



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

XISMENIA SOARES DA SILVA GASPARINI

**Alocação de carbono e resposta oxidante
em dois morfotipos de *Paubrasilia echinata* submetidos a
diferentes condições de déficit de pressão de vapor e
temperatura**

VITÓRIA - ES

2019

XISMENIA SOARES DA SILVA GASPARINI

Alocação de carbono e resposta oxidante
em dois morfotipos de *Paubrasilia echinata* submetidos a
diferentes condições de déficit de pressão de vapor e temperatura

Tese 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 Doutor em Biologia Vegetal.

Área de Concentração: Biologia Vegetal

Orientador: Prof.º Dr. Geraldo Rogério Faustini
Cuzzuol

VITÓRIA-ES

2019

Alocação de carbono e resposta oxidante
em dois morfotipos de *Paubrasilia echinata* submetidos a diferentes
condições de déficit de pressão de vapor e temperatura

XISMENIA SOARES DA SILVA GASPARINI

Tese de Doutorado 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 Doutor em Biologia Vegetal na área de concentração Fisiologia Vegetal.

Aprovada em _____ de _____ de 20 ____

Comissão Coordenadora:

Dr. Geraldo Rogério Faustini Cuzzuol - UFES

Orientador e Presidente da Comissão

Dr^a Camilla Rozindo Dias Milanez - UFES

Examinador interno

Dr. Paulo Cezar Cavatte - UFES

Examinador interno

Dr^a Gloria Maria de Farias Viegas Aquipe - IFES

Examinador externo

Dr Marcos Thiago Gaudio Gomes - FAESA

Examinador externo

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

G249a Gasparini, Xismania Soares da Silva, 1986-
Alocação de carbono e resposta oxidante a diferentes condições de déficit de pressão de vapor e temperatura nos morfotipos pequeno e médio de *Paubrasila echinata* / Xismania Soares da Silva Gasparini. - 2019.
81 f. : il.

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

1. Pau brasil. 2. DPV. 3. Temperatura. 4. Carboidratos. 5. ERO'S. I. Cuzzuol, Geraldo Rogério Faustini. II. Universidade Federal do Espírito Santo. Centro de Ciências Humanas e Naturais. III. Título.

CDU: 571

*A Deus pela vida, a minha mãe pelo apoio incondicional,
Ao meus esposo, pelo amor, companheirismo e paciência,
A minha filha pelos afagos e carinhos,*

Dedico.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por iluminar o caminho e me dar forças para essa jornada.

A Fundação de Amparo á Pesquisa do Espírito Santo (FAPES) pela concessão de bolsa e todo auxílio financeiro disponível para a execução desse projeto.

Ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal da Universidade Federal do Espírito Santo, pela infraestrutura para a realização do trabalho.

Ao professor José Eduardo Pezzopane, a Elayne Galvão e todos do Laboratório de Meteorologia e Ecofisiologia Vegetal da UFES – Campus de Jerônimo Monteiro. Sem o auxílio, disposição e parceria de todos vocês, esse grande passo não poderia ser finalizado.

Ao Prof. Dr. Geraldo Rogério Faustini Cuzzuol, meu orientador. Muito obrigada por aceitar esse desafio, pela paciência e sua confiança, foram fundamentais para a conclusão desta pesquisa.

Aos meus colegas de laboratório pela ajuda, apoio e risadas. A Dayana, Franciellen e Leonardo que, ao longo do caminho, se tornaram amigos fundamentais nas horas tenebrosas. O meu profundo agradecimento.

Á Tatiane, uma amiga que descobri ao longo dessa jornada e se tornou peça chave para a conclusão desse trabalho. Acredito no encontro de almas amigas. Obrigada por compartilhar momentos tão importantes, de alegria, tristeza, amargura e risadas. Sem sua ajuda nas análises da madrugada, tarde da noite ou nos fins de semana, nada seria possível.

Aos profissionais da UFES, professores, gestores e coordenadores pelo aprendizado e imprescindível apoio administrativo.

À minha mãe por todos os momentos de socorro. Pelo apoio, palavras de incentivo, cuidado e carinho por todos os anos necessário para a conclusão dessa etapa. Obrigada não descreve o quão significativa foi sua presença.

À minha família pelo apoio. Meu marido Renan por acreditar na minha capacidade, me incentivar e participar de todas as etapas desse processo. Por ser um pai incrível, com o qual eu podia contar sempre e acreditar que minha filha estaria sempre bem cuidada. A minha filha Lyvia por todos os sorrisos que, nos momentos de cansaço, me salvava do desânimo. Obrigado a minha pequena Luana que, chegou ao final dessa etapa, para manter a emoção.

A todos, meu muito obrigada!

“Defina seus valores, estude sobre o conceito, elabore sua tese, mantenha sua convicção e lute por ela. Assim sua vida terá muito mais sentido.”

Luiza Lima

RESUMO

Paubrasilia echinata é uma espécie arbórea originária da Mata Atlântica. Essa espécie apresenta diferentes morfotipos, entre eles o pequeno e médio que se diferem na morfologia e hábito ecológico. O morfotipo pequeno é descrito como uma planta ombrófila, enquanto o morfotipo médio apresenta comportamento heliófilo. A partir dos relatórios climáticos divulgados, nota-se que poderão ocorrer perturbações ambientais decorrentes dessas mudanças. Segundo os relatórios, para porção nordeste da Mata Atlântica espera-se um aquecimento intenso e redução do índice pluviométrico. Já para a porção sul/sudeste, as tendências indicam clima mais quente, com intensificação nos padrões de chuva. Objetivou-se com este trabalho avaliar o efeito combinado de déficit de pressão de vapor (DPV) e temperatura na alocação de carbono, bem como as respostas antioxidantes não enzimáticas (flavonóides, fenóis e MDA), como mecanismos de tolerância a essas alterações climáticas. Para tanto, plantas dos morfotipos pequeno e médio foram submetidos a quatro diferentes ambientes (A) controlados, sendo A1- baixo DPV e temperatura (0,7 KPa e 25,9°C); A2- baixo DPV e alta temperatura (31,6°C e 1,0 KPa); A3- alto DPV e temperatura (32,6°C e 3,1 KPa) e A4- alto DPV e baixa temperatura (26°C e 1,7 KPa). As análises de açúcares solúveis (AS), sacarose, açúcares redutores (AR), amido e polímeros de parede (celulose, hemicelulose e lignina) foram realizados nos três órgãos (folha, caule e raiz) de plantas dos dois morfotipos. Já as análises referentes ao sistema oxidante não enzimático foram realizadas nas folhas. Ambos os morfotipos demonstraram, no ambiente A3, maior concentração de AS foliar em relação ao caule e raiz. Esse resultado apresentou maior concentração de AR e menor concentração de sacarose foliar, uma vez que esse carboidrato pode ser utilizado como osmorregulador, além de ser o principal fotoassimilado translocado em plantas, podendo ser utilizado em outras reações. As raízes do morfotipo pequeno, sob temperatura elevada, apresentaram maior concentração radicular de sacarose em comparação com aos demais ambientes. Observou-se que, nos dois morfotipos, a concentração de AR foi superior em folhas, principalmente em A3. Sob alto DPV, principalmente em A3, o morfotipo pequeno

apresentou maior concentração de amido radicular e menor concentração nas folhas. Já no morfotipo médio, a alocação de amido foi maior nas folhas em relação aos demais órgãos. A maior concentração de amido está relacionada a órgãos de armazenamento (sementes, tubérculos, raízes...) e sua menor concentração foliar está relacionada a condições de estresse. Já a elevada concentração de lignina nas raízes de ambos os morfotipos pode favorecer o transporte de água, além de proteger os tecidos vegetais de degradação química/biológica. A maior concentração de celulose e hemicelulose foi observada nos caules de A1 do morfotipo médio, sendo o inverso para o morfotipo pequeno. Quanto à reação oxidante, o morfotipo pequeno apresentou maior teor de H₂O₂ em A4, onde a peroxidação lipídica, indicada pelo maior teor de MDA, foi maior. O mesmo resultado foi observado para o morfotipo médio no A1. Nessas condições, o sistema antioxidante não enzimático mostrou-se ineficiente devido às menores concentrações de fenóis e flavonóides. Em ambiente de maior temperatura, o morfotipo pequeno (A2) e o morfotipo médio (A3) apresentaram menor concentração de H₂O₂ e MDA. Esse resultado pode sugerir menor dano celular, devido a menor peroxidação lipídica. Sendo assim, pode-se concluir que A1 e A4 aparentam ser condições estressantes para o morfotipo pequeno e médio, respectivamente. Entretanto A2 e A3 podem ser considerados ambientes favoráveis, respectivamente, para os morfotipos pequeno e médio.

Palavras-chave Pau-brasil · DPV · Temperatura · Carboidratos - ERO's

ABSTRACT

Paubrasilia echinata is a tree species originating from the Atlantic Forest. This species has different morphotypes, among them the small and medium that differ in morphology and ecological habit. The small morphotype is described as an ombrophilous plant, while the medium morphotype shows heliophilic behavior. From the climate reports released, it is noted that environmental disturbances may occur as a result of these changes. According to reports, for the northeast portion of the Atlantic Forest is expected intense warming and reduction of rainfall. For the south / southeast portion, trends indicate warmer weather, with intensification in rainfall patterns. The objective of this study was to evaluate the combined effect of vapor pressure deficit (DPV) and temperature on carbon allocation, as well as non-enzymatic antioxidant responses (flavonoids, phenols and MDA) as mechanisms of tolerance to these climate changes. Therefore, plants of small and medium morphotypes were submitted to four different controlled environments (A), being A1- low DPV and temperature (0.7 KPa and 25.9 ° C); A2- low DPV and high temperature (31.6 ° C and 1.0 KPa); A3- high DPV and temperature (32.6 ° C and 3.1 KPa) and A4- high DPV and temperature (26 ° C and 1.7 KPa). The analysis of soluble sugars (AS), sucrose, reducing sugars (AR), starch and wall polymers (cellulose, hemicellulose and lignin) were performed in the three organs (leaf, stem and root) of plants of both morphotypes. Already the analyzes referring to the non- enzymatic oxidant system were performed in the leaves. Both morphotypes showed, in the A3 environment, higher concentration of leaf AS in relation to the stem and root. This result presented higher RA concentration and lower leaf sucrose concentration, since this carbohydrate can be used as osmoregulator, besides being the main translucent photoassimilate in plants and can be used in other reactions. The roots of the small morphotype, under elevated temperature, presented higher root concentration of sucrose compared to the other environments. In both morphotypes, the RA concentration was higher in leaves, especially in A3. Under high DPV, especially in A3, the small morphotype showed higher root starch concentration and lower leaf concentration. In the mean morphotype,

starch allocation was higher in leaves than in other organs. The highest starch concentration is related to storage organs (seeds, tubers, roots ...) and its lower leaf concentration is related to stress conditions. The high concentration of lignin in the roots of both morphotypes may favor water transport, besides protecting plant tissues from chemical / biological degradation. The highest concentration of cellulose and hemicellulose was observed in the medium morphotype A1 stems, and the opposite for the small morphotype. Regarding the oxidative reaction, the small morphotype presented higher content of H₂O₂ in A4, where the lipid peroxidation, indicated by the higher MDA content, was higher. The same result was observed for the average morphotype in A1. Under these conditions, the non-enzymatic antioxidant system was inefficient due to the lower concentrations of phenols and flavonoids. In higher temperature environment, the small morphotype (A2) and the medium morphotype (A3) presented lower concentration of H₂O₂ and MDA. This result may suggest less cellular damage due to lower lipid peroxidation. Thus, it can be concluded that A1 and A4 appear to be stressful conditions for the small and medium morphotype, respectively. However A2 and A3 can be considered favorable environments, respectively, for the small and medium morphotypes.

Keywords Brazil wood. DPV. Temperature. Carbohydrates - ERO's

LISTA DE FIGURAS

Figura 01 - Morfotipos de <i>Paubrasilia echinata</i> : A – morfotipo pequeno; B – morfotipo médio; C – morfotipo grande; D – Os três morfotipos; E – Distribuição geográfica natural dos morfotipos de pau-brasil SV (círculos amarelos), MV (círculos azuis) e LV (círculo vermelho). Adaptado de Juchum, 2008 e Nemésio (2013).	23
Figura 02 - Cenário climático previsto para as regiões brasileiras até 2100. Fonte: Revista Galileu, 2016	26
Figura 03- Estrutura química de alguns dos principais carboidratos não estruturais encontrados em plantas superiores.	30
Figura 04- Estrutura linear da amilose. (adaptado, SOUZA et al., 2005)	31
Figura 05- Esquema da estrutura da parede celular da planta e corte transversal de microfibrilas (adaptado de LEE et al., 2014).	33
Figura 06- 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).	35
Figura 07- Estrutura típica da hemicelulose (DODD; CANN, 2009).	36
Figura 08- Estrutura química dos monossacarídeos constituintes da hemicelulose (KLOCK, 2005).	37
Figura 09- Fragmento de estrutura de Lignina (KLOCK et al., 2005).	38
Figura 10- Álcoois precursores das unidades fenilpropanóides: <i>p</i> -hidroxifenila (H), guaiacila (G) e siringila (S) (KLOCK et al., 2005).	39
Figura 11- <i>Paubrasilia echinata</i> representado por dois morfotipos utilizados para realização do experimento, sendo A- morfotipo médio e B- morfotipo pequeno.	44

Figura 12- Casas de vegetação climatizadas, onde o experimento foi conduzido, na área experimental do Laboratório de Meteorologia e Ecofisiologia Florestal (LMEF) pertencente à Universidade Federal do Espírito Santo (UFES)..... 45

Figura 13- Teor de Açúcares solúveis (AS) em dois morfotipo de *P. echinata*: A- Morfotipo Pequeno e B- Morfotipo Médio; submetidos a quatro diferentes condições de DPV (déficit de pressão de vapor) e T (temperatura). Sendo A1- baixo DPV e temperatura; A2 – Baixo DPV e alta Temperatura; A3- Alto DPV e temperatura e A4- alto DPV e menor temperatura . Letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,005$, $n=5$). As letras maiúsculas representam diferença estatística entre os três órgãos (folha, caule e raiz) no mesmo ambiente, já as letras minúsculas representam diferença estatística entre o mesmo órgão nos diferentes ambientes..... 53

Figura 14- Teor de sacarose em dois morfotipo de *P. echinata*: A-Morfotipo Pequeno e B- Morfotipo Médio; submetidos a quatro diferentes condições de DPV (déficit de pressão de vapor) e T (temperatura). Sendo A1- baixo DPV e temperatura; A2 – Baixo DPV e alta Temperatura; A3- Alto DPV e temperatura e A4- alto DPV e menor temperatura . Letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,005$, $n=5$). As letras maiúsculas representam diferença estatística entre os três órgãos (folha, caule e raiz) no mesmo ambiente, já as letras minúsculas representam diferença estatística entre o mesmo órgão nos diferentes ambientes.....55

Figura 15- Teor de Açúcares redutores (AR) em dois morfotipo de *P. echinata*: A-Morfotipo Pequeno e B- Morfotipo Médio; submetidos a quatro diferentes condições de DPV (déficit de pressão de vapor) e T (temperatura). Sendo A1- baixo DPV e temperatura; A2 – Baixo DPV e alta Temperatura; A3- Alto DPV e temperatura e A4- alto DPV e menor temperatura . Letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,005$, $n=5$). As letras maiúsculas representam diferença estatística entre os três órgãos (folha, caule e raiz) no mesmo ambiente, já as letras minúsculas representam diferença estatística entre o mesmo órgão nos diferentes ambientes..... 57

Figura 16- Teor de amido em dois morfotipo de *P. echinata*: A-Morfotipo Pequeno e B- Morfotipo Médio; submetidos a quatro diferentes condições de DPV (déficit de pressão de vapor) e T (temperatura). Sendo A1- baixo DPV e temperatura; A2 – Baixo DPV e alta Temperatura; A3- Alto DPV e temperatura e A4- alto DPV e menor temperatura . Letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,005$, $n=5$). As letras maiúsculas representam diferença estatística entre os três órgãos (folha, caule e raiz) no mesmo ambiente, já as letras minúsculas representam diferença estatística entre o mesmo órgão nos diferentes ambientes.....59

Figura 17- Teor de Lignina em dois morfotipo de *P. echinata*: A-Morfotipo Pequeno e B- Morfotipo Médio; submetidos a quatro diferentes condições de DPV (déficit de pressão de vapor) e T (temperatura). Sendo A1- baixo DPV e temperatura; A2 – Baixo DPV e alta Temperatura; A3- Alto DPV e temperatura e A4- alto DPV e menor temperatura . Letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,005$, $n=5$). As letras maiúsculas representam diferença estatística entre os três órgãos (folha, caule e raiz) no mesmo ambiente, já as letras minúsculas representam diferença estatística entre o mesmo órgão nos diferentes ambientes.....61

Figura 18- Teor de Celulose em dois morfotipo de *P. echinata*: A-Morfotipo Pequeno e B- Morfotipo Médio; submetidos a quatro diferentes condições de DPV (déficit de pressão de vapor) e T (temperatura). Sendo A1- baixo DPV e temperatura; A2 – Baixo DPV e alta Temperatura; A3- Alto DPV e temperatura e A4- alto DPV e menor temperatura . Letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,005$, $n=5$). As letras maiúsculas representam diferença estatística entre os três órgãos (folha, caule e raiz) no mesmo ambiente, já as letras minúsculas representam diferença estatística entre o mesmo órgão nos diferentes ambientes.....63

Figura 19- Teor Hemicelulose em dois morfotipo de *P. echinata*: A-Morfotipo Pequeno e B- Morfotipo Médio; submetidos a quatro diferentes condições de DPV (déficit de pressão de vapor) e T (temperatura). Sendo A1- baixo DPV e temperatura; A2 – Baixo DPV e alta Temperatura; A3- Alto DPV e temperatura e A4- alto DPV e menor temperatura . Letras iguais não diferem entre si pelo

teste de Tukey ($p < 0,005$, $n=5$). As letras maiúsculas representam diferença estatística entre os três órgãos (folha, caule e raiz) no mesmo ambiente, já as letras minúsculas representam diferença estatística entre o mesmo órgão nos diferentes ambientes.....64

Figura 20- Quantificação peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e malonaldeído (MDA) em folhas de dois morfotipo de *P. echinata*: A e B-Morfotipo Pequeno e C e D-Morfotipo Médio, submetidos a quatro diferentes condições de DPV (Déficit de pressão de vapor) e T (Temperatura). As letras maiúsculas representam diferença estatística entre os ambientes ($n=5$; $p < 0,05$ pelo teste de Tukey). 65

Figura 21- Quantificação flavonoides e fenóis em folhas de dois morfotipo de *P. echinata*: A e C-Morfotipo Pequeno e B e D- Morfotipo, submetidos a quatro diferentes condições de DPV (Déficit de pressão de vapor) e T (Temperatura). As letras maiúsculas representam diferença estatística entre os ambientes ($n=5$; $p < 0,05$ pelo teste de Tukey)..... 66

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Caracterização microclimática dos tratamentos aplicados ao longo de 122 dias de experimentação, em casa de vegetação climatizada no município de Jerônimo Monteiro, ES. T_{Med} , T_{Min} , T_{Max} – Temperatura média, mínima e máxima, respectivamente; DPV_{Med} , DPV_{Max} – Déficit de Pressão de Vapor do ar médio e máximo, respectivamente	46
Tabela 2- Soluções utilizadas na sequencia de lavagens para extração da lignina	49

SUMÁRIO

	página
1. INTRODUÇÃO.....	18
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	22
2.1 <i>Paubrasília echinata</i>	22
2.2 Mudanças climáticas.....	25
2.3 Deficit de pressão de vapor	27
2.4 Carboidratos não estruturais	29
2.5 Polímeros de parede celular.....	33
2.6 Sinalização e defesa ao estresse.....	40
3. OBJETIVO.....	43
3.1 Objetivo geral.....	43
3.2 Objetivo específico.....	43
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	44
4.1 Material vegetal e condições de experimentação.....	44
4.2 Determinação dos Polímeros de Parede.....	46
4.2.1 Celulose.....	46
4.2.2 Hemicelulose.....	47
4.2.3 Lignina.....	48
4.3 Determinação dos carboidratos solúveis, flavonoides e fenóis.	49
4.3.1 Açúcares solúveis	49
4.3.2 Sacarose.....	50
4.3.3 Açúcares redutores.....	50
4.3.4 Fenóis.....	50
4.3.5 Flavonoides.....	51
4.4 Amido.....	51

4.5	Teores de H ₂ O ₂ e malonaldeído (MDA).....	51
4.5.1	H ₂ O ₂	52
4.5.2	MDA.....	52
4.6	Análise estatística.....	52
5	RESULTADOS.....	53
5.1	Carboidratos não estruturais	53
5.2	Polímeros de parede celular	60
5.3	Reação oxidante e antioxidante não enzimático	65
6	DISCUSSÃO.....	67
7	CONCLUSÃO.....	72
	REFERÊNCIAS.....	74

1. Introdução

Paubrasilia echinata, popularmente conhecida por pau-brasil, é uma espécie arbórea nativa da Mata Atlântica (CARVALHO, 1994). Atualmente são conhecidos três morfotipos de pau-brasil (pequeno, médio e grande) que diferem entre si no aspecto morfológico e ecofisiológico (GAGNON, 2016).

O morfotipo pequeno é o mais conhecido. Apresenta os menores folíolos e o cerne de coloração alaranjada, sendo encontrado ao longo da costa brasileira (do Rio de Janeiro ao Rio Grande do Norte). Já o morfotipo médio difere pouco do primeiro, pois apresenta folíolos maiores e cerne com coloração laranja-avermelhada. Desse morfotipo são conhecidos representantes no Rio de Janeiro, Espírito Santo e interior-sul da Bahia. O terceiro morfotipo, conhecido por morfotipo grande, apresenta folíolos grandes, também chamada de folha de laranjeira e cerne vermelho-escuro, sendo encontrado naturalmente, em uma localidade específica na Bahia, o Vale do Rio Pardo (JUCHUM et al, 2008).

Quanto ao comportamento ecofisiológico dessa espécie, Mengarda et al. (2012) classifica o morfotipo pequeno como semi-heliófilo, enquanto que Gama (2017) o classifica como ombrófilo. De acordo com Gama (2017), a preferência desse morfotipo por ambientes com menor radiação, baixa temperatura e elevada umidade pode estar associada ao seu local de origem. O morfotipo médio foi classificado, tanto por Mengarda et al. (2012), quanto por Gama (2017), como heliófilo, devido a sua preferência por ambientes de alta radiação, elevada temperatura e baixa umidade. Sendo assim, esses resultados evidenciam a importância de estudos sobre o comportamento das plantas frente às flutuações ambientais previstas para o bioma Mata Atlântica. Dessa forma, será possível definir a melhor estratégia de recuperação da cobertura vegetal em um dado ambiente, tendo como base a capacidade de estabelecimento da planta com a máxima eficiência fisiológica (MUSIL et al. 2002; MACHADO et al., 2005).

O Painel Brasileiro de Mudanças Climáticas- PBMC - (2014) aponta dois futuros regimes climáticos distintos para o território onde se localiza o bioma

Mata Atlântica. Para a região nordeste, são esperadas condições de aquecimento intenso (aumento de 3° e 4°C) e decréscimo no padrão de chuva regional entre -30% e -35% até 2100. Já para a porção sul/sudeste, até 2100, as tendências indicam padrões de clima entre 2% e 3% mais quente, com intensificação nos padrões de chuva entre 25% e 30% (PBMC, 2014). Nesse contexto de aquecimento global, é provável que um aumento da temperatura seja um estresse abiótico-chave para o qual as plantas terão de se ajustar para sobreviver (HALL, 1992), podendo em função desse fator estressante, promover alterações na parede celular (YANG et al., 2006).

Sendo assim, em resposta a esses cenários climáticos futuros aos quais estarão expostas, as plantas poderão desenvolver estratégias adaptativas, que lhes permitirão evitar e/ou tolerar os fatores de estresse a serem provocados pelas mudanças climáticas (COATES et al., 2011; SHAIK e RAMAKRISHNA, 2014). Temperatura e disponibilidade de água no ambiente, que influenciam o déficit de pressão de vapor (DPV), são alguns dos principais fatores climáticos que influenciam nas adaptações e/ou aclimatação em diversas respostas fisiológicas, dentre elas a fotossíntese (MARRICHI, 2009).

Normalmente, à medida que a temperatura do ar decresce, ocorrem aumento na umidade relativa e queda na evapotranspiração (MEDEIROS, 2003). A temperatura controla a flutuação do DPV entre a cavidade estomática e a atmosfera (CARNEIRO et al, 2008), sendo o fator fundamental e regulatório dos processos fisiológicos e bioquímicos das plantas (ALBUQUERQUE, 2013). Já a água, outro fator também associado ao DPV, afeta a transpiração e a condutância estomática de forma que regula processos de difusão do vapor de água e CO₂ entre a cavidade estomática e a atmosfera (CARNEIRO et al., 2008). Sendo assim, fatores como temperatura e umidade influenciam diretamente na fotossíntese e, conseqüentemente, na síntese dos compostos orgânicos, por ela produzidos. Através da fotossíntese, o carbono assimilado é armazenado em compostos de carbono, os carboidratos (LAMBERS, 2006; BUCKERIDGE et al., 2007).

Os carboidratos podem ser estocados em reservatórios de carbono na forma de compostos não estruturais como amido, sacarose, glicose e frutose, e

estruturais, presentes na parede celular na forma de celulose e hemicelulose (BUCKERIDGE et al., 2007). A parede celular vegetal é a maior reserva de carbono orgânico na natureza. Sua composição química é diversificada, sendo composta por agrupamentos macromoleculares de natureza heterogênea. Além dos polissacarídeos (celulose e hemicelulose), há também substâncias fenólicas, como a lignina e pequenas proporções de proteínas e pectinas (SUN; CHENG, 2002).

Glicose, frutose e sacarose constituem os açúcares solúveis totais, e o amido, por ser um composto insolúvel, é a reserva energética mais abundante nas plantas (PIERRE et al., 2010). Além do papel de reserva, o acúmulo de amido estimula a biossíntese de lignina de forma mais eficiente em espécies de crescimento lento (NOVAES et al., 2010). Já a sacarose participa de processos de osmorregulação nas plantas e a quebra da sua molécula libera precursores para síntese de celulose e hemicelulose (NOVAES et al. 2010).

A presença e deposição de lignina reforçam a resistência e rigidez das paredes celulares e podem ser componentes-chave da resposta da planta às condições ambientais às quais estão submetidas (VANHOLME et al., 2010; HAMANN, 2012). A arquitetura da parede celular é importante na resistência da planta ao estresse abiótico e é essencial na detecção do mesmo (SEIFERT; BLAUKOPF, 2010). A manutenção da integridade da parede celular e o controle da pressão de turgência estão associados à proporção de celulose na planta (BUCKERIDGE et al., 2008). Já a hemicelulose, em associação à celulose, mantém a “elasticidade” da parede celular permitindo o crescimento celular (GALL et al., 2015).

Variações na temperatura e umidade podem alterar o equilíbrio na produção e dissipação de espécies reativas de oxigênio (ERO's) (GILL e TUTEJA, 2010). Tanto o aumento da temperatura quanto a escassez de água promovem uma maior atividade das enzimas antioxidantes, bem como uma maior concentração de moléculas antioxidantes (ZANDALINAS et al., 2017). Porém, em situações extremas, essas respostas não são suficientes para evitar possíveis danos celulares (VENTURA et al., 2019). O malonaldeído (MDA) é o produto final da peroxidação lipídica. Seu acúmulo está relacionado à degradação da membrana celular, decorrente de estresse oxidativo

(MONTEIRO et al., 2012; MURSHED et al., 2013). O acúmulo de MDA pode indicar aumento na produção de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e outros agentes oxidantes (XIE et al., 2008). O peróxido de hidrogênio, em baixa concentração, pode sinalizar e ativar mecanismos de aclimação e/ou tolerância a possíveis estresses. Já em altas concentrações, pode ser tóxico à planta e causar a morte celular (QUAN et al., 2008).

Alguns fatores podem atuar na prevenção do acúmulo de ERO's, dentre os quais os compostos antioxidantes como flavonóides e fenóis (GHARIBI et al., 2016). Alguns estudos relacionam a sucessão florestal como fator preventivo do estresse oxidativo. Guo et al. (2004) e Favaretto et al. (2011) relatam que, nas espécies heliófitas, o potencial antioxidativo é maior do que nas ombrófilas. Ou seja, as heliófitas são mais tolerantes a níveis elevados de luz e temperatura, portanto, menos suscetíveis aos fotodanos.

Frente às possíveis mudanças climáticas previstas pelo Painel Intergovernamental sobre Mudanças Climáticas (IPCC) e PBMC, ou seja, aumento/diminuição da temperatura e mudanças no regime pluviométrico, bem como o conhecimento prévio sobre as características ombrófilas e heliófilas do pau-brasil, formou-se a hipótese de que essas características poderiam influenciar, fortemente, a composição e alocação de carbono nas plantas, bem como as respostas do sistema oxidativo não enzimático ao efeito de temperatura e DPV.

2. Revisão Bibliográfica

2.1 *Paubrasilia echinata*

Desde 1987, alguns autores divergiam sobre o gênero *Caesalpineia*. Em 2016, Gagnon et al. estudaram a sequência genética dessa planta e, a partir desse estudo, essa espécie foi reclassificada em um novo gênero, *Paubrasilia*. Segundo esses mesmos autores, o epíteto específico *echinata* se manteve em alusão aos espinhos distribuídos nos troncos e também nos frutos. Entretanto, os referidos autores relatam que, futuramente, os morfotipos dessa espécie ou suas variantes morfológicas deverão ser classificados em táxons específicos ou, até, em novas espécies dentro do gênero *Paubrasilia*.

Paubrasilia echinata, popularmente conhecida por pau-brasil, é uma espécie arbórea de porte médio (10 a 15 m de altura), tronco recoberto por acúleos, folhas bipinadas, com inflorescências amarelo-ouro e uma mancha vermelho-púrpura numa das pétalas, encontrada, principalmente na floresta estacional caducifólia costeira do Brasil, Bioma Mata Atlântica (CARVALHO, 1994). Essa espécie é considerada símbolo do Brasil. Porém, segundo o IBAMA (Portaria IBAMA n.37-N, de 03 de abril de 1992), ela corre risco de erosão genética apesar de seu valor histórico e econômico.

Desde a colonização brasileira, a espécie foi intensamente explorada devido ao corante presente em sua madeira, a “*brasileína*”. O corante era utilizado pelos índios para colorir as penas utilizadas em seus adornos, enquanto que, na indústria europeia, ele era utilizado para tingimento de tecidos, motivo que lhe conferia grande valor comercial (ROCHA, 2004). Segundo esse mesmo autor, a exploração descontrolada de *P. echinata*, nos primeiros séculos da colonização, contribuiu significativamente para a redução de suas populações naturais. Atualmente, a maior pressão de extinção da espécie é devido ao corte ilegal de suas árvores para fins comerciais, como a fabricação de instrumentos musicais (PIERCE, 2002).

Inicialmente, na época da colonização portuguesa, o pau-brasil encontrava-se amplamente distribuído por toda a costa brasileira (LIMA, 1992). Contudo, foi considerada extinta por quase um século devido à sua intensa e

prolongada exploração. Iniciativas de conservação *in situ* e *ex situ* permitiram que *P. echinata*, atualmente, seja encontrada em remanescentes de mata Atlântica, porém em número bastante reduzido (ROCHA e SIMABUKURO, 2008) nos estados do Rio Grande do Norte, Paraíba, Pernambuco, Alagoas, Bahia, Espírito Santo, Rio de Janeiro e São Paulo (LIMA, 1992).

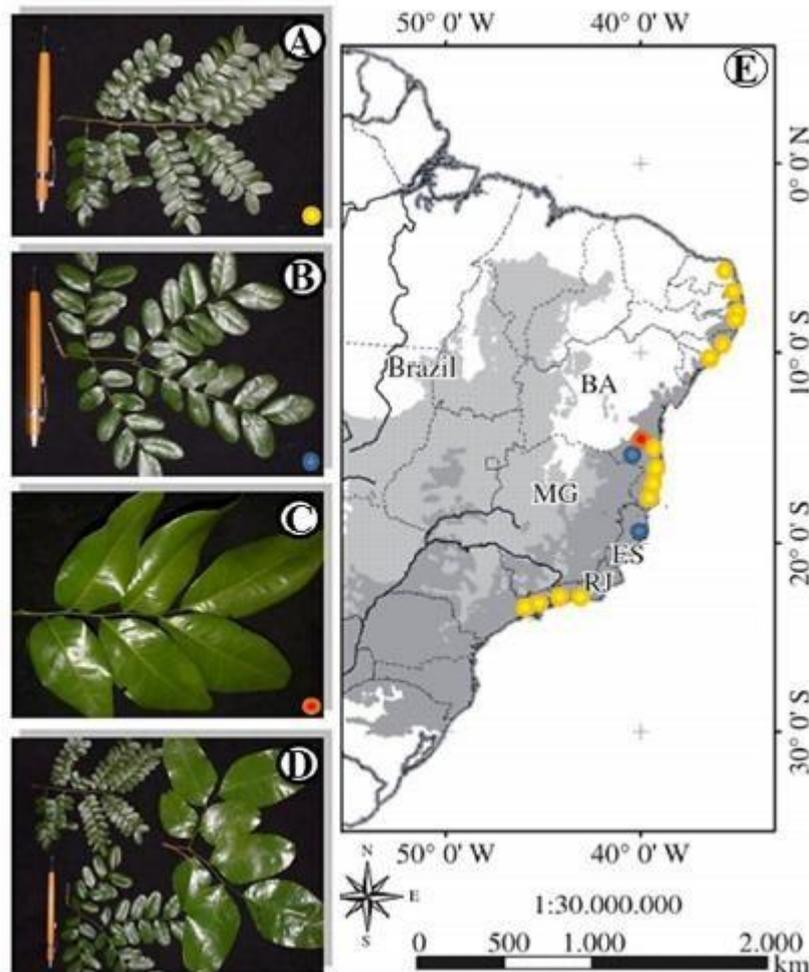


Figura 01 - Morfotipos de *Paubrasilia echinata*: A – morfotipo pequeno; B – morfotipo médio; C – morfotipo grande; D – Os três morfotipos; E – Distribuição geográfica natural dos morfotipos de pau-brasil: morfotipo pequeno (círculos amarelos), morfotipo médio (círculos azuis) e morfotipo grande (círculo vermelho). Adaptado de Juchum, 2008 e Nemésio (2013).

Atualmente são conhecidos três morfotipos de pau-brasil que, com estudos futuros, poderá ser subdividida em subespécies ou variedades (JUCHUM et al., 2008; GAMA, 2013, GAGNON, 2016). O mais comum é o morfotipo pequeno, que apresenta os menores foliólulos e o cerne de coloração alaranjada, sendo encontrado em muitas localidades ao longo da costa do

Brasil. O segundo, denominado morfotipo médio, difere pouco do primeiro, apresentando foliólulos médios e cerne com coloração laranja-avermelhada. Desse morfotipo são conhecidos apenas representantes no Rio de Janeiro, Espírito Santo e interior-sul da Bahia. O terceiro morfotipo, conhecido por morfotipo grande, por sua vez, apresenta foliólulos grandes e cerne vermelho-escuro, sendo encontrado naturalmente apenas em uma localidade específica na Bahia, o Vale do Rio Pardo (JUCHUM et al., 2008) (Figura 01).

De acordo com Juchum et al. (2008), podem existir diferenças genéticas entre os três morfotipos conhecidos, sendo necessária uma reconstrução taxonômica dessa espécie em dois possíveis grupos baseados na distância filogenética entre eles. Além das divergências genéticas e morfológicas, esses morfotipos podem apresentar diferentes e bem contraditórios comportamentos ecofisiológicos quanto à disponibilidade e intensidade de radiação solar.

A posição sucessional das espécies pode explicar a maior ou menor capacidade das plantas em responder a variações ambientais. Para Budowski (1965), *P. echinata* é uma espécie semi-heliófila, classificada como clímax, enquanto Lima (1992), Lorenzi (2002) e Baroni (2005) a classificam como heliófila. Já Mengarda et al. (2009 e 2012), estudando o morfotipo pequeno, sob gradiente de radiação, o classificaram como semi-heliófilo ou intermediário. Em contrapartida, Gama (2017) classifica o morfotipo pequeno como ombrófilo. Em ambos os trabalhos o morfotipo pequeno, sob alta radiação, apresentou inibição das trocas gasosas, deficiência no uso da água e menor crescimento. Além disso, outros resultados como o decréscimo no teor de pigmentos cloroplastídicos e o aumento da fluorescência da clorofila nessas mesmas condições foram encontradas no trabalho dos referidos autores. Gama (2013 e 2017), estudando o morfotipo médio, classificou seu comportamento como heliófilo, devido à elevada eficiência fotossintética e atividade antioxidante em condição de alta radiação. Esses resultados refletiram em uma maior concentração de açúcares solúveis e maior crescimento nas plantas expostas a essas condições.

Em resumo, as divergentes classificações encontradas para essa espécie, bem como trabalhos contraditórios quanto ao seu comportamento

ecofisiológico, podem ser justificados pelos diferentes morfotipos e suas divergências genéticas.

2.2 MUDANÇAS CLIMÁTICAS

Desde o início do século XVIII, com a Revolução Industrial, a concentração de CO₂ vem aumentando, passando de cerca de 280 ppm na era pré-industrial para mais de 368 ppm no ano de 2000 (WATSON et al., 2001). Atualmente, a concentração de CO₂ encontra-se em torno de 390 ppm e possivelmente dobre nos próximos 100 anos (IPCC, 2014). Em seu Quinto Relatório de Avaliação (AR5), o IPCC projetou mudanças para diferentes cenários de emissão de gases de efeito estufa. Caso os níveis atuais se mantenham, a previsão para o final do século seria um aumento de 2,6 a 4,8 graus Celsius na temperatura média global (PBMC, 2016).

Embora o aquecimento previsto para as regiões tropicais seja inferior ao esperado para outras latitudes, há evidências de que as regiões de floresta tropical já estejam aquecendo (MALHI e WRIGHT, 2004), e de que mesmo um pequeno aquecimento pode ser impactante onde as temperaturas já são altas (RAICH et al., 2006). Dessa forma, as temperaturas mais altas poderão provocar uma interferência no movimento de convecção das massas de ar na atmosfera, o que poderá, indiretamente, contribuir para condições meteorológicas adversas como formação de ciclones, furacões e tornados (IPCC, 2018). Dessa forma, a formação de ilhas de calor poderá acentuar essas correntes e desencadear fortes temporais e ventos (ROSENZWEIG et al., 2011).

Além de alterações nas temperaturas, também são previstas mudanças no regime de chuva com aumento na frequência e volume de precipitação e/ou longos períodos de estiagem (IPCC, 2013; KNAPP, 2017). Outro fator climático a ser considerado são as ondas de calor prolongadas (IPCC, 2014). De acordo com Giovaninni (2011) e PBMC (2016) o conjunto da pressão antrópica e as mudanças climáticas não oferecem um futuro promissor à biodiversidade e aos ecossistemas. De acordo com estes mesmos autores, as espécies hoje

consideradas “criticamente ameaçadas” poderão ser extintas em um futuro próximo, ao passo que espécies “ameaçadas ou vulneráveis” irão se tornar muito mais raras. Ou seja, as alterações no balanço de radiação devem interferir, de forma direta, no ciclo hidrológico do planeta (PBMC, 2014).

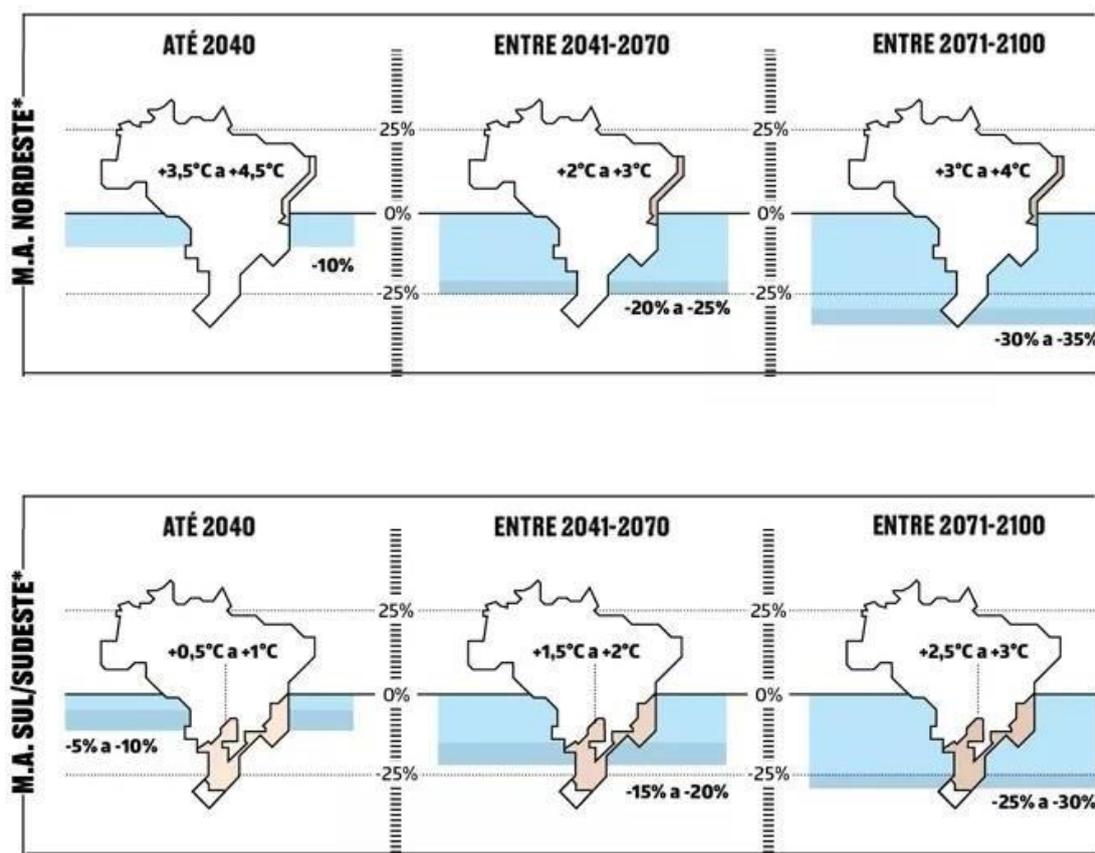


Figura 02- Cenário climático previsto para as regiões brasileiras até 2100. Fonte: Revista Galileu, 2016.

O Painel Brasileiro de mudanças climáticas (2014) aponta dois regimes climáticos distintos para a Mata Atlântica. Para a região nordeste, espera-se, até 2100, um aquecimento intenso (de 3° a 4° C) e uma redução de 30% a 35% no padrão de chuva dessa região. Essa região, atualmente, apresenta o menor nível de chuva e as mais altas temperaturas no país, além de sofrer grande influência do El Niño-Oscilação Sul (PBMC, 2016). Ou seja, a porção nordeste apresenta elevada taxa de evaporação e significativa oscilação na disponibilidade hídrica no solo. Já para a região sudeste, espera-se um aumento de 2° a 3°C na temperatura e entre 25% a 30% mais chuvoso (PBMC, 2014). (Figura 02). Ainda de acordo com PBMC, a região sudeste corresponde

à maior concentração de eventos de alagamento, principalmente o Rio de Janeiro e Espírito Santo, problema que seria intensificado pela projeção relatada.

As florestas tropicais são de alta representatividade na biomassa terrestre. Porém são poucos os estudos que buscam compreender como as mudanças climáticas irão afetar esses ecossistemas e como eles irão responder (KÖRNER, 2009). Sabe-se que as plantas podem fazer uso de mecanismos adaptativos e desenvolver estratégias que lhes permitam evitar ou tolerar esses possíveis cenários ambientais (COATES et al., 2011; SHAIK e RAMAKRISHNA, 2014). Dentre alguns mecanismos e estratégias já conhecidos, pode-se citar a dinâmica e alocação dos carboidratos. Essa dinâmica se dá a partir da necessidade da planta de se adaptar a uma condição ambiental de estresse (SMEEKENS, 2000). Pode ocorrer também aumento do espessamento da parede celular por reforço da parede secundária com deposição de hemicelulose e lignina (LE GALL et al., 2015).

Presume-se que várias espécies vegetais tenham que migrar para outras latitudes e/ou altitudes, em busca de temperaturas que se aproximem da sua condição ótima, e algumas não consigam devido à rapidez das mudanças climáticas, a escassez de espaços naturais ou a falta de vinculação entre as áreas (BUCKERIDGE et al., 2007).

2.3 DEFICIT DE PRESSÃO DE VAPOR

O déficit de pressão de vapor (DPV) é uma variável climática importante para melhor compreensão das respostas fisiológicas em relação às mudanças das variáveis ambientais (NGUGI et al., 2004). O DPV (Equação 1) refere-se à diferença entre pressão máxima que pode ser alcançada pelo ambiente e a pressão exercida pela quantidade de vapor d'água existente no ar (ea). Essa diferença refere-se ao poder evaporante do ar, tendo relação direta com os processos de evaporação, uma vez que depende do gradiente de pressão de vapor entre a superfície evaporante e o ar (PEREIRA et al., 2002).

$$DPV = (es - ea) \quad \text{Equação 1}$$

Onde e_a é a pressão parcial do vapor d'água (hPa), determinada pela equação:

$$e_a = \frac{UR \times e_s}{100}$$

UR é a umidade relativa do ar (%). UR é obtida a partir de dados de temperatura de bulbo seco e bulbo úmido (Psicrômetro) e e_s é a pressão de saturação do vapor d'água calculada a partir da temperatura do ar (T_{ar}) em °C, usando a equação de Tetens (1930):

$$e_s = 0,6108 \times 10^{\left(\frac{7,5 \times T_{ar}}{237,7 + T_{ar}}\right)}$$

Umidade e temperatura são fatores que afetam diretamente o DPV. Normalmente, à medida que a temperatura do ar decresce, ocorre aumento na umidade relativa e queda na evapotranspiração (MEDEIROS, 2003). Ainda de acordo com esse autor, em regiões tropicais de clima úmido, apesar da quantidade de energia disponível, a alta umidade ocasiona a redução da evapotranspiração uma vez que o ar está próximo da saturação. Assim, a umidade relativa local e a temperatura do ar determinam o déficit de pressão de vapor, indicador da capacidade evaporativa do ar.

A umidade do ar afeta o DPV, ao qual o estômato é sensível (BARNARD e RYAN, 2003). Já a temperatura controla a flutuação do DPV entre a cavidade estomática e a atmosfera (CARNEIRO et al., 2008). Em suma, o DPV afeta a difusão de vapor de água e CO_2 pelo aumento ou redução da condutividade estomática, transpiração e, conseqüentemente, a fotossíntese e atividades derivadas do processo fotossintético (PEREIRA et al., 2002). Sendo assim, a compreensão do efeito do DPV sobre a fisiologia das plantas torna-se fundamental para uma seleção mais precisa de espécies frente às mudanças ambientais previstas (NGUGI et al., 2004).

2.4 CARBOIDRATOS NÃO ESTRUTURAIS

A fotossíntese é o processo responsável pela produção de carboidratos na planta. Trata-se de um processo importante para assegurar às plantas a capacidade de adaptar seu metabolismo às modificações ambientais, compreendendo o armazenamento e translocação de carbono (PRICE et al., 2004; NISHIKAWA et al., 2005). De maneira especial, os carboidratos estão relacionados ao estresse, por exercer proteção contra condições ambientais adversas como temperaturas extremas (COUÉE et al., 2006) e restrição hídrica (SOUZA et al., 2004).

Os açúcares solúveis redutores (glicose e frutose, especialmente), os não redutores (sacarose) e o amido são os principais carboidratos não estruturais acumulados em caules e folhas. A glicose, a frutose e a sacarose constituem os açúcares solúveis totais. 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 (Figura 3) podem ser reconhecidos como sinalizadores de uma condição de estresse ou ainda serem alterados a partir da necessidade da planta de se aclimatar a uma nova condição ambiental (SMEEKENS, 2000). A variação do conteúdo caulinar dos carboidratos solúveis pode indicar que esses compostos estejam relacionados a mecanismos adaptativos em resposta a determinados tipos de estresse, além do seu papel de reserva (CUZZUOL e CLIPPEL, 2009; MENGARDA et al., 2012). Dessa forma, esses açúcares podem atuar com antioxidantes (COUEE et al., 2006) e/ou osmorreguladores (RYBUS-ZAJAC et al., 2014).

A sacarose é o principal fotoassimilado translocado (HU et al., 2000), entre os tecidos fonte para o dreno, sendo utilizados para processos de crescimento ou reserva (PIERRE et al., 2010). Esse fato se deve à sua natureza não redutora, o que permite grande facilidade de circulação entre os tecidos da planta, por ser menos susceptível à quebra enzimática (LAMBERS et al., 2008). Além de ser, também, um carboidrato de reserva, a quebra da sacarose gera os precursores para síntese de celulose e hemicelulose (NOVAES et al. 2010), o que faz desse carboidrato solúvel um dos mais importantes fotoassimilados produzidos

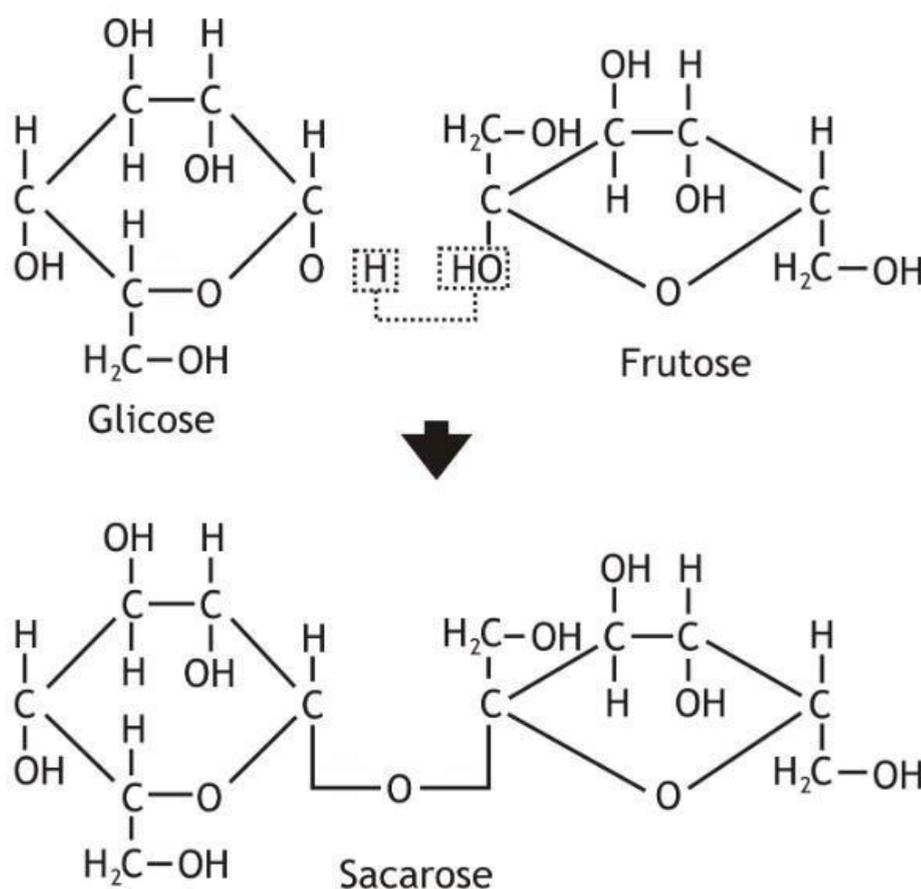


Figura 03- Estrutura química de alguns dos principais carboidratos não estruturais, encontrados em plantas superiores.

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).

Os carboidratos solúveis têm relação com a temperatura e a precipitação, uma vez que o metabolismo vegetal é fortemente influenciado pelo clima (DIETZE et al., 2014; HOCH, 2015). Sob menores temperaturas e precipitação, as concentrações de açúcares solúveis podem aumentar em espécies tropicais e de regiões temperadas no inverno (HOCH et al. 2003; MARTÍNEZ-VILALTA et al. 2016). Nessas condições ambientais, os açúcares de baixo peso molecular podem agir como osmorreguladores (KLEIN et al. 2014; YAN et al., 2014) e sinalizadores às mudanças ambientais em períodos de baixa disponibilidade de água (WÜRTH et al. 2005; LI et al. 2016).

O amido, polissacarídeo de reserva mais abundante nas espécies vegetais, é constituído por duas frações distintas, a amilopectina e a amilose. A amilopectina é a fração majoritária e uma das maiores moléculas conhecidas. Possui estrutura ramificada e compreende o maior componente do amido nas folhas, sendo responsável pelo arranjo granular. A amilose é a fração minoritária dos grãos de amido, com estrutura linear e sua síntese é realizada no interior da matriz formada pela amilopectina (SOUZA et al., 2005) (Figura 4).

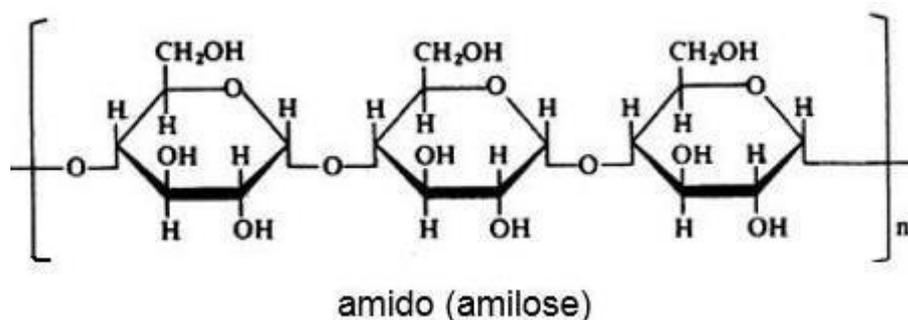


Figura 04- Estrutura linear da amilose. (adaptado, SOUZA et al., 2005)

De acordo com sua função, o amido pode ser dividido em dois tipos: o de reserva e o transitório. O amido de reserva é acumulado em órgãos perenes e de dispersão, localizado em plastídeos denominados amiloplastos. O amido transitório é sintetizado nos cloroplastos como resultado do excesso decarbonoassimilado. No período noturno, o amido transitório é quebrado em substratos que serão utilizados na síntese de sacarose. A sacarose será utilizada nos esqueletos de carbono e fornecerá energia para células foliares e tecidos não fotossintetizantes (SMITH e STITT, 2007).

Em estudos relacionados à dinâmica de carboidratos não estruturais, as oscilações desses carboidratos refletem a sazonalidade ambiental subjacente sob a qual as espécies vivem e, em particular o desequilíbrio temporal entre as respostas de assimilação, crescimento e estresse em diferentes escalas de tempo (VILALTA et al., 2016).

Em situação de déficit hídrico, a concentração de carboidratos não estruturais é alterada nos tecidos das plantas, porém sem um padrão bem definido (HOCH, 2015). É possível que as diferenças de concentrações, estejam relacionadas à resistência à seca de cada espécie, uma vez que as espécies tolerantes à seca mostram aumento na concentração dos carboidratos não estruturais, enquanto as espécies intolerantes à seca apresentam redução desses carboidratos à deficiência hídrica (PIPER, 2011).

Quando o aporte de carbono assimilado for insuficiente, é possível que as reservas de carbono estruturais sejam mobilizadas para manutenção e formação de novas estruturas (GESSLER e TRYDET, 2016). Amido e açúcares solúveis, armazenados por mais de uma década, podem ser requisitados no crescimento (RICHARDSON et al., 2013), e a estocagem a longo prazo é importante porque as árvores são organismos de vida longa que precisam se adaptar a diferentes períodos estressantes ao longo da sua existência (HARTMANN e TRUMBORE, 2016).

Estudos revelam diferentes fontes de variação nas concentrações de carboidratos não estruturais dentro do organismo vegetal. Essas fontes de variação podem estar relacionadas a diferenças interespecíficas ou

intraespecíficas, como relatadas em espécies de clima temperado (RICHARDSON et al., 2015) e em espécies de regiões tropicais (WÜRTH et al., 2005).

2.5 POLÍMEROS DE PAREDE CELULAR

Nas plantas, a parede celular é a maior reserva de carbono orgânico na natureza. Sua composição química é diversificada, sendo composta por agrupamentos macromoleculares de natureza heterogênea (SUN e CHENG, 2002; TAIZ e ZEIGER, 2015). 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 é influenciado pelas diferentes fases do desenvolvimento do ciclo de vida e condições ambientais (SUN e CHENG, 2002).

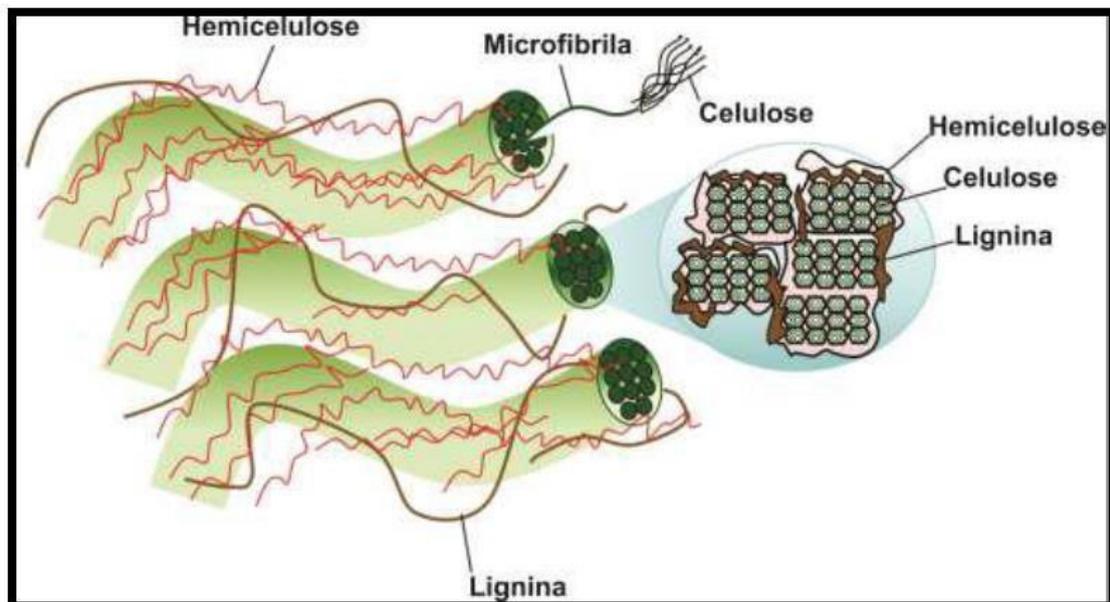


Figura 05- Esquema da estrutura da parede celular da planta e corte transversal de microfibrilas (adaptado de LEE et al., 2014).

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 5). A fase matricial é constituída de polissacarídeos, compostos pécticos, glicoproteínas e substâncias fenólicas. A composição dessa 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).

Podem-se observar dois tipos de parede celular, a primária e a secundária, sendo suas diferenças estabelecidas pelas composições químicas e fase do desenvolvimento celular. A primeira surge durante a divisão celular e, durante a expansão da célula, aumentando sua área de superfície. Já a parede secundária se diferencia da primária pela deposição de lignina e é formada internamente à primária no processo de diferenciação (CARPITA e McCANN, 2001).

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 protéico, 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 6) 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 às 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).

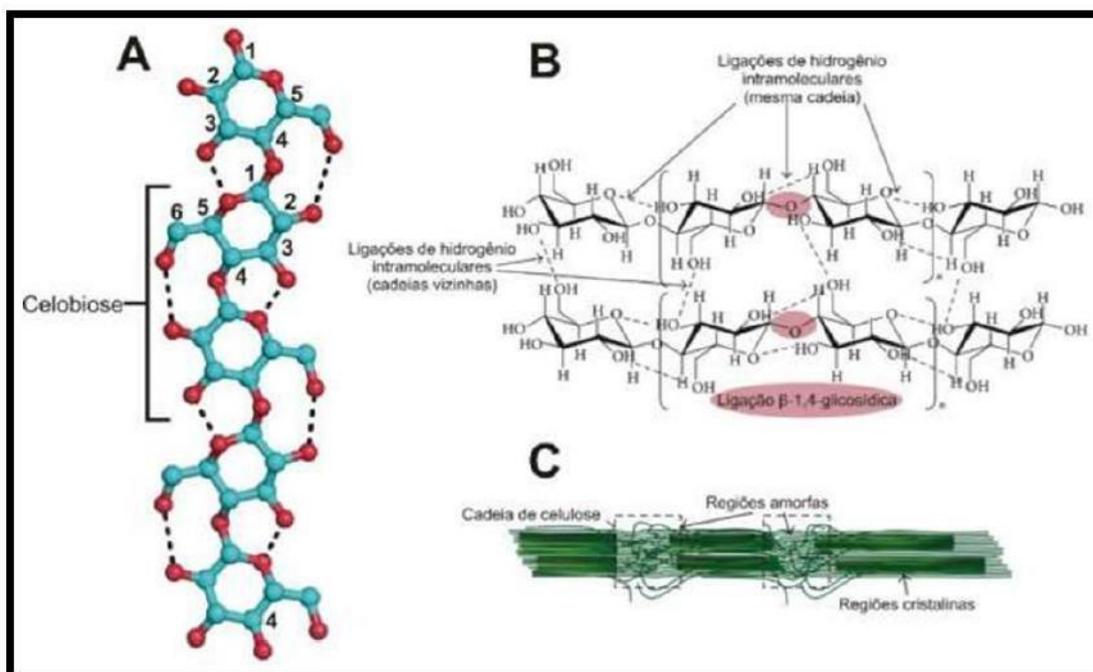


Figura 06- Características da celulose. (A) Celulose é um polímero de glicose em formato de fita. (B) Estrutura química de uma cadeia de celulose linear paralela. (C) Esquema de regiões amorfas e cristalinas da celulose (adaptado de LEE et al., 2014; McNAMARA et al., 2015).

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 à sua composição nos diferentes tecidos e espécies vegetais. Esse polímero pode apresentar diversos níveis de ramificação (Figura 7), 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). Essa 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 exercidas 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).

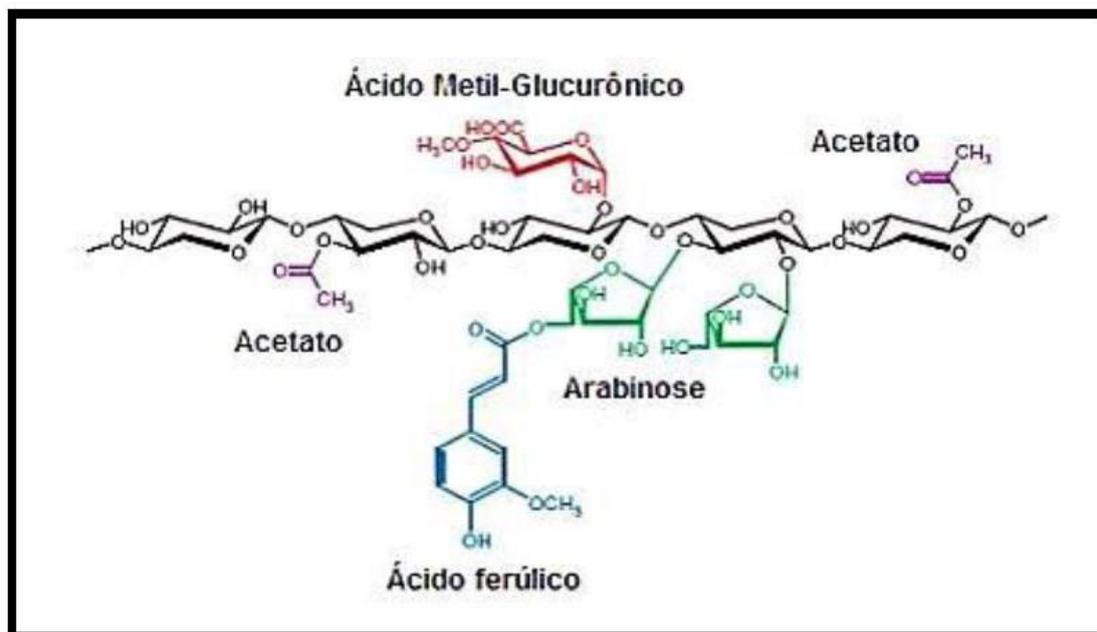


Figura 07- Estrutura típica da hemicelulose (DODD; CANN, 2009).

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 8). Esses monossacarídeos encontram-se glicosidicamente ligados, originando diferentes hemiceluloses, sendo as principais classes: arabinogalactanos, arabinoxilanos, xilanos, galactoglucomananos, glucuronoxilanos, glucomananos, mananos e xiloglucanos (KAKURÁKOVÁ *et al.*, 2000).

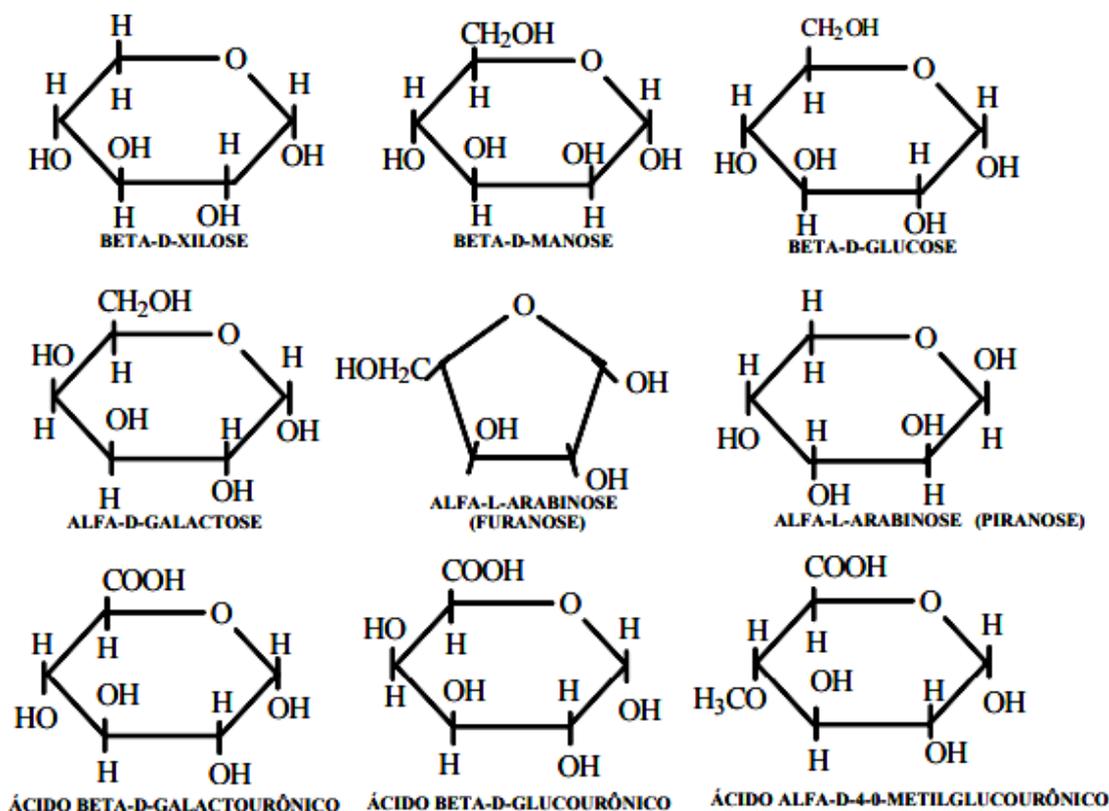


Figura 08- Estrutura química dos monossacarídeos constituintes da hemicelulose (KLOCK, 2005).

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).

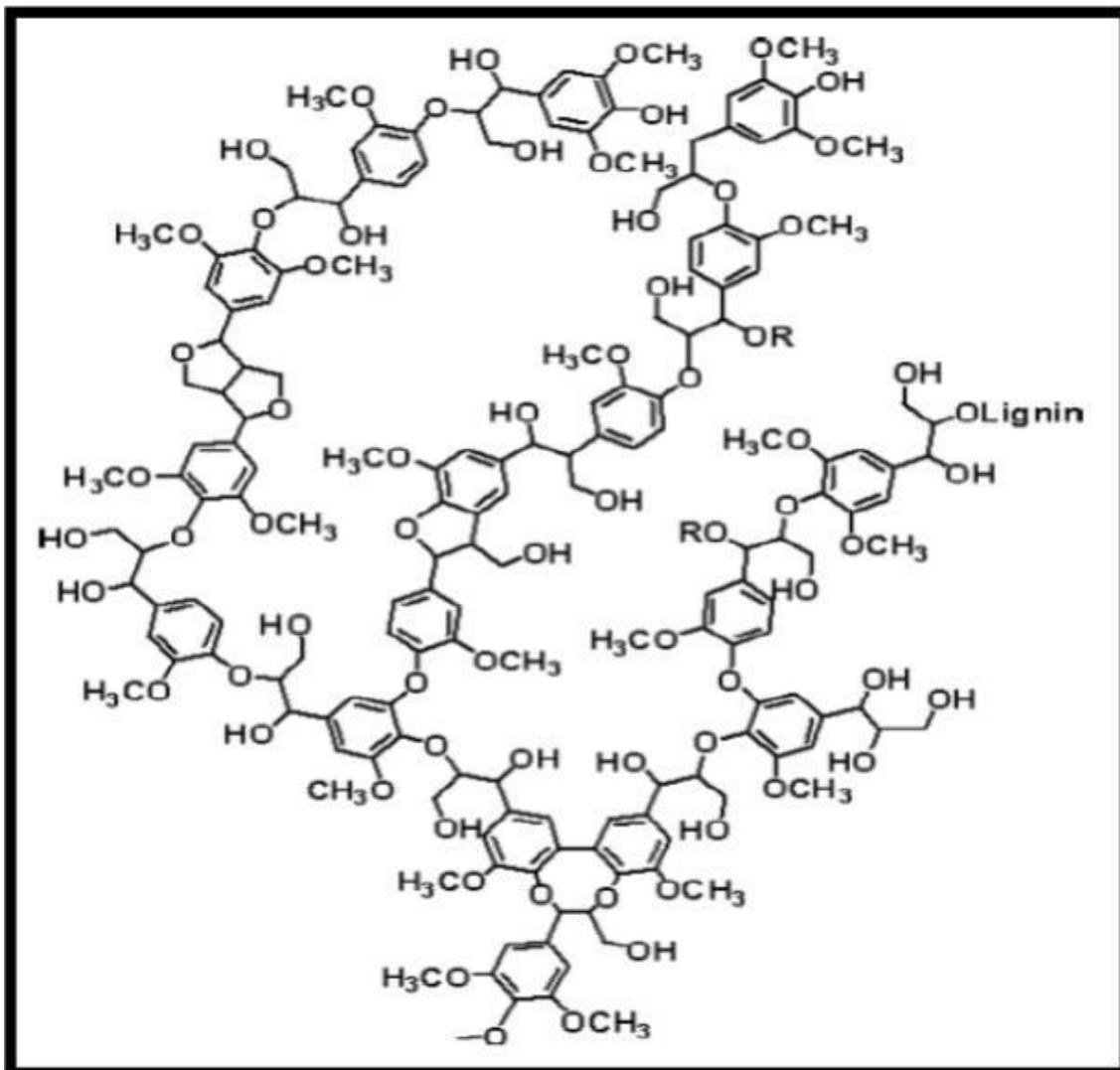


Figura 09- Fragmento de estrutura de Lignina (KLOCK et al., 2005).

A lignina é um biopolímero complexo, com estrutura de natureza aromática e alto peso molecular (Figura 9). É composta por várias combinações de três tipos de resíduos: a lignina guaiacila (*G*), siringila (*S*) e *p*-hidroxifenila (*H*) (Figura 10) (FENGEL e 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 à célula vegetal como um dos últimos componentes, fortalecendo e enrijecendo a parede celular, de modo a proporcionar maior resistência mecânica a essa estrutura (NOVAES et al., 2010).

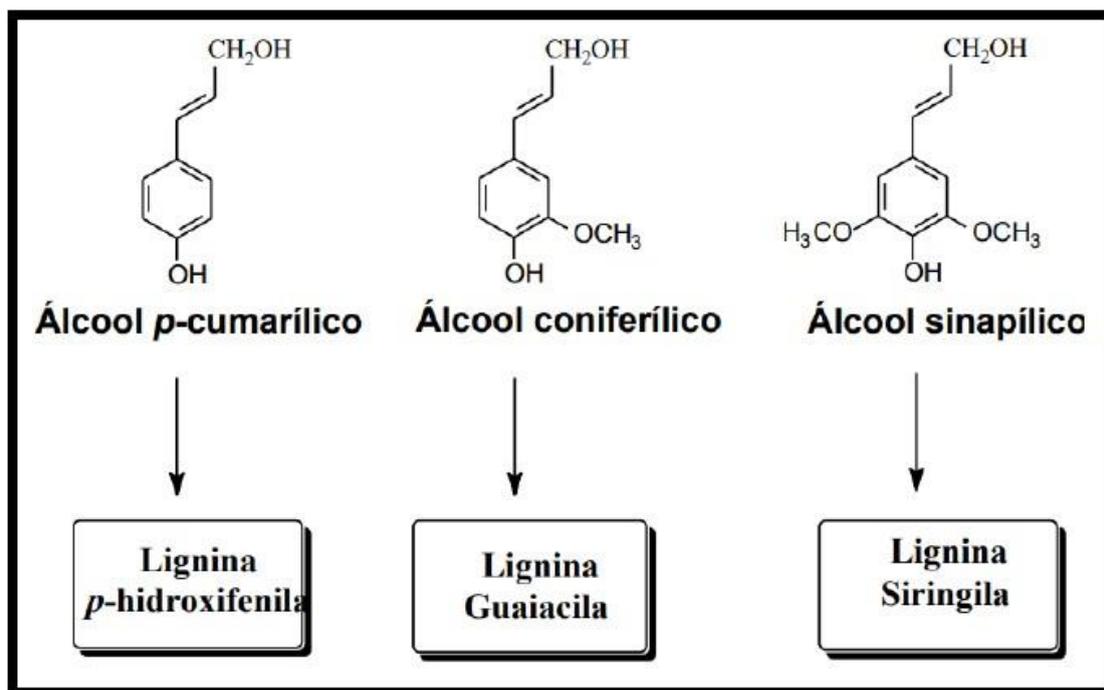


Figura 10- Álcoois precursores das unidades fenilpropanóides: *p*-hidroxifenila (*H*), guaiacila (*G*) e siringila (*S*) (KLOCK et al., 2005).

A lignina é considerada um poderoso agente “cimentante” da parede celular e é incorporada na célula vegetal como um dos últimos componentes, fortalecendo e enrijecendo a parede celular, de modo a proporcionar maior resistência mecânica a essa estrutura (NOVAES et al., 2010). A lignina também possui um papel importante, tanto no transporte de água e nutrientes das plantas, como protegendo os tecidos dos vegetais da degradação química e/ou biológica (CANILHA et al., 2010).

Mesmo que a estrutura da parede celular seja relativamente estável, sua composição química está sujeita a variação. 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).

A composição da lignina varia entre as espécies, dentro da espécie e também na mesma planta, pois há variações de célula para célula de acordo com a localização da parede celular, conforme a fase de desenvolvimento (STUDART-GUIMARÃES et al., 2003). Moura et al. (2010) sugere que estresses abióticos como baixas temperaturas, luminosidade, radiação, deficiência hídrica, nutrição mineral e metais pesados podem ser determinantes na concentração de lignina nas plantas.

2.6 SINALIZAÇÃO E DEFESA AO ESTRESSE

Em toda célula existe um equilíbrio dinâmico entre as reações que geram ERO's e os antioxidantes. Sendo assim, o grau do dano celular está altamente relacionado à produção ERO's e sua remoção pelo sistema antioxidante (AZOOZ et al., 2009). O equilíbrio entre a produção e a dissipação de ERO's pode ser perturbado por vários fatores de estresses abióticos e bióticos como luz, seca e extremos de temperatura (GILL e TUTEJA, 2010). Uma mudança neste equilíbrio a favor das reações oxidativas acarreta o estado conhecido como estresse oxidativo (ARORA et al., 2002; OZTETIK, 2011).

Para minimizar os traumas relacionados ao estresse oxidativo, a homeostase das ERO's nas plantas é rigidamente regulada por uma maquinaria complexa de antioxidantes enzimáticos e não enzimáticos (MITTLER et al., 2009). Dessa forma, o potencial de tolerância contra o dano oxidativo dependerá da eficiência com que se mobilizam as defesas antioxidantes do metabolismo secundário, tanto enzimático quanto não enzimático (BRANDÃO et al., 2017).

Danos aos ácidos graxos de uma membrana celular podem produzir pequenos hidrocarbonetos, como o malondialdeído (MDA) gerado pela decomposição do ácido araquidônico e de ácidos graxos maiores (AYALA et al., 2014). O MDA é o produto final da peroxidação lipídica e é considerado como um indicador de danos decorrentes do estresse oxidativo (MONTEIRO et al., 2012; MURSHED et al., 2013). A indução da peroxidação lipídica é decorrente da reação das ERO's com ácidos graxos insaturados,

com consequente peroxidação de lipídios de membranas essenciais da plasmalema ou organelas intracelulares (AGUIAR-SILVA et al., 2016). O acúmulo de MDA pode indicar uma crescente produção do radical superóxido ($O_2^{\bullet -}$) e peróxido de hidrogênio (H_2O_2) em plantas sob condições de estresse, ocasionando alterações na funcionalidade e integridade das membranas, podendo ocorrer danos irreversíveis (PIGNATA et al., 2002; GRATÃO et al., 2012).

Outro produto do estresse oxidativo é o H_2O_2 que, por ser uma molécula de vida relativamente longa e de alta permeabilidade através de membranas, pode ser considerado um mensageiro secundário para sinais gerados através das ERO's (QUAN et al., 2008). A redução univalente de $O_2^{\bullet -}$ produz o H_2O_2 que possui, como principal efeito, a inativação de proteínas através da oxidação do grupo tiol em cisteínas e atuando sobre grupos compostos por ferro e enxofre (KARUPPANAPANDIAN et al., 2011; MHAMDI et al., 2012). O peróxido de hidrogênio também tem ação deletéria e participa da reação formadora do radical hidroxil (OH^{\bullet}), o oxidante mais reativo na família das ERO'S.

O H_2O_2 possui dois papéis nos vegetais. Em baixas concentrações, pode atuar como uma molécula sinalizadora envolvida na ativação de processos de aclimatação e tolerância a diversos estresses abióticos e bióticos. Em altas concentrações, pode levar à morte celular programada (QUAN et al., 2008). Ele também atua como regulador chave de diversos processos fisiológicos como: senescência, fotorrespiração, fotossíntese, movimento estomático, crescimento e desenvolvimento da planta (GILL e TUTEJA 2010).

Para atenuar o efeito negativo da superprodução de ERO's, ocorre aumento da atividade das enzimas antioxidantes ou incremento na síntese de compostos antioxidantes não enzimáticos (VENTURA et al., 2019), como os compostos fenólicos totais, entre eles os flavonóides (GHARIBI et al., 2016). Podem ocorrer naturalmente na forma livre (agliconas), ligados a açúcares (glicosídeos), ou ainda, ligados a proteínas, terpenos, entre outros. Ácidos fenólicos, quinonas, fenilpropanóides, cumarinas, flavonóides e as

substâncias poliméricas (taninos e ligninas) são exemplos de substâncias fenólicas (DE REZENDE et al., 2016).

Tanto o aumento de temperatura quanto a falta da água promovem uma maior atividade das enzimas antioxidantes, bem como, uma maior concentração de moléculas antioxidantes (ZANDALINAS et al., 2017), embora, em situações extremas, estas respostas não sejam suficientes para evitar possíveis danos celulares (VENTURA et al., 2019).

Os flavonóides formam uma família de metabólitos secundários de plantas com mais de 9000 moléculas individuais encontradas em todos os tecidos e órgãos (WILLIAMS e GRAYER, 2004). Estão envolvidos em uma série de processos, incluindo interações planta-patógeno, polinização, triagem de luz, desenvolvimento de sementes e alelopatia (WINKEL-SHIRLEY, 2001).

Muitos genes biossintéticos de flavonóides são induzidos sob condições de estresse e, conseqüentemente, os níveis de flavonóides aumentam durante a exposição a estresses bióticos e abióticos, como ferimentos, seca, toxicidade de metais e privação de nutrientes (DIXON e PAIVA, 1995; WINKEL-SHIRLEY, 2002). Os flavonóides, dessa forma, atuam como antioxidantes, protegendo as plantas do estresse oxidativo (HERNANDÉZ et al., 2009)

Alguns estudos relacionam a sucessão florestal como fator preventivo do estresse oxidativo. Guo et al. (2004) e Favaretto et al. (2011) relatam que, nas espécies heliófitas, o potencial antioxidativo é maior do que nas ombrófilas. Ou seja, as heliófitas são mais tolerantes a níveis elevados de luz e temperatura, portanto, menos suscetíveis aos fotodanos.

3. Objetivo

3.1 Objetivo Geral

O trabalho teve como objetivo analisar a alocação de carboidratos não estruturais e polímeros de parede celular em folhas, caule e raízes de plantas dos morfotipos pequeno e médio de *P. echinata*, bem como a resposta antioxidante não enzimática foliar frente à combinação de diferentes déficits de pressão de vapor (DPV) e temperatura.

3.2 Objetivo Específico

- Determinação dos açúcares solúveis, incluindo sacarose e açúcares redutores, de folhas, raiz e caule das plantas dos morfotipos pequeno e médio de *P. echinata* submetidas às diferentes combinações de alto e baixo DPV e temperatura.
- Quantificar os teores de celulose, hemiceluloses e ligninas nos órgãos vegetativos das plantas dos dois morfotipos de *P. echinata* cultivadas sob combinação de alto e baixo DPV e temperatura.
- Avaliar os danos oxidativos determinando os teores de malondialdeído (MDA) e peróxido de hidrogênio (H_2O_2) em folhas das plantas dos morfotipos pequeno e médio da espécie em foco sob os cenários climáticos de maior e menor DPV e de temperatura.
- Avaliar a resposta antioxidante não enzimática determinando os teores de fenóis e flavonóides em folhas das plantas dos morfotipos pequeno e médio da espécie em foco, submetidas a combinações de alto e baixo DPV e de temperatura.

4. Material e Métodos

4.1 Material vegetal e condições de experimentação

O experimento foi conduzido na Universidade Federal do Espírito Santo (UFES), campus de Jerônimo Monteiro - ES (20° 47' 8" S e 41° 23' 52" O), na área experimental do Laboratório de Meteorologia e Ecofisiologia Florestal. As mudas de *P. echinata* dos morfotipos pequeno e médio (figura 11) foram doadas pela Empresa Vale Brasil quando apresentavam cerca de um ano e oito meses.



Figura 11- *Paubrasilia echinata* representado por dois morfotipos utilizados para realização do experimento, sendo A- morfotipo médio e B- morfotipo pequeno.

As mudas foram transplantadas para vasos plásticos de 30L com substrato comercial acrescido de 2,5 g/L de adubo de liberação controlada (6 meses), com formulação NPK 15–9–12. Por um período de trinta dias, os vasos foram mantidos sob as mesmas condições climáticas ($T_{\text{méd}}$ 23,8 °C e $DPV_{\text{méd}}$ 0,5 KPa) para garantir a aclimação das mudas. Após o período de aclimação, os dois morfotipos foram distribuídos em quatro casas de vegetações climatizadas (Figura 12) com condições ambientais controladas, simulando diferentes condições climáticas. Todas as plantas foram mantidas sob irrigação até a capacidade de campo durante todo o período experimental.



Figura 12- Casas de vegetação climatizadas onde o experimento foi conduzido, na área experimental do Laboratório de Meteorologia e Ecofisiologia Florestal (LMEF) pertencente à Universidade Federal do Espírito Santo (UFES).

Os dois morfotipos foram submetidos a quatro diferentes tratamentos, durante 122 dias: **A1**-baixa demanda atmosférica e baixa temperatura (DPV \downarrow T); **A2**- baixa demanda atmosférica e alta temperatura (DPV \downarrow \uparrow T); **A3**- alta demanda atmosférica e alta temperatura (DPV \uparrow T); **A4**- alta demanda atmosférica e baixa temperatura (DPV \uparrow \downarrow T) (Tabela 1). Para obtenção do déficit de pressão de vapor do ar (DPV) foram utilizados os dados de temperatura e umidade relativa onde o resultado se dá através da diferença entre a pressão de saturação de vapor d'água, determinada pela equação de Tetens, e a pressão parcial de vapor, determinada de acordo com a equação proposta por Pereira et al. (2002).

Ao final desse período, foram coletadas cinco plantas de cada tratamento de cada morfotipo. As plantas coletadas foram separadas em raiz, caule e folha. Parte das mostras passou por secagem em estufa de circulação forçada a 65 °C até alcançar peso constante e, posteriormente trituradas em moinho de bola (modelo TE-350, Tecnal). O material foi armazenado para análises posteriores. Uma segunda parte do material fresco foi acondicionada em nitrogênio líquido logo após a coleta e, posteriormente, armazenado em ultrafreezer -80 °C. Esse material foi liofilizado para análises dos metabólitos das reações oxidantes e antioxidantes não enzimáticos.

Tabela 1- Caracterização microclimática dos tratamentos aplicados ao longo de 122 dias de experimentação, em casa de vegetação climatizada no município de Jerônimo Monteiro, ES. T_{Med} , T_{Min} , T_{Max} – Temperatura média, mínima e máxima, respectivamente; DPV_{Med} , DPV_{Max} – Déficit de Pressão de Vapor do ar médio e máximo, respectivamente.

Tratamentos	T_{Med} (°C)	T_{Min} (°C)	T_{Max} (°C)	DPV_{Med} (KPa)	DPV_{Max} (KPa)
A1 - Baixa demanda atmosférica com baixa temperatura	19,8	15,4	25,9	0,4	0,7
A2 - Baixa demanda atmosférica com alta temperatura	23,8	18,6	31,6	0,5	1,0
A3 - Alta demanda atmosférica com alta temperatura	25,10	19,7	32,6	2,0	3,1
A4 - Alta demanda atmosférica com baixa temperatura	19,5	14,9	26,0	1,1	1,7

Fonte: Galvão, 2018.

4.2- Determinação dos Polímeros de Parede Celular

4.2.1 Celulose

Para a determinação de celulose, foi utilizada a metodologia descrita por Brendelet al. (2000) com adaptações. Inicialmente foram pesadas 100 mg de amostras previamente secas e pulverizadas. Foram adicionados 2mL de ácido acético 80% e 200 μ L de ácido nítrico 69% concentrado. Os tubos foram homogeneizados e levados ao banho-maria a 100 °C por 1 hora. Após o resfriamento da amostra, foram adicionados 2,5 mL de etanol 99 %.

As amostras foram homogeneizadas (agitador Vórtex mod. NI1059, Nova Instruments) e centrifugadas a 2500 g (mod 6-15, Sigma Laborzentrifugen) por 7 minutos 25 ± 2 °C e o sobrenadante descartado. Posteriormente, as amostras foram lavadas de forma sequenciada com: 5mL de etanol 99 % para remover os produtos degradados na extração; 5 mL de água deionizada para remover os vestígios do ácido nítrico; 5 mL de NaOH 17%; 5 mL de água deionizada; 2,2 mL de água deionizada mais 600 μ L de ácido acético; 5 mL de água deionizada. Entre cada lavagem, as amostras

foram centrifugadas a 2500 g por 7 minutos em 25 ± 2 °C e os sobrenadantes descartados. As amostras foram secas em estufa a 60 °C por aproximadamente 48 horas e em seguida, pesadas. Os resultados da concentração de celulose foram expressos mg g^{-1} MS,

4.2.2 Hemicelulose

A extração das hemiceluloses seguiu o protocolo de Shâdelet al. (2010), com modificações. Foram pesadas 50 mg de amostra seca e adicionados 1,5 mL de etanol 80%, para extração dos açúcares solúveis. Os tubos, foram acondicionados em banho maria 80 °C por 20 min. As amostras foram centrifugadas a 12000 g (mod. Z 326K, Hermlelabortechnik) por 7 min a 10 °C e o sobrenadante descartado. Esta operação foi realizada quatro vezes para retirada total dos resíduos de açúcares solúveis presentes nas amostras. O precipitado foi seco em estufa a 50 °C durante 36 h.

Ao precipitado seco foram adicionados 1,5 mL de dimetilsulfóxido (DMSO) 90% e mantido sob agitação em placa agitadora por 24 h. Após esse período, as amostras foram centrifugadas por 7 min a 5 °C e o sobrenadante descartado. Em seguida, o precipitado foi lavado com 1,5 mL de água deionizada por três vezes, centrifugado e descartado o sobrenadante para retirada total do DMSO. O precipitado foi transferido para estufa a 50 °C por 36h.

Acrescentou-se ao precipitado seco 1,5 mL do detergente neutro e 25 μL de solução de sulfito de sódio (10 mg/10 mL) para extração de proteínas. As amostras foram submetidas ao banho-maria a 100 °C por 60 min sob agitação constante. A mistura foi centrifugada e o sobrenadante descartado. O precipitado desta etapa (celulose, hemicelulose e lignina) foi lavado, sequencialmente: duas vezes com 1,5 mL de água deionizada; 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 então transferido para estufa 50 °C durante 36 h e pesado.

Após secagem, foi adicionado ao precipitado 1,5 mL do detergente ácido (H_2SO_4 1N) e brometo de hexadeciltrimetilamônio ácido deoxicólico sal sódico (55 mmol) e homogeneizado. As misturas foram submetidas, novamente, ao banho-maria a 100 °C com agitação constante por 60 min, centrifugadas e o sobrenadante contendo hemicelulose foi descartado.

O precipitado foi lavado em 1,5 mL de água deionizada por cinco vezes, centrifugado a 12000g a 10 °C e descartado o sobrenadante cuidadosamente, para retirada total do detergente ácido. O precipitado contendo apenas a “fração de celulose e lignina” foi seco em estufa 50 °C durante 36 h, seguido de pesagem. O cálculo para a determinação da concentração das hemiceluloses 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 mg de hemicelulose por grama de massa seca (mg g^{-1} MS).

4.2.3 Lignina

A extração de lignina seguiu o protocolo de Dos Santos et al. (2008). Foram pesados 150 mg das amostras secas pulverizadas, em tubos de vidro e homogeneizado em 10 mL de solução tampão fosfato de sódio e potássio 50 mM em pH 7. As amostras foram transferidas para tubos Falcon de 15 mL e o material foi centrifugado por 10 min a 2500 g e o sobrenadante descartado. O precipitado passou por 12 lavagens com diferentes soluções (Tabela 02), seguindo sempre o mesmo procedimento: a solução foi adicionada, homogeneizada em Vórtex, centrifugação e o sobrenadante descartado.

Após a 12ª lavagem, o precipitado foi seco em estufa a 60 °C por 24 h. O material resultante compreende a fração de parede celular livre de proteínas. Do precipitado seco, foram pesados 50 mg em tubos Falcon de 15 mL e adicionados 1,2 mL de ácido tioglicólico e 6 mL de HCl 2 M. As misturas foram incubadas a 95 °C por 4 h, centrifugadas a 2500 g 25 ± 2 °C por 15 min e lavadas três vezes com água destilada. Ao precipitado foi adicionado 7mL de NaOH 0,5 M e as misturas incubadas a 30 °C por 18 h sob agitação constante. Após agitação, as misturas foram centrifugadas e reservou-se o sobrenadante. O precipitado foi lavado com

3 mL de NaOH 0,5 M e centrifugado em seguida. O sobrenadante resultante foi unido ao anterior e acidificado com 1,8 mL de HCl acondicionado a 4 °C por 12 h sem agitação para a precipitação do ácido lignina-tioglicólico complexo. Após esse período, as misturas foram centrifugadas a 2500 g 25 ± 2 °C por 10 min., lavadas duas vezes com água deionizada, e descartado o sobrenadante. O precipitado foi seco a 60 °C por 24h e ressuspenso em 15 mL NaOH 0,5 M. Uma alíquota de 100 µL desse extrato foi diluída com 2000 µL de NaOH 0,5 M e lido em espectrofotômetro a 280 nm. A quantificação foi determinada em curva padrão de lignina Sigma (informar o limite superior da curva), e os resultados expressos mg g⁻¹ MS.

Tabela 2- Soluções utilizadas na sequência de lavagens para extração da lignina.

<i>Número de Lavagens</i>	<i>Volume (ml)</i>	<i>Soluções</i>
3	7	<i>Tampão fosfato 50 mM pH 7</i>
3	7	<i>Triton ® x-100(v/v) 1 % pH 7</i>
2	7	<i>Tampão NaCl pH 7</i>
2	7	<i>Água deionizada</i>
2	7	<i>Acetona PA</i>

4.3- Determinação dos açúcares solúveis, flavonóides e fenóis

O extrato etanólico foi preparado a partir de 40mg de amostra liofilizada, sendo homogeneizado em 15ml de etanol 95%. O homogeneizado foi incubado durante 24 h a 4 °C no escuro. Em seguida, realizou-se a centrifugação do extrato etanólico durante 20 min para a separação do sobrenadante que foi mantido em refrigeração a 4 °C no escuro.

4.3.1 Açúcares solúveis

O método fenol-sulfúrico descrito por Dubois et al. (1956) foi utilizado para quantificar os carboidratos solúveis. Utilizou-se uma alíquota de 50 µL de extrato etanólico, 450 µL de água deionizada, 500 µL de fenol 5% e

2,5 mL de ácido sulfúrico (P.A). As leituras de absorvância foram realizadas em espectrofotômetro (Genesys 10S UV-Vis, Thermo Fisher Scientific) a 490 nm. Realizou-se uma curva de calibração utilizando glicose como padrão (0 a 40 $\mu\text{g mL}^{-1}$) e os resultados foram expressos em mg.g^{-1} MS.

4.3.2 Sacarose

O teor de sacarose baseou-se no método da antrona (RIAZI et al., 1985). Utilizou-se uma alíquota de 50 μL de extrato etanólico, 200 μL de água deionizada com 100 μL de solução de KOH 5,4 N, por 10 minutos, a 100 °C. Posteriormente, acrescentou-se 3,0 mL de solução de antrona que permaneceu por 5 minutos, a 100 °C. Após o resfriamento, as amostras foram diluídas em 10 ml de água deionizada e lidas a 620 nm em espectrofotômetro. Um padrão de sacarose foi usado para a curva de calibração (0 a 5 $\mu\text{g mL}^{-1}$). Os resultados da concentração de sacarose foram expressos mg.g^{-1} MS.

4.3.3 Açúcares redutores

O teor de carboidratos redutores em cada amostra foi resultante da subtração dos valores dos carboidratos solúveis totais dos valores de sacarose (CHAVES FILHO e STACCIARINI-SERAPHIN, 2001).

4.3.4 Fenóis

Os compostos fenólicos foram determinados utilizando-se o reagente de *Folin-Ciocalteu*, segundo metodologia proposta por Singleton e Rossi (1965), com modificações. Foram adicionados 50 μL de extrato etanólico, 1250 μL de água deionizada, 200 μL de reagente *Folin-Ciocalteu* em agitação por 4 min. Posteriormente foi adicionado 1 mL de Na_2CO_3 (15%) e a mistura permaneceu por 2 h a 25 °C. Após esse período, foi realizada leitura em 760nm. Para a curva padrão foi utilizada ácido gálico e o conteúdo de fenóis totais foi expresso em mg de ác. gálico. g^{-1} MS.

4.3.5 Flavonóides

O teor de flavonóides foi estimado pelo método de Flint *et al.* (1985), com modificações. A reação colorimétrica foi constituída de 500 µL de extrato etanólico, 100 µL cloreto de alumínio (10%), 100 µL de acetato de potássio 1M e 4,5 ml de água deionizada. O volume final foi homogeneizado em 25 °C por 30 min e a leitura realizada em 428 nm. Para a curva padrão, foi utilizada quercitina e o conteúdo de flavonóides foi expresso em mg de quercitina.g⁻¹ MS.

4.4- Amido

O teor de amido foi determinado através do método enzimático rápido e sensível de extração e dosagem (AMARAL et al. 2007). A partir de 10 mg para cada amostra, foram extraídos os açúcares solúveis, pigmentos, fenóis e outras substâncias por extração alcoólica. A partir do precipitado seco resultante, foi adicionado em sequência 0,5 mL (120 U mL⁻¹) de α-amilase (EC 3.2.1.1) termoestável de *Bacilluslicheniformis* (cód. E-ANAAM, MEGAZYME, Irlanda) e 0,5 mL de uma solução contendo 30 U mL⁻¹ de amiloglucosidase (EC 3.2.1.3) de *Aspergillusniger* (cód. E-AMGPU, MEGAZYME, Irlanda) para hidrolisar as ligações das moléculas de amido, liberando os monômeros de glicose. A leitura da concentração de amido foi realizada a partir da quantificação da glicose liberada após reação com a Glicose PAP Liquiform (CENTERLAB, Brasil), que, ao reagir com a glicose, gera uma intensidade de cor. A determinação por método colorimétrico foi então realizada por leitor de microplacas de ELISA, em comprimento de onda 490 nm. A curva padrão foi construída com as 0,0; 2,5; 5,0; 7,5; 10,0; 12,5; e 15,0 g L de amido padrão Sigma®.

4.5- Teores de H₂O₂ e malonaldeído (MDA)

Os extratos para análise dos teores de H₂O₂ e MDA foram obtidos a partir de 40 mg de tecido foliar liofilizado, triturados em nitrogênio líquido acrescido de PVPP (20%) e homogeneizados em 5 mL de ácido tricloroacético (TCA) 0,1%. Posteriormente, o extrato foi centrifugado a 10.000 x g a 4 °C

por 10 min, e o sobrenadante utilizado para as reações de quantificação das substâncias.

4.5.1 H_2O_2

O teor de H_2O_2 foi baseado em Alexieva et al. (2001). O meio de reação consistiu de 0,4 mL do sobrenadante do extrato, 0,4 mL de tampão fosfato de potássio 100 mM (pH 7,0) e 1,6 mL de iodeto de potássio (1M). A reação desenvolveu-se por 1h no escuro e a absorbância lida em 390 nm. A concentração de H_2O_2 foi calculada através de curva padrão de 0 a 250 μ M de H_2O_2 e expresso em μ mol g^{-1} MS.

4.5.2 MDA

O teor de MDA foi utilizado para determinar o nível de danos nas membranas. O método utilizado foi de acordo com Buege e Aust (1978), baseado na reação com ácido tiobarbitúrico (TBA). Uma alíquota de 0,5 mL do extrato foi adicionada a 1,5 mL do meio de reação contendo TBA 0,5% (m/v) e TCA 10% (m/v), reagindo a 95 °C, por 30 minutos. A reação foi paralisada por resfriamento rápido em gelo e centrifugada a 10.000 x g, durante 10 minutos. As leituras foram realizadas em espectrofotômetro, a 440, 532 e 600 nm e o teor de MDA calculado segundo Du e Bramlage (1992). A concentração de MDA foi expressa em μ mol g^{-1} MS.

4.6- *Análise Estatística*

O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado (DIC), com quatro tratamentos (Tabela 1) e cinco (5) unidades amostrais por tratamento. Cada unidade amostral foi constituída de uma planta por vaso. Para todas as variáveis, realizou-se análise de variância (ANOVA), utilizado o teste de Tukey adotando-se um nível de significância de até 5% de probabilidade. Para as análises estatísticas utilizou-se o software Infostat versão 2018.

5. RESULTADOS

5.1 Carboidratos não estruturais

Os teores de açúcares solúveis dos órgãos vegetativos dos dois ecotipos de *P. echinata* são apresentados na Fig. 13.

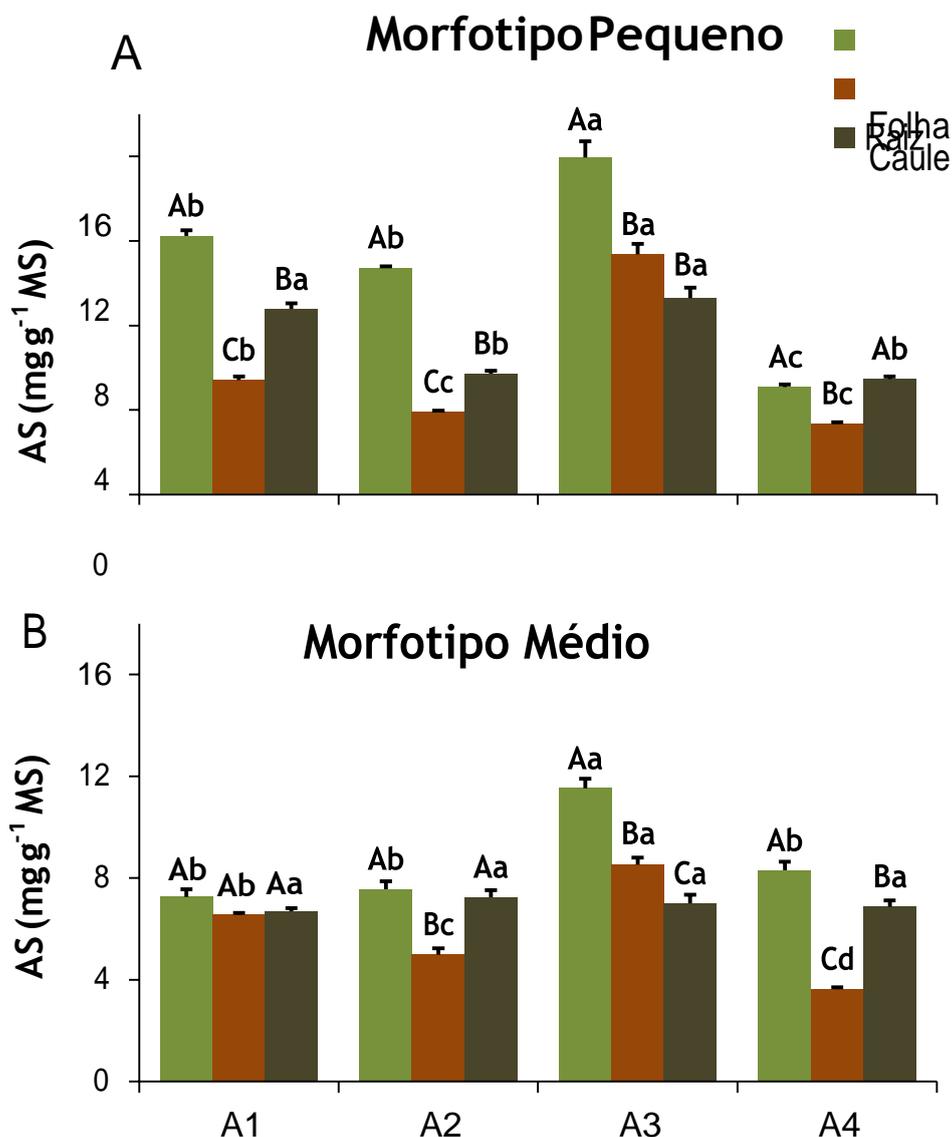


Figura 13- Teor de açúcares solúveis (AS) em dois morfotipos de *P. echinata*: A-Morfotipo Pequeno e B-Morfotipo Médio, submetidos a quatro diferentes condições de DPV (déficit de pressão de vapor) e T (temperatura). Sendo A1- baixo DPV e temperatura; A2 – Baixo DPV e alta Temperatura; A3- Alto DPV e temperatura e A4- alto DPV e menor temperatura . Letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,005$, $n=5$). As letras maiúsculas representam diferença estatística entre os três órgãos (folha, caule e raiz) no mesmo ambiente. Já as letras minúsculas representam diferença estatística entre o mesmo órgão nos diferentes ambientes.

Foi possível observar que, no morfotipo pequeno, as folhas apresentaram maior concentração de AS em relação aos demais órgãos (Figura 13A). Essa elevada concentração foliar foi verificada nos quatro ambientes. No A1 e A2 observou-se que as raízes apresentaram maior concentração de AS em relação ao caule. Já em A3, a concentração caulinar e radicular foram semelhantes. O mesmo não foi observado para A4 onde a concentração foliar e radicular foram semelhantes, tendo o caule a maior concentração nesse ambiente.

Ao observar a concentração de AS nos diferentes órgãos nos quatro ambientes estudados, percebeu-se que a concentração de AS foliar em A3 foi superior ao encontrado nos demais ambientes. Assim como as folhas, o caule e a raiz apresentaram maiores concentrações de AS entre os ambientes. Já em A2 e A4, foi possível observar as menores concentrações de AS no caule e raiz quando comparado com os outros ambientes.

O padrão de alocação de AS no morfotipo médio (Figura 13B) revelou maior concentração desses carboidratos nas folhas em todos os ambientes. Contudo, em A1, essa concentração foi semelhante aos observados nos demais órgãos avaliados nesse ambiente. Para o A2, o caule apresentou a menor concentração de AS quando comparado com as folhas e raízes, que não diferiram entre si. Já em A3, o padrão de alocação demonstrou maior concentração foliar, seguido do caule e raiz. Diferentemente do padrão encontrado em A3, A4 apresentou maior concentração foliar e menor concentração caulinar.

Comparando a concentração de AS para cada órgão, entre os ambientes, foram observadas as maiores concentrações nas folhas e caules das plantas do morfotipo médio submetidas ao A3. Já as raízes não apresentaram diferença estatística entre os quatro ambientes nos quais o morfotipo médio foi avaliado.

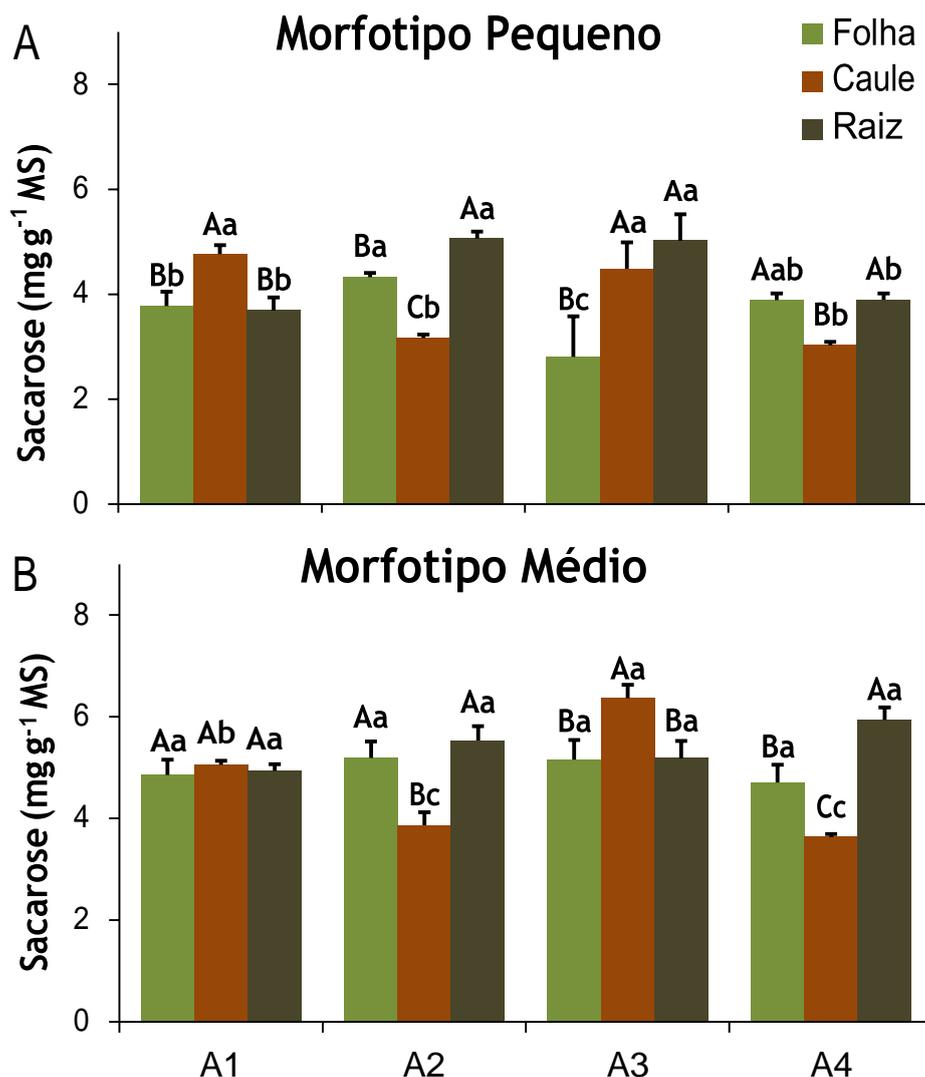


Figura 14- Padrão de alocação de Sacarose em dois morfotipos de *P. echinata*: A-Morfotipo Pequeno e B- Morfotipo Médio; submetidos a quatro diferentes condições de DPV (Déficit de pressão de vapor) e T (Temperatura). Sendo A1- baixo DPV e Temperatura (DV↓T); A2 – Baixo DPV e alta Temperatura (DPV↓↑T); A3- Alto DPV e temperatura (DPV↑T) e A4- alto DPV e menor temperatura (DPV↑↓T). Letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,005$). As letras maiúsculas representam diferença estatística entre os três órgãos (folha, caule e raiz) no mesmo ambiente. Já as letras minúsculas representam diferença estatística entre o órgão nos diferentes ambientes. Os valores são referentes a média ($n=5$).

O padrão de alocação da sacarose também foi avaliado para esse trabalho. No morfotipo pequeno (Figura 14A) verificou-se que, em A1, o caule apresentou a maior concentração de sacarose. Já as folhas e raízes desse ambiente apresentam concentrações semelhantes. Em A2 e A3, a concentração de sacarose radicular foi maior quando comparadas as folhas,

e semelhante ao caule de A3. No A4 observou-se que a concentração radicular foi semelhante à concentração de sacarose foliar.

Ao observar os diferentes órgãos, do morfotipo pequeno, nos quatro ambientes percebeu-se que as folhas de A2 apresentaram maior concentração de sacarose em relação aos demais ambientes. Já em A1 e A3 a concentração caulinar foi superior ao encontrado em A2 e A4. Todavia, os ambientes com temperatura mais elevada (A2 e A3) demonstraram maior alocação de sacarose nas raízes.

No morfotipo médio (Figura 14B), a concentração de sacarose foi semelhante nos três órgãos avaliados, quando as plantas foram condicionadas ao ambiente A1. Quando as plantas foram submetidas a ambiente de baixo DPV e alta temperatura (A2), as concentrações encontradas para as folhas e raízes foram semelhantes, tendo esses órgãos concentrações maiores às encontradas para o caule. Já em A3, a maior concentração de sacarose foi encontrada no caule, tendo as folhas e raízes concentrações semelhantemente menores. O padrão de alocação em A4 demonstrou maior concentração nas raízes e menor concentração no caule (raiz>folha>caule).

A concentração de sacarose foliar e radicular não diferiu entre os ambientes avaliados. Contudo, em A3, verificou-se a maior concentração caulinar entre os quatro ambientes.

Para AR, no morfotipo pequeno, a concentração encontrada nas folhas foi superior à da raiz e caule. Esse padrão de alocação foi observado em A1, A2 e A3. Porém, no A4, a concentração de sacarose foliar e radicular foi semelhante e, ambos, superiores ao encontrado no caule.

Ao verificar os diferentes órgãos em relação aos ambientes avaliados, percebeu-se que, em A3, a concentração de AR foliar, caulinar e radicular (12,60; 7,88 e 9,16 mg g⁻¹ MS respectivamente) foram as maiores encontradas para esses órgãos. Já em A4, a concentração de AR foliar e radicular foi a menor observada para esses órgãos entre os diferentes ambientes (1,21 e 1,42 mg g⁻¹MS).

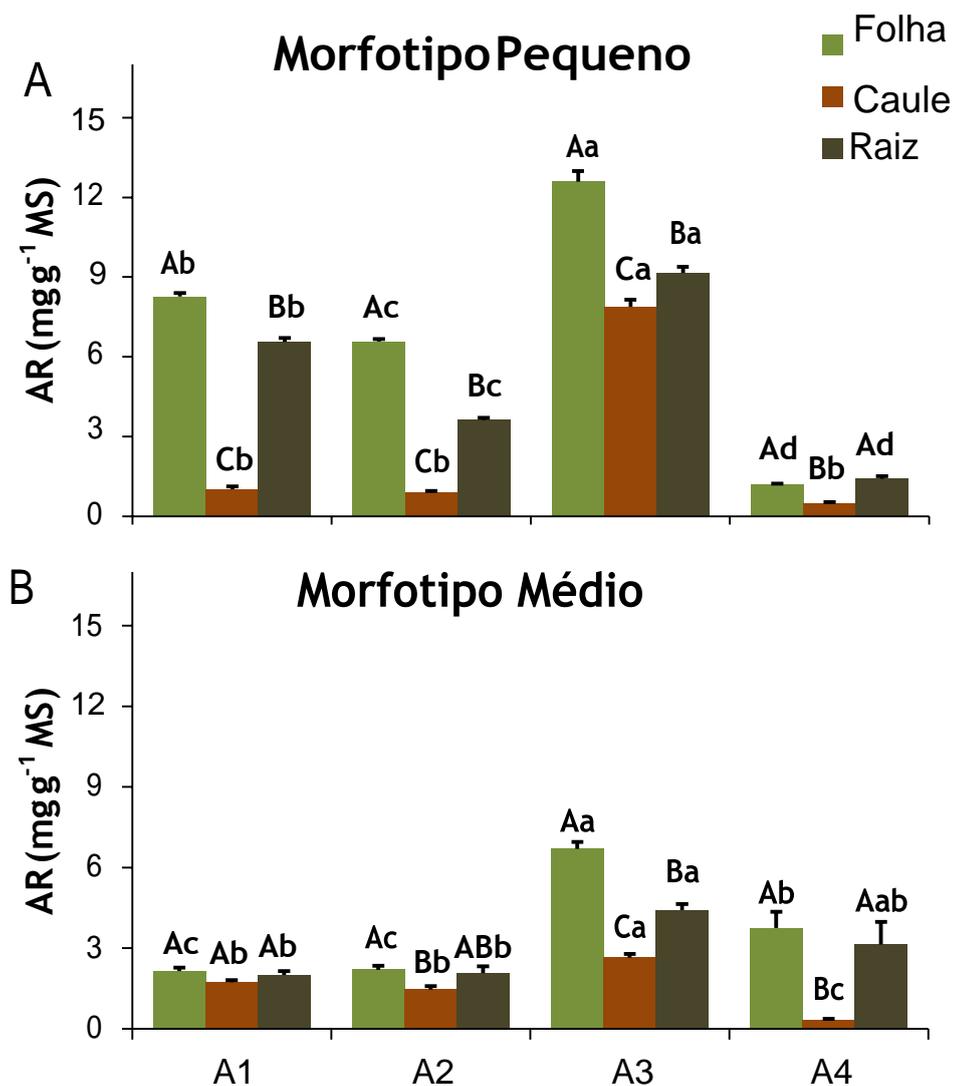


Figura 15- Padrão de alocação de Açúcares Redutores (AR) em dois morfotipo de *P. echinata*: A- Morfotipo Pequeno e B- Morfotipo Médio; submetidos a quatro diferentes condições de DPV (Déficit de pressão de vapor) e T (Temperatura). Sendo A1- baixo DPV e Temperatura (DV↓T); A2 – Baixo DPV e alta Temperatura (DPV↓↑T); A3- Alto DPV e temperatura (DPV↑T) e A4- alto DPV e menor temperatura (DPV↑↓T). Letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,005$). As letras maiúsculas representam diferença estatística entre os três órgãos (folha, caule e raiz) no mesmo ambiente. Já as letras minúsculas representam diferença estatística entre o órgão nos diferentes ambientes. Os valores são referentes à média ($n=5$).

Na Figura 15B percebeu-se que, para o morfotipo médio, A1 apresentou semelhante concentração de AR nos três órgãos avaliados. Nos ambientes A2 e A4, a concentração de AR foliar e radicular foram semelhantes, sendo maiores que os observados para o caule. Todavia, em A3, as folhas

apresentam maior concentração foliar, sendo essa concentração 34% superior ao encontrado nas raízes e 60% superior ao caulinar.

Avaliando, individualmente, os três órgãos no morfotipo médio, percebe-se que no ambiente de maior DPV e temperatura (A3) apresentaram as maiores concentrações de AR foliar ($6,68 \text{ mg g}^{-1} \text{ MS}$), caulinar ($2,65 \text{ } 6,68 \text{ mg g}^{-1} \text{ MS}$) e radicular ($4,42 \text{ } 6,68 \text{ mg g}^{-1} \text{ MS}$). Já A1 e A2 apresentaram as menores concentrações foliares, enquanto em A4 o caule apresentou menor concentração em relação aos demais ambientes.

O amido, mais importante carboidrato de reserva, apresentou em A1 concentração semelhante nas folhas e caule do morfotipo pequeno (Figura 16A). Entretanto, a concentração radicular foi 38% menor que os demais órgãos desse ambiente. Já no A2, a concentração de amido encontrada no caule e raiz forma semelhantes, sendo 74% a menos que o encontrado nas folhas. Nos ambientes A3 e A4, a concentração radicular foi superior à encontrada nas folhas e no caule.

Todavia, ao avaliar os três órgãos nos quatro ambientes, foi possível observar que A1 foi responsável pela maior concentração de amido observada para as folhas e caule ($12,42$ e $12,04 \text{ mg g}^{-1} \text{ MS}$). Contudo, A3 apresentou a maior concentração de amido radicular ($12,13 \text{ mg g}^{-1} \text{ MS}$) entre os ambientes e menor concentração foliar.

Para o morfotipo médio (Figura 16B) os ambientes A1, A2 e A3 apresentaram maior concentração de amido foliar em relação aos demais órgãos. Todavia, em A1, a concentração de amido caulinar e radicular foram semelhantes. Já em A2, o amido radicular foi 75% inferior ao foliar e caulinar. No ambiente de maior DPV e menor temperatura (A4), a concentração de amido foi maior no caule, tendo as raízes a menor concentração de amido entre os três órgãos desse ambiente.

Em relação aos órgãos avaliados no morfotipo médio, observou-se que concentração de amido foliar foi maior em A1 ($8,82 \text{ mg g}^{-1} \text{ MS}$), enquanto A2 apresentou concentração maior no caule em relação aos demais ambientes. Todavia, A3 e A4 apresentam concentrações semelhantes de amido radicular

(1,42 e 1,37 mg g⁻¹ MS respectivamente), sendo esses os maiores observados para esse órgão entre os quatro ambientes.

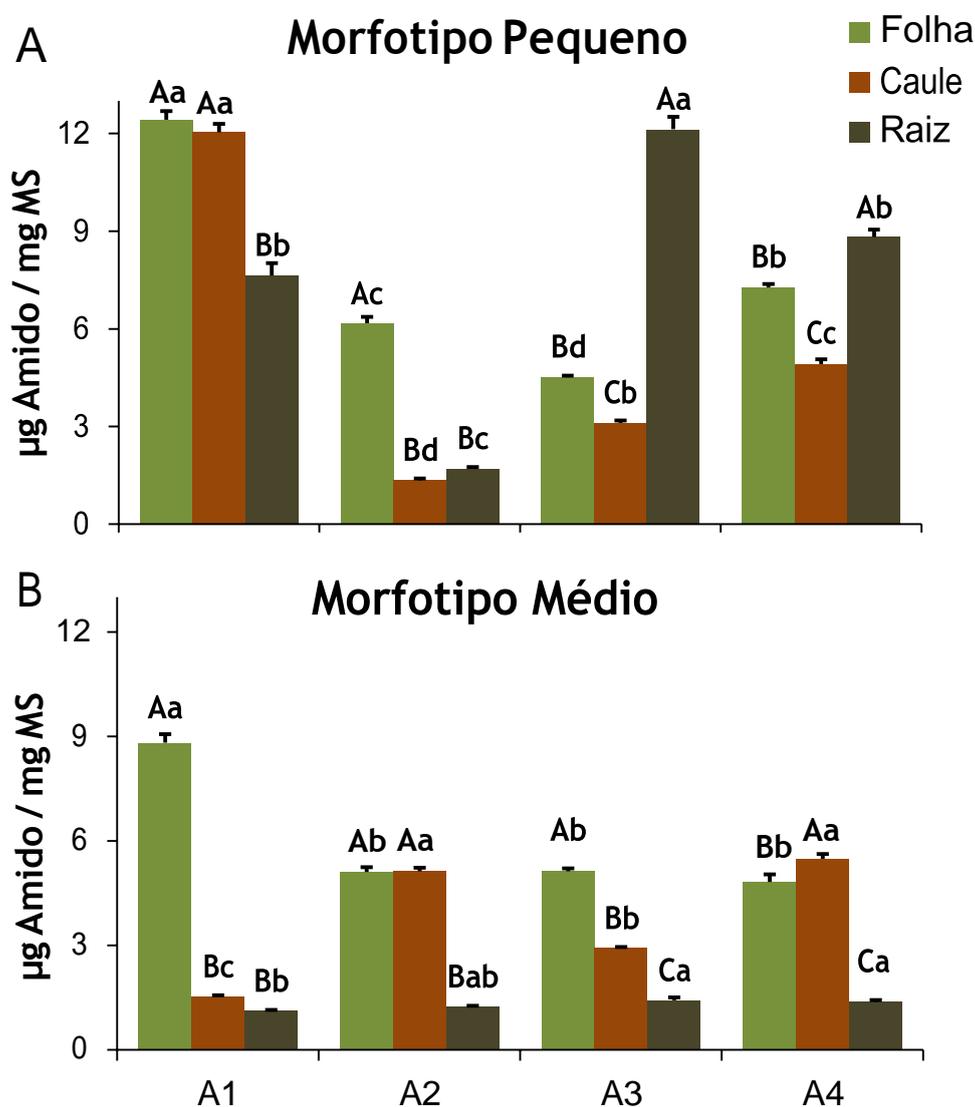


Figura 16- Padrão de alocação de Amido em dois morfotipos de *P. echinata*: A-Morfotipo Pequeno e B- Morfotipo Médio, submetidos a quatro diferentes condições de DPV (Déficit de pressão de vapor) e T (Temperatura). Sendo A1- baixo DPV e Temperatura (DV↓T); A2 – Baixo DPV e alta Temperatura (DPV↓↑T); A3- Alto DPV e temperatura (DPV↑T) e A4- alto DPV e menor temperatura (DPV↑↓T). Letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,005$). As letras maiúsculas representam diferença estatística entre os três órgãos (folha, caule e raiz) no mesmo ambiente. Já as letras minúsculas representam diferença estatística entre o órgão nos diferentes ambientes. Os valores são referentes à média ($n=5$).

5.2 Polímeros de Parede Celular

Dentre os polímeros de parede, a lignina foi um dos componentes avaliados (Figura 17). Observou-se que, no morfotipo pequeno, a concentração de lignina radicular foi maior nos quatro ambientes, quando comparados o caule e as folhas. As plantas cultivadas nos ambientes A1, A3 e A4 apresentaram padrão semelhante de alocação desse polímero. Em ambos os ambientes, as plantas apresentaram menor concentração de lignina caulinar, sendo essa concentração maior que a foliar (30%, 19% e 16% respectivamente).

A concentração de lignina foliar e caulina foi semelhante entre os ambientes, com exceção de A1 que apresentou a menor concentração para esses órgãos. Já as raízes do A2 se destacam pela maior concentração de lignina entre os quatro ambientes avaliados ($136,90 \text{ mg g}^{-1} \text{ MS}$).

Assim como no morfotipo pequeno, o morfotipo médio (Figura 17B) apresentou maior concentração de ligninas nas raízes em todos os ambientes, quando comparados aos demais órgãos. Outra semelhança dessas plantas com o morfotipo pequeno é o padrão de alocação de lignina quando expostas aos ambientes A1, A3 e A4. Nesses ambientes, o morfotipo médio apresentou maior concentração de lignina no caule em relação às folhas. Já em A2, a lignina encontrada no caule e na folha foi semelhante.

A concentração de lignina entre os ambientes demonstrou que as plantas no A4 apresentaram menor concentração radicular, enquanto que no A1, A2 e A3 foram semelhantes. Em A3 observou-se a maior concentração caulinar e foliar entre os demais ambientes.

Outro importante polímero de parede é a celulose. No morfotipo pequeno foi possível observar que as plantas nos ambientes A1 e A2 apresentaram padrão de alocação semelhante em seus órgãos (Figura 18A). Ambos apresentaram maior concentração de celulose no caule, tendo a raiz a menor concentração encontrada entre os órgãos avaliados. Já A3 e A4 também apresentaram maior concentração caulinar, porém a concentração encontrada nas folhas e raízes foram semelhantes.

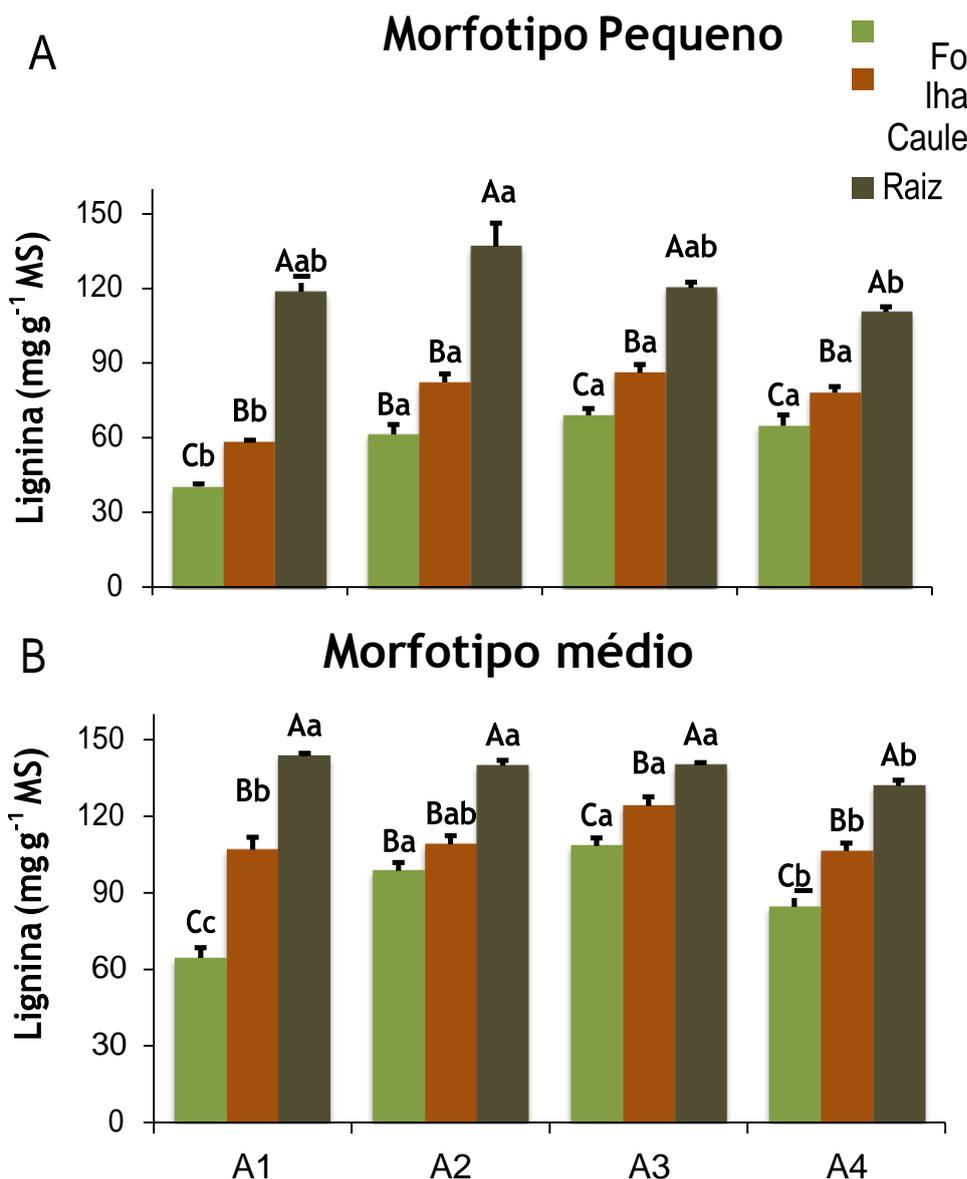


Figura 17- Alocação de Lignina em dois morfotipos de *P. echinata*: A-Morfotipo Pequeno e B- Morfotipo médio, submetidos a quatro diferentes condições de DPV (Déficit de pressão de vapor) e T (Temperatura). Sendo A1- baixo DPV e Temperatura (DV↓T); A2 – Baixo DPV e alta Temperatura (DPV↓↑T); A3- Alto DPV e temperatura (DPV↑T) e A4- alto DPV e menor temperatura (DPV↑↓T). Letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,005$). As letras maiúsculas representam diferença estatística entre os três órgãos (folha, caule e raiz) no mesmo ambiente. Já as letras minúsculas representam diferença estatística entre o órgão nos diferentes ambientes. Os valores são referentes à média ($n=5$).

A concentração desse polímero nos órgãos, sob efeito da condição ambiental avaliada, demonstra que maior concentração de celulose foliar se deu em plantas expostas ao A2 e A3. No A2 foi possível visualizar que a celulose caulinar foi mais concentrada. Já a concentração radicular foi maior nas plantas no A3, enquanto nas plantas do A1 observou-se a menor concentração de

celulose no caule e raiz quando comparada com as plantas dos outros ambientes.

O morfotipo médio (Figura 18B) apresentou alocação de celulose semelhante entre os órgãos. As plantas dos ambientes A2, A3 e A4 apresentaram maior concentração de celulose nos caules, enquanto que nas plantas no ambiente A1, a concentração foliar e radicular foi semelhante, tendo esses órgãos 45% menos celulose do que o caule.

Ao comparar os ambientes aos quais foram expostas plantas do morfotipo médio, foi possível observar que nos ambientes de maior DPV (A3 e A4) essas plantas apresentaram maior concentração nas plantas do A1. Contudo, não houve diferença na concentração de celulose radicular entre as plantas dos quatro ambientes.

Intimamente ligada à celulose, a hemicelulose compõem a estrutura da parede celular. Para o morfotipo pequeno (Figura 19A), não se verificou um padrão na alocação de hemicelulose. Em A1, os três órgãos avaliados apresentaram concentrações semelhantes desse polímero. Contudo, nas plantas do A2, a concentração caulinar foi superior à encontrada nas folhas e raízes (23% e 38% respectivamente). Já no ambiente A3, as plantas apresentaram valores semelhantes de hemicelulose caulinar e radicular, enquanto as folhas apresentaram menor concentração. A alocação desse polímero nas plantas do A4 foi maior no caule ($178,57 \text{ mg g}^{-1} \text{ MS}$), tendo as folhas a menor concentração entre os três órgãos desse ambiente ($48,40 \text{ mg g}^{-1} \text{ MS}$).

No que se refere à concentração de hemicelulose nos diferentes órgãos entre os quatro ambientes, A2 apresentou a maior concentração desse polímero entre as folhas dos demais ambientes. A3 e A4 apresentaram a menor concentração foliar. Já A3 apresentou a maior concentração caulinar, enquanto A2 apresentou maior concentração radicular de hemicelulose quando comparado com os demais ambientes.

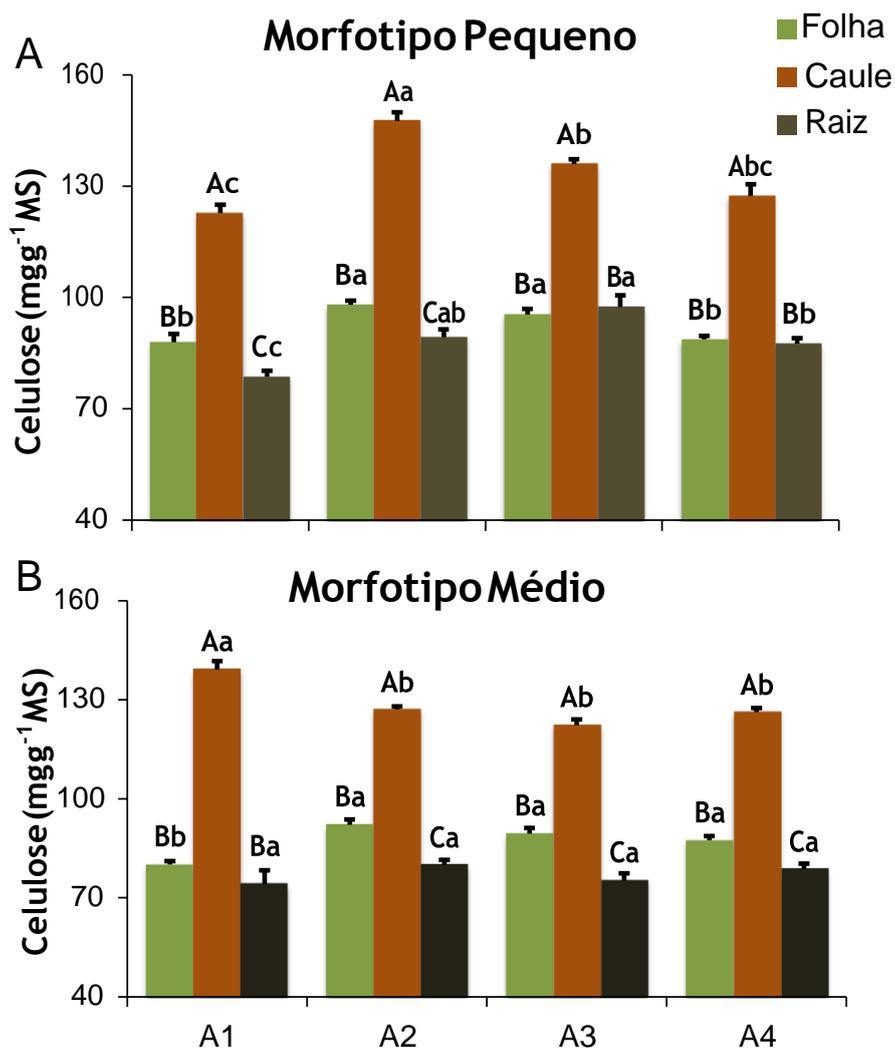


Figura 18- Alocação de Celulose em dois morfotipos de *P. echinata*: A-Morfotipo Pequeno e B- Morfotipo Médio, submetidos a quatro diferentes condições de DPV (Déficit de pressão de vapor) e T (Temperatura). Sendo A1- baixo DPV e Temperatura (DV↓T); A2 – Baixo DPV e alta Temperatura (DPV↓↑T); A3- Alto DPV e temperatura (DPV↑T) e A4- alto DPV e menor temperatura (DPV↑↓T). Letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,005$). As letras maiúsculas representam diferença estatística entre os três órgãos (folha, caule e raiz) no mesmo ambiente. Já as letras minúsculas representam diferença estatística entre o órgão nos diferentes ambientes. Os valores são referentes à média ($n=5$).

Diferentemente do observado no morfotipo pequeno, o morfotipo médio (Figura 19B) apresentou alocação de hemicelulose semelhante entre os órgãos. Foi possível observar que as plantas dos quatro ambientes apresentaram maior concentração de hemicelulose no caule, sendo a concentração foliar e radicular, semelhante entre eles.

Contudo, a alocação de hemicelulose nos órgãos, entre os ambientes, permitiu observar que os ambientes de menor temperatura (A1 e A4) apresentaram maior concentração foliar. A maior concentração de hemicelulose caulinar foi encontrada em plantas do ambiente A1, enquanto o menor valor observado para esse órgão foi encontrado no ambiente A2. Todavia, as raízes não diferiram entre os ambientes avaliados.

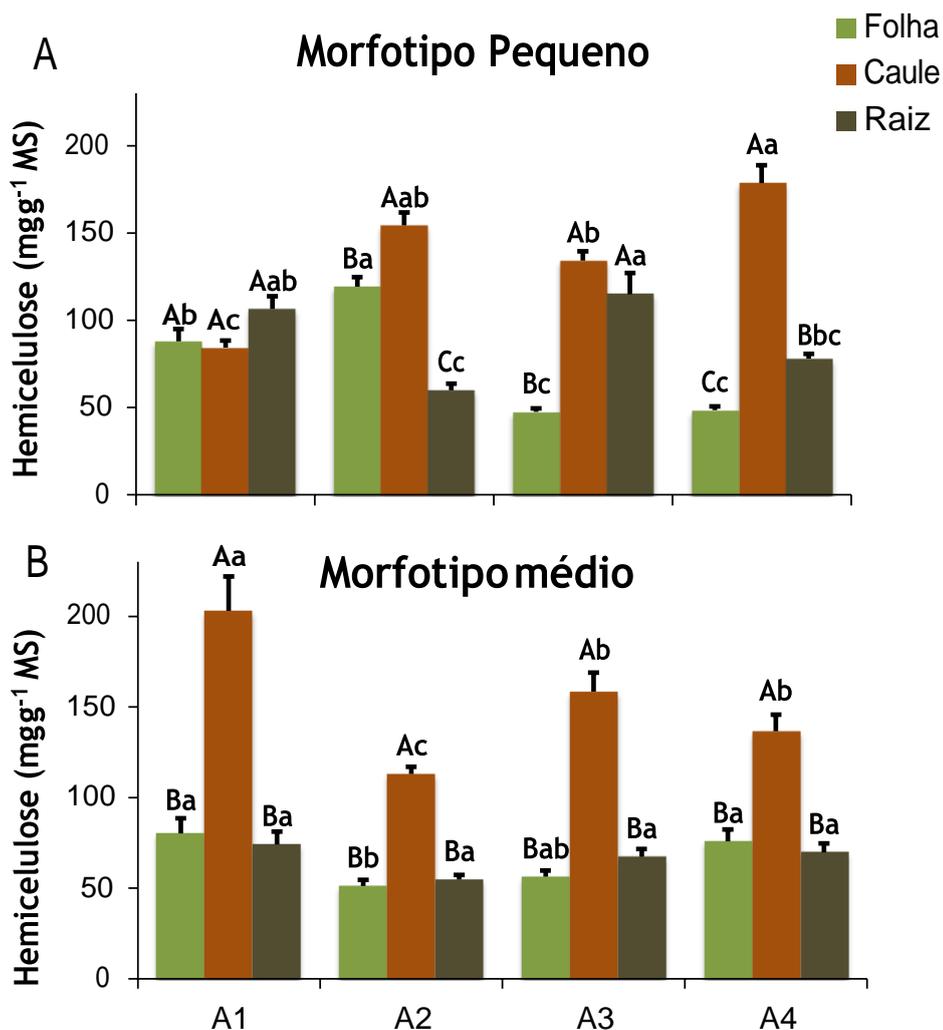


Figura 19- Alocação de Hemicelulose em dois morfotipos de *P. echinata*: A-Morfotipo Pequeno e B- Morfotipo, submetidos a quatro diferentes condições de DPV (Déficit de pressão de vapor) e T (Temperatura). Sendo A1- baixo DPV e Temperatura (DV↓T); A2 – Baixo DPV e alta Temperatura (DPV↓↑T); A3- Alto DPV e temperatura (DPV↑T) e A4- alto DPV e menor temperatura (DPV↑↓T). Letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,005$). As letras maiúsculas representam diferença estatística entre os três órgãos (folha, caule e raiz) no mesmo ambiente. Já as letras minúsculas representam diferença estatística entre o órgão nos diferentes ambientes. Os valores são referentes à média ($n=5$).

5.3 Reações oxidantes e antioxidantes não enzimáticos

O teor de espécie reativa de oxigênio (ERO) foliar foi avaliado para plantas dos dois morfotipos. Nas plantas do morfotipo pequeno (figura 20A) observou-se elevada concentração de H_2O_2 foliar em ambiente de alto DPV e temperatura (A4). Entretanto, nas plantas de A3 esse valor foi o menor observado para esse morfotipo ($141,37 \mu\text{mol/g MS}^{-1}$). Plantas do morfotipo médio no ambiente A1 (figura 20C) apresentaram maior concentração H_2O_2 foliar ($569,21 \mu\text{mol/g MS}^{-1}$). Todavia, plantas do ambiente A3 apresentaram valores 50% menores do que as plantas do ambiente A1, sendo esse o menor valor observado para esse morfotipo.

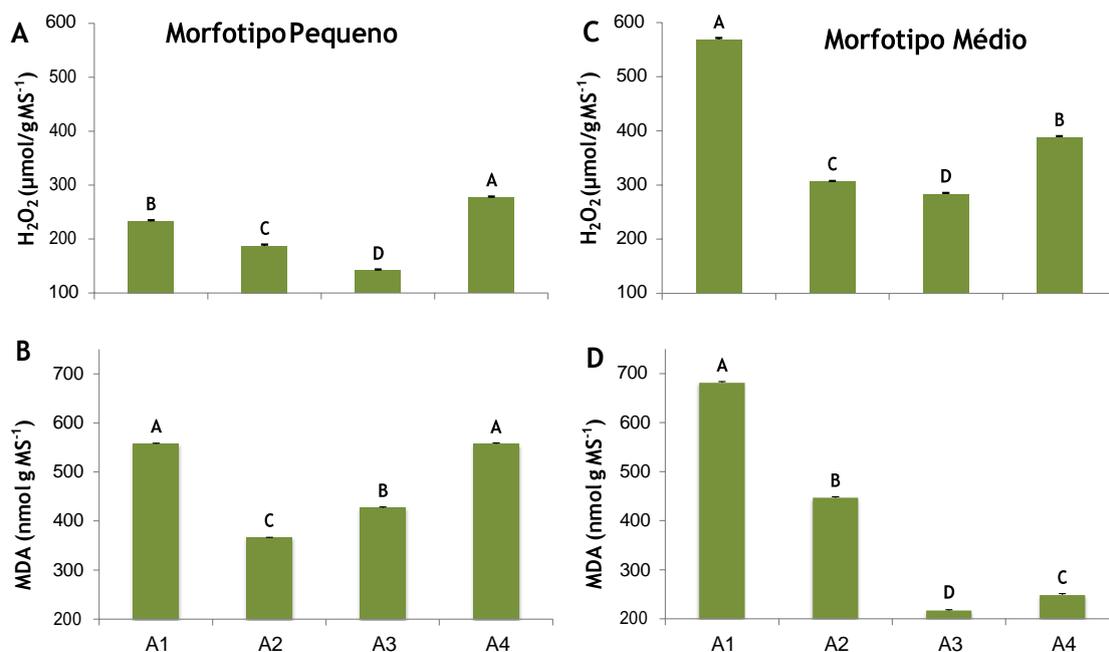


Figura 20- Quantificação de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e malonaldeído (MDA) em folhas de dois morfotipos de *P. echinata*: A e B-Morfotipo Pequeno e C e D- Morfotipo Médio, submetidos a quatro diferentes condições de DPV (Déficit de pressão de vapor) e T (Temperatura). As letras maiúsculas representam diferença estatística entre os ambientes ($n=5$; $p<0,05$ pelo teste de Tukey).

Foi possível observar que, em ambientes de baixa temperatura (A1 e A4), o morfotipo pequeno (figura 20B) apresentou maior acúmulo de

malonaldeído (MDA). Contudo, plantas do ambiente A2 apresentaram menor valor para essa análise ($365,70 \text{ nmol g MS}^{-1}$). Já o morfotipo médio (figura 20C) no ambiente A1 apresentou o maior teor de MDA, sendo esse valor 68% superior ao encontrado nas plantas do ambiente A3.

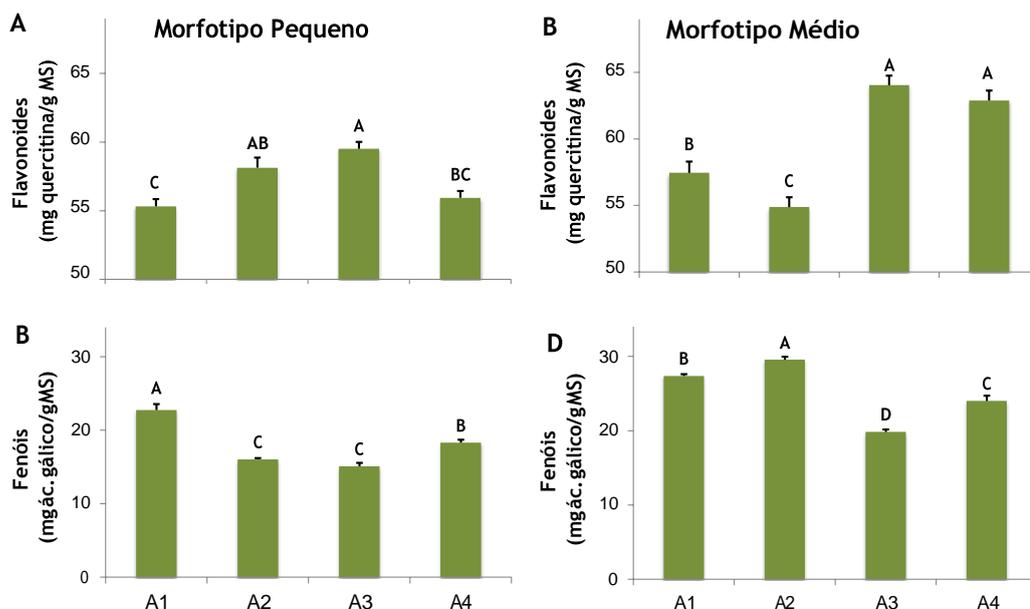


Figura 21- Quantificação do sistema antioxidante não enzimático em folhas de dois morfotipos de *P. echinata*: A e B-Morfotipo Pequeno; B e C- Morfotipo Médio, sendo: flavonoides (A e B) e fenóis (C e D); submetidos a quatro diferentes condições de DPV (Déficit de pressão de vapor) e T (Temperatura). As letras maiúsculas representam diferença estatística entre os ambientes (n=5; p<0,05 pelo teste de Tukey).

Quanto ao sistema antioxidante não enzimático observou-se que, nas plantas do ambiente A3, o morfotipo pequeno apresentou maior valor de flavonóides (59,50 mg quercitina/g MS). Porém, nas plantas do ambiente A1, isso não foi observado, uma vez que esse ambiente apresentou baixo valor para as folhas desse morfotipo (figura 21A). Para as plantas do morfotipo médio, ambientes de maior DPV (A3 e A4) obtiveram maior concentração de flavonóides (figura 21B). As plantas do ambiente A2 apresentaram o menor valor de flavonóides encontrado para esse morfotipo (54,88 mg quercitina/g MS).

Entretanto, as plantas do ambiente A1 apresentaram o maior teor foliar de fenóis (figura 21C). Observou-se que, nesse ambiente, as plantas apresentaram 34% mais fenóis do que as plantas dos ambientes A2 e A3. Já para o morfotipo médio, as plantas do ambiente de menor DPV e maior temperatura (A2) apresentaram a maior concentração de fenóis entre os ambientes (29,54 mg ác. gálico/g MS). No entanto, nas plantas do ambiente A3, a concentração foi 33% menor do que o valor encontrado em A2.

6. DISCUSSÃO

Os carboidratos não estruturais (CNE) são os fotoassimilados primários e os principais sinalizadores e reguladores do ajuste fisiológico das plantas ao estresse ambiental (DIETZEL et al., 2014). Dessa forma, as variações nas concentrações dos carboidratos podem indicar que, além do papel de reserva, estes compostos estejam relacionados a mecanismos adaptativos em resposta às variações do clima, como temperatura e precipitação (DIETZE et al. 2014; HOCH, 2015). O nível de CNE de uma planta é um importante indicador da fonte de carbono e capacidade de absorção da vegetação, além de poder informar mais sobre a capacidade de proteção e as estratégias de adaptação da planta (MYERS et al., 2007; SALA et al., 2012).

Os dois morfotipos demonstraram maior concentração de AS no A3, principalmente foliar. Esse resultado corrobora, em parte, o trabalho de Martinez-Vilalta et al. (2016). Segundo esses autores, plantas tropicais submetidas a menor umidade (elevado DPV) e temperaturas apresentam maior concentração de AS. Esse acúmulo de AS pode ser interpretado como excesso de oferta em relação à demanda da planta (Martinez-Vilalta et al. 2016).

Plantas sob alta temperatura e DPV (A3) tendem a perder água, sendo assim, o aumento de AS foliar pode ser, em parte, devido à quebra de molécula de sacarose foliar em monômeros de glicose (TAIZ e ZEIGER, 2015). Essa atividade pode ser ativada como forma de suprir uma necessidade metabólica no controle de osmorregulação (RYBUS-ZAJAC et al., 2014), contribuindo na prevenção à perda de água ocasionada pelo aumento no DPV.

Ou seja, a maior concentração de AS encontrada nas condições descritas, pode ser justificada pelo acúmulo de AR, uma vez que a concentração de sacarose foliar foi menor para os dois morfotipos no ambiente A3. Uma possível explicação para esse aumento de AR foliares, seria um aumento da frutose que pode ser acumulada devido à preferência da glicose pela via das pentoses fosfato, que fornece eritrose 4-fosfato para a via de compostos fenólicos (HILAL et al., 2004).

Apesar dos dois morfotipos, apresentarem uma menor concentração de sacarose foliar, principalmente no A3, o mesmo não se observou para as raízes. Sob temperaturas elevadas, o morfotipo pequeno, apresentou maior concentração de sacarose radicular em comparação com os demais órgãos. Segundo Xavier et al. (2009) há uma relação entre a concentração de sacarose e o enraizamento, uma vez que os açúcares exercem funções estruturais relevantes a diferentes processos bioquímicos, são fontes de energia e de carbono para a síntese de substâncias essenciais para a formação de raízes, o que pode ser interpretado como uma resposta adaptativa à seca para melhorar a captação de água (BAO et al., 2014).

A alta temperatura associada a baixa umidade (elevado DPV) pode ter provocado uma condição de déficit hídrico nas plantas do morfotipo pequeno. Tardieu et al. (2011) descreve que o déficit hídrico se deve a um desequilíbrio entre a disponibilidade de água no solo e a demanda evaporativa do ambiente (DPV). Sendo assim, o acúmulo de sacarose radicular em resposta a baixa disponibilidade hídrica pode manter o sistema radicular eficiente (DURAND et al., 2016). Ou seja, qualquer alteração no crescimento radicular, devido a sinais ambientais, afetará imediatamente a demanda de sacarose transportada via floema (DURAND et al., 2016).

A distribuição de amido entre os órgãos avaliados permite verificar a plasticidade dessa molécula. Sob alto DPV, principalmente associado à alta temperatura (A3), o morfotipo pequeno apresentou maior concentração de amido radicular e menor concentração nas folhas. Segundo Zeeman et al. (2010) o amido é comumente associado a órgãos de armazenamento como

raízes. Em sua revisão, Thalmann e Santelia (2017), relataram redução na concentração de amido foliar em plantas sob estresse.

No morfotipo médio, a concentração de amido foi maior nas folhas em relação aos demais órgãos, principalmente em ambiente de baixo DPV e temperatura (A1). Em seu trabalho, Liu et al. (2018) relatam uma maior concentração de amido foliar em ambientes de maior umidade. Vários estudos descrevem aumento ou a diminuição do teor do amido sob estresse (SIAUT et al., 2011 e WANG et al., 2013). A reorganização da alocação e o metabolismo do amido contribuem para a sobrevivência das plantas em condições adversas (THALMANN e SANTELIA, 2017).

Um maior aporte de carbono, possivelmente aumentou a mobilização de fotoassimilados do órgão-fonte (folhas) para o órgão-dreno (caule). Sendo as maiores concentrações observadas no caule do morfotipo médio submetido ao A1, sendo o resultado inverso ao encontrado para o morfotipo pequeno. Segundo Galvão (2018), plantas do morfotipo pequeno submetidas a baixo DPV e temperatura apresentam baixo ajustamento estomático, menor acúmulo de biomassa e crescimento reduzido. Ainda segundo a autora, plantas do morfotipo médio, submetidos às condições descritas nesse trabalho para o ambiente A1, apresentaram maior crescimento e acúmulo de biomassa devido a maior taxa fotossintética observada. Esse resultado pode estar relacionado ao menor acúmulo de sacarose nos caules, uma vez que a quebra dessa molécula gera os precursores da celulose e hemicelulose (NOVAES et al., 2010).

Sendo assim, a maior concentração de carboidratos armazenados nos caules permite que as plantas superem períodos de estresse, e aumentem sua sobrevivência (POORTER e KITAJIMA, 2007). Uma vez que, são importantes para as plantas em condições de estresse, podendo influenciar na disponibilidade de carbono para o crescimento dependendo da estratégia de vida da espécie (DIETZE et al., 2014). Alguns trabalhos sugerem que esses carboidratos funcionem como um composto de reserva energética temporária e que, em condições limitantes de crescimento pode ser remobilizada uma vez que a demanda metabólica aumenta (SCHÄDEL et al. 2010). Nesse sentido, as

variações climáticas e ambientais podem modificar as características estruturais dessa molécula (SCHÄDEL et al. 2010, SCHULTINK et al. 2014).

Outro polímero de parede celular é a lignina. Percebeu-se nesse trabalho que, a concentração foliar desse polímero foi menor nas folhas dos dois morfotipos em relação aos demais órgãos, principalmente nas plantas cultivadas no A1. De acordo com Poorter e Bongers (2006) a baixa concentração de lignina foliar é fator importante para assimilação de CO₂ e produção de fotoassimilados. Segundo os autores folhas com maior concentração de ligninas resultam em células densamente empacotadas, levando à limitação de difusão do CO₂ dentro da folha e, conseqüentemente, proporcionando menores taxas fotossintéticas.

Apesar de os morfotipos apresentarem menor concentração de lignina foliar, o mesmo não foi observado para as raízes. Em todos os ambientes a lignina foi mais concentrada nas raízes, sendo os maiores valores nas plantas do morfotipo pequeno cultivadas no A2 e menores valores nas plantas do morfotipo médio cultivadas no A4. A maior concentração de lignina radicular pode estar relacionado ao amadurecimento de vasos condutores xilemáticos, o que pode otimizar e favorecer o fluxo de água e nutrientes para outras regiões da planta (ZANNE et al., 2010; YAMAGUCHI et al., 2010). Além disso, o alto teor de lignina também protege os tecidos vegetais da degradação química e/ou biológica (CANILHA et al., 2010).

Assim como para todas as estruturas da planta, faz-se necessário o equilíbrio entre as reações que geram ERO e os antioxidantes (AZOOZ et al., 2009). Ou seja, para minimizar os estresses oxidativos a planta se utiliza de uma complexa maquinaria regulada por antioxidantes enzimáticos e não enzimáticos (MILLER et al., 2010).

Observou-se, nesse trabalho, que as plantas do morfotipo pequeno apresentaram maior acúmulo de H₂O₂ em A4 (alto DPV e baixa temperatura). Essa molécula é potencialmente capaz de causar a peroxidação lipídica (LIMA et al., 2002), fato observado pelo maior acúmulo de MDA nesse ambiente. O mesmo resultado foi observado para o morfotipo médio no A1. O MDA é

prejudicial à permeabilidade da membrana celular e tem sido amplamente estudado como indicador de estresse oxidativo (ARDESTANI et al, 2007; GUARIBI et al., 2016).

Guaribi et al. (2016) encontrou maior acúmulo dessas substâncias em plantas de *Achillea* submetidas a estresse hídrico moderado. Gama (2017) relata em seu trabalho que, plantas do morfotipo médio, apresentaram maior acúmulo de H_2O_2 e MDA em ambientes com baixa radiação, ou seja, menor temperatura e maior umidade. Já para o morfotipo pequeno, o referido autor, descreve que em ambientes com alta radiação (menor umidade), ocorre maior acúmulo dessas substâncias.

O maior acúmulo de H_2O_2 e MDA no morfotipo pequeno, no ambiente A4, e no morfotipo médio, no ambiente A1, relacionado aos menores valores de fenóis e flavonoides encontrados nesses ambientes demonstra uma ineficiência do sistema antioxidante não enzimático. Uma mudança no equilíbrio entre a produção e a dissipação de ERO's, a favor das reações oxidativas, acarreta o estado conhecido como estresse oxidativo (ARORA et al., 2002; OZTETIK, 2011). De acordo com Jaafar et al. (2012) e Guaribi et al. (2016), a elevação de flavonóides e fenóis, sob severa condição de estresse, pode ser atribuída ao acúmulo de carboidratos solúveis em células vegetais devido ao transporte reduzido de AS. Sendo assim, a menor concentração de AS nas folhas desses ambientes pode justificar a menor concentração dessas substâncias antioxidantes.

Outro fato observado no presente estudo refere-se a menor concentração de H_2O_2 e MDA nos morfotipos pequeno em A2 e A3, e do morfotipo médio em A3. Nesses ambientes nota-se que, nos dois morfotipos, a concentração de flavonoides foi elevada. Ma et al. (2011) atribuíram aos AS o reforço do sistema antioxidante, uma vez que eles são amplamente mencionados como sinalizadores de ERO's. Sendo assim, nos ambientes citados, o sistema antioxidante se mostrou eficiente na remoção e eliminação de ERO's.

Os flavonoides possuem grande potencial de neutralização de ERO, uma vez que são formados no interior – ou na proximidade – de centros de geração de ERO's em plantas em condição de estresse (Agatia et al., 2012). Pesquisas anteriores mostraram que a elevação de compostos fenólicos e flavonóides está altamente relacionada ao equilíbrio entre fontes de carboidratos e sumidouros (GUARIBI et al., 2016). Miehe-Steier et al. (2015) observaram aumento dos compostos fenólicos - mais precisamente compostos flavonoides - que aumentaram significativamente com irradiância elevada. Os flavonoides se comportam como co-substratos para as peroxidases, auxiliando na redução de H_2O_2 (Fini et al., 2012). Dessa forma, pode-se justificar a menor concentração de H_2O_2 nos ambientes de maior temperatura, para os dois morfotipos.

7. CONCLUSÃO

As plantas dos morfotipos pequeno e médio respondem de maneiras distintas em relação às combinações de baixa/alta temperatura e déficit de pressão de vapor. Os dois morfotipos apresentaram diferenças nas concentrações de carboidratos não estruturais (CNE) e polímeros de parede celular frente as mudanças de temperatura e DPV em relação.

No morfotipo pequeno o maior acúmulo de CNE em folhas, caule e raízes no ambiente de alto DPV e temperatura (A3); e o menor acúmulo desses compostos em ambientes de maior DPV e menor temperatura (A4) demonstra como a temperatura afeta a concentração dessas substâncias. Já o acúmulo de H_2O_2 e MDA verificado sob elevado DPV e a baixa atividade antioxidante não enzimática, podem indicar uma situação de estresse para esse morfotipo. Já sob condição de baixo DPV, mesmo associado à alta temperatura, o dano celular sofrido foi menor. O investimento de lignina e sacarose nas raízes podem ter influenciado para o melhor desempenho desse morfotipo, otimizando a absorção e distribuição da água disponível no ambiente.

O morfotipo médio apresentou maior concentração de CNE no A3, sendo AR mais concentrado nas folhas e sacarose nas raízes. Já os polímeros de

parede celular apresentaram maior concentração no caule (celulose e hemicelulose) e raízes (lignina) também no A3. Esse resultado associado a baixa concentração de H_2O_2 e MDA indica que esse ambiente pode ser favorável ao seu desenvolvimento.

REFERÊNCIAS

- AGATIA, G; AZZARELLO, E; POLLASTRI, S; TATTINI, M. Flavonoids as antioxidants in plants: location and functional significance. *Plant Science*, v. 196, p. 67–76, 2012.
- AGUIAR-SILVA, C.; BRANDÃO, S.E.; BULBOVAS, P. Antioxidant responses of Atlantic Forest native tree species as indicators of increasing tolerance to oxidative stress when they are exposed to air pollutants and seasonal tropical climate. **Ecological Indicators**, v.63, p.154–164, 2016.
- ALBUQUERQUE, M.P.F.; MORAES, F.K.C.; SANTOS, R.I.N.; DE CASTRO, G.L.S.; RAMOS, E.M.L.S.; PINHEIRO, H.A. Ecofisiologia de plantas jovens de mogno-africano submetidas a déficit hídrico e reidratação. **Pesquisa Agropecuária brasileira**, v 48, n 1, p 9-16, 2013.
- ALEXIEVA, V.; SERGIEV, I.; MAPELLI, S.; KARANOV, E. The effect of drought and ultraviolet radiation on growth and stress markers in pea and wheat. **Plant Cell Environ**, v.24, p.1337–1344, 2001.
- AMARAL, L.I.V; GASPAR, M.; COSTA, P.M.F.; AIDAR, M.P.M; BUCKERIDGE, M.S. Novo método enzimático e sensível de extração e dosagem de amido em materiais vegetais. **Hoehnea**, v.34, n.4, p.425-431, 2007.
- ARDESTANI, A.; YAZDANPARAST, R. Antioxidant and free radical scavenging potential of Achillea santolina extracts. **Food Chemistry**, v.104, p. 21–29, 2007.
- ARORA, A; SAIRAM, RK; SRIVASTAVA, GC. Oxidative stress and antioxidative system in plants. **Current Science**, v.82, n.10, p.1227-1238, 2002.
- AVIGAD, G.; DEY, P.M. **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.
- AYALA A, MUÑOZ MF & ARGUELLES S. 2014. Lipid peroxidation: production, metabolism and signaling mechanisms of malondialdehyde and 4-hydroxy-2-nonenal. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* Volume 2014, Article ID 360438, 31 p.
- AZOOZ, M. M., ISMAIL, A. M., & ABOU-ELHAMD, M. F. Growth, lipid peroxidation and antioxidante enzyme activities as a selection criterion for the salt tolerance of three maize cultivars grown under salinity stress. **International Journal of Agriculture and Biology**, v.11, p.21–26, 2009.
- BAO, Y; AGGARWAL, P; ROBBINS, NE; STURROCK, CJ; THOMPSON, MC; TAN, HQ; THAM, C; DUAN, L; RODRIGUEZ, PL; VERNOUX, T; MOONEY, SJ; BENNETT, MJ; DINNENY, JR. Plant roots use a patterning mechanism to position lateral root branches toward available water. **Proc Natl Acad Sci USA**, v.111, p. 9319–9324, 2014.
- BARNARD, H.R; RYAN, M.G. A teste of hydraulic limitation hypothesis in fast growing *Eucalyptus saligna*. **Plant, Cell and Environment**, v.26, p.1235-1245, 2003.
- BARONI, A.M. **Caracterização do sistema fotossintético em folhas de plantas jovens de *Caesalpinia echinata* Lam. (pau-brasil)**. 2005. Dissertação de Mestrado, Instituto de Botânica de São Paulo.
- 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, P.P.M.G.; STEWART, D. A rapid and simple method to isolate pure alpha cellulose. **Phytochem Annal**, v 17, pg 7-10, 2000.
- 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.; (2007) Respostas fisiológicas de plantas às mudanças climáticas: alterações no balanço de carbono nas plantas podem afetar o ecossistema? In: Rego GM, Negrelle RRB, Morellato LPC (eds) Fenologia – Ferramenta para conservação e manejo de recursos vegetais arbóreos. Colombo, Embrapa Florestas, pp 1–13.
- BUEGE, J.A.; AUST, S.D. Microsomal lipid peroxidation. **Methods Enzymol**, v.52, p.302–310, 1978.
- 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.
- CARNEIRO, R.L.C, RIBEIRO, A, HUAMAN, C.A.M, LEITE, F.P, SEDIYAMA, G.C, DE BASTOS, N.F. Consumo de água em plantios de eucalipto: parte 1 determinação da condutância estomática em tratamentos irrigado e não-irrigado. **Revista Árvore**, Viçosa, v 32, n 1, p 1-10, 2008.
- CARPITA, N.; McCANN, M. The Cell Wall. In: BUCHANAN, B. B.; GRUISSEM, W.; JONES, R. L. (Ed.) **Biochemistry e Molecular Biology of Plants**. American Society of Plant Physiologists, Rockville, Maryland: Couries Companies, 52-89. 2000.
- CARPITA, Nicholas C. et al. Cell wall architecture of the elongating maize coleoptile. **Plant physiology**, v. 127, n. 2, p. 551-565, 2001.
- CARPITA, Nicholas C.; GIBEAUT, David 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.
- CARVALHO, P. E. R. **Espécies florestais brasileiras** - recomendações silviculturais, potencialidades e uso da madeira. Brasília: EMBRAPA-CNPQ/SPI, 1994.

- CHAVES-FILHO, J.T.; STACCIARINI-SERAPHIN, E. Alteração no potencial osmótico e teor de carboidratos solúveis em plantas jovens de lobeira (*Solanum lycocarpum* St.-Hil.) em resposta ao estresse hídrico. **Rev. Bras. Botânica**, v 24, pg 199–204, 2001.
- COATES, J. C.; MOODY, L. A.; SAIDI, Y. Plants and the earth system - past events and future challenges. **New Phytologist**, v. 189, n. 2, p. 370-373, 2011.
- CORNUAULT, V.; MANFIELD, I.W.; RALET, M.; KNOX, J.P. Epitope detection chromatography: a method to dissect the structural heterogeneity and interconnections 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, 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.
- DE REZENDE, F. M.; ROSADO, D.; MOREIRA, F. A.; DE CARVALHO, W. R. S. Vias de síntese de metabólitos secundários em plantas. **Laboratório de Ensino de Botânica**, v.93, 2016.
- DIETZE, M.C.; SALA, M.; CARBONE, M.S.; CZIMCZIK, C.I.; MANTOOTH, J.; RICHARDSON, A.D.; VARGAS, R. Nonstructural carbon in woody plants. **Annu Rev Plant Biol**, v 65, p 667–687, 2014
- DIXON, Richard A.; PAIVA, Nancy L. Stress-induced phenylpropanoid metabolism. **The plant cell**, v. 7, n. 7, p. 1085, 1995.
- 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, W.D.; FERRARESE, M.L.L.; NAKAMURA, C.V.; MOURÃO, K.S.M.; MANGOLIN, C.A.; FERRARESE-FILHO, O. Soybean (*Glycine max*) Root Lignification Induced by Ferulic Acid. The Possible Mode of Action. **J. Chem. Ecol.**, v 34, pg 1230–1241, 2008.
- DU, Z.; BRAMLAGE, W.J. Modified thiobarbituric acid assay for measuring lipid oxidation in sugar-rich plant tissue extracts. **J. Agric. Food Chem**, v.40, p.1566–1570, 1992.
- DUBOIS, M.; GILLES, K.; HAMILTON, J.; REBERS, P.; SMITH, F. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. **Anal. Chem.**, v 28, pg 350–356, 1956.
- DURAND, Mickaël; PORCHERON, Benoît; HENNION, Nils; MAUROUSSET, Laurence; LEMOINE, Rémi; POURTAU, Nathalie. Water Deficit Enhances C Export to the Roots in *Arabidopsis thaliana* Plants with Contribution of Sucrose Transporters in Both Shoot and Roots. **Plant Physiology**, v. 170, p. 1460-1479, 2016.
- FAVARETTO, V.F; MARTINEZA, C.A; SORIANIA, H.H; FURRIEL, R.P.M. Differential responses of antioxidant enzymes in pioneer and late-successional tropical tree species grown under sun and shade conditions. **Environmental and Experimental Botany**, v.70, p.20–28, 2011.
- FENGEL, D.; WEGENER, G. **Wood: Chemistry, ultrastructure and reactions**. Berlin: GRUYTER, W. 1989.
- FINI, A; GUIDI, L; FERRINI, F; BRUNETTI, C; DI FERDINANDO, M. BIRICOLTI, S.; POLLASTRI, S; CALAMAI, L; TATTINI, M. Drought stress has contrasting effects on antioxidant enzymes activity and phenylpropanoid biosynthesis in *Fraxinus ornus* leaves: an excess light stress affair? **Journal of Plant Physiology**, n.169, p.929–939, 2012.
- FLINT, SD; JORDAN, PW; CALDWELL, MM. Plant protective response to enhanced UV-B radiation under field condition. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 41, p.95–106, 1985.

- GAGNON, E.; BRUNEAU, A.; HUGHES, C.E.; QUEIROZ, L.P.; LEWIS, G.P. A new generic system for the pantropical *Caesalpinia* group (Leguminosae). **PhytoKeys**, v.71, p.1–160, 2016.
- GALVÃO, E.K.S. **Condições climáticas e comportamento ecofisiológico de espécies florestais**. 2018. 76 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Florestais) – Universidade Federal do Espírito Santo, Jerônimo Monteiro, 2018.
- GAMA, V. N. **Análises morfofisiológicas de plantas de pau-brasil (*Caesalpinia echinata* Lam.) cultivadas em ambientes lumínicos distintos**. 2013. 91 F. Dissertação (Mestrado em Biologia Vegetal), Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória, 2013.
- GAMA, V.N. **Caracterização morfofisiológica e bioquímica de três morfotipos de *Paubrasilia echinata* Lam. em resposta à luz**. 2017. 113 f. Dissertação (Mestrado em Biologia Vegetal) – Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória, 2017.
- GESSLER, A.; TRYDET, K. The fate and age of carbon- insights into the storage and remobilization dynamics in trees. **New Phytologist**, v. 209, n. 4, p. 1338–1340, 2016.
- GHARIBI, Shima; TABATABAEI, B. E. S.; SAEIDI, Ghodratollah; GOLLI, S. A. H. Effect of Drought Stress on Total Phenolic, Lipid Peroxidation, and Antioxidant Activity of *Achillea* Species. **Appl Biochem Biotechnol**, v. 178, p 796-809, 2016.
- GHARIBI, Shima; TABATABAEI, Badraddin; SAEIDI, Ghodratollah; GOLLI, Sayed. Effect of Drought Stress on Total Phenolic, Lipid Peroxidation, and Antioxidant Activity of *Achillea* Species. **Appl. Biochem Biotechnol**, v. 178, p. 796-809, 2016.
- GILL, SS; TUTEJA, N. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. **Plant Physiology and Biochemistry**, v.48, p.909-930, 2010.

- GIOVANINNI, Luigi, 2011: Vulnerabilidades dos sistemas naturais: biodiversidade e unidades de conservação na Região Metropolitana do Rio de Janeiro: apreciação geral das vulnerabilidades face às mudanças climáticas. In: INPE (Org.). Megacidades, Vulnerabilidades e Mudanças Climáticas: Região Metropolitana do Rio de Janeiro. Coppe – Universidade Federal do Rio de Janeiro (Rio de Janeiro): Inpe, 2011. Cap. 4. p. 229-256.
- GRATÃO, P.L., MONTEIRO, C.C., CARVALHO, R.F., TEZOTTO, T., PIOTTO, F.A., PERES, L.E.P., AZEVEDO, R.A. Biochemical dissection of diageotropica and Never ripetomato mutants to Cd-stressful conditions. **Plant Physiol. Biochem**, v.56, p.79–96, 2012.
- GUO, Y.P; SONG, L.L; XU, K; ZHANG, L.C. Changes of energy distribution in reaction centers of *Citrus unshiu* leaf photosystem under different light intensities. **Chinese Journal of Applied Ecology**, v.15, p.2087-2090, 2004.
- HALL, D.O., SCURLOCK, J.M.O., BOLHARNORDENKAMPF, H.R., LEEGOOD, R.C. & LONG, S.P. 1993. Photosynthesis and production in a changing environment: A field and laboratory manual. Chapman & Hall, London.
- HAMANN, T. Plant cell wall integrity maintenance as an essential component of biotic stress response mechanisms. **Plant Physiology**, v 3, n 77, 2012.
- HARTMANN, H.; TRUMBORE, S. Understanding the roles of nonstructural carbohydrates in forest trees- from what we can measure to what we want to know. **New Phytologist**, v. 211, n. 2, p. 386-403, 2016.
- HERNANDÉZ, I.; ALEGRE, L.; VAN BREUSEGEM, F.; MUNNÉ-BOSCH, S. How relevant are flavonoids as antioxidants in plants? **Trends in Plant Science**, v.14 n.3, 2009.
- HILAL, M., PARRADO, M.F., ROSA, M., GALLARDO, M., ORCE, L., MASSA, E.M., GONZÁLEZ, J.A., PRADO, F.E. Epidermal lignin deposition in

quinoa cotyledons in response to UV-B radiations. **Photochem. Photobiol.**, v.79, p.205–210, 2004.

Hoch G, Richter A, Körner C (2003) Nonstructural carbon compounds in temperate forest trees. *Plant Cell Environ* 26:1067–1081

HOCH, G. Carbon reserves as indicators for carbon limitation in trees. Pages 321-346. Beyschag editors. **Progress in Botany**. Springer, Switzerland, 2015.

HU, Y.; SCHNYDER, H.; SCHMIDHALTER, U. Carbohydrate deposition and partitioning in elongating leaves of wheat under saline soil conditions. **Australian Journal of Plant Physiology**, v 27, n 4, p 363–370, 2000.

IPCC (2013). Climate change 2013: the physical science basis. Working group I contribution to the fifth assessment report of the intergovernmental panel on climate change, Intergovernmental Panel on Climate Change, Geneva, 2013.

IPCC (2014): Climate Change 2014: Synthesis Report. Contribution of Working Groups I, II and III to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change [Core Writing Team, R.K. Pachauri and L.A. Meyer (eds.)]. IPCC, Geneva, Switzerland, 151 pp

IPCC (2018): Global Warming of 1.5 °C: an IPCC special report on the impacts of global warming of 1.5 °C above pre-industrial levels and related global greenhouse gas emission pathways, in the context of strengthening the global response to the threat of climate change, sustainable development, and efforts to eradicate poverty. Summary for Policymakers.

JAAFAR, H. Z. E; IBRAHIM, M. H.; KARIMI, E. Phenolics and flavonoids compounds, phenylalanine ammonia lyase and antioxidant activity responses to elevated CO₂ in *Labisia pumila* (Myrsinaceae). **Molecules**, v.17, p.6331–6347, 2012..

JUCHUM, F. S.; COSTA, M. A.; AMORIM, A. M.; CORRÊA, R. X. Phylogenetic relationships among morphotypes of *Caesalpinia echinata* Lam. (Caesalpinioideae: Leguminosae) evidenced by trnL intron sequences. **Naturwissenschaften**. v. 95, p.1085–1091, 2008.

KARUPPANAPANDIAN, T. et al. Reactive oxygen species in plants: their generation, signal transduction, and scavenging mechanisms. **Australian Journal of Crop Science**, v.5, n.6, p.709-725, 2011.

Klein T, Hoch G (2014) Tree carbon allocation dynamics determined using a carbon mass balance approach. *New Phytol* 205:147–159

KNAPP, A.K.; AVOLIO, M.L.; BEIER, C.; CARROLL, C.J.W.; COLLINS, S.L.; DUKES, J.S.; FRASER, L.H.; GRIFFIN-NOLAN, R.J.; HOOVER, D.L.; JENTSCH, A; LOIK, M.L.; PHILLIPS, R.P.; POST, A.K.; SALA, O.E.; SLETTE, I.J.; YAHDJIAN, L.; SMITH, M.D. Pushing precipitation to the extremes in distributed experiments: recommendations for simulating wet and dry years. **Global Change Biology**, v 23, n 7, p 1774–1782, 2017.

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

KOZLOWSKI, C. Carbohydrate sources and sinks in woody plants. **The Botanical Review**, v. 58, n.2, p. 107–222, 1992.

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. 605p.

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

- LAWOKO, Martin; HENRIKSSON, Gunnar; GELLERSTEDT, Göran. Structural differences between the lignin– carbohydrate complexes present in wood and in chemical pulps. **Biomacromolecules**, v. 6, n. 6, p. 3467-3473, 2005.
- LE GALL, H.; PHILIPPE, F.; DOMON, JEAN-MARC; GILLET, F.; PELLOUX, J. & RAYON, C. Cell wall metabolism in response to abiotic stress. Review. **Plants**, v. 4, p. 112-166, 2015.
- 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.
- LI, N; NIANPENG, H.; YU, G.; WANG, Q.; SUN, J. Leaf non-structural carbohydrates regulated by plant functional groups and climate: evidences from a tropical to cold-temperate forest transect. **Ecol Indic**, v.62, p.22–31, 2016.
- Lima HC (1992) Aspectos botânicos do pau-brasil. In: Cunha MW, Lima HC (eds), Viagem à terra do pau-brasil, pp 23-38. Agência Brasileira de Cultura, Rio de Janeiro, Brasil.
- LIMA, ALS; DaMatta, FM; PINHEIRO, HÁ; TOTOLA, MR; LOUREIRO, ME. Photochemical responses and oxidative stress in two clones of *Coffea canephora* under water déficit conditions. **Environ Exp Bot**, v.47, p. 239-247, 2002.
- LIU, Q.; LUO, L.; ZHENG, L. Lignins: Biosynthesis and Biological Functions in Plants. **Int J Mol Sci**, 19: 335, 2018.
- LORENZI, H. **Árvores brasileiras**. 4 ed, v. 1. Nova Odessa: Plantarum, 2002.
- MACHADO, E.C.; SCHIMDT, P.T.; MEDINA, C.L.; RIBEIRO, R.V. Respostas da fotossíntese de três espécies de citros a fatores ambientais. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.40, n.12, p.1161-1170, 2005.

- MALHI, Y.; WRIGHT, J. Spatial patterns and recent trends in the climate of tropical rainforest regions. **The Royal Society**, v. 359, n. 1443, p. 311–329, 2004
- MARRICHI, A.H.C. **Caracterização da capacidade fotossintética e da condutância estomática em sete clones comerciais de Eucalyptus e seus padrões de resposta ao déficit de pressão de vapor**. 2009. 104 f. Dissertação (Mestrado em Recursos Florestais) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2009.
- Martínez-Vilalta, J; SALA, A; ASENSIO, D; GALIANO, L; HOCH, G; PALACIO, S; PIPER, FI; LLORET, F. Dynamics of non-structural carbohydrates in terrestrial plants: a global synthesis. **Ecol Monogr**, v. 86, n. 4, p.495–516, 2016.
- MEDEIROS, A. T. Estimativa da evapotranspiração de referência a partir da equação de Penman-Monteith, de medidas lisimétricas e de equações empíricas, em Paraipaba, CE. **Engenharia Agrícola**, v.23, n.1, p.31-40, 2003.
- MENGARDA, L.H.G.; MILANEZ, C.R.D.; SILVA, D.M.; AGUILAR, M.A.G.; CUZZUOL, G.R.F. Morphological and physiological adjustments of brazilwood (*Caesalpinia echinata* Lam.) to direct solar radiation. **Braz J Plant Physiol**, n. 24, v. 3, p.161-172, 2012.
- MENGARDA, L.H.G.; SOUZA, R.L.F.; CAMPOSTRINI, E.; REIS, F.O.; VENDRAME, W.A.; CUZZUOL, R.R.F. Light as an indicator of ecological succession in brazilwood (*Caesalpinia echinata* Lam.). **Braz J Plant Physiol**, n.21, p.55-64, 2009.
- MHAMDI, Amna; NOCTOR, Graham; BAKER, Alison. Plant catalases: peroxisomal redox guardians. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 525, n. 2, p. 181-194, 2012
- MIEHE-STEIER, A; ROSCHER, C; REICHEL, M; GERSHENZON, J; UNSICKER, SB. Light and nutrient dependent responses in secondary

metabolites of *Plantago lanceolata* offspring are due to phenotypic plasticity in experimental grasslands. **Plos One**, v.10, n.9, 2015.

MILLER, G.; SUZUKI, N.; CIFTCI-YILMAZ, S.; MITTLER, R. Reactive oxygen species homeostasis and signalling during drought and salinity stresses.

MONTEIRO, CC; ROLÃO, MB; FRANCO, MR; PETERS, LP; CIA, MC; CAPALDI, FR; CARVALHO, R; GRATÃO, PL; ROSSI, ML; MARTINELLI, AP; PETERS, LEP; AZEVEDO, RA. Biochemical and histological characterization of tomato mutants. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v.84, n.2, p.573-585, 2012.

MOURA, J.C.M.S.; BONINE, C.A.V.; DE OLIVEIRA, J.F.V; DORNELAS, M.C.; MAZZAFERA, P. Abiotic and Biotic Stresses and Changes in the Lignin Content and Composition in Plants. **J. Integr. Plant Biol.**, v 52, pg 360–376, 2010.

MURSHED, R.; LOPEZ-LAURI, F.; SALLANON, H. Effects of water stress on antioxidant systems and oxidative parameters in fruits of tomato (*Solanum lycopersicum* L. cv. Micro-Tom). **Physiology and Molecular Biology of Plants**, v. 19, n. 3, p. 363-378, 2013.

MUSIL, C. F.; CHIMPHANGO, S. B. M.; DAKORA, F. D. Effects of elevated ultraviolet-B radiation on native and cultivated plants of southern Africa. **Annals of Botany**, v. 90, p. 127-137, 2002.

Myers, J. A. & Kitajima, K. Carbohydrate storage enhances seedling shade and stress tolerance in a neotropical forest. **Journal of Ecology**, v. 95, p.383–395, 2007.

NGUGI, M.R.; HUNT, D.D.; DOLEY, D.; RYAN, P.; DART, P. Selection of species and provenances for low-rainfall areas: physiological response of *Eucalyptus cloeziana* and *Eucalyptus argophloia* to seasonal conditions in subtropical Queensland. **Forest Ecology and Management**, Amsterdam, v. 193, p. 141-156, 2004.

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 Physiol**, v 154, p 555-561, 2010.

OZTETIK E. 2011. An introduction to oxidative stress in plants and the role of
non-enzymatic antioxidants. In: ANJUM NA, UMAR S & AHMAD A.
(eds.). *Oxidative Stress in Plants: Causes, Consequences and
Tolerance*. New Delhi: I. K. International Publishing House.

PBMC, 2014: Base científica das mudanças climáticas. Contribuição do Grupo
de Trabalho 1 do Painel Brasileiro de Mudanças Climáticas ao Primeiro
Relatório da Avaliação Nacional sobre Mudanças Climáticas [Ambrizzi,
T., Araujo, M. (eds.)]. COPPE. Universidade Federal do Rio de Janeiro,
Rio de Janeiro, RJ, Brasil, 464 pp.

PBMC, 2016: Mudanças Climáticas e Cidades. Relatório Especial do Painel
Brasileiro de Mudanças Climáticas [Ribeiro, S.K., Santos, A.S. (Eds.)].
PBMC, COPPE – UFRJ. Rio de Janeiro, Brasil. 116p. ISBN: 978-85-285-
0344-9.

PEREIRA, A.R.; ANGELOCCI, L.R.; SENTELHAS, P.C. **Agrometeorologia:**
fundamentos e aplicações práticas. Guaíba: Agropecuária, 2002. 487 p.

PIERCE, R. The big issue. **The Strad**, v. 8, p. 840-843, 2002.

PIERRE, C.S.; TRETOWAN, R.; REYNOLDS, M. Stem solidness and its
relationship to water-soluble carbohydrates: association with wheat yield
under water deficit. **Functional Plant Biology**, v 37, n 1, p 166–174,
2010.

PIGNATA, M.L., GUDIÑO, G.L., WANNAZ, E.D., PLA, R.R., GONZÁLEZ, C.M.,
CARRERAS, H.A., OREL-LANA, L. Atmospheric quality and distribution

of heavy metals in Argentina employing *Tillandsia capillaris* as a biomonitor. **Environ. Pollut**, v.120, p.59–68, 2002

PIPER, F.L. Drought induces opposite changes in the concentration of nonstructural carbohydrates of two evergreen *Nothofagus* species of differential drought resistance. **Annals of Forest Science**, v. 68, n. 2, p. 415–424, 2011.

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.

POORTER, L.; BONGERS, F. Leaf traits are good predictors of plant performance across rain forest species. **Ecology**, n. 87, v.7, p.1733-1743, 2006.

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.

QUAN, L.J.; ZHANG, B.; SHI, W.W.; LI, H.Y. Hydrogen peroxide in plants: a versatile molecule of the reactive oxygen species network. **Journal of Integrative Plant Biology**, v. 50, p. 2-18, 2008.

RAES, J. et al. Genome-wide characterization of the lignification toolbox in *Arabidopsis*. **Plant Physiology**, v. 133, n. 3, p. 1051-1071, 2003.

RAICH, J.M.; RUSSELL, A.E.; KITAYAMA, K.; PARTON, W.J.; VITOUSEK, P.M. Temperature influences carbon accumulation in moist tropical forests. **Ecology Ecological Society of America**, v. 87, n. 1, p. 76-87, 2006.

RIAZI, A.; MATSUDA, K.; ARSLAN, A. Water-stress induced changes in concentrations of proline and other solutes in growing regions of young barley leaves. **J. Exp. Bot.**, v 36, pg 1716–1725, 1985.

- RICHARDSON, A. D.; CARBONE, M.S.; HUGGETT, B.A.; FURZE, M.E.; CZIMCZIK, C.I.; WALKER, J.C.; XU, X.; SCHABERG, P.G.; MURAKAMI, P. Distribution and mixing of old and new nonstructural carbon in two temperate trees. **New Phytologist**, v. 206, n. 2, p. 590–597, 2015.
- RICHARDSON, A.D.; CARBONE, M.S.; KEENAN, T.F.; CZIMEZIK, C.I.; HOLLINGER, D.Y.; MURAKAMI, P.; SCHABERG, P.G. AND XU, X. Seasonal dynamics and age of stemwood nonstructural carbohydrates in temperate forest trees. **New Phytologist**, v. 197, n. 3, p. 850-861, 2013.
- ROCHA, Y. T. Ibirapitanga: história, distribuição geográfica e conservação do paubrasil (*Caesalpinia echinata* Lam., Leguminosae) do descobrimento à atualidade. 2004. **Tese de Doutorado**, Universidade de São Paulo, São Paulo. 2004.
- ROCHA, Y. T.; SIMABUKURO, E. A. Estratégias de conservação in situ e ex situ do pau-brasil. In: FIGUEIREDO-RIBEIRO, R. C. L.; BARBEDO, C. J.; ALVES, E. S.; DOMINGOS, M.; BRAGA, M. R. (Eds.). **Pau-Brasil da semente à madeira**. São Paulo: Instituto de Botânica de São Paulo, p. 102-113. 2008.
- 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.
- ROSENZWEIG, C. et al., 2011: Urban Climate Change in Context. Climate Change and Cities: First Assessment Report of the Urban Climate Change Research Network, C. Rosenzweig, W. D. Solecki, S. A. Hammer, S. Mehrotra, Eds., Cambridge University Press, Cambridge, UK, 3–11.
- RYBUS-ZAJC, M.; KUBI, J.; BOCIANOWSKI, J. UV-B radiation does not limit carbohydrate level and carbohydrate metabolism in cucumber leaves. Communications in biometry and crop **Science**, v 9, p 3-14, 2014.
- SALA, A.; WOODRUFF, D. R.; MEINZER, F. C. Carbon dynamics in trees: feast or famine? **Tree Physiology**, v.32, ed.6, p 764-775, 2012.

- SCHÄDEL, C.; BLÖCHL, A.; RICHTER, A.; HOCH, G. Quantification and monosaccharide composition of hemicelluloses from different plant functional types. **Plant Physiol Bioch**, v 48, pg 1-8, 2010.
- SEIFERT, Georg J.; BLAUKOPF, Claudia. Irritable walls: the plant extracellular matrix and signaling. **Plant Physiology**, v. 153, n. 2, p. 467-478, 2010.
- SHAIK, R.; RAMAKRISHNA, W. Machine learning approaches distinguish multiple stress conditions using stress-responsive genes and identify candidate genes for broad resistance in rice. **Plant Physiology**, v. 164, p. 481–495, 2014.
- SIAUT, M., CUINE, S., CAGNON, C., FESSLER, B., NGUYEN, M., CARRIER, P., BEYLY, A., BEISSON, F., TRIANTAPHYLIDES, C., LI-BEISSON, Y., PELTIER, G. Oil accumulation in the model green alga *Chlamydomonas reinhardtii*: characterization, variability between common laboratory strains and relationship with starch reserves. **BMC Biotechnol**, v.11, n.7, p.1–15, 2011.
- SINGLETON, V.L.; ROSSI, J.A.J. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic- phosphotungstic acid reagents. *Am. J. Enol. Vitic*, v.16, p.144–158, 1965.
- 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 Brasilica**, v. 19, n. 1, p. 81-90, 2005.
- STUDART-GUIMARÃES, C.; LACORTE, C.; BRASILEIRO, A. C. M. Transformação genética em espécies florestais. **Ciência Florestal**, v. 13, n. 1, p. 167-178. 2003.

- SUN, Y.; CHENG, J. Hydrolysis of lignocellulosic material for ethanol production: A review. **Bioresource Technology**, n 83, p 1-11, 2002.
- TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 5. ed. Porto Alegre: Artmed, 2015.
- TARDIEU, F.O.; GRANIER, C.; MULLER, B. Water deficit and growth. Coordinating processes without an orchestrator? *Curr. Opin. Plant Biol*, v.14, p. 283–289, 2011.
- TAVARES, E.Q.P.; BUCKERIDGE, M.S. Do cell walls have a code? **Plant Science**, v. 241, p. 286–294, 2015.
- THALMANN, Mathias; SANTELIA, Diana. Starch as a determinant of plant fitness under abiotic stress. **New Phytologist**, v.214, p.943-951, 2017.
- VANHOLME, R.; DEMEDTS, B.; MORREEL, K.; RALPH, J.; BOERJAN, W. Lignin Biosynthesis and Structure. **Plant Physiology**, v 153, p 895–905, 2010.
- VENTURA, J. A.; CAETANO, LCS; COSTA, H. Abacaxi'Vitória': uma cultivar resistente à fusariose. **Artigo em periódico indexado**, 2019.
- VILALTA, J.M.; SALA, A.; ASENSIO, D.; GALIANO, L.; HOCH, G.; PALACIO, S.;PIPER, F.; LLORET, F. Dynamics of non-structural carbohydrates in terrestrial plants: a global synthesis. Review. **Ecological Monographs**, v. 86, n. 4, p. 495-516,2016.
- WANG, X.; CHANG, L.; WANG, B.; WANGD, LI P; WANG, L.; YI, X.; HUANG, Q.; PENG, M.; GUO, A. Comparative proteomics of *Thellungiella halophila* leaves from plants subjected to salinity reveals the importance of chloroplastic starch and soluble sugars in halophyte salt tolerance. **Molecular & Cellular Proteomics**, v.12, p.2174–2195, 2013.
- WATSON, R.T. & the Core Writing Team (Eds.). Climate Change 2001: Synthesis Report. Intergovernmental Panel on Climatic Change Third Assessment Report. United Nations Environment Programme/World Meteorological Organization, Genebra. 2001.

- WHITNEY, Charles W. et al. Randomized comparison of fluorouracil plus cisplatin versus hydroxyurea as an adjunct to radiation therapy in stage IIB-IVA carcinoma of the cervix with negative para-aortic lymph nodes: a Gynecologic Oncology Group and Southwest Oncology Group study. **Journal of Clinical Oncology**, v. 17, n. 5, p. 1339-1339, 1999.
- WILLIAMS, C.A. and GRAYER, R.J. (2004) Anthocyanins and other flavonoids. *Nat. Prod. Rep.* 21, 539–573
- WINKEL-SHIRLEY, B. Biosynthesis of flavonoids and effects of stress. **Curr. Opin. Plant Biol**, v.5, p.218–223, 2002.
- WINKEL-SHIRLEY, B. It takes a garden. How work on diverse plant species has contributed to an understanding of flavonoid metabolism. **Plant Physiol**, v.127, p.1399–1404, 2001.
- 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.
- XAVIER, A.; WENDLING, I.; SILVA, R. L. *Silvicultura clonal - princípios e técnicas*. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 2009. 272p.
- Xie Z, Duan L, Tian X, Wang B, Eneji AE, Li Z. Coronatine alleviates salinity stress in cotton by improving the antioxidative defense system and radical-scavenging activity. **Journal of Plant Physiology**, v.165, n.4, p.375–384, 2008.
- YAMAGUCHI, M.; VALLIYODAN, B.; ZHANG, J.; LENOBLE, M.E.; YU, O.; ROGERS, E.E.; NGUYEN, H.T.; SHARP, R.E. Regulation of growth response to water stress in the soybean primary root. I. Proteomic analysis reveals region-specific regulation of phenylpropanoid metabolism and control of free iron in the elongation zone. **Plant Cell Environ**, v 33, p 223–243, 2010.

- YAN, Ding-Xiang et al. Electromagnetic interference shielding of segregated polymer composite with an ultralow loading of in situ thermally reduced graphene oxide. **Nanotechnology**, v. 25, n. 14, p. 145705, 2014.
- YANG, Ray-Yu et al. Nutritional and functional properties of Moringa leaves—From germplasm, to plant, to food, to health. **Moringa leaves: Strategies, standards and markets for a better impact on nutrition in Africa. Moringanews, CDE, CTA, GFU. Paris, 2006.**
- ZANDALINAS, Sara I. et al. Activation of secondary metabolism in citrus plants is associated to sensitivity to combined drought and high temperatures. **Frontiers in plant science**, v. 7, p. 1954, 2017.
- ZANNE, AE; WESTOBY, M; FALSTER, DS; ACKERLY, DD; LOARIE, SR; ARNOLD, SEJ; COOMES, DA. Angiosperm wood structure: Global patterns in vessel anatomy and their relation to wood density and potential conductivity. **Am J Bot**, v. 97, n.2, p.207-215, 2010.