em relação ao tratamento C e o tratamento P (Tabela 8). Na figura 11 estão representados na forma de gráfico os resultados obtidos para a lignina. A comparação da variação da lignina nos tratamentos mostrou que o tratamento T apresentou menor teor deste polímero de parede celular, apresentando uma porcentagem de 190%. Entretanto, a porcentagem de lignina foi mais elevada no tratamento C com 260%.

**Tabela 8** - Valores de média e desvio padrão da determinação de celulose ( $\text{mg g}^{-1}\text{MS}$ ) e lignina ( $\text{mg g}^{-1}\text{MS}$ ) em indivíduos de *Allagoptera arenaria* submetidos aos

tratamentos: sem OTC e calha (C), com calha (P), com OTC (T) e com OTC e calha (TP).

Tratamentos	Celulose (mg g <sup>-1</sup> MS)	Lignina (mg g <sup>-1</sup> MS)
Tratamento 1 (C)	78,20±10,89 b	258,94±10,65 ab
Tratamento 2 (P)	100,10±9,82 a	238,39±10,28 b
Tratamento 3 (T)	93,80±11,99 abc	193,81±47,12 c
Tratamento 4 (TP)	96,10±12,39 c	218,63±13,00 abc

Médias seguidas das mesmas letras não diferem estatisticamente entre si quando  $p < 0,05$ .



**Figura 11** – Porcentagem de celulose (a) e lignina (b) presente nos folíolos de *A. arenaria*, submetidos aos tratamentos: sem OTC e calha (C), com calha (P), com OTC (T) e com OTC e calha (TP).

## 7. DISCUSSÃO

Com os resultados obtidos, foi possível concluir que os efeitos do aumento de temperatura e volume pluviométrico isolados e combinados causaram diferentes respostas nos indivíduos de *A. arenaria*. Com relação os dados morfológicos: área foliar, massa fresca e massa seca, os tratamentos não apresentaram diferenças significativas. Porém, os dados obtidos mostraram que os indivíduos provavelmente receberam uma maior quantidade de água da chuva devido à calha, pois maior nível de água disponível no solo resulta em maiores valores de área foliar (BRAGA, 2016).

Alguns trabalhos, contudo, tem demonstrado que a produção de biomassa vegetal responde positivamente ao aumento de precipitação (HUXMAN et al., 2004; KARDOL et al., 2010; SPENCE et al., 2016). O balanço adequado de água e temperatura, presente nos tratamentos P e TP, pode ter permitido maior abertura estomática nos indivíduos submetidos a esses tratamentos, favorecendo, de certa forma, maiores taxas fotossintéticas e permitindo maior crescimento. Sabe-se que a condição hídrica das plantas está muito relacionada aos processos fisiológicos de importância para o vegetal. Processos como transpiração, fotossíntese, respiração e crescimento são muito influenciados pelas mudanças ocorridas no estado hídrico das folhas (HSIAO, 1973).

Em contrapartida, alguns trabalhos relatam a redução à área foliar e da biomassa em relação à disponibilidade hídrica e altas temperaturas. Da Silva & Azevedo (2007) mostram que espécies de restinga criam diferentes estratégias adaptativas foliares, em resposta a radiação solar intensa e altas temperaturas, uma delas é o tamanho reduzido das folhas. Segundo Diskison (2000), quando ocorre déficit hídrico no ambiente, as plantas tende a reduzir o tamanho da folha, possivelmente, isso acontece para uma redução na taxa de perda de água absorvida. De acordo com Qaderi et al., (2006), as plantas que sofreram escassez de água respondem com folhas menores e com menor biomassa do que as folhas de plantas que recebem água. Silva et al. (2002), estudaram o efeito do estresse hídrico sobre características de crescimento em *Melaleuca alternifolia* Cheel, relatam que o comportamento de *Melaleuca alternifolia* indica que a deficiência

hídrica severa diminui o crescimento e a produção de biomassa verde e seca das plantas. Refutando com as informações encontradas no presente estudo para os indivíduos de *A. arenaria*.

A descrição do material anatômico para a vista frontal, corrobora com o que foi observado por Defaveri et al. (2015), Pinedo (2015) e Pinedo et al., (2016). *A. arenaria* é uma palmeira típica do ecossistema de restinga, esse ecossistema está submetido a uma complexidade de fatores ambientais que muitas vezes são limitantes para a sobrevivência das plantas tais como salinidade, dessecação, oligotrofia, soterramento, inundações, alta temperatura do ar e do solo, alta radiação solar e grande amplitude térmica diária (CRAWFORD, 2012). Por todos esses fatores, as restingas são caracterizadas ecofisiologicamente como ambientes de estresse (LÜTTGE & SCARANO, 2004). *A. arenaria* apresentou características anatômicas para lidar com esses tipos de estresses, independente dos tratamentos.

Segundo Diskison (2000), os efeitos de fatores ambientais na morfologia e anatomia das folhas produziram uma grande variedade de adaptações em diferentes taxas. Diskison (2000) e Fermino-Jr (2004) afirmam que espécies com folhas hipoestomáticas, assim como *Allagoptera arenaria*, podem ter vantagens na ocupação de diferentes ambientes, pois este padrão pode minimizar a perda de água para a atmosfera, permitindo que estas ocupem ambientes de maior temperatura e incidência de luz. Segundo Pinedo (2015) espécies de *Allagoptera* Nees apresentam estômatos restritos às regiões intercostais da superfície abaxial. Além, das espécies do gênero *Allagoptera*, espécies de Myrtaceae também apresentam folhas hipoestomáticas (GOMES et al., 2009; DONATO & MORRETES, 2007).

De acordo com o teste estatístico não houve diferença significativa para a densidade média dos estômatos por mm<sup>2</sup> entre os quatros tratamentos. Em relação ao índice estomático, em que se considera a frequência dos estômatos em relação às células epidérmicas, foi observada uma diferença significativa entre o tratamento T e TP, em relação aos demais tratamentos. O número de estômatos por unidade de área epidérmica é chamado de densidade estomática e varia muito entre os indivíduos de uma mesma espécie, dependendo das condições ambientais. A densidade estomática pode estar associada com a resposta ambiental da planta assim como acontece com o índice estomático, que

representa o investimento da planta na produção de estômatos em relação ao total de células epidérmicas (CASTRO et al., 2009).

Segundo Ribeiro et al., (2012), o índice estomático pode variar diferentemente da densidade estomática, o mesmo foi observado no presente estudo para o teste estatístico, densidade e índice mostraram resultados diferentes, porém, quando foi comparado as médias, os dois parâmetros apresentarem resultados semelhantes. O mesmo foi observado por Ferris et al., (1996) que estudaram: CO<sub>2</sub> e temperatura elevadas têm efeitos diferentes sobre a anatomia foliar do *Perennial ryegrass* na primavera e no verão, os autores observaram que mudança no índice estomático foi acompanhada por uma mudança semelhante na densidade estomática. Woodward (1987) mostrou que as alterações na densidade estomática eram muitas vezes paralelas por mudanças no índice estomático, indicando que o efeito do CO<sub>2</sub> era na iniciação estomática, em vez de um resultado de mudanças nas taxas de expansão das células foliares.

O aumento da densidade e índice estomático em plantas de *A. arenaria* expostas aos tratamentos P e TP, provavelmente trouxeram vantagens para esses indivíduos em relação aos outros tratamentos. Alguns autores afirmam que plantas que possuem densidade estomática maior, elevam a condutância de gases, ou seja, quanto maior a densidade estomática, maior a absorção de CO<sub>2</sub> (ABRANS et al., 1992; EVANS, 1999; BOEGER & WISNIEWSKI, 2003), o que pode evitar que a fotossíntese seja limitada sob diferentes condições de ambiente (FURLAN, 2013), conseqüentemente, aumenta a fotossíntese (GUREVITCH et al., 2009).

Dessa forma, ao mesmo tempo em que aumenta o fluxo de gás carbônico dentro da planta, ocorre maior fluxo de vapor de água e aumento da transpiração. Como consequência do aumento da transpiração, ocorre um processo de resfriamento da folha, reduzindo a temperatura interna. Na ausência da transpiração, as folhas podem ficar alguns graus mais quentes (DICKISON, 2000). Porém, Castro et al., (2009) relata que está variável também favorece uma diminuição da transpiração foliar, devido à sobreposição da área de difusão do vapor de água em decorrência da maior proximidade dos estômatos. Schlüter et al., (2003) expõe que o aumento da densidade estomática em restingia pode ser considerado uma adaptação que aumenta a captação de gás carbônico e,

concomitante diminui o efluxo de vapor de água, ocasionado pela formação de arcos de transpiração mais próximos entre si (LARCHER, 2000). Esse aumento da densidade e índice estomático nos indivíduos dos tratamentos P e TP estão diretamente relacionados com o aumento da área foliar, da massa fresca e seca, nos indivíduos do tratamento com aumento de volume pluviométrico (P) e aumento de temperatura e volume pluviométrico (TP). Densidade estomática, índice estomático e área foliar possuem uma forte relação entre si (DA SILVA et al., 2014).

O tratamento C e o tratamento com aumento de temperatura (T), apresentaram médias menores para a densidade estomática e para o índice estomático, corroborando o que foi observado por Ferris et al., (1996), os autores observaram que em temperatura de verão mais quentes a densidade estomática diminuiu. A eficiência do uso da água pode ser melhorada pela menor densidade estomática (TYREE & ALEXANDER, 1993), uma vez que o número de vias abertas para a difusão do vapor de água diminui. Uma redução da densidade estomática para o tratamento T pode ser um mecanismo para poupar água. No entanto, a densidade estomática é um importante parâmetro ecofisiológico que afeta a troca de gás. A redução do número de estômatos pode levar a uma maior eficiência instantânea de uso da água, que geralmente é definida como a razão da assimilação para a transpiração (FERRIS, 1994; FERRIS & TAYLOR, 1995).

Uma possível explicação para esse acontecimento seria que as altas temperaturas verificadas no tratamento T, provocariam um aumento das taxas de transpiração, causando déficit interno de água em plantas que provavelmente sofrem com a disponibilidade hídrica, dessa forma, não seria vantajoso para a planta. No entanto, criar mecanismos como baixa densidade e índice estomático é muito importante para o bom desempenho da espécie nessas situações, assim a transpiração será diminuída, fazendo com que a planta perca menos água. Contudo, uma redução da densidade estomática para o tratamento T pode ser um mecanismo para poupar água. Porém, esse evento pode levar a uma redução do crescimento pela ação do fechamento estomático e diminuição da fotossíntese, como pode ser observada nas menores médias para a área foliar, massa fresca e seca para esse mesmo tratamento.

De acordo com as literaturas citadas a cima, os indivíduos de todos os tratamentos criaram mecanismos para poupar água, independente do aumento ou

da diminuição da densidade estomática. *A. arenaria* é uma espécie que vive em um ambiente xérico, onde a disponibilidade de água é reduzida, criar mecanismos para diminuir a perda de água, é de extrema importância para o bom desempenho da espécie.

A funcionalidade dos estômatos apresentou uma diferença significativa entre o tratamento T, em relação aos demais tratamentos. Uma maior funcionalidade estomática pode estar associada com uma redução da transpiração, pois os estômatos se tornam mais elípticos (BATISTA et al., 2010; CASTRO et al., 2009). Demonstrando assim, que esse tratamento apresenta os estômatos mais funcionais, sendo que quanto maior a relação, mais funcional será o estômato (CASTRO et al., 2009). O tratamento P, seguido do tratamento C, possuem estômatos pouco funcionais por apresentarem médias menores e uma alta densidade estomática por apresentarem médias maiores, esse fato pode gerar uma excessiva transpiração para os indivíduos desses tratamentos, dificultando a sua adaptação às condições mais secas. Esses dados corroboram as observações de Ribeiro et al., (2012) e Cerqueira (1992) que relatam um aumento na densidade estomática nas folhas de genótipos de mandioca quando submetidos às condições de seca e enfatiza a importância dessa característica para a tolerância à seca na espécie.

Em secções transversais, o limbo dos indivíduos de *A. arenaria* nos quatro tratamentos apresentaram informações que corroboram com o que foi observado para todas as espécies do gênero segundo Pinedo (2015) e Moraes (1996). A epiderme foliar das plantas de restinga pode apresentar uma série de características interpretadas como adaptações a um ambiente com intensa radiação solar e restrições à perda de água (DA SILVA & AZEVEDO, 2007). Dentre estas características pode-se ressaltar a presença de ondulações na epiderme da face abaxial de *A. arenaria*, essas ondulações formam um padrão em que os estômatos situam-se nas depressões. Ambas as espécies de Restinga (*Allagoptera arenaria* e *Allagoptera brevicalyx*) apresentaram este padrão, além da espécie de Mata Atlântica *Allagoptera caudescens*. Estes resultados sugerem que a Restinga pode impor restrições hídricas a determinadas espécies ainda mais severas (PINEDO, 2015).

A posição das células-guarda em depressões é uma característica que possibilita a existência de um microambiente úmido, reduzindo a taxa de

transpiração foliar (ESAU & MORRETES, 1974). Tanto as cristas estomáticas quanto as subsidiárias parecem ampliar o microambiente úmido e diminuir ainda mais a transpiração foliar, proporcionando economia de água (PINEDO, 2015). As papilas são estruturas observadas em folhas de plantas xeromórficas (CUTLER et al., 2008), o que pode explicar a presença dessas estruturas nas células da espécie analisada. A presença dessa estrutura na epiderme foliar de *A. arenaria*, espécie de Restinga, indica que o ambiente em que esta espécie se encontra está sujeito a condições mais extremas. Segundo Pinedo (2015), as células do mesofilo de *A. arenaria* variam muito ligeiramente em tamanho. Esta variação ocorre de maneira gradativa, da face adaxial para a face abaxial. Dessa maneira, o autor propôs uma nova classificação em mesofilo dorsiventral gradativo (células do mesofilo diminuem gradativamente de tamanho), corroborando com os resultados verificados no presente estudo.

O tratamento com aumento de volume pluviométrico apresentou uma hipoderme significativamente mais desenvolvida, porém, as médias de todos os tratamentos foram próximas. Outros estudos também observaram a presença de hipoderme, como nas espécies de *Eugenia* (HUSSIN et al., 1992) e nas espécies de *Myrtaceae* (GOMES et al., 2009). Alguns trabalhos relatam que as células da hipoderme são especializadas em armazenar água, e é rico em mucilagem, o que aumenta sua capacidade de reter água (SCATENA & SCREMIN-DIAS 2012). Provavelmente, essa característica é de extrema importância para os indivíduos de *A. arenaria*, independente dos tratamentos analisados no presente estudo, pois, uma possível explicação seria o ambiente xérico em que a espécie se encontra, fazendo necessária a presença de um tecido armazenador de água. Wylie (1949) refere que a hipoderme pode estar presente em um grande número de xerófitas, como tecido armazenador de água, auxiliando na translocação extravascular da folha, sendo que as paredes de suas células podem variar em espessura.

De acordo com Fernandes (2007) algumas espécies do Cerrado apresentam até 5 camadas celulares desse tecido, o que sugere uma adaptação aos períodos de baixa precipitação. Com essa informação, podemos deduzir que o tratamento P por apresentar uma diferença significativa em relação aos demais tratamentos, provavelmente, apresentou uma hipoderme mais desenvolvida para armazenar água da chuva que possivelmente tenha chegado pela calha. Segundo

Borland et al. (1998), a hipoderme de *Clusia* atua como um tecido de armazenamento de água, possuindo células largas, no entanto, segundo o autor, essa hipoderme não evita a perda de água para o ambiente, sendo necessária a presença de cutícula espessa.

Entretanto, o tratamento P também apresentou maiores valores médio para a espessura da cutícula. A cutícula está diretamente relacionada com a redução da transpiração excessiva (CASTRO *et al.*, 2009). Talvez por isso a presença de cutícula espessa seja um caráter importante para a sobrevivência da espécie em ambientes com temperaturas elevadas e baixa disponibilidade hídrica. Contudo, as médias de todos os tratamentos também foram próximas, mas uma vez podemos perceber uma característica anatômica importante que *A. arenaria* possui para se manter no ambiente de restinga e de futuras mudanças climáticas.

As células epidérmicas, bem como seu revestimento hidrofóbico, a cutícula, representam uma superfície refletora que dificulta a perda de água e o aumento da temperatura foliar. Folhas aclimatadas a altas irradiâncias apresentam um incremento na espessura e espessamento das paredes do tecido epidérmico, assim como aumento da camada cuticular (FERMINO-JR *et al.*, 2004; ROSSATO & KOLB, 2010; SABBI *et al.*, 2010; CHAZDON & KAUFMANN, 1993; DICKISON, 2000; CASTRO *et al.*, 2009). Donato & Morretes (2007), estudaram o sistema de revestimento da folha de *Eugenia brasiliensis*, e notaram um evidente espessamento da cutícula e dos estratos cuticulares da epiderme, especialmente nos indivíduos proveniente da restinga. Sabe-se que este revestimento é rico em substâncias hidrófobas, evidenciando a sua funcionalidade como mecanismo protetor contra a perda excessiva de água através da superfície foliar.

Todavia, a grande quantidade de depósitos cuticulares na superfície da planta não está relacionada, necessariamente, apenas a uma economia de água no interior da planta. Esses depósitos além de minimizarem a perda de nutrientes por lixiviação, fazem parte de um complexo defensivo contra patógenos e herbívoros (SALATINO *et al.*, 1993), bem como a epiderme e hipoderme ou feixes de fibras que determinam maior rigidez as folhas (TURNER *et al.*, 1995).

A análise de características foliares tais como espessura de cutícula e espessura do tecido clorofiliano, tem sido utilizada para caracterizar o desempenho ecofisiológico de diversas espécies vegetais ao longo de um gradiente de recursos (GARNIER *et al.*, 2001; WRIGHT *et al.*, 2002; ROCHE *et*

al., 2004). A espécie em estudo pode ser considerada tolerante a deficiência hídrica, pois as plantas tolerantes podem apresentar alterações morfológicas, como aumento da espessura da folha e espessura da cutícula (DICKISON, 2000; BATISTA et al., 2010). Estudos com espécies nativas tropicais na fase juvenil submetidas à irradiância contrastante (SABBI et al., 2010; SILVA et al., 2010; MENGARDA et al., 2012), os autores observaram que espécies sujeitas as maiores irradiâncias como as pioneiras, tendem a apresentar maior espessura do limbo foliar, associada a mudanças estruturais para manutenção do processo fotossintético e maior eficiência do uso da água (ROSSATO & KOLB, 2010), como *A. arenaria*.

A espessura do parênquima paliçádico mostrou média maior para o tratamento P e a espessura do parênquima lacunoso para o tratamento T., porém, esses resultados não apresentaram nenhuma diferença significativa entre os quatro tratamentos. No entanto, o parênquima paliçádico está diretamente relacionado com a fotossíntese, pois é nesse tecido onde ocorre a fixação de CO<sub>2</sub>. Já o parênquima esponjoso proporciona uniformidade na absorção luminosa na folha (TAIZ & ZEIGER, 2013; CASTRO et al., 2009). Dessa forma, apesar do resultado encontrado, de acordo com Castro et al., (2009) o número de camadas celulares apresentados no parênquima paliçádico é altamente influenciado por características ambientais.

Existe uma relação de funcionalidade entre o sistema de condução da folha e os tecidos foliares não condutores, mas que podem possuir algum efeito na condução lateral da água. Podemos definir o conceito de espaçamento da nervação, que é dependente da proporção entre o parênquima paliçádico e o parênquima lacunoso (CASTRO et al., 2009). O tratamento que apresentou maior média para esse parâmetro foi o tratamento TP. Segundo Castro et al., (2009), quanto maior esta proporção, menor será o espaço entre a venação, e quanto menor a proporção, maior será o espaço entre a nervação (um feixe e outro). Sendo um fator interessante em estudos ambientais sobre disponibilidade hídrica e temperatura, pois podem aparecer mudanças nestas proporções e demonstrar tentativas adaptativas da planta ao ambiente. Entretanto, esse parâmetro não apresentou nenhuma diferença entre os quatro tratamentos.

Em secção transversal da lâmina foliar, as análises histoquímicas indicaram a presença de muitos compostos fenólicos, o mesmo foi observado por

Pinedo (2015), que estudaram espécies do gênero *Allagoptera*. Os testes também deram positivos para a análise de lipídios. Em relação ao teste de compostos fenólicos, a reação foi positiva para os indivíduos de todos os tratamentos. Sendo detectada reação positiva nas células guardas dos estômatos e no parênquima clorofiliano. Segundo Pinedo (2015), os testes histoquímicos evidenciaram a abundância de taninos, que é um composto fenólico, nas células do mesófilo de *A. arenaria* e outras espécies do gênero, confirmando a constatação feita por Moraes (1996) que estudou espécies do gênero. Isto evidenciou que as espécies de *Allagoptera* realocam grande parte de seus metabólitos para defesa contra herbívoros e fitopatógenos (PINEDO, 2015). Além disso, a função dos compostos fenólicos está envolvida com a síntese das ligninas que são comuns a todas as plantas superiores, atrativos aos seres humanos devido ao odor, sabor e coloração agradáveis, mas também para outros animais, os quais são atraídos para polinização ou dispersão de sementes. Além disso, esse grupo de compostos é importante para proteger as plantas contra os raios ultravioletas (CROTEAU et al., 2000).

Em relação ao teste de lipídeos, a cutícula tanto da face adaxial quanto da face abaxial apresentou reação positiva para todos os tratamentos analisados, incluindo o limbo. As ceras e as cutículas são igualmente ricas em compostos lipídicos e seus derivados (FIGUEIREDO et al., 2007; CASTRO et al., 2009). A camada relativamente espessa de cutícula em ambas as faces, é considerada uma barreira para a redução da perda de água (OLIVEIRA, 1999). Segundo Castro et al., (2009), os lipídios são uma importante forma de reserva de carbono em muitos tecidos vegetais, sendo armazenadas em oleossomos, que são organelas especializadas nesse tipo de armazenamento, sendo distinguíveis e coradas com Sudan IV. De todos os grandes grupos de compostos detectados histoquimicamente, os lipídios parecem ser os mais sujeitos a artefatos. A maioria dos lipídios não apresenta *in vivo* o mesmo comportamento que *in vitro*. Por outro lado, *in vivo*, estão, em muitos casos, conjugados com proteínas e carboidratos. O processo de fixação pode ainda alterar a solubilidade dos lipídios, o que implica a alteração da sua reação aos reagentes (FIGUEIREDO et al., 2007).

No tratamento TP, os indivíduos apresentaram reação positiva para gotículas de lipídeos em maior quantidade quando comparado aos demais tratamentos como resposta ao estresse. Segundo Figueiredo et al. (2007) e

Castro et al. (2009), as reservas lipídicas encontram-se em geral, sob a forma de gotículas dispersas no citoplasma, o mesmo foi observado no presente estudo. Maffei et al., (1993) observaram a temperatura e luminosidade sobre o metabolismo dos lipídios em *Rosmarinus officinalis* L., os resultados que os autores observaram indicaram que o aumento da temperatura e luminosidade, nessa espécie ocasionou o aumento dos hidrocarbonetos epicuticulares e redução dos ácidos graxos epicuticulares e óleos essenciais.

Simultaneamente as alterações morfológicas e anatômicas, ocasionadas pelo aumento da temperatura e volume pluviométrico isolados ou/e em conjunto, foram observadas também modificações fisiológicas nos indivíduos de *A. arenaria*, principalmente daqueles submetidos ao tratamento TP. A concentração de clorofila a, clorofila b, carotenoides e a relação de clorofila a+b (que representam os valores totais de clorofila), apresentaram médias significativamente maiores para o tratamento com aumento de temperatura e volume pluviométrico. Os maiores teores de clorofila a clorofila b, carotenoides e a relação de clorofila a+b, ajudam a explicar um aumento na área foliar, massa fresca e seca no tratamento TP. A interação entre aumento de temperatura e volume pluviométrico garantiu condições favoráveis para a obtenção de um maior valor desses pigmentos. Os pigmentos cloroplastídicos estão correlacionados com a eficiência fotossintética das plantas e, conseqüentemente, são essenciais para o crescimento vegetal, além de estarem relacionados com a adaptação das plantas a diversos ambientes (SOUZA et al., 2011).

A quantidade de clorofila em uma planta varia em função de agentes climáticos, principalmente no que se diz respeito à variação de temperatura e luminosidade, sendo a mesma sintetizada ou degradada (BORRMANN, 2009; REGO & POSSAMAI, 2011). Como a fotossíntese é um processo dependente da temperatura (TAIZ & ZEIGER, 2013) a quantidade do pigmento também depende desse elemento climático, dessa forma, a temperatura afeta a eficiência reprodutiva do vegetal (ALMEIDA et al., 2004). As plantas de metabolismo C3, como *A. arenaria*, possuem maiores respostas fotossintéticas em temperaturas entre 20 a 30°C. E em caso de temperaturas superiores a 30°C ocorre menor assimilação de CO<sub>2</sub> e a ação de efeitos deletérios como a degradação da molécula da clorofila (KERBAUY, 2004; BORRMANN, 2009). Uma possível explicação para as menores concentrações de pigmentos no tratamento T seja de

fato a alta temperatura que os indivíduos desse tratamento sofreram. No entanto, no tratamento TP, o aumento do volume pluviométrico provavelmente minimizou a alta temperatura que os indivíduos desse tratamento receberam.

A tolerância ao calor é adquirida como mecanismo de adaptação nas plantas que crescem em ambientes com altas temperaturas (LARKINDALE E VIERLING, 2008). Isto ocorre como forma de evitar fotoinibição, uma vez que as plantas estão sempre passando por algum estresse temporário em condições naturais por causa da luz ambiente (luz solar) que pode induzir fotoinibição leve. Quando a temperatura se desvia do ponto ótimo, o risco de fotoinibição aumenta o que leva a uma possível associação dos efeitos da temperatura e do estresse luminoso (SHARMA et al., 2012). Uma das estratégias para evitar a fotonibição está no acúmulo de carotenoides, como verificado nos indivíduos do tratamento TP e T, que apresentaram maiores médias em relação aos outros tratamentos. Os pigmentos e carotenoides agem na fotoproteção do sistema fotossintético contra danos causados pela fotoinibição (MARENCO & LOPES, 2009) por meio da dissipação do excesso de energia luminosa (LAGE-PINTO et al., 2012).

A parede celular da planta determina o tamanho e a forma da célula através do controle mecânico da expansão celular, que governa a morfologia dos tecidos e órgãos. Pode ser considerada uma barreira protetora e é uma estrutura complexa composta por microfibrilas de celulose e polissacarídeos neutros não celulósicos incorporados em uma matriz de pectina fisiologicamente ativa, reticulada com proteínas estruturais e, dependendo do tecido / órgão, com lignina (McCANN & ROBERTS, 1991; CARPITA & GIBEAUT, 1993). A arquitetura da parede celular é importante na resistência da planta ao estresse abiótico e essencial na detecção de estresse e transdução de sinal (SEIFERT & BLAUKOPF, 2010). Os indivíduos que estavam submetidos no tratamento P, tratamento T e tratamento TP, mostraram médias significativamente maiores comparadas com as médias dos indivíduos que estavam no tratamento controle, mostrando que ocorreu uma diferença na composição da parede celular (para celulose) devido aos estresses.

Vários estudos relatam que a biossíntese de celulose pode ser alterada em resposta ao déficit hídrico, como demonstrado pela diminuição do teor de celulose em várias espécies, incluindo *Arabidopsis*, células de suspensão de tabaco, folhas de uva e raízes de trigo (IRAKI et al., 1989; BRAY, 2004). No entanto, em

outros estudos, observou-se um aumento no nível de UDP-Glc na expressão de genes SuSy (sacarose sintase) e UDP-glucose pirofosforilase (UGPase) no algodão sob estresse, sugerindo uma potencial biossíntese de celulose. O aumento da síntese de celulose pode ser um meio pelo qual a integridade da parede celular e a pressão de turgescência das células são mantidas, permitindo assim o crescimento celular contínuo sob baixo potencial de água (RICARDI et al., 2014).

Segundo Gall et al. (2015), a resposta da parede celular da planta ao déficit hídrico para celulose, vai depender de vários fatores, como: gene, proteínas e atividades enzimáticas, dessa forma, dependendo da planta, esses processos vão responder de maneira diferente. Porém, foi relatado que as plantas criam mecanismos de adaptação ao déficit de água e ajuste de crescimento, como pode ser observado no presente estudo. Gibeaut et al. (2001) especularam que o aumento dos carboidratos estruturais de parede celular é decorrente de uma maior alocação de carbono para a síntese destes carboidratos e/ou ao aumento da atividade da enzima celulose sintase. Uma possível explicação seria que os tratamentos P e TP (que apresentaram significativamente maiores médias em relação aos outros tratamentos para celulose) garantiram uma maior alocação de celulose, devido uma maior densidade e índice estomático que os indivíduos desses tratamentos apresentaram.

Diferentemente dos dados de celulose, os valores médios dos tratamentos P, TP e T para lignina, diminuíram quando comparados com o tratamento C. A concentração de lignina diferiu significativamente entre os tratamentos T (com menor concentração) e o tratamento P que se destacou pelas maiores concentrações de lignina. No contexto do aquecimento global, é provável que um aumento da temperatura seja um estresse abiótico chave para o qual as plantas terão de se ajustar para sobreviver (HALL, 1992). Segundo Gall et al. (2015), o calor provoca alterações no metabolismo da parede celular e este é um importante mecanismo fisiológico de tolerância ao calor. Além dos seus efeitos sobre a parede celular primária, o estresse por calor pode mediar mudanças no metabolismo da parede celular secundária. A síntese de lignina pode ser alterada durante a aplicação de temperatura elevada, o mesmo foi observado no presente trabalho.

## 8. CONSIDERAÇÕES FINAIS

- Os indivíduos de *A. arenaria* apresentaram modificações morfofisiológicas em resposta às condições propostas, corroborando com a hipótese do presente estudo.
- As alterações climáticas que envolvem aumento de temperatura em 2 °C e volume pluviométrico em torno de 25%, analisadas em conjunto e/ou isoladamente, causaram um maior desempenho morfofisiológico em *A. arenaria*, as plantas submetidas a essas condições investiram em adaptações estruturais como: maior densidade estomática, maior espessura da cutícula, do parênquima paliçádico etc.
- Todavia, são necessários mais estudos que envolvam análises morfofisiológicas com espécies nativas, submetidas às possíveis alterações climáticas futuras, pois, a espécie em estudo não apresentou alterações extremas, ao ponto de prejudicar a espécie. Uma possível explicação seria por se tratar de uma espécie típica de um ecossistema estressante como a restinga, as características apresentadas por *A. arenaria*, são peculiares desse ambiente.
- Contudo, *A. arenaria* não mostrou ser uma espécie vulnerável, garantindo seu bom funcionamento em condições estressantes. Dessa forma, a espécie estudada pode ser indicada para programas de reflorestamento e recuperação de áreas degradadas de restinga devido a sua plasticidade a diferentes condições ambientais e o quadro esperado de mudanças climáticas futuras.

## 9. REFERÊNCIAS

ABRANS, M. C.; KLOEPPEL, B. D.; KUBISKE, M. E. Ecophysiological and morphological responses to shade and drought in two contrasting ecotypes of *Prunus serotina*. **Tree Physiology**, v. 10, p. 343-355, 1992.

AGUIAR, T.V.; SANT'ANNA-SANTOS, B.F.; AZEVEDO, A. A.; FERREIRA, R. S. **ANATI QUANTI**: Soft ware de análises quantitativas para estudos em anatomia vegetal. *Planta Daninha* 25: 649-659. 2007.

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

ASSAD, E. D.; PINTO, H. S.; ZULLO, JR. J.; AVILA, A. M. H. **Impacto das mudanças climáticas no zoneamento agroclimático do café no Brasil**. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v.39, p. 1057-1064, 2004.

BARBOSA, J. P. M. **Mudanças climáticas e distribuição espacial da precipitação na Serra do Mar – análise a partir de séries históricas de precipitação e sistemas de informação geográfica (SIG)**. *Caminhos da Geografia*, Uberlândia, v. 8, n. 22, p. 67-81. 2007.

BATISTA, L.A. et al. Anatomia foliar e potencial hídrico na tolerância de cultivares de café ao estresse hídrico. **Revista Ciência Agronômica**, v. 41, n. 3, p. 475-481, 2010.

BOEGER, M. R. T; WISNIEWSKI, C.; Comparação da morfologia foliar de espécies arbóreas de três estádios sucessionais distintos de Floresta Ombrófila Densa (Floresta Atlântica) no sul do Brasil. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 26, n. 1, p. 61-72, 2003.

BORLAND, A.M.; TECSI, L.I.; LEEGOOD, R.C.; WALKER, R. P. Inducibility of crassulacean acid metabolism (CAM) in *Clusia* species: physiological/biochemical

characterization and intercellular localization of carboxylation and decarboxylation processes in three species which exhibit different degrees of CAM. **Planta** **205**: 342–351. 1998.

BORRMANN, D. Efeito do déficit hídrico em características químicas e bioquímicas da soja e na degradação da clorofila, com ênfase na formação de metabólitos incolores. 125 f. **Tese (Doutorado em Ciências dos Alimentos)** – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo. 2009.

BRAGA, J. H. DE O. Crescimento e fotossíntese de Eucalipto: Efeitos da concentração de CO<sub>2</sub>. Atmosférico, deficiência hídrica e microclima. **Dissertação de Mestrado**. Programa de Pós-Graduação em Ciências Florestais. Jerônimo Monteiro – ES, 2016.

BRAY, E. A. Genes commonly regulated by water-deficit stress in *Arabidopsis thaliana*. **J. Exp. Bot.**, *55*, 2331–2341. 2004.

BRENDEL, O.; LOSETTA, P.P.M.G.; STEWART, D. **A rapid and simple method to isolate pure alpha cellulose**. *Phytochemistry Annal*, v. 17, p. 7-10, 2000.

BUCKERIDGE, M.S., MORTARI, L.C.; MACHADO, M.R. Respostas fisiológicas de plantas às mudanças climáticas: alterações no balanço de carbono nas plantas podem afetar o ecossistema? **In Fenologia – Ferramenta para conservação e manejo de recursos vegetais arbóreos** (G.M. REGO, R.R.B. NEGRELLE; L.P.C. MORELLATO, eds.). Embrapa Florestas, Colombo, p.1-13, 2007.

CAMARGO, C. G.; BRAGA, H. J. & ALVES, R. C. M. Mudanças climáticas atuais e seus impactos no Estado de Santa Catarina. **Revista Agropecuária Catarinense**, 19:31-35, 2006.

CARPITA, N. C.; GIBEAUT, D. M. Structural models of primary cell walls in flowering plants: consistency of molecular structure with the physical properties of the walls during growth. **The Plant Journal**, Oxford, v. 3, p. 1-30, 1993.

CARPITA, N.; McCANN, M. The cell wall. *In*: BUCHANAN, B.B.; GRUISSEM, W.; JONES, R.L. (Ed.). **Biochemistry and Molecular Biology of Plants**. American Society of Plant Physiologists, Rockville, Maryland: Couries Companies, p. 52-89, 2000.

CARVALHO, D. A. de; SÁ, C. F. C. de. **Estrutura do estrato herbáceo de uma restinga arbustiva aberta na APA de Massambaba**, Rio de Janeiro, Brasil. *Rodriguésia* 62(2): 367-378, 2011.

CASTRO, E. M.; PEREIRA, F. J.; PAIVA, R. **Histologia vegetal: Estrutura e função de órgãos vegetativos**. Lavras: UFLA, 2009.

CERQUEIRA, Y. M. **Efeito da deficiência de água na anatomia foliar de cultivares de mandioca *Manihot esculenta* Crantz**. *Idensidade estomática*. *Sitientibus*, n. 10, p. 103-115, 1992.

CHAZDON, R. L.; KAUFMANN, S. **Plasticity of Leaf Anatomy of Two Rain Forest Shrubs in Relation to Photosynthetic Light Acclimation**. *Functional Ecology*, v. 7, n. 4, p. 385-394, 1993.

CRAWFORD, A. J.; MCLACHLAN, D. H.; HETHERINGTON, A. M.; FRANKLIN, K. A. **High temperature exposure increases plant cooling capacity**. *Current Biology*, v. 22, n. 10, p. 396–397, 2012.

CROTEAU, R., KUTCHAN, T. M.; LEWIS, N. G. Natural Products (Secondary Metabolites). *In*: BUCHANAN, B.; GRUISSEM, W.; JONES, R. (Eds.). **Biochemistry & Molecular Biology of Plants**, Rockville: **American Society of Plant Physiologist**, p. 1250-1318. 2000.

CUTLER, D. F.; BOTHA, C. E. J.; STEVENSON, D. W. **Plant anatomy: an applied approach**. Oxford: Blackwell. 2008.

CUTLER, D. F.; BOTHA, T.; STEVENSON, D. W. **Anatomia Vegetal: Uma abordagem aplicada**. Porto Alegre: Artmed, 2011.

CUZZUOL, G. R. F.; CLIPPEL, J. K. **Aspectos ecofisiológicos de *Sinningia aghensis* Chautems em condições de campo.** Hoehnea, v. 36, n. 1, p: 73-81, 2009.

DA SILVA, L. C.; AZEVEDO, A. A. Anatomia de plantas de restinga e sua aplicação como ferramenta para a bioindicação. In: MENEZES, L. F. de; PIRES, F. R.; PEREIRA, O. J. (Orgs.). **Ecosistemas Costeiros do Espírito Santo: Conservação e Restauração.** Vitória: EDUFES, 300 p. 2007.

DANQUAH, J. A. Phenotypic plasticity of leaf length to an environmental gradient in *Khaya ivorensis* (Meliaceae) population in Ghana. **African Journal of Environmental Science and Technology**, v. 4, n. 12, p. 860-865, 2010.

DEFAVERI, A. C. A.; BARROS, C. F.; ARRUDA, R. C. O.; SIMAS, N. K.; SATO, A. **Allagoptera arenaria (Arecaceae):** leaf anatomy of a palm from the Brazilian shore. *Brittonia* 67: 336–349. 2015.

DICKISON, H. C. **Integrative Plant Anatomy.** San Diego: Harcourt Academic Press, 2000.

DONATO, A. M.; MORRETES, B. L. Anatomia foliar de *Eugenia brasiliensis* Lam. (Myrtaceae) proveniente de áreas de restinga e de floresta. **Revista Brasileira de Farmacognosia.** 17: 426-443. 2007.

DOS SANTOS, W. D.; FERRARESE, M. L.; NAKAMURA, C. V.; MOURÃO, K. S. M. MANGOLIN, C. A.; FERRARESE-FILHO, O. Soybean (*Glycine max*) root lignification induced by ferulic acid. The possible mode of action. **Journal of Chemical Ecology**, v. 34, p. 1230-1241, 2008.

ESAU, K.; MORRETES, B. L. **Anatomia das plantas com sementes.** São Paulo: Edgard Blücher. 1974.

ESSEMINE, J.; GOVINDACHARY, S.; JOLY, D.; AMMAR, S.; BOUZID, S.; CARPENTIER, R. Effect of moderate and high light on photosystem II function in *Arabidopsis thaliana* depleted in digalactosyl-diacylglycerol. **Biochimica et Biophysica Acta.** v.1817, n.8, p.1367-1373, 2012.

EVANS, J. R. Leaf anatomy enables more equal access to light and CO<sub>2</sub> between chloroplasts. **New Phytologist**, v.143, p. 93-104, 1999.

FERMINO JUNIOR, P. C. P. Anatomia ecológica comparada de folhas de *Guapira opposita* (Vell.) Reitz (Nyctaginaceae) na vegetação de restinga e na Floresta Ombrófila Densa. **Dissertação de mestrado**. Universidade Federal de Santa Catarina, 2004.

FERMINO JUNIOR, P. C. P.; PAULILO, M. T. S.; REIS, A.; SANTOS, M. **Especies pioneiras e climácicas da floresta ombrófila densa**: anatomia foliar comparada. Insula, Florianópolis, n.33, p. 21-37, 2004.

FERNANDES, S. D. DA C. Morfologia, Anatomia, Histoquímica e Aspectos Fisiológicos da Lâmina Foliar de Espécies de *Clusia* (Clusiaceae). **Dissertação de Mestrado**. Programa de Pós Graduação em Botânica. Instituto de Biologia, Universidade de Brasília, 2007.

FERRIS, R.; NIJS, I.; BEHAEGHE, T.; IMPENS, I. Elevated CO<sub>2</sub> and temperature have different effects on leaf anatomy of perennial ryegrass in spring and summer. **ANNALS OF BOTANY**, 78(4), 489–497. 1996.

FERRIS, R.; TAYLOR, G. Contrasting effects of elevated CO<sub>2</sub> and water deficit on two native herbs. **New Phytologist** 131: 491-501. 1995.

FERRIS, R. Growth and function of four chalk grassland herbs in elevated CO<sub>2</sub>. **DPhil Thesis**, University of Sussex. 1994.

FIGUEIREDO, A. C. S., BARROSO, J. M. G., PEDRO, L. M. G.; ASCENSÃO, L. **Histoquímica e citoquímica em plantas**: princípios e protocolos. Lisboa: Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa, Centro de Biotecnologia Vegetal. 2007.

FINI, A.; BELLASIO, C.; POLLASTRI, S.; TATTINI, M.; FERRINI, F. Water relations, growth, and leaf gas exchange as affected by water stress in *Jatropha curcas*. **Journal of Arid Environments**, v.89, p.21-29, 2013.

FONSECA-KRUEL, V. S., A. L. PEIXOTO, C. F. C. SÁ, D. S. D. ARAÚJO, W. L. SILVA; A. J. FERREIRA. **Plantas úteis da restinga: o saber dos pescadores artesanais de Arraial do Cabo, Rio de Janeiro.** Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 36 p. 2006.

FURLAN, L. M. Estudo morfofisiológico e anatômico de dois genótipos de cacaueteiro (*Theobroma cacao* L.) submetidos a diferentes condições de radiação solar. **Dissertação de Mestrado. Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal.** Universidade Federal do Espírito Santo. Vitória, 2013.

GALL, H. Le.; PHILIPPE, F.; DOMON, J-M.; GILLET, F.; PELLOUX, J.; RAYON, C. *Cell wall metabolism in response to abiotic stress.* **Plants** 4, 112–166 (2015).

GARNIER, E.; LAURENT, G., BELLMANN, A.; DEBAIN, S.; BERTHELIER, P.; DUCOUT, B.; ROUMET, C.; NAVAS, M.-L. Consistency of species ranking based on functional leaf traits. **New Phytologist**, v. 152, p. 69-83, 2001.

GHINI, R. **Mudanças climáticas globais e doenças de plantas.** Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2005, 104p.

GIBEAUT, D. M.; CRAMER, G. R.; SEEMANN, J. R. Growth, cell walls, and UDP-Glc dehydrogenase activity of *Arabidopsis thaliana* grown in elevated carbon dioxide. **J. Plant Physiol**, 158, 569–576, 2001.

GOMES, S. M.; SOMAVILLA, N. S. D.; GOMES-BEZERRA, K. M.; MIRANDA, S. C.; DE-CARVALHO, P. S.; GRACIANO-RIBEIRO, D. **Anatomia foliar de espécies de Myrtaceae: contribuições à taxonomia e filogenia.** Acta Botanica Brasilica 23(1): 223-238, 2009.

GONÇALVES, J. F. C.; SANTOS JÚNIOR, U. M.; NINA JÚNIOR, A. R.; CHEVREUIL, L. R. Energetic flux and performance index in copaiba (*Copaifera multijuga* Hayne) and mahogany (*Swietenia macrophylla* King) seedlings grown under two irradiance environments. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, v. 19, n. 3, p. 171-184, 2007.

GRANDIS, A.; GODOI, S. & MARCOS SILVEIRA BUCKERIDGE, M. S. Respostas fisiológicas de plantas amazônicas de regiões alagadas às mudanças climáticas globais. **Revista Brasil. Bot.**, V.33, n.1, p.1-12, jan.-mar. 2010.

GUREVITCH, J.; SCHEINER, S. M; FOX, G. A. **Ecologia Vegetal**. 2. ed. Porto Alegre: Artmed, 592 p. 2009.

HALL, A. E. Breeding for heat tolerance. **Plant Breed. Rev.** 1992, 10, 129–168.

HENDRY, G.A.F.; PRICE, A.H. Stress indicators: chlorophylls and carotenoids. In: HENDRY, G.A.F.; GRIME J.P. (Eds.) **Methods in comparative plant ecology**. London: Chapman & Hall, p.148-152, 1993.

HSIAO, T.C. Plant response to water stress. **Annual Review of Plant Physiology**, v.24, p.519-570, 1973

HUSSIN, K. H.; CUTLER, D. F.; MOORE, D. M. **Leaf anatomical studies of Eugenia L. (Myrtaceae) species from the Malay Peninsula**. Botanical Journal of the Linnean Society 110: 137-156. 1992.

HUXMAN, T. E.; SNYDER, K. A.; TISSUE, D. T.; LEFFLER, A. J.; OGLE, K.; POCKMAN, W. T.; SANDQUIST, D. R.; POTTS, D. L.; SCHWINNING, S. **Precipitation pulses and carbon fluxes in semiarid and arid ecosystems**. *Oecologia*, v. 141, n.2, p. 254-268, 2004.

INMET. **Instituto Nacional de Meteorologia**. 2017. Disponível em: <<http://www.inmet.gov.br/portal/index.php?r=bdmep/bdmep>>. Acesso em: 09 março 2017.

IPCC - INTERGOVERNMENTAL PANEL ON CLIMATE CHANGE. Climate Change 2014: **Impacts, Adaptation, and Vulnerability**. Disponível em:<<http://www.ipcc.ch/report/ar5/wg2>>. Acesso: 08 de janeiro em 2018.

IPCC – Intergovernmental Panel on Climate Change. Mudança do clima: a base das ciências físicas. Grupo de trabalho I. **Sumário para os formuladores de políticas**. 2013. 24p.

IPCC. 2007. **Intergovernmental Panel of Climatic Change WGII, fourth assessment report.** Disponível em:

<[http://www.ipcc.ch/publications\\_and\\_data/publications\\_and\\_data\\_reports.htm](http://www.ipcc.ch/publications_and_data/publications_and_data_reports.htm)>.

Acesso: 08 janeiro em 2018.

IRAKI, N. M.; BRESSAN, R. A.; HASEGAWA, P. M.; CARPITA, N. C. Alteration of the physical and chemical structure of the primary cell wall of growth-limited plant cells adapted to osmotic stress. **Plant Physiol.** 91, 39–47, 1989.

JOHANSEN, D. A. **Plant Microtechnique**, New York: Mc Graw Hill, 1940. 523p.

KARDOL, P.; CAMPANY, C. E.; SOUZA, L.; NORBY, R. J.; WELTZIN, J. F.; CLASSEN, A. T. Climate change effects on plant biomass alter dominance patterns and community evenness in an experimental old-field ecosystem. **Global Change Biology**, v. 16, n. 10, p. 2676-2687, 2010.

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

KLUGE, M.; TING, I. P. **Crassulacean Acid Metabolism: Analysis of an Ecological Adaptation**. Springer-Verlag, Berlin. 1978.

KOPPEN, W.; GEIGER, R. **Klimate der Erde**. Gotha: Verlag Justus Perthes. 1928.

KRAUS, J. E.; ARDUIN, M. **Manual básico de métodos em morfologia vegetal**. Seropédica, Rio de Janeiro: EDUR. 1997.

LAGE-PINTO, F.; BERNINI, E.; OLIVEIRA, J. G.; VITÓRIA, A. P. Photosynthetic analyses of two native Atlantic Forest species in regenerative understory of eucalyptus plantation. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, v. 24, n. 2, p. 95-106, 2012.

LARCHER, W. **Ecofisiologia Vegetal**. Rima, São Carlos, 2000.

LARKINDALE, J.; VIERLING, E.; Core genome responses involved in acclimation to high temperature. **Plant Physiology**, v., 146, p. 748–761, 2008.

LATORRACA, J.V.F.; ABREU, H dos S. **Extrativos da madeira**. Departamento de Produtos Florestais, Imprensa Universitária, Rio de Janeiro, p. 27, 1997.

LEGROS, S.; MIALET-SERRA, I.; CLEMENT-VIDAL, A.; CALIMAN, J.P.; SIREGAR, F.A.; FABRE, D.; DINGK UHN, M. Role of transitory carbon reserves during adjustment to climate variability and source-sink imbalances in oil palm (*Elaeis guineensis*). **Tree Physiology**, v. 29, p. 1199-1211, 2009.

LEHNINGER, A. L.; **Princípios de Bioquímica**. São Paulo: Savier, 1991.

LEITE, C. de O. Biologia da reprodução de *Allagoptera arenaria* (Gomes) O. Kuntze (*Diplothemium marituum* mart.) Palmae. **Dissertação de Mestrado**. Universidade Federal do Rio de Janeiro, 1990.

LICHTENTHALER, H. K. **Chlorophylls and Carotenoids**: pigments of photosynthetic biomembranes. *Methods in enzymology* 148: 350-382. 1987.

LIMA JR, E. C.; ALVARENGA, A. A.; CASTRO, E. M.; VIEIRA, C. V.; BARBOSA, J. P. R. A. D. **Aspectos fisioanatômicos de plantas jovens de Cupania vernalis Camb.** Submetidas a diferentes níveis de sombreamento. *R. Árvore*, Viçosa-MG, v. 30, n. 1, p. 33-41, 2006.

LORENZI, H. SOUZA, H. M. de. PLANTAS ORNAMENTAIS NO BRASIL: arbustivas, herbáceas e trepadeiras. Nova Odessa, **Plantarum**. 1088p., 2008.

LUQUE, R., SOUSA, H. C.; KRAUS, J. E. **Métodos de coloração de Roeser (1972) modificado e Kropp (1972) visando a substituição do azul de astra pelo azul de alciano 8GS ou 8GX**. *Acta Botanica Brasílica*, v. 10, n. 2, p. 199-212, 1996.

LÜTHI, D.; FLOCH, M. Le; BEREITER, B.; BLUNIER, T.; BARNOLA, J.-M.; SIEGENTHALER, U.; RAYNAUD, D.; JOUZEL, J.; FISCHER, H.; KAWAMURA, K. & STOCKER, T. F. **Nature**, 2008, 453, 379–382.

LÜTTGE, U. **Physiological Ecology of Tropical Plants**. Berlim: Spring-Verlag, 1997.

LÜTTGE, U.; SCARANO, F. R. Ecophysiology. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 27, p. 1-1, 2004.

MACHADO, E. C.; SCHMIDT, P. T.; MEDINA, C. L.; RIBEIRO, R. V. **Respostas da fotossíntese de três espécies de citros a fatores ambientais**. Pesquisa Agropecuária Brasileira, v. 40, n. 12, p. 1161-1170, 2005.

MAFFEI, M.; MUCCIARELLI, M.; SCANNERINI, S. Environmental Factors Affecting the Lipid Metabolism in *Rosmarinus officinalis* L. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 21, n. 8, p. 765-784. 1993.

MARENCO, R. A.; GOLÇALVES, J. F. C.; VIEIRA, G. Leaf gas exchange and carbohydrates in tropical trees differing in successional status in two light environments in central Amazonia. **Tree Physiology**, v. 21, p. 1311-1318, 2001.

MARENCO, R. A.; LOPES, N. F. **Fisiologia Vegetal: Fotossíntese, respiração, relações hídricas e nutrição mineral**. Viçosa, Universidade Federal de Viçosa, 2009. 486 p.

MARTIN, L.; BITTENCOURT, A. C. S. P.; VILAS-BOAS, G. S. Différenciation sur photographies aériennes des terrasses sableuses marines pléistocènes et holocènes du littoral de l'état de Bahia (Brésil). **Photointerprétation** 20: 1-10. 1981.

MARTIN, L.; SUGUIO, K.; DOMINGUEZ, J. M. L.; FLEXOR, J. M. **Geologia do quaternário costeiro do litoral norte do Rio de Janeiro e do Espírito Santo**. CPRM/FAPESP, Belo Horizonte. 112p. 1997.

MARTINAZZO, E. G.; ANESE, S.; WANDSCHEER, C. D.; PASTORINI, L. H. Efeito do sombreamento sobre o crescimento inicial e teor de clorofila foliar de *Eugenia uniflora* Linn (Pitanga) – família Myrtaceae. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 5, sup. 2, p. 162-164, 2007.

MARTINEZ, C. A.; BIANCONI, M. E.; CURTARELLI, L.; LEMOS, M. T.; Approbato, A.; SILVA, L. Importância dos agroecossistemas no contexto das mudanças climáticas. In: Renato de Mello Prado e Paulo Guilherme Salvador

Wadt (Eds.). **Nutrição e Adubação de Espécies Florestais e Palmeiras**. 1. ed. Jaboticabal: UNESP-FUNEP, v. 1, p. 107-136, 2014.

MATHUR, S.; AGRAWAL, D.; JAJOO, A. Photosynthesis: Response to high temperature stress. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v.137, p.116-126, 2014. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1011134414000190>> Acesso: em 08 dezembro 2017.

MCCANN, M.; ROBERTS, K. Architecture of the primary cell wall. **In The Cytoskeletal Basis of Plant Growth and Form**; LLOYD, C. W., Ed.; Academic Press: London, UK, 1991; pp. 109–129.

MENEZES, L. F. T. de.; ARAUJO, D. S. D. de. Variação da biomassa aérea de *Allagoptera arenaria* (Gomes) O. Kuntze (Arecaceae) em uma comunidade arbustiva de Palmae na restinga de Marambaia, RJ. **Revista Brasileira de Biologia**, v. 60, n. 1, p. 147-157, 2000.

MENEZES, L.F.T.; PUGNAIRE, F.I.; MATAALLANA, G.; NETTESHEIM, F.C.; CARVALHO, D.C.; MATTOS, E. A. **Disentangling plant establishment in sandy coastal systems: biotic and abiotic factors that determine *Allagoptera arenaria* (Arecaceae) germination**. Acta Botanica Brasilica, versão online, 2017.

MENGARDA, L.H.G.; MILANEZ, C.R.D.; SILVA, D.M.; AGUILAR, M.A.G.; CUZZUOL, G.R.F. Morphological and physiological adjustments of brazilwood (*Caesalpinia echinata* Lam.) to direct solar radiation. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, v. 24, n. 3, p. 161-172, 2012.

MONTEIRO, M. M.; GIARETTA, A.; PEREIRA, O. J.; MENEZES, L. F. T. de. Composição e estrutura de uma restinga arbustiva aberta no norte do Espírito Santo e relações florísticas com formações similares no Sudeste do Brasil. Rodriguésia - **Revista do Jardim Botânico do Rio de Janeiro**, Rio de Janeiro, v. 65. p. 61 - 72, p. 2014.

MORAES, M. **Allagoptera (Palmae)**. Flora Neotropica, 1-34. 1996.

NEVES, C.; MUEHE, D. **Vulnerabilidade, impactos e adaptação a mudanças do clima: a zona costeira**. Parcerias Estratégicas, Brasília, n.27, 2008.

NOAA - National Oceanic and Atmospheric Administration. 2013. **Up-to-date weekly average CO2 at Mauna Loa**. Disponível em:<<http://www.esrl.noaa.gov/gmd/ccgg/trends/weekly.html>>. Acesso: 02 março em 2018.

OLIVEIRA, A. F. M. Química e ecofisiologia de ceras epicuticulares de espécies brasileiras da caatinga e do cerrado. 93 f. **Tese (Doutorado em Botânica)**, Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1999.

PEARSE, A. G. E. **Histochemistry: theoretical and applied**. 3. Ed. Baltimore, Williams & Wilkins, 1972.

PEREIRA, O. J.; FABRIS, L. C. Análise fitossociológica da formação pós-praia da restinga de Setiba – Guarapari – Espírito Santo. In: **Anais do II Simpósio Ecossistemas da Costa Sul – Sudeste**. 2. Águas de Lindóia. São Paulo: ACIESP, pp. 455 – 466, 1990.

PINEDO, A. S. Anatomia foliar de *Allagoptera Nees* (Arecaceae) como subsídio à taxonomia. **Dissertação (Mestrado em Botânica)** - Universidade de Brasília, Brasília, 2015.

PINEDO, A. S.; MARTINS, R. C.; DE OLIVEIRA, R. C.; GOMES, S. M. **Leaf anatomy in *Allagoptera* (Arecaceae)**. *Botanical Journal of the Linnean Society* doi:10.1111/boj.12439. 2016.

PRITCHARD, S. G.; AMTHOR, J. S. **Crops and environmental change**. Binghamton: Food Products Press, 421p. 2005.

QADERI, M. M.; KUREPIN, L. V.; REID, D. M. **Growth and physiological responses of canola (*Brassica napus*) to three components of global climate change: temperature, carbon dioxide and drought**. *Physiol Plant* 128:710–721, 2006.

REGO, G. M.; POSSAMAI, E. **Efeito do Sombreamento sobre o Teor de Clorofila e Crescimento Inicial do Jequitibá-rosa**. Pesquisa Florestal Brasileira, n. 53, p. 179, 2011.

RIBEIRO, M. N. O.; CARVALHO, S. P.; PEREIRA, F. J.; CASTRO, E. M. Anatomia foliar de mandioca em função do potencial para tolerância à diferentes condições ambientais. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v.43, n.2, p.354-361. 2012.

RICARDI, M. M.; GONZALEZ, R. M.; ZHONG, S.; DOMINGUEZ, P. G.; DUFFY, T.; TURJANSKI, P. G.; SALTER, J. D. S.; ALLEVA, K.; CARRARI, F.; GIOVANNONI, J. J. Genome-wide data (ChIP-seq) enabled identification of cell wall-related and aquaporin genes as targets of tomato ASR1, a drought stress-responsive transcription factor. **BMC Plant Biol.** 2014, 14, 29.

ROCHE, P.; DÍAZ-BURLINSON, N.; GACHET, S. Congruency analysis of species ranking based on leaf traits: which traits are the more reliable? **Plant Ecology**, v. 174, p. 37-48, 2004.

RODEN, J. S.; BALL, M. C. The Effect of Elevated [CO<sub>2</sub>] on Growth and Photosynthesis of Two Eucalyptus Species Exposed to High Temperatures and Water Deficits. **Plant Physiology**, v.111, p. 909-919, 1996.

ROSSATO, D.R.; KOLB, R.M. *Gochnatia polymorpha* (Less.) Cabrera (Asteraceae) changes in leaf structure due to differences in light and edaphic conditions. **Acta Botanica Brasilica**, v. 24, n. 3, p. 605-612, 2010.

SABBI, L.B.C.; ÂNGELO, A.C.; BOEGER, M.R. **Influência da luminosidade nos aspectos morfoanatômicos e fisiológicos de folhas de *Schinus terebinthifolius* Raddi (Anacardiaceae) implantadas em duas áreas com diferentes graus de sucessão, nas margens do Reservatório Iraí, Paraná, Brasil**. Iheringia, Série Botânica, Porto Alegre, v. 65, n. 2, p. 171-181, 2010.

SALATINO, A.; KRAUS, J. E.; SALATINO, L. F. Contents of tannins and their histological localization in young and adult parts of *Struthanthus vulgaris* Mart. (Loranthaceae). **Annals of Botany** 72:409-414. 1993.

SALIM, C. S. N. Microclima em diferentes fitofisionomias de floresta de altitude na mata atlântica. **Tese de Doutorado, Pós-Graduação em Ciências Florestais, da Universidade Federal do Espírito Santo**, Jerônimo Monteiro – ES, 2017.

SANCHES, M. C.; MIELKE, M. S.; SOUZA, C. S. D. DE; VIEIRA, A. J. D.; LOPES, M. M. M.; SILVA JÚNIOR, M. B. DA. **Morfologia foliar de indivíduos jovens e adultos de *Caesalpinia echinata* Lam. numa Floresta Semidecídua do sul da Bahia**. *Árvore*, v.33, n.5, p.885-893, 2009.

SCATENA, V. L.; SCREMIN-DIAS, E. Parênquima, Colênquima e Esclerênquima. In: B. APPEZATTO-DA- GLÓRIA; S. M. CARMELLO – GUERREIRO (eds). **Anatomia Vegetal**. 3 ed. Viçosa, UFV. 2012. 404 p.

SCHLÜTER, U.; MUSCHAK, M.; BERGER D.; ALTMANN, T. Photosynthetic performance of an Arabidopsis mutant with elevated stomatal density (sdd1-1) under different light regimes. **Journal of Experimental Botany** **54**: 867-874. 2003.

SEIFERT, G. J.; BLAUKOPF, C. Irritable walls: The plant extracellular matrix and signaling. **Plant Physiol.** 2010, *153*, 467–478.

SHARMA D. K.; ANDERSEN S. B.; OTTOSEN C. O.; ROSENQVIST E. Phenotyping of wheat cul-tivars for heat tolerance using chlorophyll a fluorescence. **Functional Plant Biology**, v. 39, n. 11, p. 936-947, 2012.

SILVA, A.S.; OLIVEIRA, J.G.; CUNHA, M.; VITÓRIA, A.P. Photosynthetic performance and anatomical adaptations in *Byrsonima sericea* DC. under contrasting light conditions in a remnant of the Atlantic Forest. **Brazilian Society of Plant Physiology**, v. 22, n. 4, p. 245-254, 2010.

SILVA, B. M. S; LIMA, J. D.; DANTAS, V. A. V.; MORAES, W. S.; SABONARO, D. Z. Efeito da luz no crescimento de mudas de *Hymenaea parvifolia* Huber. **Revista Árvore**, v. 31, n. 6, p. 1019-1026, 2007.

SILVA, S. R. S. et al. **Efeito do estresse hídrico sobre características de crescimento e a produção de óleo essencial de *Melaleuca alternifolia* Cheel.** *Acta Scientiarum*, v.24, n.5, p.1363-1368, 2002.

SIMMS, A. & REID, H. Up in smoke? Latin America and the Caribbean. The threat from climate change to the environment and human development. **New Economics Foundation**, London, 48p. 2006.

SOARES, M. G. Plasticidade fenotípica de plantas jovens de *Handroanthus chrysotrichus* (Mart. ex DC.) Mattos (Bignoniaceae) em resposta a radiação solar. **Dissertação de Mestrado, Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal**, Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória – ES, 2012.

SOUZA, A.; De PAULA, A.C.C.F.F.; FIGUEIREDO-RIBEIRO, R.C.L. Effects of irradiance on non-structural carbohydrates, growth, and hypoglycemic activity of *Rhynchelytrum repens* (Willd.) C.E. Hubb. (Poaceae). **Brazilian Journal of Biology**, v. 64, n. 3B, p. 697-706, 2004.

SOUZA, A.; MORAES, M.G.; FIGUEIREDO-RIBEIRO, R.C.L. Gramíneas do cerrado: carboidratos não-estruturais e aspectos ecofisiológicos. **Acta Botanica Brasilica**, v. 19, n. 1, p. 81-90, 2005.

SOUZA, G.S.; CASTRO, E.M.; SOARES, A.M.; SANTOS, A.R.; ALVES, E. **Teores de pigmentos fotossintéticos, taxa de fotossíntese e estrutura de cloroplastos de plantas jovens de *Mikania laevigata* Schultz Bip. ex Baker cultivadas sob malhas coloridas.** *Semina: Ciências Agrárias*, Londrina, v. 32, p. 1843-1854, 2011.

SPENCE, L. A.; LIANCOURT, P.; BOLDGIV, B.; PETRAITIS, P. S.; CASPER, B. B. Short-term manipulation of precipitation in Mongolian steppe shows vegetation influenced more by timing than amount of rainfall. **Journal of Vegetation Science**, v. 27, p. 249–258, 2016.

STICKLEN, M. Plant genetic engineering for biofuel production: Towards affordable cellulosic ethanol. **Nature Reviews Genetics**, v. 9, p. 433-443, 2008.

Streck, N. A.; Alberto, C. M. **Estudo numérico do impacto da mudança climática sobre o rendimento de trigo, soja e milho**. Pesquisa Agropecuária Brasileira. v. 41, n. 9, p.1351-1359, 2006.

STUDART-GUIMARÃES, C.; LACORTE, C.; BRASILEIRO, A. C. M. **Transformação genética em espécies florestais**. Ciência Florestal, v. 13, n. 1, p. 167-178. 2003.

SUGUIO, K.; TESSLER, M. G. Planícies de cordões litorâneos do Brasil: origem e nomenclatura. In: LACERDA, L. D. (orgs). **Restinga: origem estruturas e processos**. Niterói: CEUFF, pp. 195 – 216, 1984.

SYLVESTRE, L. Da S.; LEITE, C. De O.; Triani, L. **Estudo do desenvolvimento do fruto de *Allagoptera arenaria* (GOMES) O. Kuntze-Palmae**. Acta bot. bras. 2 (1) (Supl.). 183-192. 1989.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 5. ed. Porto Alegre: Artmed, 2013.

TENORIO, J. O. Lignina de plântulas de *Lophantera lactescens* Ducke. Trabalho de Conclusão de Curso. **Graduação em Biotecnologia**. UEZO, 49 F. Rio de Janeiro. 2010.

THOMAS, C.D.; CAMERON, A.; GREEN, R.E.; BAKKENES, M.; BEAUMONT, L.J.; COLLINGHAM, C.Y.; ERASMUS, B.F.N.; SIQUEIRA, M.F. de; GRAINGER, A.; HANNAH, L.; HUGHES, L.; HUNTLEY, B.; JAARVELD, A.S. van; MIDGLEY, G.F.; MILLES, L.; ORTEGA-HUERTA, M.A.; PETERSON, T.A.; PHILLIPS, L.O.; WILLIAMS, S.E. Extinction risk from climate change. **Nature**, v.427, p.145-148, 2004.

TORRE-NETO, A.; GHINI, R. Rede de sensores sem fio para monitoramento e controle de processos em ambiente agrícola. In: INAMASU, R. Y.; NAIME, J. de M.; RESENDE, A. V. de; BASSOI, L. H.; BERNARDI, A. de C. (Ed.). **Agricultura de precisão: um novo olhar**. São Carlos, SP. Embrapa Instrumentação, 2011. Pag. 115-119.

TURNER, I. M.; Ong, B. L.; TAN, H. Y. W. Vegetation analysis, leaf structure and nutrient status of a Malasian heath community. **Biotropica** 27:2-12. (1995).

TYREE, M. T.; ALEXANDER, J. D. Plant water relations and the effects of elevated CO<sub>2</sub>: a review and suggestions for future research. **Vegetatio** 104/105: 47-62. 1993.

WAND, S.J.E., MIDGLEY, G.F., JONES, M.H. & CURTIS, P.S. Responses of wild C<sub>4</sub> and C<sub>3</sub> grass (Poaceae) species to elevated atmospheric CO<sub>2</sub> concentration: a met analytic test for current theories and perceptions. **Global Change Biology** 5:723-741, 1999.

WOODWARD, F. I. Stomatal numbers are sensitive to increases in CO<sub>2</sub> from pre-industrial levels. **Nature**, 327: 617±618. 1987.

WRIGHT, I. J.; WESTOBY, M.; REICH, P. B. Convergence towards higher leaf mass per area in dry and nutrient-poor habitats has different consequences for leaf life span. **Journal of ecology**, v. 90, p. 534-543, 2002.

WRIGHT, I. J.; WESTOBY, M.; REICH, P. B. Convergence towards higher leaf mass per area in dry and nutrient-poor habitats has different consequences for leaf life span. **Journal of ecology**, v. 90, p. 534-543, 2002.

WYLIE, R. B. Differences in foliar organization among leaves from four locations in the crown of an isolated tree (*Acer platanoides*). Proc. **Iowa Acad. Sci.**, v. 56, p. 189-198. 1949.

ZAVALETA, E. S. **Shrub establishment under experimental global changes in a California grassland**. Plant Ecology, v.184, p.53-63, 2006.