

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

CARLOS AUGUSTO PAGOTTO MARTINS

**DINÂMICA DO FLUXO E DE RESERVATÓRIOS DE CARBONO DE
TRÊS MORFOTIPOS DE *Paubrasilia echinata* Lam. NA FASE
JUVENIL E ADULTA, SOB IRRADIÂNCIA CONTRASTANTE**

VITÓRIA – ES
2019

CARLOS AUGUSTO PAGOTTO MARTINS

DINÂMICA DO FLUXO E DE RESERVATÓRIOS DE CARBONO DE TRÊS MORFOTIPOS DE *Paubrasilia echinata* Lam. NA FASE JUVENIL E ADULTA, SOB IRRADIÂNCIA CONTRASTANTE

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. Geraldo Rogério Faustini Cuzzuol.

VITÓRIA - ES

2019

Ficha catalográfica disponibilizada pelo Sistema
Integrado de Bibliotecas - SIBI/UFES e
elaborada pelo autor

M379
d Martins, Carlos Augusto Pagotto, 1992-
Dinâmica do fluxo e de reservatórios de carbono de
três morfotipos de *Paubrasilia echinata* Lam. na fase
juvenil e adulta, sob irradiância contrastante / Carlos
Augusto Pagotto Martins. - 2019.
63 f. : il.

Orientador: Geraldo Rogério Faustini Cuzzuol.
Dissertação (Mestrado em Biologia Vegetal) -
Universidade Federal do Espírito Santo, Centro de
Ciências Humanas e Naturais.

1. Aclimação (Plantas). 2. Carbono. 3. Fotossíntese.
4. Pau brasil. I. Cuzzuol, Geraldo Rogério Faustini. II.
Universidade Federal do Espírito Santo. Centro de
Ciências Humanas e Naturais. III. Título.

CDU: 57

Carlos Augusto Pagotto Martins

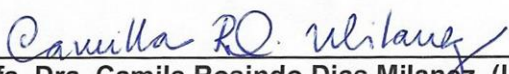
“DINÂMICA DO FLUXO E DE RESERVATÓRIOS DE CARBONO DE TRÊS MORFOTIPOS DE *Paubrasilia echinata* Lam. NA FASE JUVENIL E ADULTA, SOB IRRADIÂNCIA CONTRASTANTE”


Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal do Centro de Ciências Humanas e Naturais, da Universidade Federal do Espírito Santo, como requisito parcial para obtenção do Grau de Mestre em Biologia Vegetal.

Aprovada em 20 de fevereiro de 2019.

Comissão Examinadora:


Prof. Dr. Geraldo Rogério Faustini Cuzzuol (UFES)
Orientador e Presidente da Comissão Examinadora


Profa. Dra. Camila Rosindo Dias Milanez (UFES)
Examinadora Titular Interna


Prof. Dr. Marcos Thiago Gaudio Gomes (FAESA)
Examinador Titular Externo

“Penso que nunca hei de ver poema
mais lindo do que uma árvore..”

- Autor Desconhecido -

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal do Espírito Santo (UFES), por proporcionar ambiente criativo;

Ao Programa de Pós-graduação em Biologia Vegetal (PPGBV), por todo apoio prestado;

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), agência de fomento à pesquisa que subsidiou a bolsa de mestrado, sem a qual, a realização desse trabalho não seria possível;

A Fundação de Amparo à Pesquisa e Inovação do Espírito Santo (FAPES) pelo apoio financeiro;

Agradeço especialmente aos professores Dra. Camilla Rozindo Dias Milanez, Dr. Elias Terra Werner, Dr. José Eduardo Macedo Pezzopane e Dra. Maria Do Carmo Pimentel Batitucci, que optaram por me dar o conhecimento não apenas racional, mas por terem me feito aprender, com seus exemplos. As palavras mestre ou doutor, nunca farão justiça a vocês, que terão meus eternos agradecimentos;

Ao Prof. Dr. Geraldo Rogério Faustini Cuzzuol por aceitar e facilitar ao máximo o desafio de produzir esse trabalho, com toda sua experiência. Pela oportunidade de sempre aprender mais em nossos encontros, pela orientação em busca de novas indagações, sugestões e paciência durante todo o estudo;

A toda equipe do Laboratório de Fisiologia e Bioquímica de Plantas, do Departamento de Ciências Biológicas da UFES, que me acolheu como irmão desde a iniciação científica e auxiliou muito na realização desse trabalho;

Aos familiares, amigos e meus cães por terem me descontraído da melhor maneira sempre, nas horas de lazer;

A todas as pessoas que direta ou indiretamente ajudaram, torceram e contribuíram para o desenvolvimento deste estudo e que acreditam em meu sucesso profissional;

Por último, agradeço a minha companheira, Lorena Paoli. Afinal, na roda viva da vida, só o amor é perseverante!

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1:** Morfotipos de *Paubrasilia echinata*: A – Morfotipo Pequeno (MP); B – Morfotipo Médio (MM); C – Morfotipo Grande (MG); D – Os três morfotipos; E – Distribuição geográfica natural dos morfotipos de Pau-brasil: MP (círculos amarelos), MM (círculos azuis) e MG (círculo vermelho). (Adaptado de JUCHUM 2007 e NEMÉSIO, 2013)..... **Error! Bookmark not defined.**
- Figura 2:** Esquema da cadeia transportadora de elétrons (CTE), localizada na membrana do tilacoide, mostrando os três principais componentes do complexo fotossintético (FSII, Cb6f e FSI). (GOVINDJEE et al 2017).....20
- Figura 3:** Estrutura química da glicose, frutose e sacarose (Adaptado de equipe de artes SEaD/UFSCar, 2011).....22
- Figura 4:** Esquema da estrutura da parede celular da planta e corte transversal de microfibrilas (adaptado de LEE et al., 2014).....24
- Figura 5:** Características da celulose. (A) Celulose é um polímero de glicose em formato de fita. (B) Estrutura química de uma cadeia de celulose linear paralela. (C) Esquema de regiões amorfas e cristalinas da celulose (adaptado de LEE et al., 2014; McNAMARA et al., 2015).....26
- Figura 6:** Estrutura típica da hemicelulose (DODD; CANN, 2009).27
- Figura 7:** Estrutura química dos monossacarídeos constituintes das hemiceluloses (KLOCK, 2005).28
- Figura 8:** Fragmento de estrutura de Lignina (KLOCK et al., 2005)29
- Figura 9:** Álcoois precursores das unidades fenilpropanóides guaiacila (G), siringila (S) e *p*-hidroxifenila (H) (KLOCK et al., 2010).....30
- Figura 10:** Teor de celulose em caule e folha de três morfotipos de *Paubrasilia echinata* na fase juvenil. Letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). Letras maiúsculas comparam os tratamentos dentro de cada morfotipo, e letras minúsculas comparam os três morfotipos dentro de cada tratamento. Os valores são médias e as barras \pm erro padrão ($n=5$).....41

- Figura 11:** Teor de hemicelulose em caule e folha de três morfotipos de *Paubrasilia echinata* na fase juvenil. Letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). Letras maiúsculas comparam os tratamentos dentro de cada morfotipo, e letras minúsculas comparam os três morfotipos dentro de cada tratamento. Os valores são médias e as barras \pm erro padrão ($n=5$)42
- Figura 12:** Teor de lignina em caule e folha de três morfotipos de *Paubrasilia echinata* na fase juvenil. Letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). Letras maiúsculas comparam os tratamentos dentro de cada morfotipo, e letras minúsculas comparam os três morfotipos dentro de cada tratamento. Os valores são médias e as barras \pm erro padrão ($n=5$).....42
- Figura 13:** Teor de celulose em caule e folha de três morfotipos de *Paubrasilia echinata* na fase adulta. Letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). Letras maiúsculas comparam os tratamentos dentro de cada morfotipo, e letras minúsculas comparam os três morfotipos dentro de cada tratamento. Os valores são médias e as barras \pm erro padrão ($n=5$).....45
- Figura 14:** Teor de hemicelulose em caule e folha de três morfotipos de *Paubrasilia echinata* na fase adulta. Letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). Letras maiúsculas comparam os tratamentos dentro de cada morfotipo, e letras minúsculas comparam os três morfotipos dentro de cada tratamento. Os valores são médias e as barras \pm erro padrão ($n=5$).....46
- Figura 15:** Teor de lignina em caule e folha de três morfotipos de *Paubrasilia echinata* na fase adulta. Letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). Letras maiúsculas comparam os tratamentos dentro de cada morfotipo, e letras minúsculas comparam os três morfotipos dentro de cada tratamento. Os valores são médias e as barras \pm erro padrão ($n=5$).....47
- Figura 16:** Teor de glicose em caule e folha de três morfotipos de *Paubrasilia echinata* na fase adulta. Letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). Letras maiúsculas comparam os tratamentos dentro de cada morfotipo, e letras minúsculas comparam os três morfotipos dentro de cada tratamento. Os valores são médias e as barras \pm erro padrão ($n=5$).....47

- Figura 17:** Teor de frutose em caule e folha de três morfotipos de *Paubrasilia echinata* na fase adulta. Letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). Letras maiúsculas comparam os tratamentos dentro de cada morfotipo, e letras minúsculas comparam os três morfotipos dentro de cada tratamento. Os valores são médias e as barras \pm erro padrão ($n=5$).....48
- Figura 18:** Teor de sacarose em caule e folha de três morfotipos de *Paubrasilia echinata* na fase adulta. Letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). Letras maiúsculas comparam os tratamentos dentro de cada morfotipo, e letras minúsculas comparam os três morfotipos dentro de cada tratamento. Os valores são médias e as barras \pm erro padrão ($n=5$).....49
- Figura 19:** Teor de amido em caule e folha de três morfotipos de *Paubrasilia echinata* na fase adulta. Letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). Letras maiúsculas comparam os tratamentos dentro de cada morfotipo, e letras minúsculas comparam os três morfotipos dentro de cada tratamento. Os valores são médias e as barras \pm erro padrão ($n=5$).....50

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Dados de fotossíntese do experimento I: Assimilação de CO₂ (*A*), transpiração (*E*), carbono interno (*C_i*), condutância estomática (*g_s*), eficiência do uso da água (*A/E*), eficiência instantânea de carboxilação (*A/C_i*) e eficiência intrínseca do uso de água (*A/g_s*) de plantas juvenis de três morfotipos de *Paubrasilia echinata* em pleno sol e sombra.....40

Tabela 2: Dados de fotossíntese do experimento II: Assimilação de CO₂ (*A*), transpiração (*E*), carbono interno (*C_i*), condutância estomática (*g_s*), eficiência do uso da água (*A/E*), eficiência instantânea de carboxilação (*A/C_i*) e eficiência intrínseca do uso de água (*A/g_s*) de plantas adultas de três morfotipos de *Paubrasilia echinata* em pleno sol e sombra.44

RESUMO

Diante da necessidade de gerar maior conhecimento sobre as melhores condições para o reflorestamento com espécies nativas, sua preservação e sobre a qualidade da madeira utilizada na confecção de arcos para instrumentos musicais de corda, este trabalho teve como objetivo avaliar as trocas gasosas e o tamanho dos reservatórios de carbono de três morfotipos de *Paubrasilia echinata* Lam. na fase juvenil e adulta, sob elevada e baixa irradiância. Para alcançar esse propósito, foram realizados dois experimentos. O primeiro analisou a fotossíntese e os reservatórios de carbono na forma estrutural (parede celular) em folhas e caules de plantas juvenis dos morfotipos pequeno, médio e grande de *P. echinata*, expostas ao pleno sol e sombra artificial. No segundo experimento, também foram analisadas as mesmas variáveis do primeiro experimento, porém, em plantas adultas dos três morfotipos com 12 anos de idade, plantadas em pleno sol e em sombra natural sob um bosque de fragmento da floresta Atlântica. Os teores de carboidratos não estruturais (glicose, frutose, sacarose e amido) foram analisados apenas no segundo experimento. Plantas juvenis dos três morfotipos apresentaram baixos teores de celulose caulinar nas duas condições de luz. Os morfotipos médio e grande investiram mais na produção de celulose e hemicelulose foliar na sombra, enquanto em pleno sol houve maior incremento de lignina. Plantas adultas dos três morfotipos apresentaram maiores teores de lignina nos caules e folhas em pleno sol. Nos caules das plantas adultas foi observada ainda, menor concentração dos açúcares solúveis (glicose e frutose) e um acúmulo maior de sacarose e amido nos morfotipos médio e grande em pleno sol. A assimilação de CO₂, condutância estomática, transpiração e eficiência de uso da água, mostraram melhor desempenho do morfotipo pequeno na sombra enquanto dos morfotipos médio e grande, em pleno sol, tanto em plantas juvenis quanto nas adultas. Diante desses resultados, fica evidente a classificação funcional dos morfotipos médio e grande como heliófilos e do morfotipo pequeno como umbrófilo.

Palavras-chave: carboidratos • fotossíntese • irradiância • Pau-brasil • parede celular •

ABSTRACT

In view of the need to generate more knowledge about the best conditions for reforestation with native species, their preservation and on the quality of the wood used in the making of arches for string musical instruments, this work had as objective to evaluate the gas exchanges and the size of the carbon reservoirs of three morphotypes of *Paubrasilia echinata* Lam. in the juvenile and adult phases, under high and low irradiance. To achieve this purpose, two experiments were carried out. The first one analyzed photosynthesis and structural carbon (cell wall) structures in leaves and stems of juvenile plants of the small, medium and large morphotypes of *P. echinata* exposed to full sun and artificial shade. In the second experiment, the same variables of the first experiment were also analyzed, however, in adult plants of the three morphotypes with 12 year-old planted in full sun and natural shade under a forest of Atlantic forest fragment. The non-structural carbohydrate contents (glucose, fructose, sucrose and starch) were analyzed only in the second experiment. Juvenile plants of the three morphotypes presented low levels of cellulose in the two light conditions. The medium and large morphotypes invested more in the production of cellulose and foliar hemicellulose in the shade, while in the full sun there was a greater increase of lignin. Adult plants of the three morphotypes presented higher levels of lignin in the stems and leaves in full sun. In the stems of adult plants, a lower concentration of soluble sugars (glucose and fructose) and a higher accumulation of sucrose and starch were observed in medium and large morphotypes in the full sun. The assimilation of CO₂, stomatal conductance, transpiration and water use efficiency showed better performance of the small morphotype in the shade while the medium and large morphotypes, in full sun, in both juvenile and adult plants. In view of these results, the functional classification of the medium and large morphotypes as heliophiles and the small morphotype as umbrófilo is evident.

Keywords: carbohydrates • photosynthesis • irradiance • brazil wood • cell wall •

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	14
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	19
2.1 Trocas gasosas.....	19
2.2 Carboidratos não estruturais.....	21
2.3 Polímeros de parede celular.....	24
3. OBJETIVO GERAL.....	31
4. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	31
5. MATERIAIS E MÉTODOS.....	32
5.1 Desenho Experimental.....	32
5.2 Trocas gasosas.....	33
5.3 Teores de polímeros de parede celular.....	34
5.4 Teores de carboidratos não estruturais.....	36
5.6 Análise estatística.....	38
6. RESULTADOS.....	39
6.1 Experimento I:.....	39
6.1.1 Trocas gasosas.....	39
6.1.2 Teores de polímeros de parede celular.....	41
6.2 Experimento II:.....	43
6.2.1 Trocas gasosas.....	43
6.2.2 Teores de polímeros de parede celular.....	45
6.2.3 Teores de carboidratos não estruturais.....	47
7. DISCUSSÃO.....	50
7.1 Experimento I.....	50
7.2 Experimento II.....	52
8. CONCLUSÕES.....	54
9. REFERÊNCIAS.....	55

1. INTRODUÇÃO

O Pau-brasil (*Paubrasilia echinata* Lam.) é a árvore símbolo do Brasil e recentemente sofreu importante reformulação taxonômica, sendo colocado em seu próprio gênero monoespecífico, *Paubrasilia* (GAGNON et al., 2016). Esse gênero possui diversidade morfológica (JUCHUM et al., 2008) e variações genéticas entre suas populações distribuídas pela costa brasileira (CARDOSO et al., 1998 e 2005; LIRA et al., 2003), o que justifica essa mudança.

Em geral, o Pau-brasil se caracteriza por ser uma árvore de porte médio a grande, atingindo de 5 a 15 metros de altura, possuir um tronco basal reto e caracterizado pela presença de acúleos (elevações espinhosas voltadas para cima, geralmente decorrentes de protuberâncias lenhosas e sem ligações com o sistema vascular). Possui ainda uma casca castanho escura e um cerne avermelhado, que libera uma seiva vermelha quando o tronco é ferido. Suas folhas são verdes e bipinadas compostas, enquanto suas flores bissexuais possuem quatro pétalas amarelas e uma mediana vermelha com aroma marcante. Seu fruto são vagens espinhadas e elásticas, com poder de torção para dispersão de sementes amarronzadas e elípticas (GAGNON et al., 2016).

Três morfotipos de *P. echinata* foram documentados. O morfotipo pequeno é o mais comum, encontrado em muitas localidades ao longo da costa do Brasil. Possui os menores foliólulos e um cerne de coloração mais alaranjada se comparado aos outros dois. O morfotipo médio se difere do pequeno, sendo distribuído no Rio de Janeiro, Espírito Santo e interior da Bahia, apresentando foliólulos médios e cerne com coloração laranja-avermelhada. Já o morfotipo grande ocorre apenas no Vale do Rio Pardo no interior da Bahia e se diferencia dos outros dois por apresentar foliólulos bem maiores e cerne vermelho-escuro (JUCHUM et al, 2008). (Figura 1).

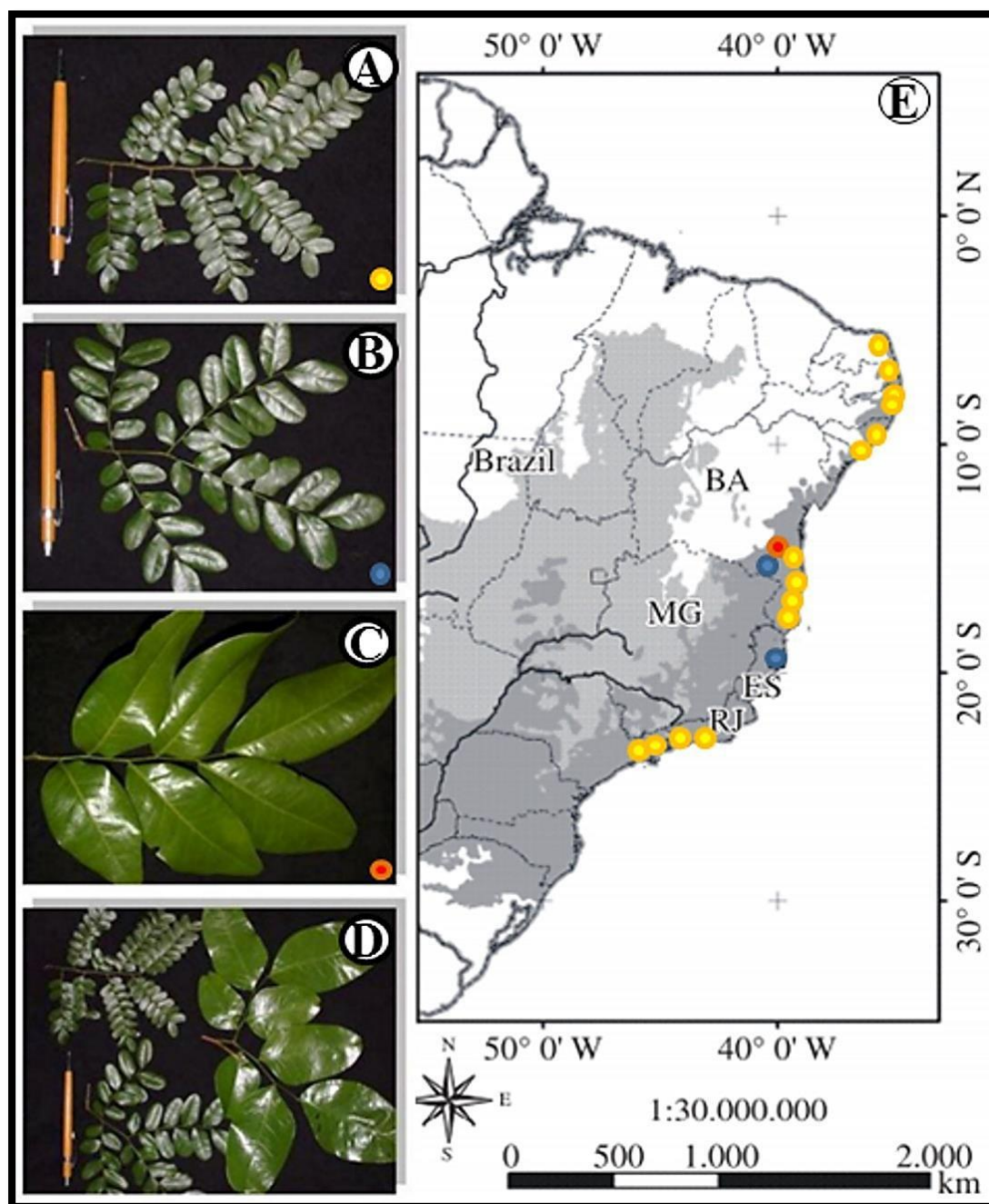


Figura 1: Morfotipos de *Paubrasilia echinata*: A – Morfotipo Pequeno (MP); B – Morfotipo Médio (MM); C – Morfotipo Grande (MG); D – Os três morfotipos; E – Distribuição geográfica natural dos morfotipos de pau-brasil: MP (círculos amarelos), MM (círculos azuis) e MG (círculo vermelho). (Adaptado de JUCHUM, 2007 e NEMÉSIO, 2013).

Além das divergências genéticas e morfológicas, esses morfotipos se diferenciam funcionalmente quanto ao requerimento da intensidade da irradiância (GAMA, 2017). O mesmo autor alerta sobre os relatos contraditórios ao longo dos anos de pesquisa quanto ao comportamento ecofisiológico do Pau-brasil em resposta a luz. Para Budowski (1965), a espécie foi classificada como de clímax (umbrófila); Lima (1992), Lorenzi (2002) e Baroni (2005) como heliófila, e Aguiar et al. (2011) e Zaidan et al. (2008) como exigente ao sombreamento moderado para o crescimento inicial. Ainda há resultados como os de Mengarda et al. (2009 e 2012) que em virtude do maior crescimento, capacidade fotossintética e eficiência no uso da água em 50 % de irradiância fotossinteticamente ativa (RFA), caracterizou o Pau-brasil como semi-heliófilo. Gama (2013) relatou forte comportamento heliófilo do morfotipo médio em pleno sol, em virtude da maior eficiência fotossintética e atividade antioxidante, associadas às maiores concentrações de açúcares solúveis (glicose, frutose e sacarose) e maior crescimento nessa condição de maior irradiância. Essas informações conflitantes quanto ao hábito ecológico de *P. echinata* podem ter relação com as variações morfológicas da espécie só recentemente descritas (GAMA, 2017).

Diante da dificuldade na classificação do hábito ecológico do Pau-brasil e, considerando que a luminosidade ambiental é um dos fatores de maior relevância no crescimento vegetal e na sucessão florestal (CUZZUOL e MILANEZ, 2012), recentemente foi iniciado um estudo a respeito da aclimatação funcional dos três morfotipos de Pau-brasil em relação à disponibilidade da irradiância. Analisando o metabolismo secundário, os parâmetros da fotossíntese e o crescimento de plantas juvenis dos três morfotipos em condições controladas, Gama (2017) classificou os morfotipos médio e grande como variações heliófilas enquanto o morfotipo pequeno foi considerado umbrófila.

No entanto, os resultados obtidos em condições controladas na fase inicial do crescimento nem sempre podem ser extrapolados para os ambientes naturais (ZANI et al., 2017). É possível que o *P. echinata*, assim como relatado em outras arbóreas tropicais, sofra alterações estruturais e fisiológicas desde a fase inicial do seu crescimento no estrato inferior da floresta, onde a irradiância é extremamente baixa, até a fase adulta onde suas folhas são completamente expostas à elevada irradiância (KOERSELMAN e MEULEMAN, 1996; DUZ et al.,

2004). Daí o cuidado ao extrapolar resultados obtidos na fase jovem ou juvenil para a fase adulta (CUZZUOL e MILANEZ, 2012).

A luminosidade é um dos principais fatores abióticos que mais influenciam nas adaptações morfológicas e fisiológicas das plantas (LARCHER, 2000). No entanto, pouco se sabe em relação às adaptações associadas à estocagem de carbono de espécies arbóreas nativas adultas (KÖRNER, 2009).

Sabemos que o principal e mais eficiente mecanismo de sequestro de carbono é a fotossíntese, intimamente relacionada à luminosidade (BUCKERIDGE; AIDAR, 2002). Através desse processo, o carbono assimilado é armazenado em forma de carboidratos (LAMBERS, 2006; BUCKERIDGE et al., 2007). Esses carboidratos podem ser estocados em reservatórios de carbono na forma de compostos estruturais (celulose e hemicelulose da parede celular) e não estruturais (glicose, frutose, sacarose e amido) (BUCKERIDGE et al., 2007), sendo que a parede celular é a maior reserva de carbono orgânico da natureza. Além dos polissacarídeos já citados, a parede celular apresenta também substâncias fenólicas e ricas em carbono, como a lignina e pequenas proporções de proteínas e pectinas (SUN e CHENG, 2002). A deposição de lignina confere resistência e rigidez às paredes celulares e pode ser um elemento chave das respostas das plantas a variações ambientais, como por exemplo, a intensidade da irradiância solar (VANHOLME et al., 2010; HAMANN, 2012).

O uso de arbóreas nativas tropicais em reflorestamentos está em expansão. Mas essa atividade depende de mais informações sobre o comportamento dessas espécies em relação à luz e como essa relação influencia no acúmulo de compostos ricos em carbono. Tais informações são de grande importância na definição do posicionamento da sucessão e do manejo adequado de mudas de espécies nativas, importantes na regeneração artificial e manejo de florestas (KITAJIMA 1996; CAMPOS e UCHIDA 2002; ALMEIDA et al. 2004; DUZ et al. 2004).

Dessa forma, estudos ecofisiológicos podem gerar importantes resultados que contribuirão para um manejo florestal ainda mais adequado e seguro de arbóreas tropicais como *P. echinata*. Isso facilitaria a conservação e reintrodução dessa espécie tão ameaçada, tendo em vista que o Pau-brasil atualmente se restringe a pequenas populações naturais entre o Rio de Janeiro e Rio Grande do

Norte (LIMA, 2002; ROCHA e SIMABUKURU 2008). Além disso, está classificado na categoria “em perigo” na lista da União Internacional para a Conservação da Natureza e dos Recursos Naturais (UICN), um triste contraste com a ampla distribuição na costa brasileira nos primeiros séculos da colonização (LIMA, 1992). Além de todo seu significado histórico-cultural e importância de sua preservação, o valor econômico do Pau-brasil também tem contribuído para o aumento do interesse em seu estudo.

A madeira do *P. echinata* tem grande demanda no exterior, uma vez que é internacionalmente reconhecida como a única a oferecer densidade, durabilidade, ressonância, beleza, peso, curvatura e certificada qualidade tonal para confecção manufaturada dos melhores arcos para instrumentos musicais de corda (PIERCE 2002; FRANCO e YOJO, 2008). Embora a madeira do Pau-brasil reúna as propriedades ideais para a confecção dos arcos de instrumentos musicais, os produtos resultantes da manufatura de diferentes exemplares, apresentam qualidade distinta. Com o Pau-brasil podem ser confeccionados arcos de alto valor e grande qualidade, até arcos de baixo custo e qualidade inferior (LOMBARDI, 2005). As causas dessa variação precisam ser investigadas e parecem estar relacionadas a uma organização estrutural da madeira diferenciada e atribuída a diferentes respostas fisiológicas e bioquímicas da planta aos diversos fatores ambientais (ANGYALOSSY, 2005).

Assim sendo, o presente trabalho foi conduzido com o propósito de investigar como a intensidade da irradiância e a fase da ontogenia influencia nas atividades fotossintéticas e no acúmulo de carboidratos estruturais e não estruturais dos três morfotipos de *P. echinata*.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Trocas Gasosas

A capacidade de sobrevivência das plantas está diretamente relacionada com a regulação do processo fotossintético, que é diretamente influenciado pela luminosidade (TAIZ e ZAIGER, 2013). Dessa maneira, o conhecimento sobre os efeitos da intensidade da irradiância sobre o processo fotossintético e as respostas das plantas às variações das condições do ambiente, podem ajudar a garantir a sobrevivência e o desenvolvimento adequado das plantas (MENGARDA et al, 2010).

A fotossíntese é o processo de reações fotoquímicas responsáveis pela produção da biomassa vegetal, iniciando-se na hidrólise da molécula da água em presença de energia radiante, gerando poder redutor NADPH e ATP necessários na reação complementar de incorporação do carbono em compostos orgânicos (TAIZ; ZEIGER, 2013). A rota de fixação do CO₂ mais importante é o Ciclo de Calvin (ciclo redutor das pentoses fosfato) (MARTIN et al., 2000).

Através dos estômatos, o CO₂ é difundido da atmosfera para os espaços intercelulares no mesófilo e, em seguida para o interior dos cloroplastos. Dentro dos cloroplastos, inicia-se a via de fixação, onde o gás carbônico é combinado enzimaticamente à ribulose-1,5-bifostato (RuBP) através da enzima ribulose bifostato carboxilase/oxigenase (Rubisco). Forma-se então um intermediário instável de 6 carbonos. Esse intermediário é dissociado em duas moléculas de 3-fosfoglicerato (3-PGA) que são convertidos à trioses-fosfato (triose-P), em reações que requerem ATP e NADPH (EVANS e LORETO, 2000).

As trioses-P podem ser exportadas para o citosol, e utilizadas na síntese de açúcares solúveis, oligossacarídeos solúveis ou na respiração. E ainda, serem mantidas dentro do cloroplasto e utilizadas na síntese de amido, ou para a regeneração do acceptor inicial do CO₂ no ciclo de Calvin (LEEGOOD et al., 2000; LAMBERS, 2006).

No final do processo de fotossíntese, as cadeias carbonadas sintetizadas serão utilizadas em diversas rotas metabólicas, compreendendo síntese de compostos orgânicos, carboidratos estruturais de parede celular e outros compostos ricos em energia. Quando a produção de carboidratos é além da

capacidade de síntese das rotas metabólicas e, nem todos os esqueletos carbonados produzidos são utilizados, ocorre o acúmulo desses compostos, principalmente na forma de amido (DELUCIA et al., 1985) e sacarose (LEEGOOD et al., 2000).

A assimilação do carbono pode ser maior ou menor do que a demanda por funções da planta (respiração, crescimento, etc.), resultando em períodos de superávit e déficit de carbono, respectivamente. Sabe-se que as plantas conseguem alcançar um equilíbrio entre assimilação de carbono, estoque e crescimento. Porém, pouco se sabe como tais processos ocorrem (SMITH e STITT, 2007).

A homeostase das células vegetais é regulada pela disponibilidade de carboidratos e da sua capacidade de estocagem do carbono. Uma capacidade temporária de armazenamento pode ocorrer em folhas e em caules ao longo da rota de transporte, bem como em drenos vegetativos e reprodutivos já existentes (STITT, 1991).

No início da fotossíntese ocorre a absorção de luz pelos complexos antenas, formados por clorofilas e carotenóides. A energia de excitação é transferida de forma rápida e eficiente dentro destes complexos até alcançar os centros de reação no interior dos FSI e II, onde ocorre a etapa fotoquímica. Uma pequena parte da energia de excitação que não é utilizada na etapa fotoquímica é dissipada como calor ou reemitida como fluorescência (STIRBET et al., 2014). (Figura 2).

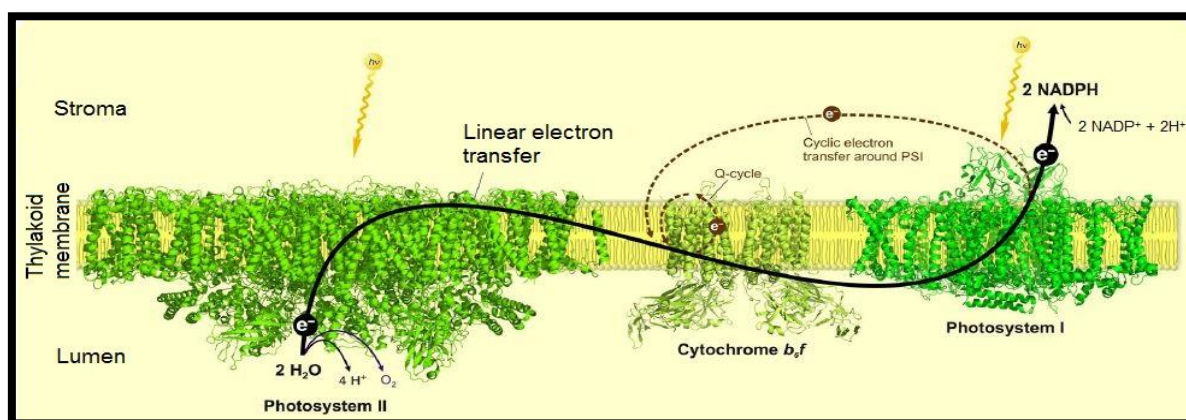


Figura 2: Esquema da cadeia transportadora de elétrons (CTE), localizada na membrana do tilacoide, mostrando os três principais componentes do complexo fotossintético (FSII, Cb6f e FSI). (GOVINDIJEE et al 2017).

É importante ressaltar que a fotossíntese é regulada em função da intensidade luminosa disponível, interferindo diretamente na capacidade da planta em se estabelecer em seu habitat (GOTTLIEB et al., 1996). Exposição a maiores irradiâncias podem intensificar as atividades fotossintéticas, ou afetá-las, devido ao risco de fotoinibição por excesso de luz (LOVELOCK et al., 1994; VIEIRA et al., 2012).

A luz atua no controle do movimento dos estômatos e na ativação de enzimas relacionadas à fixação de carbono (TANG, 1997). A capacidade de utilização eficiente da luz pode variar entre as espécies e dentro de uma mesma espécie (BUDOWSKI, 1965). Essa capacidade é um fator determinante no posicionamento das espécies vegetais em florestas como a Floresta Atlântica (RIBEIRO et al., 2005; FAVARETTO, 2009;).

O conhecimento dos efeitos de irradiâncias contrastantes nas trocas gasosas é fundamental no desenvolvimento de estratégias visando o reflorestamento, a sobrevivência e crescimento adequado das plantas. Além de permitir avaliar a plasticidade fisiológica da planta em relação ao estresse por luminosidade (ZAMITH e SCARANO, 2004; LIMA et al., 2008).

2.2 Carboidratos não estruturais

O ciclo de redução do carbono resulta na produção de carboidratos que possuem diversas funções nos vegetais, compreendendo o armazenamento e translocação de carbono. Os carboidratos não estruturais também exercem proteção contra condições ambientais adversas, como elevada irradiância (PRICE et al., 2004; NISHIKAWA et al., 2005; COUÉE et al., 2006).

Os açúcares solúveis redutores (glicose e frutose, especialmente) e não redutores (sacarose) e o amido, são os principais carboidratos não estruturais acumulados em caules e folhas. A glicose, frutose e a sacarose constituem os açúcares solúveis totais, e o amido, por ser um composto insolúvel em água, é a reserva de carboidrato mais abundante nas plantas (TAIZ; ZEIGER, 2013).

Os carboidratos não estruturais são constituintes importantes da massa seca e substrato para a respiração (LEGROS et al., 2009). Seu metabolismo

exerce papel fundamental no estabelecimento das espécies. Por participarem intensamente do metabolismo celular, esses compostos, podem ser utilizados na forma de reserva e para obtenção de energia para as plantas (LAMBERS, 2006). A demanda de reservas de carbono nas plantas varia entre espécies e classes funcionais, refletindo as condições ambientais (KOZLOWSKI, 1992).

Os teores e a dinâmica dos carboidratos solúveis podem ser reconhecidos como sinalizadores de uma condição de estresse ou ainda serem alterados a partir da necessidade da planta em se aclimatar a uma nova condição ambiental (SMEEKENS, 2000). A variação do conteúdo caulinar dos carboidratos solúveis pode indicar que estes compostos estejam relacionados a mecanismos adaptativos em resposta a determinados tipos de estresses, além do seu papel de reserva (WÜRTH *et al.*, 2005; CUZZUOL e CLIPPEL, 2009; MENGARDA *et al.*, 2012). A Figura 3 apresenta a estrutura química de alguns dos principais carboidratos não estruturais encontrados em plantas superiores.

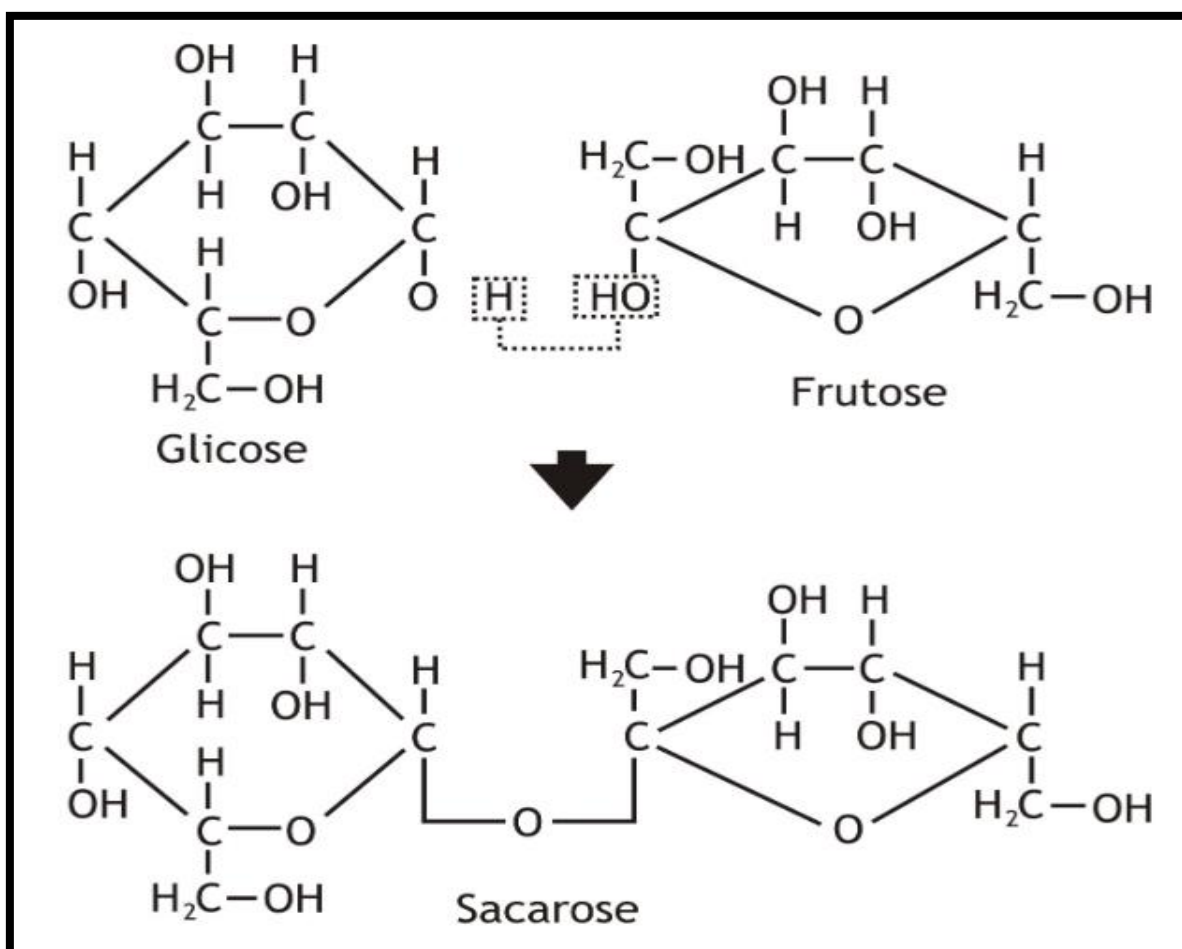


Figura 3: Estrutura química da glicose, frutose e sacarose (Adaptado de equipe de artes SEaD/UFSCar, 2011).

Os monossacarídeos glicose e frutose ocorrem em todas as plantas vasculares, sendo produtos de hidrólise de seus ésteres fosfato, como também do dissacarídeo sacarose, podendo ainda derivar da hidrólise de seus polímeros de glicose (amido) e frutose (frutanos), dependendo da espécie. Compõem os principais esqueletos de carbono para a síntese de intermediários dessas vias, e ainda são unidades bases para a síntese de oligo e polissacarídeos (SOUZA *et al.*, 2005).

O amido é o carboidrato de reserva mais abundante nas espécies vegetais em termos de quantidade e distribuição. Este polissacarídeo de reserva é constituído por vários polímeros de glicose arranjados em uma estrutura semicristalina tridimensional, originando um grânulo. Nos cloroplastos, os substratos para a síntese de amido são a glicose 1-fosfato e o ATP, que após ação da enzima ADP glicose pirofosforilase originará ADP-glicose. Este resíduo de glicose será adicionado ao final não redutor da cadeia de glicanos via ligações α -1,4 e liberando o ADP. As ligações α -1,6 são responsáveis pela ramificação do polímero de amido e acontecem quando enzimas de ramificação do amido agem sobre a cadeia (TRETHERWEY e SMITH, 2000).

Os açúcares solúveis como glicose, frutose e sacarose são capazes de atuar com função antioxidante sob condições ambientais adversas, tais como o excesso ou escassez de luminosidade (PRICE *et al.*, 2004; NISHIKAWA *et al.*, 2005; COUÉE *et al.*, 2006). A sacarose é um carboidrato com grande facilidade de circulação entre os tecidos da planta, por ser menos susceptível à quebra enzimática devido às suas propriedades físicas (LAMBERS *et al.*, 2008). Este açúcar é composto por uma molécula de glicose e outra de frutose e, sua síntese ocorre no citosol. Esse dissacarídeo é o principal produto da fotossíntese, respondendo por boa parte do carbono que é fixado nas folhas (DENNIS e BLAKELEY, 2000).

A sacarose apresenta um importante papel como açúcar de transporte de curta e longa distância na maioria das espécies arbóreas. Isso ocorre, principalmente, pela característica não redutora que este composto apresenta. Os átomos de carbono anomérico da glicose e da frutose estão envolvidos na ligação

glicosídica, impedindo os grupos redutores destes dois açúcares de sofrerem oxidação (MAGEL *et al.* 2000).

2.3 Polímeros de Parede Celular

A parede celular (Figura 4) é uma das principais estruturas que diferencia a célula vegetal da célula animal. A parede celular é a maior reserva de carbono orgânico na natureza e é composta por agrupamentos de macromoléculas de natureza heterogênea, com composição química muito diversificada. A combinação entre as três principais frações (celulose, hemicelulose e lignina) é forte, e impõe dificuldades para a recuperação dos açúcares constituintes na forma de monômeros. Além dos polissacarídeos, existem também substâncias fenólicas, tal como a lignina, e pequenas quantidades de proteínas, pectinas e extrativos (materiais não-estruturais solúveis). O percentual composicional dos polímeros de parede celular pode variar de espécie para espécie e são influenciados pelas diferentes fases do desenvolvimento do ciclo de vida e condições ambientais (SUN e CHENG, 2002).

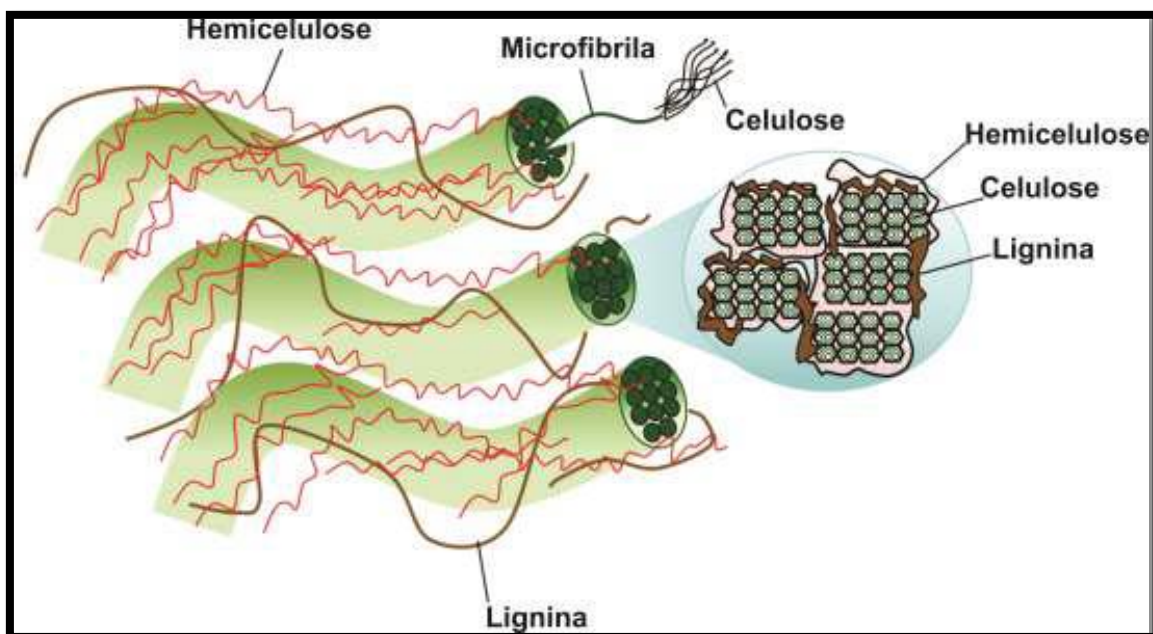


Figura 4: Esquema da estrutura da parede celular da planta e corte transversal de microfibrilas (adaptado de LEE *et al.*, 2014).

Os polissacarídeos da parede celular encontram-se localizados em duas interfases: a microfibrilar e a matricial. A fase microfibrilar diferencia-se da

matricial pelo elevado grau de cristalinidade e por possuir uma composição química homogênea. Esta estrutura é composta essencialmente por microfibrilas de celulose, normalmente arranjadas em um padrão helicoidal, organizadas em estruturas longas e finas, unidas por pontes de hidrogênio (ROLAND *et al.*, 1992). Ao longo das microfibrilas de celulose estão os polissacarídeos hemicelulósicos, localizados em regiões disformes sem orientação regular (Figura 3). A fase matricial é constituída de polissacarídeos, compostos pécticos, glicoproteínas e substâncias fenólicas. A composição desta estrutura varia em função dos tipos de células, camadas da parede celular e fases do ciclo celular (CARPITA e GIBEAUT, 1993).

A parede celular é uma estrutura complexa e dinâmica presente em todas as células vegetais. Esta estrutura está relacionada a processos fisiológicos como proporcionar forma e tamanho às células, conferir resistência mecânica aos tecidos, controlar a expansão celular e atuar sobre o transporte intercelular. Além disso, participa da sinalização e do reconhecimento entre células, armazena compostos de reserva e moléculas reguladoras que controlam variados processos fisiológicos celulares e mecanismos de proteção contra microrganismos (BUCKERIDGE *et al.*, 2008).

Nos modelos mais recentes, é proposto que os polímeros da parede celular constituem quatro domínios independentes: celulose-hemicelulose, pectinas, proteínas (CARPITA e GIBEAUT, 1993) e o complexo lignina-carboidratos (LAWOKO *et al.*, 2005; 2006). O domínio celulose-hemicelulose atua sobre a forma celular, enquanto o domínio péctico define o grau de porosidade da parede, proporcionando o fornecimento de moléculas sinalizadoras que emitem mecanismos de defesa e armazenamento de cálcio. O domínio proteico, por sua vez, tem um importante papel estrutural e enzimático na parede (BUCKERIDGE *et al.*, 2008). O complexo lignina-carboidratos fortalece e enrijece a parede celular, conferindo uma maior resistência mecânica (LAWOKO *et al.*, 2005; 2006).

A celulose (Figura 5) é um polímero que apresenta longas cadeias de glicose em que os monômeros são unidos por ligações glicosídicas do tipo β -1,4 que necessitam de mais energia para serem quebradas quando comparadas as ligações α -1,4 (BUCKERIDGE *et al.*, 2008). A molécula de celulose apresenta estrutura linear sem ramificações, e pode conter até 10.000 unidades de glicose

(FENGEL; WEGENER, 1989). Quando hidrolisada por ácidos ou enzimas, produz monômeros de glicose. A linearidade da molécula, juntamente com a disposição antiparalela de duas cadeias de celulose, facilita a formação de inúmeras pontes de hidrogênio entre as hidroxilas das moléculas de glicose, impedindo fortemente a hidratação do polissacarídeo (BUCKERIDGE et al., 2008).

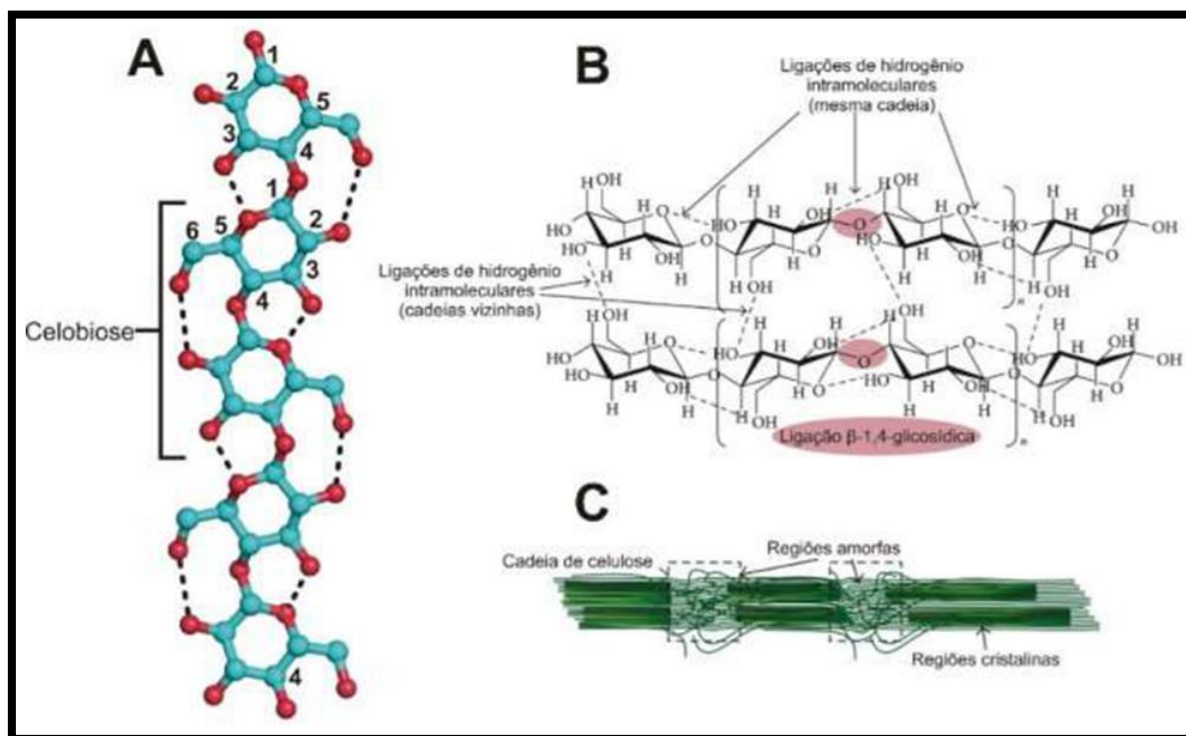


Figura 5: Características da celulose. (A) Celulose é um polímero de glicose em formato de fita. (B) Estrutura química de uma cadeia de celulose linear paralela. (C) Esquema de regiões amorfas e cristalinas da celulose (adaptado de LEE et al., 2014; McNAMARA et al., 2015).

As hemiceluloses constituem um grupo heterogêneo de polissacarídeos que são firmemente ligados à parede (AVIGAD; DEY, 1997). Existem diversos tipos de hemicelulose que variam quanto a sua composição nos diferentes tecidos e espécies vegetais. Este polímero pode apresentar diversos níveis de ramificação (Figura 6), característica que influencia na solubilidade da molécula no apoplasto, assim como na afinidade de ligar-se às microfibrilas de celulose, por meio de pontes de hidrogênio (BUCKERIDGE et al., 2008). Esta interação está relacionada com as propriedades mecânicas da parede celular (WHITNEY et al., 1999).

As funções atribuídas às hemiceluloses são principalmente de equilíbrio das forças de tensão exercida sobre as paredes celulares e o controle do crescimento celular (BUCKERIDGE et al., 2008). Há indicações de que as hemiceluloses podem ser remobilizadas, funcionando como composto de reserva (SCHÄDEL et al., 2009).

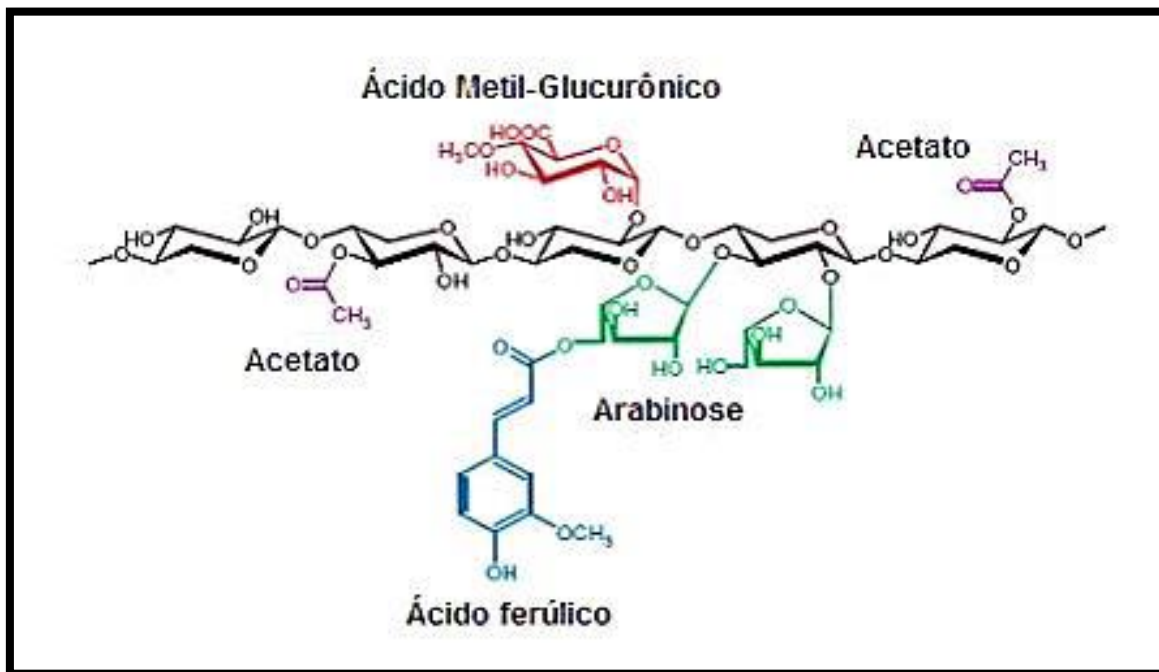


Figura 6: Estrutura típica da hemicelulose (DODD; CANN, 2009).

As unidades monossacarídicas constitutivas das hemiceluloses compreendem: D-xilose, D-manose, D-galactose, D-glucose, L-arabinose, ácido 4-O-metilglucurônico, ácido D-galacturônico e ácido D-glucurônico. (FENGEL e WEGNER, 1989) (Figura 7). Estes monossacarídeos encontram-se glicosidicamente ligados, originando diferentes hemiceluloses, sendo as principais classes: arabinogalactanos, arabinoxilanos, xilanos, galactoglucomanos, glucuronoxilanos, glucomanos, mananos e xiloglucanos (KAKURÁKOVÁ et al., 2000).

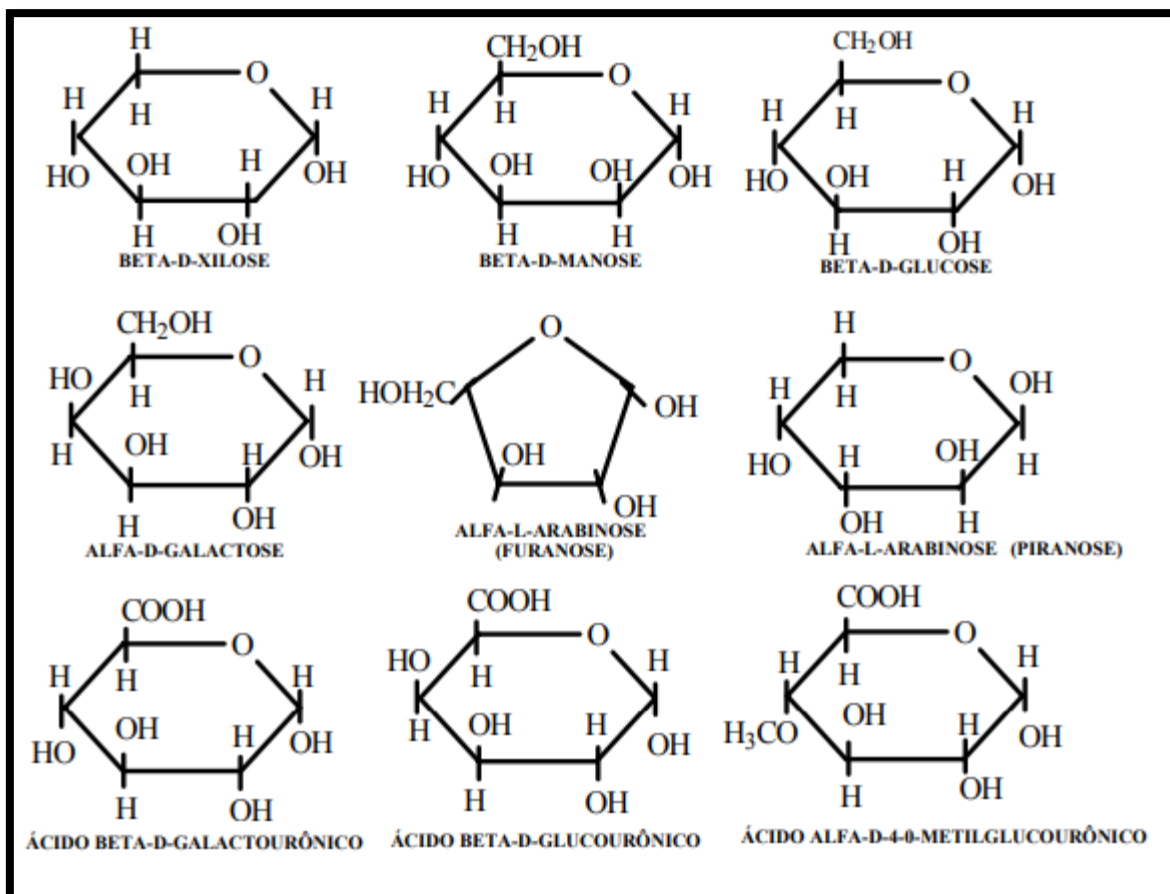


Figura 7: Estrutura química dos monossacarídeos constituintes das hemiceluloses (KLOCK, 2005).

Os polissacarídeos do tipo xilano são as hemiceluloses mais abundantes na natureza, sendo responsáveis por até um terço de todo o carbono orgânico renovável em todo o mundo (AWANO et al., 2001). O xilano apresenta uma estrutura linear constituída de xilopiranosil unidos por ligações β -1,4 na cadeia principal e diferentes unidades monossacarídicas. Esta hemicelulose une-se por ligações cruzadas com as microfibrilas de celulose e lignina, originando o complexo lignina-carboidratos (LAWOKO et al., 2006).

A lignina é um biopolímero complexo, com estrutura de natureza aromática e alto peso molecular (Figura 8). É composta por várias combinações de três tipos de resíduos: a lignina guaiacila (G), siringila (S) e *p*-hidroxifenila (H) (Figura 9) (FENGEL; WEGENER, 1989). É originada a partir da oxidação desidrogenativa de três álcoois monolignóis (coniferílico, sinapílico e *p*-cumarílico), respectivamente (RAES et al., 2003). No decorrer do desenvolvimento da célula, a lignina é incorporada na parede celular como um dos últimos componentes,

fortalecendo e enrijecendo essa estrutura, de modo a proporcionar sua maior resistência mecânica (NOVAES et al., 2010).

A lignina, também está envolvida no transporte de água e nutrientes das plantas, assim como na proteção da parede celular contra a degradação química e/ou biológica (CANILHA et al., 2010).

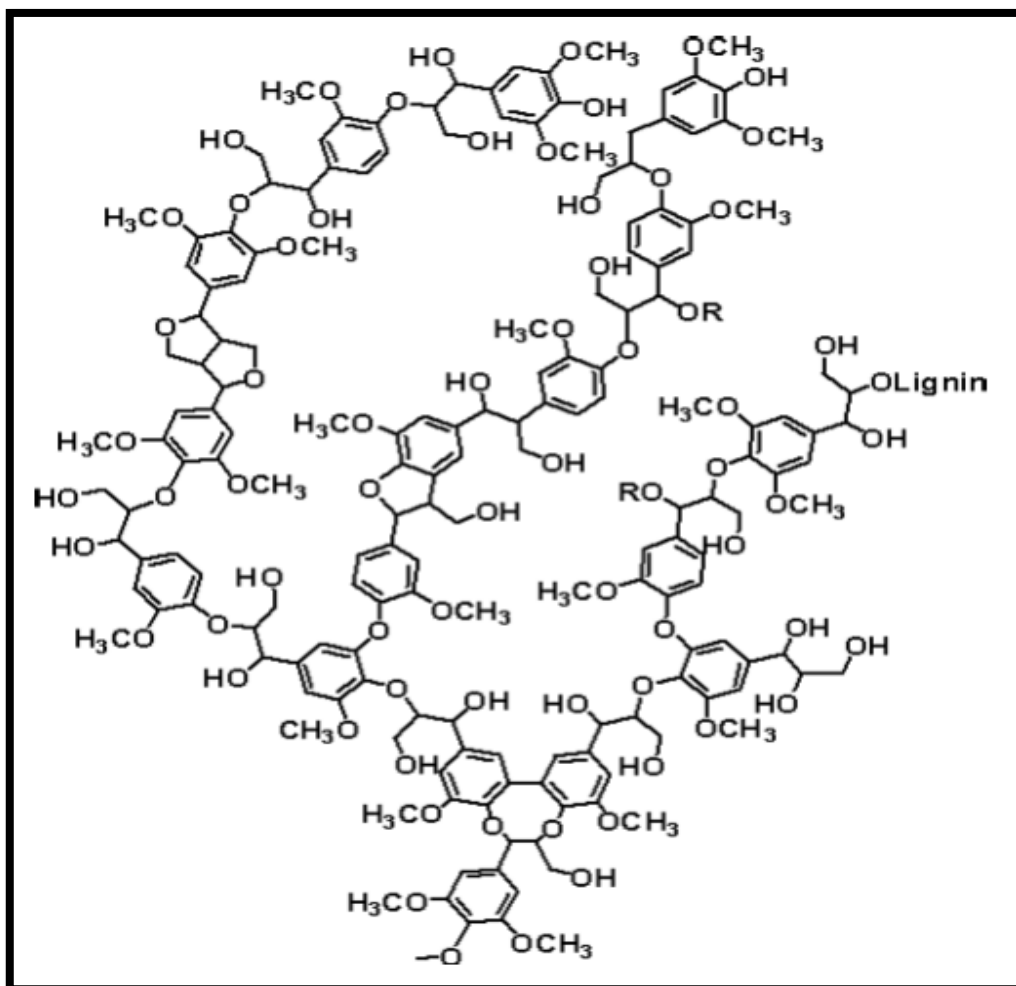


Figura 8: Fragmento de estrutura de Lignina (KLOCK et al., 2005).

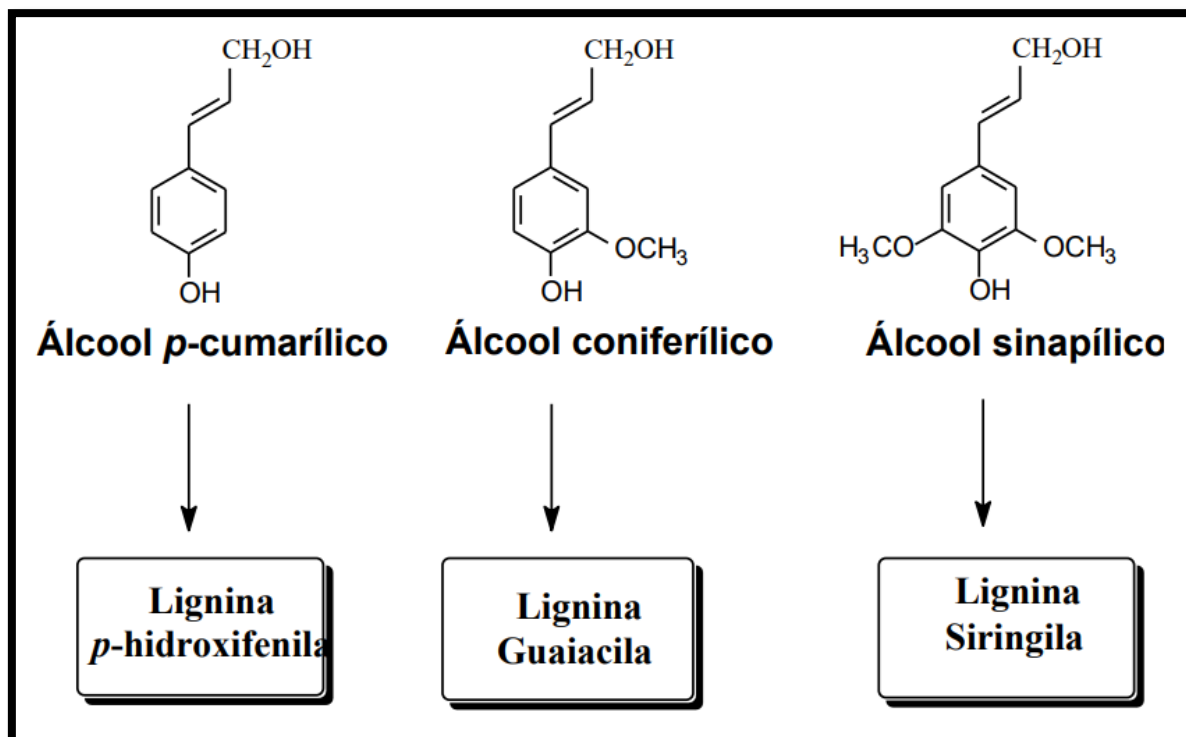


Figura 9: Álcoois precursores das unidades fenilpropanóides: *p*-hidroxifenila (*H*), guaiacila (*G*) e siringila (*S*) (KLOCK et al., 2005).

Mesmo que a estrutura da parede celular seja relativamente estável, sua composição química está sujeita a variação (TIMELL, 1967). Tais diferenças na composição da parede celular influenciam nas características estruturais dos tecidos da planta, incluindo a madeira (BIDHENDI; GEITMANN, 2015). Estudos recentes indicam ainda que nas paredes celulares, existe um código glicêmico (TAVARES; BUCKERIDGE, 2015) sujeito a diferentes interações e conexões que permitem que as plantas tenham um controle fino das propriedades e funções da parede celular (CORNUAULT et al., 2014).

As plantas desenvolveram mecanismos de proteção através de alterações na parede celular, para superar estresses. A luz, por exemplo, é essencial para garantir o desenvolvimento normal das plantas, porém seu excesso ou escassez podem ser estressantes. Nesse sentido, diversos estudos registraram o investimento de plantas na síntese de hemicelulose caulinar para promover a extensão da parede celular e, conseqüentemente, o alongamento dos caules e ramos como estratégia para escapar da sombra. Outros estudos registraram o incremento de lignina foliar como estratégia para proteger as folhas de altas irradiâncias (LE GALL et al., 2015).

3. OBJETIVO GERAL

Avaliar a fotossíntese e a qualidade dos reservatórios de carbono dos morfotipos pequeno, médio e grande de *Paubrasilia echinata* Lam. sob irradiância contrastante, na fase juvenil e adulta.

4. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Analisar as atividades de trocas gasosas dos três morfotipos do Pau-brasil sob irradiância contrastante em duas fases da ontogenia;
- Determinar os teores de polímeros de parede celular (celulose, hemicelulose e lignina) em folhas e caules dos três morfotipos do Pau-brasil sob irradiância contrastante em duas fases da ontogenia;
- Determinar os teores de carboidratos não estruturais (glicose, frutose, sacarose e amido) em folhas e caules dos três morfotipos do Pau-brasil adulto, sob irradiância contrastante;

5. MATERIAIS E MÉTODOS

5.1 *Desenho experimental*

Para atender os objetivos desse estudo, foram implantados dois experimentos: (I) Dinâmica do fluxo e reservatórios de carbono em três morfotipos de Pau-brasil na fase juvenil, sob irradiância contrastante; (II) Dinâmica do fluxo e reservatórios de carbono em três morfotipos de Pau-brasil na fase adulta, sob irradiância contrastante.

No Experimento I, os dados de trocas gasosas foram fornecidos por Gama, 2017. Os dados são referentes a um experimento em que foram analisadas plantas com três anos de idade, fornecidas pelo Instituto Verde Brasil (20°21'50"S e 40°39'35" O), Domingos Martins, ES. As plantas foram transplantadas para vasos plásticos de 12L contendo solo de floresta de tabuleiro e aclimatadas por 21 dias sob telado de poliolefina com 15 % de irradiância ($\pm 270-300 \mu\text{mol m}^2 \text{s}^{-1}$) no viveiro do Departamento de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Espírito Santo em Vitória, ES (20°18'52"S e 40°19'06"O). Após a esse período de aclimação, um lote de plantas permaneceu na mesma condição descrita anteriormente (sombreamento artificial – 15% de irradiância) e outro lote foi transferido para pleno sol ou 100% de irradiância ($\pm 1.800-2.000 \mu\text{mol m}^2 \text{s}^{-1}$), onde o experimento foi mantido por 300 dias (maio de 2013 a março 2014). Precipitação e temperatura apresentaram médias de 113,5 mm e 24°C respectivamente, durante o desenvolvimento do experimento (INCAPER, 2014).

No Experimento II, foram utilizadas árvores com 12 anos de idade dos morfotipos pequeno, médio e grande, plantadas em ambiente natural na área experimental do Instituto Marco Raposo Bows localizado em Domingos Martins, ES (20°23'02.1"S e 40°38'44.6"O). Um lote destas plantas encontrava-se em pleno sol e o outro em sombreamento natural, sob um bosque. O solo dessa localidade é bem homogêneo e característico da Floresta Atlântica de tabuleiros, bem drenado, com baixa fertilidade química natural e com textura variante entre arenosa e franca (IBF, 2010). No mês da coleta, a precipitação média foi de 3,28 mm e a temperatura média ficou em 18 °C (INCAPER, 2015).

As plantas foram escolhidas aleatoriamente, uma vez que todas possuíam mesma idade e se encontravam em mesmas condições edáficas, tanto na sombra quanto em pleno sol. Em decorrência da altura já elevada das árvores do Experimento II, foram selecionados ramos basais da copa e com mesmo padrão ontogenético, estabelecido por critérios exclusivamente visuais. Buscou-se sempre optar por ramos caulinares externos e expostos aos raios solares. As medidas das trocas gasosas e amostras para determinação dos carboidratos estruturais e não estruturais foram obtidas das folhas apicais completamente expandidas do mesmo ramo. As amostras do caule foram coletadas na altura do diâmetro do peito (DAP). A periderme e o floema foram previamente removidos por raspagem, utilizando um facão. Em seguida foram extraídas amostras do xilema, com o auxílio de um trado manual.

Assim que coletadas, as amostras de caules e folhas, foram imediatamente acondicionadas em caixas térmicas com gelo e transportadas para o Laboratório de Fisiologia e Bioquímica de Plantas do Departamento de Ciências Biológicas da UFES, onde foram acondicionadas em ultrafreezer a $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$. Posteriormente, todas as amostras foram liofilizadas e pulverizadas em moinho de bola (modelo TE-350, TECNAL, São Paulo, Brasil).

5.2 Trocas gasosas

No Experimento I, as medições de trocas gasosas foram realizadas entre 8:00 e 10:00 horas, em folhas do terceiro nó, utilizando-se um analisador de gases a infravermelho portátil (IRGA), modelo *LI 6400 XT* (LI-COR Biosciences, Nebraska, USA). Foram avaliadas as variáveis: taxa de assimilação líquida de CO_2 (A), transpiração (E), condutância estomática (g_s) e concentração intercelular de CO_2 (C_i). A partir dessas variáveis, foram calculadas: a eficiência do uso da água (A/E), eficiência instantânea de carboxilação (A/C_i) e a eficiência intrínseca do uso da água (A/g_s).

No Experimento II, as medições de trocas gasosas foram realizadas entre 10:00 e 14:00 horas, utilizando-se um analisador de gases a infravermelho portátil (IRGA), modelo *LI 6400 XT* (LI-COR Biosciences, Nebraska, USA). Foram avaliadas as mesmas variáveis do Experimento I.

5.3 Teores de polímeros de parede celular

Nos dois experimentos, o teor de celulose foi determinado por análise gravimétrica e seguiu o método proposto por Brendel et al. (2000). Foram utilizados 100 mg de amostras pulverizadas ao qual foram adicionados 2 mL de ácido acético 80% e 200 μ L de ácido nítrico 69% concentrado. Os tubos foram acondicionados em placa aquecedora por 1 hora a 100 °C. Após esfriar, as amostras foram transferidas para tubos falcon de 15 mL onde foram adicionados 2,5 mL de etanol 99%. Cada amostra foi homogeneizada em agitador vórtex, centrifugadas a 2500 \times g por 5 minutos em temperatura ambiente (25 °C) e o sobrenadante descartado. Em seguida, as amostras foram lavadas sequencialmente da seguinte forma: 5 mL de etanol 99% para remover os produtos degradados na reação; 5 mL de água deionizada para remover os vestígios do ácido nítrico; 5 mL de NaOH 17% que ficou em repouso em temperatura ambiente (25°C) por 10 minutos; 5 mL de água deionizada; 2,2 mL de água deionizada e 600 μ L de ácido acético. Entre cada lavagem, as amostras foram centrifugadas a 2500 \times g por 5 minutos em temperatura ambiente e os sobrenadantes descartados. Por fim, as amostras foram secas em estufa a 50 °C por 48 horas, pesadas e determinados os teores de celulose pela diferença gravimétrica de cada uma delas no início e no fim do processo.

A metodologia utilizada para a determinação do teor das hemiceluloses foi a de Shädel et al. (2010) com modificações. Para cada 50 mg de massa seca das amostras pulverizadas, foi adicionado 1,5 mL de etanol 80 % em microtubos de 2 mL para extração dos açúcares solúveis. Os tubos foram levados ao banho-maria a 80 °C por 20 minutos. As amostras foram centrifugadas a 12000 \times g por 5 minutos em 5 °C e o sobrenadante descartado. Esta operação foi repetida por mais três vezes, para eliminação total de possíveis resíduos de açúcares solúveis. O precipitado foi seco em estufa a 50 °C durante 24 horas. Ao precipitado seco foi adicionado 1,5 mL de dimetil sulfóxido (DMSO) para extração do amido presente nas amostras e, mantido sob agitação por 24 horas em temperatura ambiente (25 °C). Após esse período, as amostras foram centrifugadas em 12000 \times g por 5 minutos a 5 °C e o sobrenadante descartado. Em seguida, o precipitado foi lavado em 1,5 mL de água destilada por três vezes, centrifugado e descartado o

sobrenadante, para eliminação total do DMSO presente nas amostras até que o pH atingisse o valor entre 6-7 aferido com fitas de pH. O precipitado foi seco em estufa 50 °C por 24 horas. Acrescentou-se ao precipitado anterior 1,5 mL de detergente neutro (tetraborato de sódio decahidratado 18 mmol, ácido etilenodiaminotetracético 66 mmol, sulfato de sódio dodecil 10,4 mmol, fosfato de sódio dibásico 32 mmol e água destilada) para extração de resíduos solúveis em água e pectinas e, adicionou-se 25 µL de solução de sulfito de sódio (10 mg/10 mL) para extração de proteínas. As amostras foram então transferidas para banho-maria a 100 °C por 60 minutos sob agitação. As amostras foram em seguida centrifugadas e o sobrenadante descartado novamente. O precipitado desta etapa (celulose, hemicelulose e lignina) foi lavado sequencialmente da seguinte forma: duas vezes com 1,5 mL de água deionizada quente; uma vez com 1,5 mL de acetona 100 % e; uma vez com 1,5 mL de água deionizada. O precipitado contendo a “fração total de parede celular” foi transferido novamente para estufa a 50 °C durante 24 horas e seguido de pesagem. Em seguida foi adicionado ao precipitado 1,5 mL de detergente ácido (H₂SO₄ 1 N e brometo de hexadeciltrimetilamônio ácido deoxicólico sal sódico 55 mmol). e homogeneizado. Após serem transferidas novamente para banho-maria a 100 °C por 60 minutos, as amostras foram centrifugadas e o sobrenadante contendo hemicelulose foi descartado. O precipitado foi lavado em 1,5 mL de água deionizada por cinco vezes, centrifugado e descartado o sobrenadante, para retirada total do detergente ácido. O precipitado contendo então, apenas a “fração de celulose e lignina” foi seco em estufa a 50 °C durante 24 horas, seguido de pesagem. O cálculo para a determinação da concentração das hemiceluloses presentes nas amostras foi realizado pela diferença gravimétrica entre a “fração total da parede celular” e a “fração de celulose e lignina”. As concentrações de hemiceluloses foram calculadas em miligramas por grama da massa seca.

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 15 mL e o material foi centrifugado por 10 minutos a 2500 x g e o sobrenadante descartado. A partir dessa etapa o precipitado passou por 12 lavagens com diferentes soluções (3

vezes com tampão fosfato 50 mM – pH 7,0; 3 vezes com Triton® x – 100 (v/v) 1 % - pH 7,0; 2 vezes com tampão NaCl – pH 7,0; 2 vezes com água destilada e 2 vezes com acetona 100 %), seguindo a sequência de homogeneização em vórtex antes da centrifugação e descarte do sobrenadante após a mesma. Após a 12ª lavagem, o precipitado foi seco em estufa a 60°C por 24 horas. Esse material compreende a fração de parede celular livre de proteínas. Do precipitado seco, foi utilizado 50 mg em tubos Falcon 15 mL, adicionando-se 1,2 mL de ácido tioglicólico e 6 mL de HCl 2 M. As amostras foram então incubadas a 95°C por 4 horas, centrifugadas por 15 minutos e lavadas três vezes com água destilada. Em seguida, foi adicionado 7 mL de NaOH 0,5 M, e a mistura incubada a 25°C por 18 horas sob agitação constante, seguida de centrifugação a 2500 x g e reserva do sobrenadante. O precipitado foi lavado com 3 mL de NaOH 0,5 M, e centrifugado em seguida. O sobrenadante foi unido ao anterior, acidificado com 1,8 mL de HCl e alocado a 4 °C por 12 horas sem agitação, para precipitação da lignina. Após esse período, as amostras foram centrifugadas e lavadas duas vezes com água destilada, centrifugadas novamente a 2500 x g por 10 minutos em temperatura ambiente (25°C) e descartado o sobrenadante. O precipitado obtido foi seco a 60°C por 24 horas e ressuspensionado em 15 mL NaOH 0,5 M. A determinação do conteúdo de lignina foi realizada através da leitura de absorbância em espectrofotômetro (Genesys 10S UV-Vis, Thermo Fisher Scientific, Waltham, EUA), no comprimento de onda de 280 nm. Foi utilizada a solução de lignina (Sigma) para construção da curva padrão, nas concentrações de 0, 0,01, 0,02, 0,03, 0,04 e 0,05 mg/mL⁻¹ para análise das amostras.

5.4 Teores de carboidratos não estruturais

No Experimento II, a quantificação do teor dos açúcares solúveis (glicose, frutose e sacarose) seguiu a metodologia de Pollock et al. (1986) com modificações. Primeiramente, 50 mg de cada amostra foi lavada com etanol 80 % a 80 °C por 20 minutos, 4 vezes. Após cada extração, as amostras foram centrifugadas e o sobrenadante reservado. A fase líquida final foi alocada em ultrafreezer a – 80 °C e posteriormente concentrada em liofilizador. Em seguida, as amostras foram ressuspensionadas em 1 mL de uma solução saturada, contendo

água ultrapura e concentrações conhecidas de 1 g L^{-1} de frutose, 1 g L^{-1} de glicose e 1 g L^{-1} de sacarose utilizando padrões Sigma®. Depois de ressuspendidas, as amostras foram novamente centrifugadas e o sobrenadante filtrado em filtros de HPLC (Millex gv pvdf diâmetro 13 mm e poro 0,22 mm – Millipore). As concentrações foram quantificadas por cromatografia de troca aniônica de alta eficiência com detector de refração em HPLC Shimadzu RID-20A, coluna CLC – NH₂ de 25 cm, fase móvel de acetonitrila 80 %, fluxo de 1 mL min^{-1} e temperatura de 40 °C, utilizando padrões Sigma®. O resultado final originou-se da subtração da concentração final encontrada em cada amostra, pela concentração inicial da solução saturada utilizada na ressuspensão.

A determinação do teor de amido seguiu o protocolo de Amaral et al. (2007). Em microtubos 2 ml, foram pesados 10 mg de amostra e em seguida adicionou-se 1,5 ml de etanol 95 %, seguido de incubação a 80 °C por 20 min. Após resfriadas, as amostras foram centrifugadas a $1450 \times g$ por 5 minutos a 5 °C. Esse procedimento foi repetido por 4 vezes, sendo, portanto, 4 extrações etanólicas 95 % para a remoção dos açúcares solúveis. Foi adicionado ao precipitado 0,5 mL (120 U mL^{-1}) de α -amilase (EC 3.2.1.1) termoestável de *Bacillus licheniformis* (cód. E-ANAAM, MEGAZYME, Irlanda), diluída em tampão MOPS 10 mM em pH 6,5. As amostras foram incubadas em banho-maria a 75 °C por 30 minutos e esse procedimento foi repetido mais uma vez. As amostras foram resfriadas até 50 °C e adicionado 0,5 mL de uma solução contendo 30 U mL^{-1} de amiloglicosidase (EC 3.2.1.3) de *Aspergillus niger* (cód. E-AMGPU, MEGAZYME, Irlanda) em tampão acetato de sódio 100 mM em pH 4,5. As amostras foram incubadas em 50 °C por 30 minutos. Este procedimento foi repetido mais uma vez. Em seguida, as amostras foram armazenadas em freezer -18 °C por 24 horas, para inativação das reações estimuladas.

A dosagem do amido foi realizada pela quantificação de glicose liberada no processo de hidrólise do amido. Para tanto, foram utilizados 50 μL de um extrato com 250 μL do reagente Glicose PAP Liquiform (CENTERLAB, Brasil) contendo as enzimas glicose-oxidase ($\sim 11.000 \text{ U mL}^{-1}$) e peroxidase ($\sim 700 \text{ U mL}^{-1}$), 290 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de 4-aminoantipirina e 50 mM de fenol pH 7,5. Nessa etapa, a glicose oxidase catalisa a oxidação da glicose. O peróxido de hidrogênio formado na reação reage com 4-aminoantipirina e fenol, sob ação catalisadora da peroxidase, através de uma reação oxidativa de acoplamento formando uma

antipirilquinonimina rosa cuja intensidade é proporcional à concentração de glicose na amostra. Após incubação por 15 min a 37 °C, o teor de glicose foi determinado por leitor de microplacas (Thermo Scientific Express Multiskan FC Microplate Photometer, Massachusetts, EUA) em comprimento de onda de 490 nm. Para a elaboração da curva padrão foi utilizada solução de glicose (Sigma), nas concentrações de 0, 2,5, 5, 7,5, 10 e 12,5 mg.mL⁻¹.

5.5 Análise estatística

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado (DIC). Utilizou-se o software Assistat 7.7 (www.assistat.com, UFCG, Universidade Federal de Campina Grande, Brasil) para análise de distribuição de normalidade pelo teste de Shapiro–Wilk, para a análise de variância (ANOVA) e comparações de médias pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$). O programa Microsoft Office Excel (2010) foi utilizado para organização e tabulação dos dados.

6. RESULTADOS

6.1 Experimento I: Dinâmica do fluxo e reservatórios de carbono em três morfotipos de Pau-brasil na fase juvenil, sob irradiância contrastante.

6.1.1 Trocas gasosas

Com relação às trocas gasosas, houve diferença significativa da taxa de assimilação líquida de CO₂ (A), transpiração (E), condutância estomática (g_s) e concentração intercelular de CO₂ (C_i) dos três morfotipos entre as irradiâncias contrastantes. Para o morfotipo pequeno, os valores de A , C_i e g_s foram maiores na sombra. Por outro lado, os valores de E desse morfotipo foram 50 % maiores em pleno sol. Os morfotipos médio e grande expressaram mesmo padrão de comportamento quanto as variáveis A , E , C_i e g_s apresentando maiores valores em pleno sol. O morfotipo grande se destacou pela assimilação de CO₂ 70 % maior em relação à sombra e pela maior transpiração (E) dentre os três morfotipos em pleno sol.

Os morfotipos médio e grande mostraram ainda, maior eficiência do uso da água (A/E e A/g_s) em pleno sol. Enquanto o morfotipo pequeno na sombra, sendo que os valores de A/E mostraram-se 60 % maiores em relação ao pleno sol (Tabela 1).

Tabela 1: Assimilação de CO₂ (*A*), transpiração (*E*), carbono interno (*C_i*), condutância estomática (*g_s*), eficiência do uso da água (*A/E*), eficiência instantânea de carboxilação (*A/C_i*) e eficiência intrínseca do uso de água (*A/g_s*) de plantas juvenis dos morfotipos pequeno, médio e grande de *Paubrasilia echinata* em pleno sol e sombra.

Morfotipo	<i>Morfotipo Pequeno</i>		<i>Morfotipo Médio</i>		<i>Morfotipo Grande</i>	
	Sombra	Pleno Sol	Sombra	Pleno Sol	Sombra	Pleno Sol
<i>A</i> (μmol CO ₂ m ⁻² s ⁻¹)	2,5 ±0,1 Aa	1,8 ±0,1 Bb	1,5 ±0,2 Bb	3,8 ±0,5 Aa	1,3 ±0,2 Bb	4,3 ±0,3 Aa
<i>E</i> (mmol H ₂ O m ⁻² s ⁻¹)	0,45 ±0,0 Bb	0,9 ±0,1 Ac	0,75 ±0,2 Ba	1,22 ±0,2 Ab	0,76 ±0,1 Ba	1,43 ±0,1 Aa
<i>C_i</i> (μmol CO ₂ mol Ar ⁻¹)	227 ±8 Aa	180 ±12 Bb	250 ±13 Ba	271 ±13 Aa	216 ±19 Bb	269 ±11 Aa
<i>g_s</i> (mol H ₂ O m ⁻² s ⁻¹)	0,05 ±0,0 Aa	0,01 ±0,0 Bb	0,03 ±0,0 Ba	0,06 ±0,0 Aa	0,04 ±0,0 Ba	0,07 ±0,0 Aa
<i>A/E</i> (μmol CO ₂ mmol H ₂ O ⁻¹)	5,5 ±0,7 Aa	2,0 ±0,2 Bb	2,0 ±0,2 Bb	3,1 ±0,5 Aa	1,7 ±0,4 Bb	3,0 ±0,4 Aa
<i>A/C_i</i> (mol ar m ⁻² s ⁻¹)	0,01 ±0,0 Aa	0,01 ±0,0 Ab	0,006 ±0,0 Bb	0,014 ±0,0 Aa	0,006 ±0,0 Bb	0,016 ±0,0 Aa
<i>A/g_s</i> (μmol CO ₂ mol H ₂ O ⁻¹)	167,5 ±12,8 Aa	37,2 ±4,2 Bb	49,9 ±5,0 Ab	62,8 ±16,9 Aa	34,5 ±7,1 Bc	59,4 ±8,9 Aa

Letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). Letras maiúsculas comparam os tratamentos dentro de cada morfotipo e letras minúsculas comparam os três morfotipos dentro de cada tratamento. Os valores são médias e as barras ± erro padrão (n=5).

6.1.2 Teores de polímeros de Parede Celular

Não houve diferença significativa nos teores de celulose caulinar dos três morfotipo entre as irradiâncias contrastantes. Comparando os três morfotipos, o morfotipo pequeno se destacou pelos maiores valores, tanto na sombra quanto a pleno sol.

Já nas folhas, os três morfotipos apresentaram diferenças significativas nos teores de celulose, com maiores valores na sombra. Destacam-se os morfotipos médio e grande, que mostraram valores 50 % maiores em relação a pleno sol. A pleno sol, os três morfotipos apresentaram médias semelhantes, em torno de 16 mg.g⁻¹ MS (Figura 10).

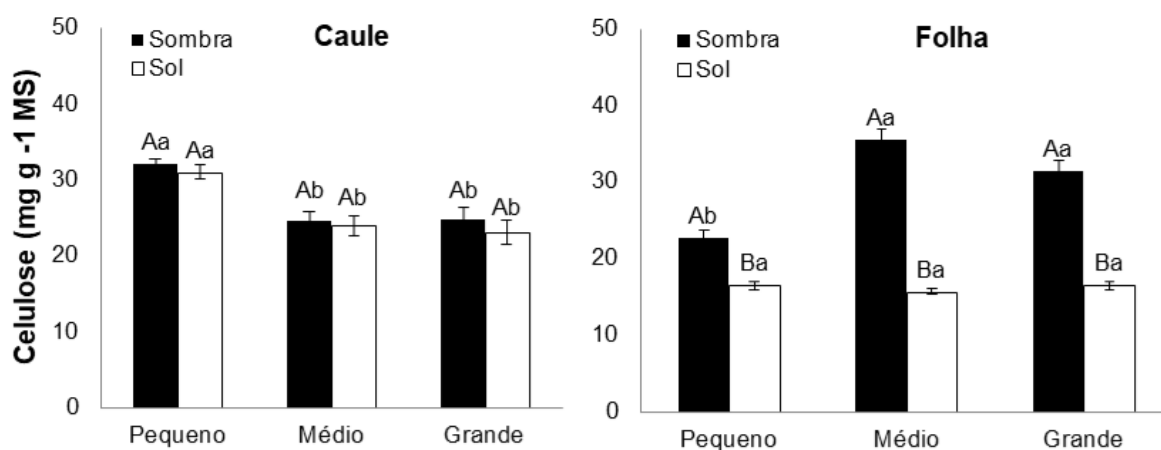


Figura 10: Teor de celulose em caule e folha de três morfotipos de *Paubrasilia echinata* na fase juvenil. Letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). Letras maiúsculas comparam os tratamentos dentro de cada morfotipo, e letras minúsculas comparam os três morfotipos dentro de cada tratamento. Os valores são médias e as barras \pm erro padrão ($n=5$).

A concentração das hemiceluloses no caule apresentou diferenças significativas entre os tratamentos para os três morfotipos. No morfotipo pequeno, maior valor foi observado em pleno sol enquanto nos morfotipos médio e grande, na sombra. No morfotipo médio o teor de hemicelulose caulinar em pleno sol representou 50 % do valor obtido na sombra. Comparando os três morfotipos na sombra, o morfotipo médio se destacou pelo maior teor de hemicelulose caulinar.

Nas folhas, a concentração das hemiceluloses diferiu significativamente entre os tratamentos para os três morfotipos, expressando valores maiores na sombra. Com destaque os morfotipos médio e grande ao apresentarem teores de hemiceluloses maiores que o morfotipo pequeno tanto em pleno sol quanto na sombra (Figura 11).

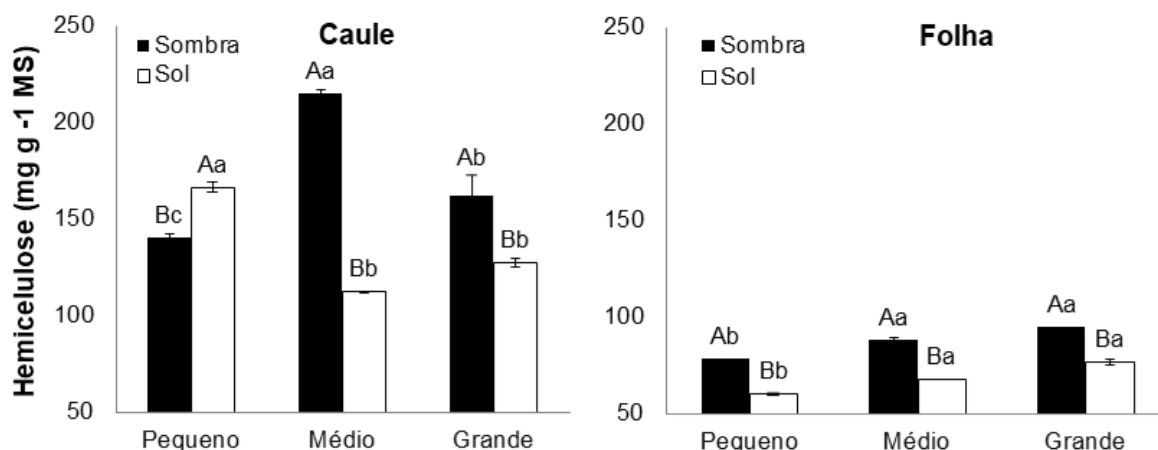


Figura 11: Teor de hemicelulose em caule e folha de três morfotipos de *Paubrasilia echinata* na fase juvenil. Letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). Letras maiúsculas comparam os tratamentos dentro de cada morfotipo, e letras minúsculas comparam os três morfotipos dentro de cada tratamento. Os valores são médias e as barras \pm erro padrão ($n=5$).

A lignina caulinar diferiu significativamente entre as irradiâncias contrastantes para os três morfotipos. No morfotipo pequeno, maior teor de lignina foi observado na sombra enquanto nos morfotipos médio e grande, em pleno sol. O teor de lignina caulinar do morfotipo grande foi 10 % maior em pleno sol e foi o que mostrou maior média, seguido do morfotipo médio e pequeno.

A lignina foliar apresentou diferença significativa entre os tratamentos para os morfotipos médio e grande, enquanto no morfotipo pequeno nenhuma diferença foi observada entre os tratamentos. Em pleno sol, o teor de lignina foliar do morfotipo grande representou 75 % a mais que o valor encontrado na sombra e foi o que mostrou maior teor, seguido do morfotipo médio e morfotipo pequeno (Figura12).

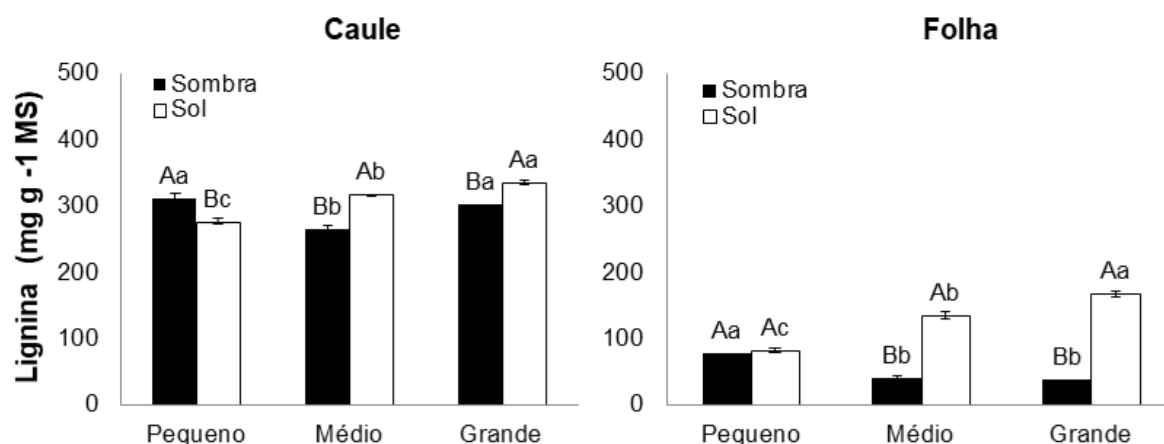


Figura 12: Teor de lignina em caule e folha de três morfotipos de *Paubrasilia echinata* na fase juvenil. Letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). Letras maiúsculas comparam os tratamentos dentro de cada morfotipo, e letras minúsculas comparam os três morfotipos dentro de cada tratamento. Os valores são médias e as barras \pm erro padrão ($n=5$).

6.2 Experimento II: Dinâmica do fluxo e reservatórios de carbono em três morfotipos de Pau-brasil na fase adulta, sob irradiância contrastante.

6.2.1 Trocas gasosas

Com relação às trocas gasosas, não houve diferença significativa da taxa de assimilação líquida de CO_2 (A) e da condutância estomática (g_s) do morfotipo pequeno entre as irradiâncias contrastantes. Já para os morfotipos médio e grande, diferenças estatísticas ocorreram nos parâmetros das trocas gasosas com valores de A em pleno sol chegando a representar 50 % e 30 % a mais, respectivamente, os valores obtidos na sombra. O morfotipo pequeno apresentou diferença significativa nas variáveis E e C_i , com maiores valores em pleno sol. A transpiração (E) do morfotipo grande não variou entre os tratamentos. Comparando os três morfotipos na sombra, a E do morfotipo grande foi maior, seguido do médio e pequeno. A concentração de carbono interno (C_i) do morfotipo pequeno em pleno sol foi a maior entre os três morfotipos, seguido do morfotipo grande e médio.

O morfotipo pequeno mostrou ainda, maior eficiência do uso da água (A/E e A/g_s) na sombra. Já o morfotipo grande, apresentou valores de A/E 25% maiores em pleno sol (Tabela 2).

Tabela 2: Assimilação de CO₂ (A), transpiração (E), carbono interno (Ci), condutância estomática (gs), eficiência do uso da água (A/E), eficiência instantânea de carboxilação (A/Ci), eficiência intrínseca do uso de água (A/g_s) e rendimento quântico máximo do fotossistema II (Fv/Fm) de plantas adultas dos morfotipos pequeno, médio e grande de *Paubrasilia echinata* em pleno sol e sombra.

Morfotipo	Morfotipo Pequeno		Morfotipo Médio		Morfotipo Grande	
	Sombra	Pleno Sol	Sombra	Pleno Sol	Sombra	Pleno Sol
A (μmol CO ₂ m ⁻² s ⁻¹)	1.14±0.21 Ab	1.53±0.48 Ab	2.29±0.24 Bab	4.78±1.66 Aa	4.99±0.38 Ba	7.4±0.88 Aa
g _s (mol H ₂ O m ⁻² s ⁻¹)	0.02±0.01 Ab	0.04±0.00 Ab	0.03±0.01 Bb	0.06±0.00 Aa	0.07±0.00 Aa	0.08±0.02 Aa
Ci (μmol CO ₂ mol Ar ⁻¹)	229±11 Ba	341±12 Aa	230±39 Aa	251±21 Ab	221±15 Aa	272±13 Ab
E (mmol H ₂ O m ⁻² s ⁻¹)	0.25±0.07 Bb	0.7±0.12 Aa	0.44±0.13 Bb	1.02±0.19 Aa	1.07±0.12 Aa	1.2±0.25 Aa
A/E (μmol CO ₂ mmol H ₂ O ⁻¹)	5.52±0.59 Aa	2.31±0.53 Bb	7.92±2.75 Aa	5.03±0.75 Aa	4.87±0.25 Ba	6.57±0.49 Aa
A/Ci (mol ar m ⁻² s ⁻¹)	0.01±0.0 Ab	0.005±0.0 Bc	0.01±0.0 Aab	0.02±0.01 Ab	0.02±0.0 Ba	0.03±0.00 Aa
A/g _s (μmol CO ₂ mol H ₂ O ⁻¹)	80.38±13.84 Aa	36.29±7.83 Bb	117.83±19.42 Aa	84.7±14.05 Aa	72.22±9.56 Ba	115.18±9.00 Aa

Letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey (p<0,05). Letras maiúsculas comparam os tratamentos dentro de cada morfotipo, e letras minúsculas comparam os três morfotipos dentro de cada tratamento. ns = não significativo. Os valores são médias e as barras ± erro padrão (n=5).

6.2.2 Teores de polímeros de Parede Celular

Os teores de celulose caulinar dos morfotipos pequeno e médio não apresentaram diferença significativa entre as irradiância contrastante. Já o morfotipo grande apresentou teor de celulose na sombra 15 % maior em relação ao pleno sol. O morfotipo pequeno foi o que apresentou maiores teores entre os três morfotipos, tanto na sombra quanto em pleno sol.

Nas folhas, os três morfotipos apresentaram diferenças significativas entre os tratamentos. Os morfotipos médio e grande mostraram maior teor de celulose em pleno sol. Já o morfotipo pequeno apresentou valor na sombra 11 % maior em relação ao pleno sol. Comparando os três morfotipos na sombra, o morfotipo pequeno mostrou maior valor, seguido pelo morfotipo grande e morfotipo médio. Em pleno sol, o morfotipo grande apresentou maior valor, seguido pelos morfotipos pequeno e médio. (Figura 13).

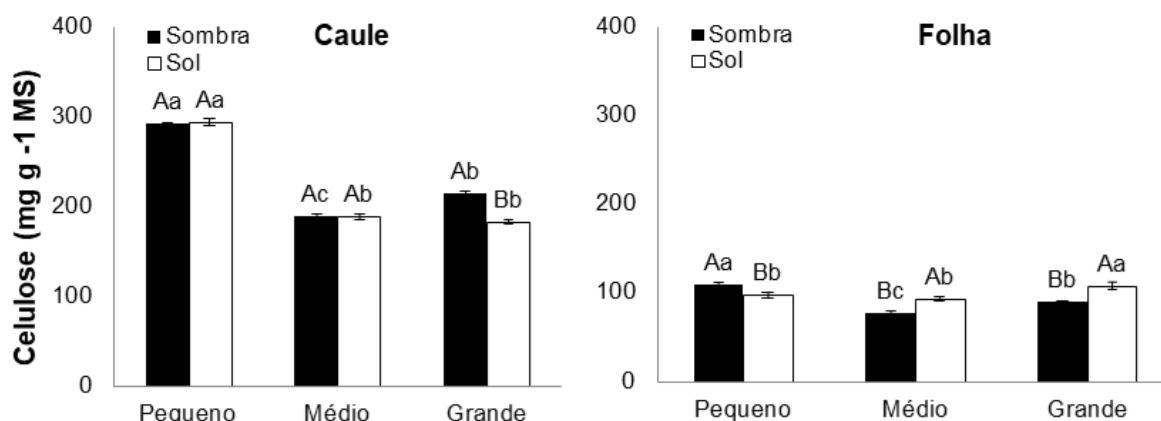


Figura 13: Teor de celulose em caule e folha de três morfotipos de *Paubrasilia echinata* na fase adulta. Letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). Letras maiúsculas comparam os tratamentos dentro de cada morfotipo, e letras minúsculas comparam os três morfotipos dentro de cada tratamento. Os valores são médias e as barras \pm erro padrão ($n=5$).

A concentração das hemiceluloses no caule apresentou diferenças significativas entre os tratamentos para cada morfotipo. No morfotipo pequeno, maior valor foi observado na sombra, enquanto para os morfotipos médio e grande, valores superiores ocorreram em pleno sol. Maiores diferenças entre os tratamentos foram observados no morfotipo grande cujo teor de hemiceluloses em pleno sol foi 35 % maior em relação à sombra. O morfotipo médio foi o que apresentou maior valor entre os três morfotipos, tanto em pleno sol quanto na sombra.

Nas folhas, diferenças significativas ocorreram entre os tratamentos dos morfotipos médio e grande, com maiores valores em pleno sol. O teor das hemiceluloses do morfotipo pequeno não variou entre os tratamentos. Em pleno sol, os morfotipos grande e médio expressaram teor de hemicelulose 17 % maior do valor da sombra, e foram os que apresentaram maiores valores (Figura 14).

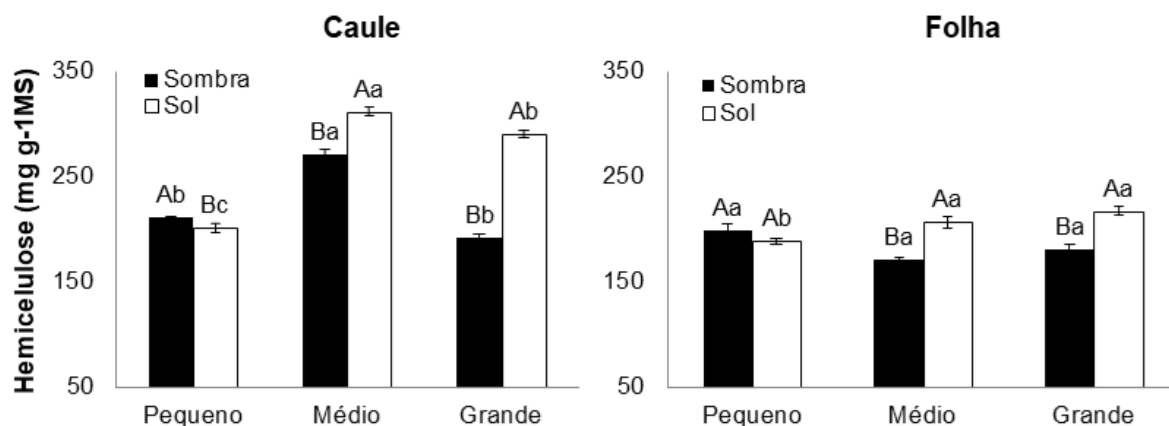


Figura 14: Teor de hemicelulose em caule e folha de três morfotipos de *Paubrasilia echinata* na fase adulta. Letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). Letras maiúsculas comparam os tratamentos dentro de cada morfotipo, e letras minúsculas comparam os três morfotipos dentro de cada tratamento. Os valores são médias e as barras \pm erro padrão ($n=5$).

O teor de lignina do caule dos três morfotipos apresentaram diferenças significativas entre os tratamentos, com maiores valores em pleno sol. Com destaque o morfotipo grande, que mostrou valor 25 % maior do obtido na sombra. Os morfotipos médio e grande apresentaram maior média entre os três morfotipos em pleno sol, seguidos pelo pequeno. Na sombra, os morfotipos pequeno e médio apresentaram valores maiores que o morfotipo grande.

Nas folhas, houve diferença significativa dos três morfotipos entre as irradiância contrastante. Os três morfotipos apresentaram valores maiores em pleno sol. Os morfotipos médio e grande mostraram valores até 50 % maior do obtido na sombra. Os morfotipos médio e grande expressaram maiores médias em relação ao pequeno em pleno sol. Na sombra, os valores dos três morfotipos foram semelhantes, em torno de $80 \text{ mg.g}^{-1} \text{ MS}$ (Figura 15).

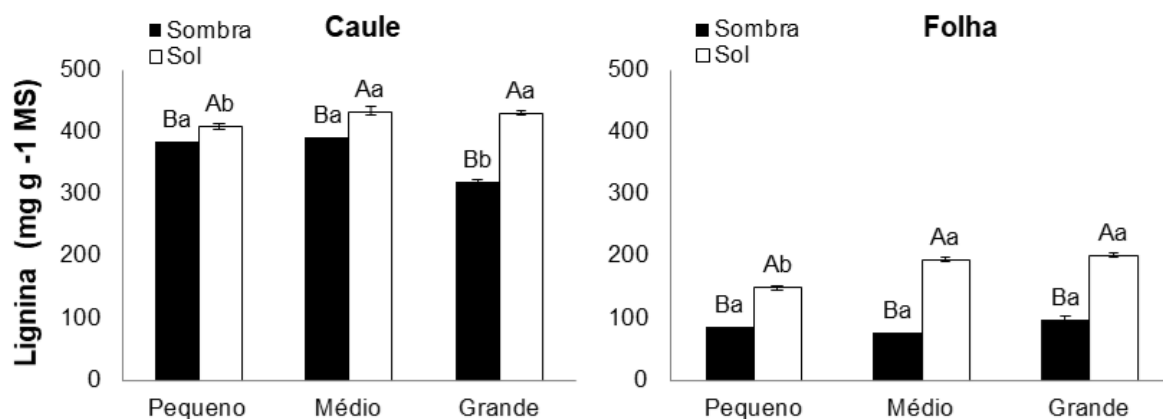


Figura 15: Teor de lignina em caule e folha de três morfotipos de *Paubrasilia echinata* na fase adulta. Letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). Letras maiúsculas comparam os tratamentos dentro de cada morfotipo, e letras minúsculas comparam os três morfotipos dentro de cada tratamento. Os valores são médias e as barras \pm erro padrão ($n=5$).

6.2.3 Teores de carboidratos não estruturais

A concentração de glicose no caule diferiu significativamente nos três morfotipos sob as irradiâncias contrastantes. No morfotipo pequeno, maior teor foi observado na sombra, enquanto nos morfotipos médio e grande em pleno sol. Na sombra, o morfotipo pequeno apresentou valor 20 % maior em relação ao pleno sol e se destacou dos outros dois pelo maior valor. Na sombra, os morfotipos médio e grande não se diferenciaram entre si. Em pleno sol, os morfotipos grande e médio apresentaram maiores médias em relação ao pequeno.

Não foram observadas diferenças significativas nas concentrações de glicose nas folhas dos três morfotipos entre as irradiâncias contrastantes. O morfotipo médio se destacou dos demais pelos maiores teores de glicose, tanto na sombra quanto em pleno sol (Figura 16).

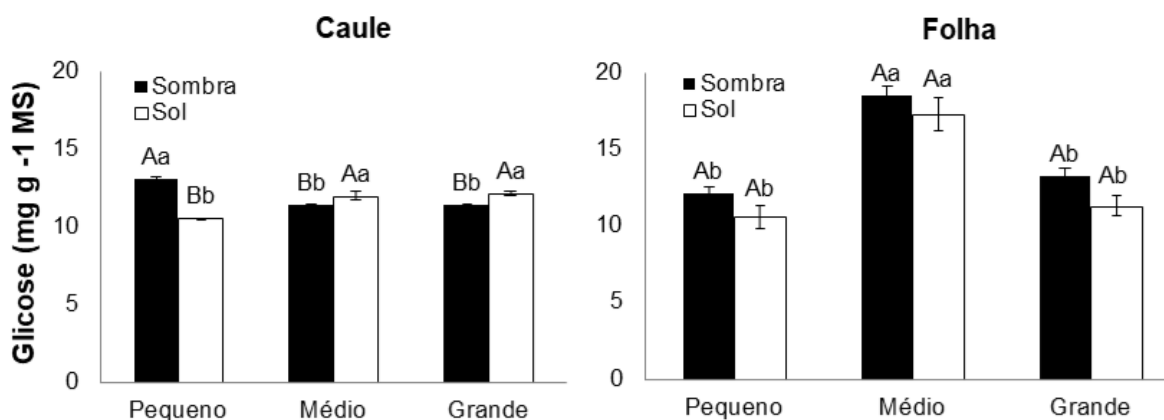


Figura 16: Teor de glicose em caule e folha de três morfotipos de *Paubrasilia echinata* na fase adulta. Letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). Letras maiúsculas comparam os tratamentos dentro de cada morfotipo, e letras minúsculas comparam os três morfotipos dentro de cada tratamento. Os valores são médias e as barras \pm erro padrão ($n=5$).

O teor de frutose caulinar não apresentou diferença significativa entre os tratamentos dentro de cada morfotipo e nem entre os morfotipos dentro de cada tratamento.

Já nas folhas, o teor de frutose apresentou diferença significativa entre os tratamentos dos morfotipos pequeno e grande, com valores maiores na sombra. O morfotipo pequeno mostrou valor 40 % e o grande 30 % maior em relação ao pleno sol. Para o morfotipo médio nenhuma diferença ocorreu no teor de frutose foliar entre os tratamentos. Comparando os três morfotipos na sombra, o teor de frutose do morfotipo grande foi o maior, seguido do morfotipos pequeno e do médio (Figura 17).

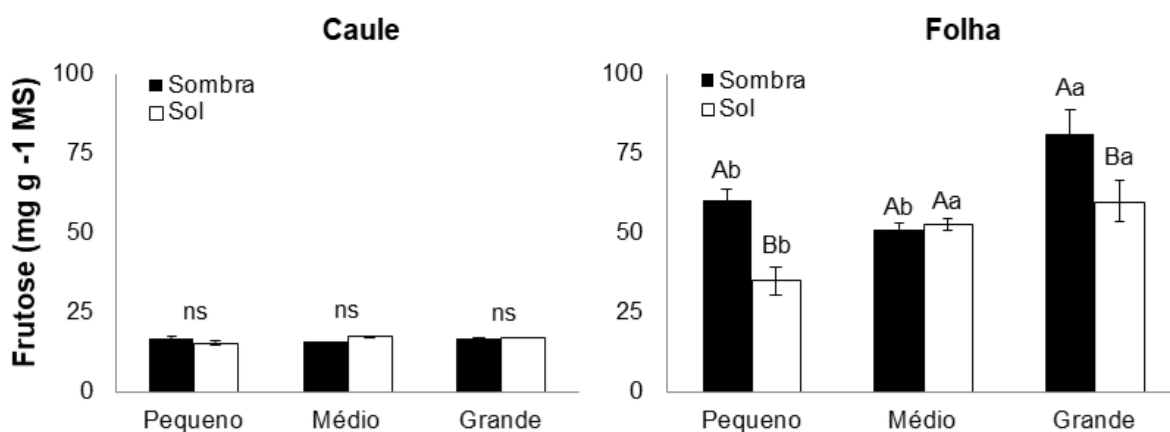


Figura 17: Teor de frutose em caule e folha de três morfotipos de *Paubrasilia echinata* na fase adulta. Letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). Letras maiúsculas comparam os tratamentos dentro de cada morfotipo, e letras minúsculas comparam os três morfotipos dentro de cada tratamento. ns = não significativo. Os valores são médias e as barras \pm erro padrão (n=5).

A sacarose caulinar diferiu significativamente entre as irradiâncias nos três morfotipos. No morfotipo pequeno o maior valor foi encontrado na sombra, enquanto nos morfotipos médio e grande em pleno sol. O morfotipo grande se destacou por apresentar maior diferença entre os tratamentos, sendo que o valor em pleno sol superou em 55 % o valor obtido na sombra. Comparando os três morfotipos em pleno sol, nota-se que o morfotipo grande mostrou maior teor de sacarose, seguido do morfotipo médio e do morfotipo pequeno.

O teor de sacarose das folhas também mostrou diferença significativa entre os tratamentos dos morfotipos pequeno e grande, com maior valor do primeiro na sombra e do último em pleno sol. O valor de sacarose das folhas do morfotipo médio não variou entre os tratamentos. Na sombra, o teor de sacarose

do morfotipo pequeno foi 30 % maior em relação ao pleno sol. Analisando os resultados na sombra, o teor de sacarose da folha do morfotipo pequeno foi maior do que o teor dos morfotipos médio e grande. Em pleno sol, os morfotipos grande e médio apresentaram valores maiores que o morfotipo pequeno (Figura 18).

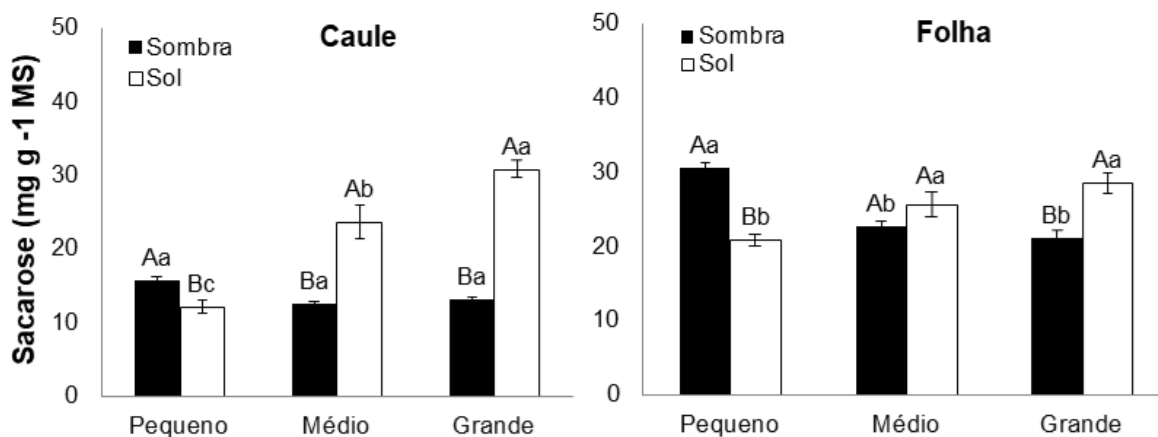


Figura 18: Teor de sacarose em caule e folha de três morfotipos de *Paubrasilia echinata* na fase adulta. Letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). Letras maiúsculas comparam os tratamentos dentro de cada morfotipo, e letras minúsculas comparam os três morfotipos dentro de cada tratamento. Os valores são médias e as barras \pm erro padrão ($n=5$).

O teor de amido caulinar também mostrou diferença significativa entre os tratamentos dos morfotipos pequeno e grande, com maior valor do primeiro na sombra e do último em pleno sol. O valor de amido no caule do morfotipo médio não variou entre os tratamentos. Na sombra, o teor de amido do morfotipo pequeno foi 27 % maior que em pleno sol. Em pleno sol, o morfotipo grande apresentou valor 20 % maior que na sombra. Comparando os três morfotipos na sombra, não houve diferença significativa entre eles. Em pleno sol, o morfotipo grande apresentou o maior valor, seguido do morfotipo médio e do pequeno.

Da mesma forma ao observado no caule, as concentrações de amido das folhas também mostraram diferenças significativas entre os tratamentos para os morfotipos pequeno e grande, e sem nenhuma diferença com o morfotipo médio. Na sombra, o teor de sacarose da folha do morfotipo pequeno foi 22 % maior em relação ao pleno sol, porém, foi o morfotipo que apresentou os mais baixos valores de sacarose foliar. Em pleno sol, o morfotipo grande apresentou teor 12% maior que na sombra. Comparando os três morfotipos dentro de cada tratamento, o morfotipo grande mostrou maior valor, seguido do morfotipo médio e do morfotipo pequeno, tanto na sombra quanto em pleno sol (Figura 19).

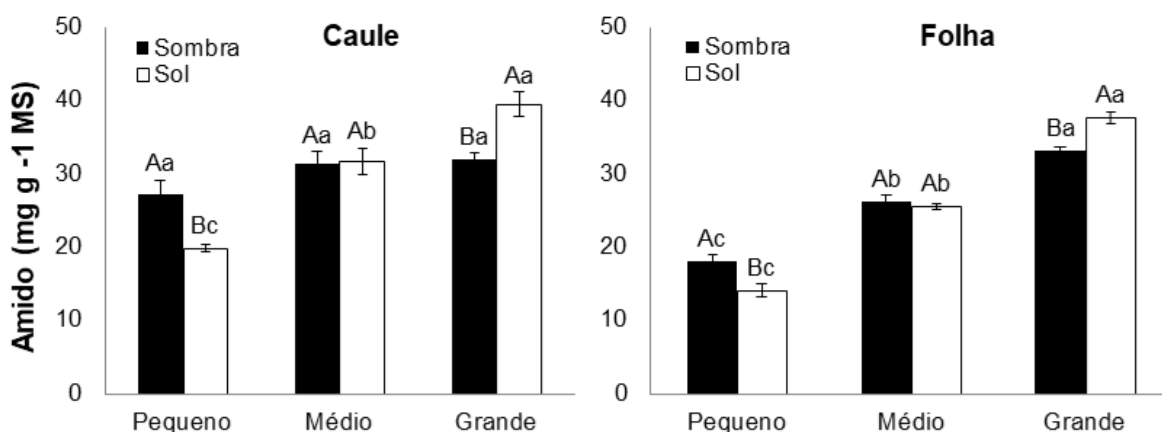


Figura 19: Teor de amido em caule e folha de três morfotipos de *Paubrasilia echinata* na fase adulta. Letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). Letras maiúsculas comparam os tratamentos dentro de cada morfotipo, e letras minúsculas comparam os três morfotipos dentro de cada tratamento. Os valores são médias e as barras \pm erro padrão ($n=5$).

7. DISCUSSÃO

Nos dois experimentos realizados neste estudo, os morfotipos pequeno, médio e grande de *Paubrasilia echinata*, responderam de forma diferenciada as irradiâncias aplicadas. Como era esperado, os parâmetros fotossintéticos investigados e o acúmulo de carbono, foram influenciados pela intensidade da irradiância.

7.1 Experimento I: Dinâmica do fluxo e reservatórios de carbono em três morfotipos de Pau-brasil na fase juvenil, sob irradiância contrastante.

Os morfotipos médio e grande apresentaram melhor desempenho fotossintético em pleno sol, tanto fotoquímico (F_v/F_M) quanto bioquímico (assimilação de $CO_2 - A$). Essa maior eficiência da fotossíntese dos morfotipos médio e grande em pleno sol, está relacionada à maior abertura estomática que proporcionou maior influxo de CO_2 (C_i) e, conseqüentemente, maior taxa de fotossíntese (A) (MARCHESE et al., 2008).

Também em pleno sol, os morfotipos médio e grande demonstraram maior eficiência no uso da água (A/E e A/g_s), mesmo perdendo mais água através da transpiração (E). Situação semelhante foi relatada por Siegert e Levia (2011) em espécies tropicais pioneiras que apresentaram elevada capacidade em tolerar altas irradiâncias, mesmo com menor disponibilidade de água.

O morfotipo pequeno apresentou valores maiores de A , C_i , A/E e A/g_s na sombra, o que confirma as características umbrófilas desse morfotipo, como sugerido por Mengarda et al. (2012). Trabalhando com espécies umbrófilas do gênero *Graptophyllum*, Thach et al. (2007), sugeriu que espécies com alta sensibilidade fotossintética à alta irradiância, podem apresentar inibição da atividade da Rubisco ou fotodano.

As atividades fotossintéticas tendem a influenciar na síntese e acúmulo dos polímeros de parede celular nos órgãos fonte (folha) e dreno (caule) (DELUCIA et al., 1985). As paredes celulares estão sujeitas a diferentes interações e conexões que permitem que as plantas controlem suas propriedades e funções (BUCKERIDGE, 2015; CORNUAULT et al., 2014). Em pleno sol, os morfotipos médio e grande investiram menos na produção de celulose e hemicelulose caulinar e foliar do que na sombra. Isso pode ser devido à necessidade de maior incremento de lignina na parede celular dessas plantas em pleno sol, pertinente a conhecida natureza fenólica fotoprotetora dessa substância que se acumula na parede celular e em espaços intercelulares, amenizando os efeitos da alta exposição à irradiância solar (ZAGOSKINA et al. 2003). Essa estratégia de proteção, provavelmente favoreceu os morfotipos heliófilos a apresentarem boas taxas fotossintéticas em pleno sol, sem sofrer fotoinibição. Por outro lado, o morfotipo pequeno não conseguiu esse bom desempenho, mostrando-se mais vulnerável ao pleno sol, o que possivelmente explica suas menores taxas fotossintéticas nessa condição, comportando-se dessa forma, como umbrófilo.

É importante destacar que o acúmulo de substâncias fenólicas como a lignina, já foi discutido como parâmetro na classificação funcional de um grupo de plantas. Espécies do gênero *Populus* foram questionadas, se umbrófilas ou heliófilas, e o maior teor foliar dessas substâncias foi descartado como justificativa para o comportamento umbrófilo (HARDING et al. 2009).

Poorter e Bongers (2006) por sua vez, afirmam que maiores concentrações de lignina foliar em plantas tropicais, supostamente resultariam em células mais densas e, conseqüentemente, proporcionariam menores taxas fotossintéticas devido à limitação espacial para difusão de CO_2 dentro da folha. Ao menos para os três morfotipos de *Paubrasilia echinata* em pleno sol na fase juvenil, isso não foi observado. A proteção contra fotoinibição proporcionada pelo acúmulo de lignina foi mais proveitosa para as plantas, mesmo com o conseqüente aumento

da densidade foliar, visto que os morfotipos médio e grande alcançaram taxas fotossintéticas mais elevadas que o morfotipo pequeno.

No caule, os morfotipos médio e grande apresentaram maiores teores de hemicelulose na sombra. Isso pode ser uma estratégia dessas plantas para escapar da sombra, visto que diversos estudos relacionam o acúmulo de hemicelulose caulinar com a extensão da parede celular e, conseqüentemente, com o alongamento dos caules e ramos (LE GALL et al., 2015)

7.2 Experimento II: Dinâmica do fluxo e reservatórios de carbono em três morfotipos de Pau-brasil na fase adulta, sob irradiância contrastante.

Os morfotipos médio e grande também apresentaram melhor desempenho fotossintético bioquímico (assimilação de CO_2 - A) em pleno sol. Este dado é uma evidência de que ambos morfotipos mantiveram na fase adulta, o comportamento heliófilo sugerido por Gama (2017) para plantas juvenis. Contudo, o morfotipo grande não apresentou diferenças significativas entre os tratamentos com relação à condutância estomática (g_s) e concentração de carbono interno (C_i), parâmetros que geralmente ratificam esse maior desempenho (MARCHESE et al., 2008). O morfotipo pequeno apresentou maior influxo de CO_2 (C_i) em pleno sol, mas foi na sombra que demonstrou maior eficiência no uso da água (A/E e A/g_s) e melhor eficiência instantânea de carboxilação (A/C_i).

Maiores teores de glicose e frutose foliar são esperados em plantas que apresentam maior a taxa fotossintética (A) (MARENCO et al. 2001). Como a fotossíntese dos morfotipos médio e grande foi maior em pleno sol, era esperada uma maior concentração desses açúcares solúveis nas folhas desses morfotipos, o que não foi constatado. Um fator a ser ponderado, é que as análises foram pontuais, não sendo consideradas as atividades metabólicas das plantas, nos dias que antecederam a coleta. Portanto, as plantas poderiam estar em maior atividade fotossintética, mas devido a um possível maior metabolismo celular do indivíduo analisado, os fotoassimilados podem ter sido metabolizados mais rapidamente, drenados para o caule ou sequestrados para a síntese de sacarose, amido e polímeros de parede celular (PORTES et al. 2010).

A sacarose é um dos principais produtos da fotossíntese, representando boa parte do carbono que é fixado nas folhas, além de ser precursora da celulose

e da hemicelulose (polímeros de parede celular) (DENNIS e BLAKELY, 2000; NOVAES et al. 2010). Nos caules, por exemplo, os morfotipos médio e grande em pleno sol acumularam mais sacarose, associada a maior produção de hemicelulose das plantas desses morfotipos nessa condição. Diferentemente, o morfotipo pequeno acumulou mais sacarose e hemicelulose na sombra. Esses resultados permitem hipotetizar que os maiores teores de sacarose estimularam a sínteses de hemiceluloses (HARDING et al., 2009). O acúmulo de hemiceluloses se torna importante para o estabelecimento das plantas no dossel, visto que além da função estrutural, cada vez mais estudos com arbóreas sugerem a capacidade de remobilização desse polímero como fonte energética, funcionando como uma espécie de reserva natural das plantas sob estresse (SCHELLER, 2010).

Outra estratégia conhecida para superar as adversidades e aumentar as taxas de sobrevivência, é a alocação de carbono para o caule na forma de amido, como reserva temporária (POORTER; KITAJIMA, 2007). Em pleno sol, os teores de amido encontrados nos caules dos três morfotipos, seguiram o mesmo padrão dos teores encontrados nas folhas, onde o morfotipo grande apresentou o maior valor, o morfotipo médio valor intermediário e o morfotipo pequeno, valor inferior aos demais. Esses dados indicam uma possível maior resistência do morfotipo grande aos estresses, por apresentar maior capacidade de acúmulo de reservas.

Uma correlação positiva entre biossíntese de lignina e concentração de amido foi observada em alguns estudos com espécies arbóreas (HARDING et al., 2009; NOVAES et al., 2010). Analisando os teores caulinares e foliares de amido e lignina dos três morfotipos, percebe-se que somente o morfotipo grande parece seguir essa tendência. Isso sugere que a produção de lignina nos caules e folhas está mais relacionada a uma resposta dessas plantas a alta irradiância (LE GALL et al. 2015), uma vez que os três morfotipos apresentaram valores maiores de lignina caulinar e foliar em pleno sol. Esse incremento de lignina provavelmente ocorreu para evitar fotodanos nas folhas e fotoinibição da fotossíntese (ZAGOSKINA et al. 2003). É importante ressaltar que esse composto fenólico é também, parcialmente responsável pela resistência e compressão da parede celular, conferindo rigidez aos caules (VANHOLME et al. 2010). Assim sendo, a lignina tem relação com a qualidade da madeira. E de fato, a maior qualidade da madeira para produção de arcos de instrumentos musicais, está relacionada ao acúmulo de lignina no caule de *P. echinata* (ANGYALOSSY et al. 2005). Portanto,

é valoroso destacar que os três morfotipos apresentaram teores caulinares de lignina significativamente maiores em pleno sol. Dentre os três, os morfotipos médio e grande se destacaram pelos maiores teores de lignina em pleno sol quando comparado com o morfotipo pequeno nessa mesma condição.

8. CONCLUSÕES

Os três morfotipos de *Paubrasilia echinata* Lam. (pequeno, médio e grande) apresentam diferenças fisiológicas entre eles em relação à intensidade da irradiância. Essas diferenças em seus parâmetros fotossintéticos e reservatórios de carbono são também influenciados pela ontogenia.

Plantas juvenis dos três morfotipos apresentaram baixos teores de celulose caulinar nas duas condições de luz. Os morfotipos médio e grande investiram mais na produção de celulose e hemicelulose foliar na sombra, enquanto em pleno sol houve maior incremento de lignina.

Plantas adultas dos três morfotipos apresentaram maiores teores de lignina nos caules e folhas em pleno sol. Nos caules das plantas adultas foi observada ainda, menor concentração dos açúcares solúveis (glicose e frutose) e um acúmulo maior de sacarose e amido nos morfotipos médio e grande em pleno sol. Já nas folhas das plantas adultas, a frutose foi o açúcar solúvel mais abundante, e o morfotipo grande apresentou maior concentração de amido em relação ao pequeno tanto na sombra quanto em pleno sol.

Concluiu-se ainda, melhor desempenho fotossintético dos morfotipos médio e grande quando em pleno sol e do morfotipo pequeno na sombra, em ambos os experimentos. Diante dessas informações, fica evidente a classificação funcional dos morfotipos médio e grande como heliófilos e do morfotipo pequeno como umbrófilo.

9. REFERÊNCIAS

- AGUIAR FFA, KANASHIRO S, TAVARES AR, NASCIMENTO TDR, ROCCO FM (2011) Crescimento de mudas de pau-brasil (*Caesalpinia echinata* Lam.), submetidas a cinco níveis de sombreamento. **Revista Ceres** 58(6): 871-875. 2011.
- ALMEIDA LP, ALVARENGA AA, CASTRO EM, ZANELA SM, Vieira CV (2004) Crescimento inicial de plantas de *Cryptocaria aschersoriana* Mez. submetida a níveis de radiação solar. **Ciência Rural** 34(1):83-88. 2004.
- AMARAL, L.I.V.; GASPAR, M.; COSTA, P.M.F.; AIDAR, M.P.M.; BUCKERIDGE, M.S. Novo método enzimático rápido e sensível de extração e dosagem de amido em materiais vegetais. **Hoehnea**, v. 34, p. 425-431, 2007.
- ANDRADE, M.A. Avaliação do uso de radiação micro-ondas e ultrassom combinados com agentes químicos como pré-tratamentos de bagaço de cana de açúcar para posterior hidrólise enzimática. **Dissertação de Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos** – Universidade Estadual Paulista, São José do Rio Preto. 2009.
- ANGYALOSSY V; AMANO, Erika; ALVES, Edenise Segala (2005) Madeiras utilizadas na fabricação de arcos para instrumentos de corda: aspectos anatômicos. **Acta Bot. Bras.**, São Paulo, v. 19, n. 4, p. 819-834, Dec. 2005.
- AVIGAD, G.; DEY, P.M. Carbohydrate Metabolism: storage carbohydrates. *In*: DEY, P. M & HARBORNE, J.B. (Ed). **Plant Biochemistry**. New York: Academic Press, p. 143, 169, 177, 191-192, 1997.
- AWANO, T.; TAKABE, K.; FUJITA, M. Xylan and lignin deposition on the secondary wall of *Fagus crenata* fibers. *In*: MOROHOSHI, N.; KOMAMINE, A. (Ed.). **Molecular Breeding of Woody Plants**. Arnstadt: Elsevier Science, p. 137-142, 2001.
- BARONI AM (2005) Caracterização do sistema fotossintético em folhas de plantas jovens de *Caesalpinia echinata* Lam. (pau-brasil). **Dissertação, Instituto de Botânica de São Paulo**. 2005.
- BIDHENDI, J.A.; GEITMANN, A. Relating the mechanics of the primary plant cell wall to morphogenesis. **Journal of Experimental Botany**, v. 67, n. 2, p. 449–461, 2015.
- BRENDEL O, LOSETTA PPMG, STEWART D; A rapid and simple method to isolate pure alpha cellulose. **Phytochem Annal** 17:7-10. 2000.
- BUCKERIDGE, M.S.; AIDAR, M.P.M. Carbon sequestration in the rain forest: alternatives using environmentally friendly biotechnology. **Biota Neotropica**, v. 2, n. 1, p. 1-5, 2002.
- BUCKERIDGE, M.S.; CAVALARI, A.A.; SILVA, G.B. Parede Celular. *In*: KERBAUY, G.B. (Ed.). **Fisiologia Vegetal**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 165-181, 2008.

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? **Fenologia - Ferramenta para conservação e manejo de recursos vegetais arbóreos** (Editores Técnicos). Colombo, PR: Embrapa Florestas, 2007.

BUDOWSKI, A. Distribution of tropical rain forest species in the light of Successional progress. **Turrialba**, v. 15, p. 40-42, 1965.

CAMPOS MAA, UCHIDA T (2002) Influência do sombreamento no crescimento de mudas de três espécies amazônicas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira** 37(3):281-288. 2002.

CANILHA, L.; MILAGRES, A.M.F.; SILVA, S.S.; ALMEIDA SILVA, J.B.; FELIPE, M.G.A.; ROCHA, G.J.M.; FERRAZ, A.; CARVALHO, W. Sacarificação da biomassa lignocelulósica através de pré-hidrólise ácida seguida por hidrólise enzimática: uma estratégia de “desconstrução” da fibra vegetal. **Revista Analytica**, n. 44, p. 48-54, 2010.

CARDOSO MA, PROVAN J, POWELL W, Ferreira PCG, De Oliveira DE (1998) High genetic differentiation among remnant populations of the endangered *Caesalpinia echinata* Lam. (Leguminosae-Caesalpinioideae). **Molecular Ecology** 7:601–608. 1998.

CARDOSO SRS, Provan J, LIRA CDF, PEREIRA LDOR, Ferreira PCG, CARDOSO MA (2005) High levels of genetic structuring as a result of population fragmentation in the tropical tree species *Caesalpinia echinata* Lam. **Biodiversity and Conservation** 14(5): 1047–1057. 2005.

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**, v. 3, n. 1, p. 1-30, 1993.

CORNUAULT, V.; MANFIELD. I.W.; RALET, M.; KNOX, J.P. Epitope detection chromatography: a method to dissect the structural heterogeneity and inter-connections of plant cell wall matrix glycans. **Plant Journal**, v. 78, n.4, p. 715–722, 2014.

COUÉE, I.; SULMON, C.; GOUESBET, G.; AMRANI, A. E. Involvement of soluble sugars in reactive oxygen species balance and responses to oxidative stress in plants. **Journal of Experimental Botany**, v. 57, n. 3, p. 449-459, 2006.

CUZZUOL GRF and MILANEZ CRD (2012) Morphological and Physiological Adjustments in Juvenile Tropical Trees Under Constrastaing Sunlight Irradiance. In: Mohammad Mahdi Najafpour. (Org.). **Photosynthesis - Fundamental Aspects**. Rijeka: InTech - Open Access Publisher 1:501- 518. 2012.

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.

DELUCIA, E.H.; SASEK, T.S.; STRAIN, B.R. Photosynthetic inhibition after long-term exposure to elevated levels of atmospheric carbono dioxide. **Photosynthesis Research**, v. 7, p. 175-184, 1985.

DENNIS, D.T.; BLAKELEY, S.D. Carbohydrate Metabolism. *In*: BUCHANAN, B.; GRUISSEM, W.; JONES, R. (Ed.). **Biochemistry and Molecular Biology of Plants**. American Society of Plant Physiologists. p. 630-675, 2000.

DODD, D.; CANN, I. K. O. Enzymatic deconstruction of xylan for biofuel production. **Global Change Biology Bioenergy**, v. 1, n.1, p. 2–17, 2009.

DOS SANTOS WD, FERRARESE ML, NAKAMURA CV, MOURÃO KSM, MANGOLIN CA, FERRARESE O; Soybean (*Glycine max*) root lignification induced by ferulic acid: the possible mode of action. **J Chem Ecol** 34:1230-1241. 2008.

DUZ S. R.; SIMINSKI A.; SANTOS M.; PAULILO M. T. S. Crescimento inicial de três espécies de arbóreas da floresta atlântica em resposta a variação na quantidade de luz. **Revista Brasileira de Botânica**. v. 27, 587-596, 2004.

Equipe de artes SEaD/UFSCar. **Livre Saber** - Repositório Digital de Materiais Didáticos. 2011. Acesso em 10 de janeiro de 2019.

EVANS, J. R.; LORETO, F. Acquisition and diffusion of CO₂ in higher plant leaves. *In*: LEEGOOD, R. C.; SHARKEY, T.; von CAEMMERER, S. **Photosynthesis: Physiology and Metabolism**. Kluwer Academic Publishers, p.321-351, 2000.

FAVARETTO, V. F. Estudo comparativo dos mecanismos de defesa contra radicais livres em espécies arbóreas pioneiras e não pioneiras de Mata Mesófila Semidecidual. **Tese de Doutorado** - Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras, USP. p.196, 2009.

FENGEL, D.; WEGENER, G. **Wood: Chemistry, ultrastructure and reactions**. Berlin: GRUYTER, W. 1989.

FRANCO N, IOYO T (2008) Propriedades físicas, mecânicas e acústicas da madeira do pau-brasil. *In*: Figueiredo-Ribeiro RCL, Barbedo CJ, Alves ES, Domingos M, Braga MR (eds), **Pau-Brasil, da Semente à Madeira**, pp. 145- 158. Instituto de Botânica, São Paulo, Brasil. 2008.

GAGNON E, BRUNEAU A, HUGHES CE, Queiroz LP, Lewis GP (2016) A new generic system for the pantropical Caesalpinia group (Leguminosae). **PhytoKeys** 71: 1–160. 2016.

GAMA Vinicius Novo; Análises morfofisiológicas de plantas de pau-brasil (*Caesalpinia echinata* Lam.) cultivadas em ambientes lumínicos distintos. **Dissertação de mestrado**, Universidade Federal do Espírito Santo. 2013.

GAMA Vinicius Novo; Caracterização morfofisiológica e bioquímica de três morfotipos de *Paubrasilia echinata* Lam. em resposta à luz. **Tese de doutorado em Biologia Vegetal**. Universidade Federal do Espírito Santo. 113 f.: il. 2017.

GOMES, E.; GUEZ, M.A.U.; MARTIN, N.; SILVA, R. Enzimas termoestáveis: fontes, produção e aplicação industrial. **Química Nova**, v. 30, n. 1, p. 136-145, 2007.

GOTTLIEB O. R.; KAPLAN M. A. C.; BORIN M. R. M. B. Biodiversidade: um enfoque químico biológico. Rio de Janeiro: Ed. **UFRJ**. p.267, 1996.

HAMANN, T. Plant cell wall integrity maintenance as an essential component of biotic stress response mechanisms. **Plant Physiology**, v. 3, n. 77, 2012.

HARDING SA, JARVIE MM, LNDROTHF RL, TSAI CJ. A comparative analysis of phenylpropanoid metabolism, N utilization, and carbon partitioning in fast- and slow-growing *Populus* hybrid clones. **J Exp Bot** 60:3443-3452. 2009.

IBF – INSTITUTO BRASILEIRO DE FLORESTAS. Website www.ibflorestas.org.br. Acesso em 27 de dezembro de 2018.

INCAPER - INSTITUTO CAPIXABA DE PESQUISA ASSISTÊNCIA TÉCNICA E EXTENSÃO RURAL. **Boletim meteorológico** de Vitória e Domingos Martins. 2014, 2015. Acesso em 03 de setembro de 2018.

JUCHUM FS, COSTA MA, Amorim AM, Corrêa RX (2008) Phylogenetic relationships among morphotypes of *Caesalpinia echinata* Lam. (Caesalpinioideae: Leguminosae) evidenced by trnL intron sequences. **Naturwissenschaften** 95:1085–1091. 2008.

KAKURÁKOVÁ, M.; CAPEK, P.; WELLNER, N.; EBRINGEROVÁ, A. FT-IR study of plant cell model compounds: pectic polysaccharides and hemicelluloses. **Carbohydrate Polymers**, v. 43, p. 195-203, 2000.

KITAJIMA K (1996) Ecophysiology of tropical tree seedlings. In: Mulkey SS, Chazdon RL, Smith AP (eds) **Tropical forest plant ecophysiology**. Chapman e Hall, New York, 559-595. 1996.

KLOCK U, MUNIZ GIB, HERNANDEZ JA, ANRADE AS. Química da madeira. FUFPEF: **Fundação de Pesquisas Florestais do Paraná**.(Série Didática, n.4). 2005.

KOERSELMAN, W.; MEULEMAN A. F. M. The vegetation N:P ratio: a new tool to detect the nature of nutrient limitation. **Journal of Applied Ecology**, v. 33, p. 1441-1450, 1996.

KÖRNER, C. Responses of Humid Tropical Trees to Rising CO₂. **The Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics**, v. 40, p. 61-79, 2009.

LAMBERS, H.; CHAPIM III, F.S.; PONS, T.L. **Plant Physiological Ecology**. New York: Springer, 2006.

LAMBERS, H.; CHAPIM III, F.S.; PONS, T.L. **Plant Physiological Ecology**. 2 ed. New York: Springer, 2008.

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

LAWOKO, M.; HENRIKSSON, G.; GELLERSTEDT, G. Characterization of lignin carbohydrate complexes (LCCs) of spruce wood (*Picea abies* L.) isolated with two methods. **Holzforschung**, v. 60, n. 2, p. 156-161, 2006.

LE GALL H, PHILLIPPE F, DOMON J, GILLET F, Pelloux J and RAYON C. Cell Wall Metabolism in Response to Abiotic Stress. **Plants**. 2015.

LEE, H. V; HAMID, S. B. A.; ZAIN, S. K. Conversion of lignocellulosic biomass to nanocellulose: structure and chemical process. **The Scientific World Journal**, v. 2014, p. 1–22, 2014.

LEEGOOD, R.C.; SHARKEY, T.; von CAEMMERER, S. Introduction. *In*: LEEGOOD, R.C.; SHARKEY, T. & von CAEMMERER, S. (Ed.). **Photosynthesis: Physiology and Metabolism**. Kluwer Academic Publishers, p. 1-8, 2000.

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.

LIMA HC (1992) Aspectos botânicos do pau-brasil. *In*: Cunha MW, Lima HC (1992) **Viagem à terra do pau-brasil**. Rio de Janeiro: Agência Brasileira de Cultura, p. 23-38. 1992.

LIRA CF, CARDOSO SRS, FERREIRA PCG, Cardoso MA, Provan J (2003) Long-term population isolation in the endangered tropical tree species *Caesalpinia echinata* Lam. revealed by chloroplast microsatellites. **Molecular Ecology** 12(12): 3219–3225. 2003.

LOMBARDI, Daniel. 2005. Lombardi Arcos. Relato pessoal. Disponível em www.lombardiarcos.arq.br. Acesso em 10 de novembro de 2018.

LORENZI H (2002) Árvores brasileiras. 4 ed, v. 1. Nova Odessa: **Plantarum** 2002.

LOVELOCK, C. E.; OSMOND C. B.; JEBB M. Photoinhibition and recovery in tropical plant species: response to disturbance. **Oecologia**, v.97, p. 297, 1994.

MCNAMARA, J. T.; MORGAN, J. L. W.; ZIMMER, J. A molecular description of cellulose biosynthesis. **Annual Review of Biochemistry**, v. 84, n. 1, p. 895–921, 2015.

MAGEL, E.; EINIG, W.; HAMPP, R. Carbohydrates in trees. *In*: GUPTA, A.K.; KAUR, N. (Ed.). Carbohydrates Reserves in Plants: Synthesis and Regulation. **Developments in Crop Science**, v. 26, p. 317-336, 2000.

MARCHESE JA, MATTANA RS, MING LC, BROETTO F, Vendramini PF, Moraes RM. Irradiance stress responses of gas exchange and antioxidant enzyme contents in pariparoba [*Pothomorphe umbellata* (L.) Miq.] plants. **Photosynthetica** 46(4): 501-505. 2008.

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.

MARTIN, W.; SCHEIBE, R.; SCHNARRENBERGER, C. The Calvin Cycle and its regulation. *In*: LEEGOOD, R. C.; SHARKEY, T. & von CAEMMERER, S. (Ed.). **Photosynthesis: Physiology and Metabolism**. Kluwer Academic Publishers, p. 9-51, 2000.

MENGARDA LHG, MILANEZ CRD, SILVA DM, AGUILAR MAG, CUZZUOL GRF (2012) Morphological and physiological adjustments of brazilwood (*Caesalpinia echinata* Lam.) to direct solar radiation. **Brazilian Journal of Plant Physiology** 24(3):161-172. 2012.

MENGARDA LHG, SOUZA RLF, CAMPOSTRINI E, REIS FO, Vendrame WA, CUZZUOL RRF (2009) Light as an indicator of ecological succession in brazilwood (*Caesalpinia echinata* Lam.). **Brazilian Journal of Plant Physiology** 21:55-64. 2009.

MENGARDA, L. H. G. Respostas morfofisiológicas de plantas jovens de Pau – Brasil (*Caesalpinia echinata* Lam – Leguminosae) à radiação solar. 2010. 97 p. **Dissertação (Mestrado)** – Programa de Pós Graduação em Biologia Vegetal, Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória, 2010.

NISHIKAWA, F.; KATO, M.; HYODO, H.; IKOMA, Y.; SUGIURA, M.; YANO, M. Effect of sucrose on ascorbate level and expression of genes involved in the ascorbate biosynthesis and recycling pathway in harvested broccoli florets. **Journal of Experimental Botany**, v. 56, n. 409, p. 65-72, 2005.

NOVAES, E.; KIRST, M.; CHIANG, V.; WINTER-SEDEROFF, H.; SEDEROFF, R. Lignin and biomass: A negative correlation for wood formation and lignin content in trees. **Plant Physiology**, v. 154, p. 555-561, 2010.

PIERCE R (2002) The big issue. **The Strad** 8:840-843. 2002.

POORTER L, BONGERS F. Leaf traits are good predictors of plant performance across rain forest species. **Ecology** 87(7):1733-1743. 2006.

POORTER, L.; KITAJIMA, K. Carbohydrate storage and light requirements of tropical moist and dry forest tree species. **Ecology, Ecological Society of America**, v. 88, n. 4, p. 1000-1011, 2007.

PORTES, M.T.; DAMINELI, D.S.C.; RIBEIRO, R.V.; MONTEIRO, J.A.F.; SOUZA, G.M. Evidence of higher photosynthetic plasticity in the early successional *Guazuma ulmifolia* Lam. compared to the late successional *Hymenaea courbaril* L. grown in contrasting light environments. **Brazilian Journal of Biology**, v. 70, n. 1; p. 75-83, 2010.

PRICE, J.; LAXMI, A.; MARTIN, S.K.S.; JANG, J.C. Global transcription profiling reveals multiple sugar signal transduction mechanisms in Arabidopsis. **The Plant Cell**, v. 16, p. 2128-2150, 2004.

RAES, J.; ROHDE, A.; CHRISTENSEN, J.H.; VAN DE PEER, Y.; BOERJAN, W. Genome-wide characterization of the lignifications toolbox in Arabidopsis. **Plant Physiology**, v. 133, n. 3, p. 1051-1071, 2003.

REITER, W. D. Biosynthesis and properties of the plant cell wall. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 5, n. 6, p. 536–542, 2002.

RIAZI A, MATSUDA K, ARSLAN A (1985) Water-stress induced changes in concentrations of proline and other solutes in growing regions of young barley leaves. **J Exp Botany** 36(11):1716-1725. 1985.

RIBEIRO R.V.; SOUZA G.M.; OLIVEIRA R.F.; MACHADO E.C. Photosynthetic responses of tropical tree species from different successional groups under contrasting irradiance conditions. **Revista Brasileira de Botânica**. v.28, p.149-161, 2005.

ROCHA YT, SIMABUKURU EA (2008) Estratégias de conservação in situ e ex situ do pau-brasil. In: Figueiredo-Ribeiro RCL, Barbedo CJ, Alves ES, Domingos M, Braga MR (2008) **Pau-Brasil da semente à madeira**. São Paulo: Instituto de Botânica de São Paulo 102-113. 2008.

RODY Yhasmin Paiva; Balanço de carbono e trocas gasosas nos diferentes compartimentos em plantios de eucalipto. **Tese de doutorado em Meteorologia Agrícola**. Universidade Federal de Viçosa. 92 f.: il. 2013.

ROLAND, J.C.; REIS, D.; VIAN, B. Liquid crystal order and turbulence in the planar twist of the growing plant cell walls. **Tissue and Cell**, Siena, v. 24, n. 3, p. 335-345, 1992.

SCHÄDEL, C.; RICHTER, A.; BLÖCHL, A.; HOCH, G. Short-term dynamics of nonstructural carbohydrates and hemicelluloses in young branches of temperate forest trees during bud break. **Tree Physiology**, v. 29, n. 7, p. 901–911, 2009.

SCHELLER HV, ULVSKOV P. Hemicelluloses. **Annual Review of Plant Biology**. Califórnia. 2010.

SHADEL C, BLOCHL A, RICHTER A, HOCH G; Quantification and monosaccharide composition of hemicelluloses from different plant functional types. **Plant Physiol Bioch** 48:1-8. 2010.

SIEGERT CM, LEVIA DF. Stomatal conductance and transpiration of co-occurring seedlings with varying shade tolerance. **Trees** 25:1091–1102. 2011.

SILVA, F. de A. S. e.; AZEVEDO, C. A. V. de. The Assistat Software Version 7.7 and its use in the analysis of experimental data. **Afr. J. Agric. Res**, v.11, n.39, p.3733-3740, 2016. DOI: 10.5897/AJAR2016.11522. 2016.

SMEEKENS, S. Sugar-induced signal transduction in plants. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, v. 51, p. 49-81, 2000.

SMITH, A.M.; STITT, M. Coordination of carbon supply and plant growth. **Plant, Cell & Environment**, v. 30, n. 9, p. 1126-1149, 2007.

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

STIRBET, A.; RIZNICHENO, Y.; RUBIN, A. B.; GOVINDJEE. Modeling chlorophyll a fluorescence transient: Relations to photosynthesis. **Biochemistry (Moscow)**. v. 79, n. 4, p. 291-323, 2014.

STITT, M. Rising CO₂ levels and their potential significance for carbon flow in photosynthetic cells. **Plant, Cell and Environment**, v. 14, n. 8, p. 741-762, 1991.

STRASSER, B. J., STRASSER, R. J. Measuring fast fluorescence transients to address environmental questions: The JIP-test. In: P. Mathis, (Ed.) **Photosynthesis: from 74 Light to Biosphere**. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, Netherlands, p. 977-980, 1995.

STRASSER A, TSIMILLI-MICHAELI M, SRIVASTAVA A. Analysis of the fluorescence transient In: Papageorgiou, G. C.; Govindjee (eds.), Chlorophyll

fluorescence: **A signature of photosynthesis**. Advances in Photosynthesis and Respiration Series. Springer: Dordrecht 321-362. 2004.

SUN, Y.; CHENG, J. Hydrolysis of lignocellulosic material for ethanol production: A review. **Bioresource Technology**, n. 83, p. 1-11, 2002.

TANG, Y. Light. In: PRASAD, M.N.V. (Ed.) **Plant Ecophysiology**. New York: John Wiley, p.3-40, 1997.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. Porto Alegre: Artemed, 2013.

TAVARES, E.Q.P.; BUCKERIDGE, M.S. Do cell walls have a code? **Plant Science**, v. 241, p. 286–294, 2015.

THACH LB, SHAPCOTT A, SCHIMIDT S, CRICHELY C. The OJIP fast fluorescence rise characterizes *Graptophyllum* species and their stress responses. **Photosynthesis Research** 94:423-436. 2007.

TIMELL, T.E. Recent progress in the chemistry of wood hemicelluloses. **Wood Science and Technology**, v. 1, n. 1, p. 45–70, 1967.

TRETHERWEY, R.N.; SMITH, A.M. Starch metabolism in leaves. In: LEEGOOD, R.C.; SHARKEY, T.; VON CAEMMERER, S. Photosynthesis: Physiology and Metabolism. **Kluwer Academic Publishers**, p. 205-231, 2000.

VALLADARES F, WRIGHT SJ, LASSO E, KITAJIMA K, PEARC RW (2000) Plastic phenotypic response to light of 16 congeneric shrubs from a Panamanian rainforest. **Ecology** 8:1925–1936. 2000.

VANHOLME, R.; DEMEDTS, B.; MORREEL, K.; RALPH, J.; BOERJAN, W. Lignin Biosynthesis and Structure. **Plant Physiology**, v. 153, p. 895–905, 2010.

VIEIRA, T.O.; LAGE-PINTO, F.; RIBEIRO, D.R.; ALENCAR, T.S.; VITÓRIA, A.P. Estresse luminoso em plântulas de jequitibá-rosa (*Cariniana legalis*, Lecythidaceae): monitoramento da capacidade de aclimação fotossintética sob duas intensidades luminosas. **Vértices**. v. 13, p.129-142, 2012.

WHITNEY, S.E.C.; GOTHARD, M.G.E.; MITCHELL, J.T.; GIDLEY, M.J. Roles of cellulose and xyloglucan in determining the mechanical properties of primary plant cell walls. **Plant Physiology**, v. 121, p. 657-663, 1999.

WÜRTH, M.K.R.; PELÁEZ-RIEDL, S.; WRIGHT, S.J.; KÖRNER, C. Non-structural carbohydrate pools in a tropical forest. **Oecologia**, v. 143, p. 11-24, 2005.

ZAGOSKINKA NV, DUBRAVINA GA, ALYAVINA AK, GONCHARUK EA. Effect of ultraviolet (UV-B) radiation on the formation and localization of phenolic compounds in tea plant callus cultures. **Russ J Plant Phys** 50:270-275. 2003.

Z Aidan LBP (2008) Crescimento e propagação de plantas de pau-brasil. In: Figueiredo-Ribeiro RCL, Barbedo CJ, Alves ES, Domingos M, Braga MR (2008) **Pau-Brasil da semente à madeira**. São Paulo: Instituto de Botânica de São Paulo, p. 58-66. 2008.

ZANI LB, MACIEIRA BPB, CORTE VB, MILANEZ CRD, CUZZUOL GRF. The vessel elements and hemicelluloses as the most plastic structural components of the brazilwood ontogeny (*Caesalpinia echinata* Lam.) medium morphotype. **Braz. J. Bot.**. 10.1007/s40415-017-0375-2. 2017.

ZAMITH L. R. & SCARANO F. R. Produção de mudas de espécies das restingas do município do Rio de Janeiro, RJ, Brasil. **Acta Botanica Brasilica**. v.18, p.161-176, 2004.