

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

LILIANE BALDAN ZANI

**CARACTERIZAÇÃO DA ONTOGENIA DO PAU-BRASIL**  
*(Caesalpinia echinata Lam.)*

VITÓRIA  
2014

LILIANE BALDAN ZANI

**CARACTERIZAÇÃO DA ONTOGENÉTICA DO PAU-BRASIL**  
*(Caesalpinia echinata Lam.)*

Dissertação 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 para obtenção do título de Mestre em Biologia Vegetal, Área de Concentração: Fisiologia Vegetal.

Orientador: Prof. Dr. Geraldo Rogério Faustini Cuzzuol

Co-orientador (a): Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Camilla Rozindo Dias Milanez

Vitória

2014

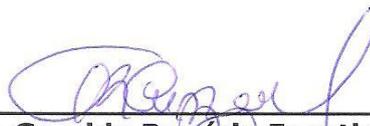
## LILIANE BALDAN ZANI

### “CARACTERIZAÇÃO DA ONTOGENÉTICA DO PAU-BRASIL”

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

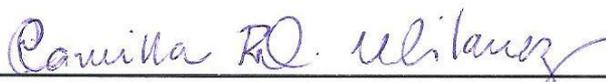
Aprovada em 27 de Fevereiro de 2014.

#### COMISSÃO EXAMINADORA



---

**Prof. Dr. Geraldo Rogério Faustini Cuzzuol**  
Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal-UFES  
**Orientador**



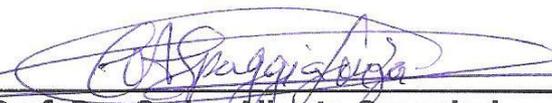
---

**Profa. Dra. Camilla Rozindo Dias Milanez**  
Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal-UFES  
**Co-orientadora**



---

**Profa. Dra. Silvia Tamie Matsumoto**  
Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal - UFES  
**Examinador Interno**



---

**Prof. Dr. Carlos Alberto Spaggiari**  
CEPLAC-ES  
**Examinador Externo**

Dados Internacionais de Catalogação-na-publicação (CIP)  
(Biblioteca Central da Universidade Federal do Espírito Santo, ES, Brasil)

---

Zani, Liliane Baldan, 1987-

Z31c      Caracterização da ontogenética do pau-brasil / Liliane  
Baldan Zani. – 2014.

75 f. : il.

Orientador: Geraldo Rogério Faustini Cuzzuol.

Coorientador: Camilla Rozindo Dias Milanez.

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

1. Botânica. 2. Ecofisiologia vegetal. 3. Parede celular  
vegetal. 4. Ontogenia. 5. Pau-brasil. 6. Mata Atlântica. I.  
Cuzzuol, Geraldo Rogério Faustini. II. Milanez, Camilla Rozindo  
Dias. III. Universidade Federal do Espírito Santo. Centro de  
Ciências Humanas e Naturais. IV. Título.

CDU: 57

---

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço à Universidade Federal do Espírito Santo, pelo ensino e infraestrutura disponibilizados.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela bolsa de mestrado concedida.

Ao Plano Nacional de Apoio ao Desenvolvimento da Botânica (PNADB)/CAPES pelo apoio financeiro.

À Empresa Fibria, pela disponibilização da área de estudo e estágio no Centro Tecnológico para análise dos polímeros de parede celular.

À todos os professores e profissionais do Programa de Pós-graduação em Biologia Vegetal (PPGBV), pelo conhecimento transmitido, dedicação e valiosas contribuições.

Ao Dr. José Manoel Lúcio Gomes, pelas idas a campo e fundamental apoio.

Agradeço aos membros da banca, que aceitaram corrigir este trabalho e por todas as contribuições.

Aos companheiros de laboratório, Vinícius e Bernardo, pela ajuda em campo e em laboratório e pela amizade.

Aos amigos do Laboratório Anatomia Vegetal (LABAV), Leonardo e Dayana, pela ajuda com a anatomia, essenciais a este trabalho.

Aos colegas do PPGBV, pelo apoio e por todos os momentos excepcionais que passamos juntos.

Ao Ian, pelo apoio tanto acadêmico quanto emocional, carinho, amor, confiança, companheirismo, essencial neste momento tão especial da minha vida.

À minha amada família, pela confiança, suporte, amor, carinho, por todo incentivo recebido durante essa jornada e principalmente por sempre acreditarem em mim, sendo o pilar essencial da minha vida.

*“Tenho em mim todos os sonhos do mundo.”*

*Fernando Pessoa*

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** - *Caesalpinia echinata* Lam. (pau-brasil). A - Inflorescência. B - Tronco recoberto por acúleos. C - Árvore adulta com aproximadamente 10m de altura. Aracruz/ES.. ..... 16
- Figura 2** - Estrutura da parede celular ..... 25
- Figura 3** - Representação esquemática da molécula de celulose ..... 26
- Figura 4** - Representação esquemática da hemicelulose ..... 26
- Figura 5** - Representações de alguns monossacarídeos comuns da hemicelulose. .... 27
- Figura 6** - Representação de um segmento de uma cadeia de xiloglucana. Glucose (G), xilose (X), galactose (L) e fucose (F) ..... 27
- Figura 7** - Representação esquemática da lignina **Erro! Indicador não definido.**
- Figura 8** - Localização do município de Aracruz em cinza e em destaque a área de estudo..... 31
- Figura 9** - Secções transversais do limbo e impressão epidérmica mostrando a relação inversa entre densidade estomática e o tamanho das células guardas nos indivíduos de *C. echinata* em diferentes fases ontogenéticas. A - Corte transversal do limbo mediano de foliólulos de indivíduos juvenis. B - Jovens. C - Adultos. D - Densidade estomática da epiderme da face abaxial de foliólulos de indivíduos juvenis. E - Jovens. F - Adultos. As barras horizontais são equivalentes 100 µm.. ..... 50
- Figura 10** - Composição de monossacarídeos estruturais do caule de indivíduos de *C. echinata* em diferentes fases ontogenéticas. Letras iguais não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey a 5% (n=5). ..... 53
- Figura 11** - Teores de celulose do caule e do foliólulo de indivíduos de *C. echinata* em diferentes fases ontogenéticas. Letras iguais não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey a 5% (n=5). ..... 54
- Figura 12** - Porcentagem de lignina insolúvel (A), solúvel (B) e total do caule (C) e lignina do foliólulo (D) de indivíduos de *C. echinata* em diferentes fases ontogenéticas. Letra iguais não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey a 5% (n=5). ..... 55

## LISTA DE TABELAS

- Tabela 1** - Classificação dos indivíduos de *C. echinata* em diferentes fases ontogenéticas..... 32
- Tabela 2** - Concentrações de macronutrientes nos foliólulos de indivíduos de *C. echinata* em diferentes fases ontogenéticas. Valores dados em peso do nutriente/peso de massa seca de foliólulos (g/Kg).  $\pm$  erro padrão da média....  
**Erro! Indicador não definido.**
- Tabela 3** - Concentrações de micronutrientes nos foliólulos de indivíduos de *C. echinata* em diferentes fases ontogenéticas. Valores dados em peso do nutriente/peso de massa seca de foliólulos (mg/Kg).  $\pm$  erro padrão da média..42
- Tabela 4** - Medidas de altura (m), diâmetro do caule (cm), teor de água foliar ( $\text{mg H}_2\text{O cm}^{-2}$ ), área foliar específica (AFE) ( $\text{cm}^2$ ) e massa foliar específica (MFE) ( $\text{mg MF cm}^{-2}$ ) de indivíduos de *C. echinata* em diferentes fases ontogenéticas.  $\pm$  erro padrão da média..... 43
- Tabela 5** - Concentrações de pigmentos cloroplastídicos de indivíduos de *C. echinata* em diferentes fases ontogenéticas. Clorofila *a* (Chl *a*); clorofila *b* (Chl *b*); clorofila total (Chl<sub>Total</sub>); carotenoides (Carot) ambos em  $\text{mg.g MS}^{-1}$ ; relação entre clorofila *a* e clorofila *b* (Chl *a/b*) e relação entre clorofila total e carotenóide (Chl<sub>Total</sub>/Carot).  $\pm$  erro padrão da média..... 45
- Tabela 6** - Dados anatômicos quantitativos de indivíduos de *C. echinata* em diferentes fases ontogenéticas. Espessuras do limbo, cutícula, epiderme adaxial e abaxial, parênquimas paliçádico e lacunoso todos em  $\mu\text{m}$ . Densidade estomática em  $\text{mm}^2$  e razão entre as espessuras dos parênquimas lacunoso e paliçádico (PL/PP).  $\pm$  erro padrão da média..... 47
- Tabela 7** - Medidas do comprimento do elemento de vaso (CEV), diâmetro do elemento de vaso (DEV), diâmetro do lúmen do elemento de vaso (DLEV), parede do elemento de vaso (PEV), comprimento da fibra (CFI) e diâmetro da fibra (DFI) do xilema de indivíduos de *C. echinata* em diferentes fases ontogenéticas.  $\pm$  erro padrão da média..... 51

## RESUMO

As ações de reflorestamento com o pau-brasil (*Caesalpinia echinata* Lam.) depende de informações de suas características ecofisiológicas sujeitas às variações ontogenéticas e ambientais. O objetivo desse trabalho foi caracterizar alguns aspectos morfológicos, anatômicos, fisiológicos e estruturais de parede celular de *C. echinata* nas fases juvenil, jovem e adulto em condições naturais em um fragmento da Floresta Atlântica. Foi analisada a biometria, concentração de nutrientes e dos pigmentos cloroplastídicos dos foliólulos, anatomia foliar e do xilema secundário do caule e a constituição dos polímeros estruturais de parede celular. Os indivíduos juvenis localizados no estrato inferior da floresta se destacaram pela maior área foliar específica e maiores teores de pigmentos cloroplastídicos bem como pelas maiores dimensões de suas células guardas associado às maiores concentrações de K e Ca foliar. Estruturalmente, os indivíduos juvenis apresentaram menores elementos de vasos e teores de lignina. Os indivíduos jovens apresentaram valores intermediários das variáveis analisadas. Já os indivíduos adultos, cujas copas alcançavam o dossel, se destacaram pelo maior espessamento do limbo, da cutícula e do parênquima lacunoso, teor de água foliar, densidade estomática e teor de lignina foliar e caulinar cuja capacidade de síntese foi associada ao maior teor de P foliar. O conteúdo de celulose foliar e caulinar não variou entre as diferentes fases ontogenéticas. As hemiceluloses são do tipo xilanos com possibilidade de presença de xiloglucano dada a maior fração de xilose ( $\pm 12\%$  MS) e galactose ( $\pm 1\%$  MS). A glucose foi o monossacarídeo mais representativo ( $\pm 40\%$  MS) sem diferenças ontogenéticas. As diferenças morfológicas, anatômicas, fisiológicas e estruturais parecem, também, estarem sob controle da irradiância mais intensa na copa dos indivíduos adultos. Os resultados denotam que o plantio consorciado com espécies de crescimento rápido seja a melhor ação para o reflorestamento de *C. echinata*.

**Palavras-chave:** Anatomia, celulose, hemicelulose, lignina, ontogenia, pigmentos cloroplastídicos.

## ABSTRACT

The reforestation with Brazil wood (*Caesalpinia echinata* Lam.) depends upon information from their ecophysiological characteristics subject to the ontogenetic and environmental variations. The objective of this study was to characterize some morphological, anatomical, physiological and structural aspects of the cell wall of *C. echinata* in juvenile, young and adult phases in natural conditions in a fragment of Atlantic Forest. Biometrics, nutrient concentration and of pigments chloroplastidic, anatomy leaf and stem secondary xylem and and the constitution of cell wall structural polymers was analyzed. The juveniles in the lower stratum of the forest have stood out by the higher specific leaf area and higher pigment contents and the cells larger guards provided by the higher concentrations of foliar K and Ca. Structurally the juveniles had lower vessel elements and lignin. The young individuals showed intermediate values of the variables analyzed. Have the adults, whose crowns reached the canopy, stood out for greater thickening of the limbus, cuticle and spongy parenchyma, leaf water content, stomatal density and lignin content of leaf and stem whose synthesis capacity was possibly stimulated by higher content of P leaf. The content of leaf and stem cellulose did not vary between the different ontogenetic phases. The hemicelluloses are the xylans type with the possibility of the presence of xyloglucan given the larger fraction of xylose ( $\pm 12\%$  DM) and galactose ( $\pm 1\%$  DM). Glucose was the most representative monosaccharide ( $\pm 40\%$  DM) without ontogenetic differences. The morphological, anatomical, physiological and structural differences also seem to be under control of more intense irradiance in the canopy of mature individuals. The results denote that the associated planting with fast growing species is the best action for reforestation *C. echinata*.

Keywords: Anatomy, cellulose, hemicellulose, lignin, ontogeny, chloroplastidic pigments.

## SUMÁRIO

1 - INTRODUÇÃO .....	<b>Erro! Indicador não definido.</b>	<b>3</b>
2 - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....		15
2.1 - As preferências ecológicas das espécies dentro do processo sucessional .....		15
2.2 - O Pau-brasil: estudos do comportamento ecofisiológico com vistas ao reflorestamento .....		16
2.3 - O desenvolvimento ontogenético das espécies e suas implicações nos estudos ecofisiológicos .....		19
2.3.1 - Morfologia foliar .....		21
2.3.2 - Morfologia caulinar .....		22
2.3.3 - Pigmentos cloroplastídicos .....		23
2.3.4 - Parede celular.....		24
3 - OBJETIVOS .....		31
3.1 - Objetivo geral .....		30
3.2 - Objetivos específicos.....		30
4 - MATERIAIS E MÉTODOS .....		31
4.1 - Área de estudo e espécie .....		31
4.2 - Material vegetal .....		32
4.3 - Análises químicas dos foliólulos .....		33
4.4 - Medidas biométricas dos foliólulos .....		33
4.5 - Extração e quantificação de pigmentos cloroplastídicos .....		34
4.6 - Análises anatômicas dos foliólulos .....		34
4.7 - Análises anatômicas do caule .....		35
4.8 - Determinação de celulose e lignina dos foliólulos .....		36
4.8.1 - Determinação de celulose dos foliólulos.....		36
4.8.2 - Determinação de lignina dos foliólulos .....		36
4.9 - Análise da celulose, lignina e dos monossacarídeos das hemiceluloses do caule .....		37
4.9.1 - Preparação de amostras livres de extrativos solúveis do caule.....		38
4.9.2 - Determinação dos monossacarídeos das hemiceluloses do caule.		38

4.9.3 - Determinação de lignina do caule .....	39
4.10 - Análises estatísticas e delineamento experimental .....	40
5 - RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	41
5.1 - Nutrientes dos foliólulos .....	41
5.2 - Medidas biométricas.....	42
5.3 - Pigmentos cloroplastídicos .....	44
5.4 - Análises anatômicas do foliólulo e do caule .....	46
5.5 - Monossacarídeos estruturais do caule .....	52
5.6 - Celulose dos foliólulos e do caule .....	54
5.7 - Lignina dos foliólulos e do caule.....	54
6 - CONCLUSÃO .....	56
7 - REFERÊNCIAS.....	57

## 1. INTRODUÇÃO

O pau-brasil (*Caesalpinia echinata* Lam. Leguminosae Caesalpinioideae) é uma espécie arbórea nativa, de importância econômica, ambiental e cultural para o Brasil. É uma espécie clímax, que atinge o dossel após a formação de pequenas clareiras (CARVALHO, 1994). O pau-brasil vem sendo explorado extensivamente desde o início da colonização europeia e, atualmente, encontra-se ameaçado de extinção, sendo poucos os locais onde ainda podem ser encontradas populações nativas.

Apesar de ser uma espécie relativamente bem estudada do ponto de vista de seus caracteres taxonômicos, fitoquímicos e de propagação, são poucos os estudos realizados sobre a ecofisiologia dessa espécie, particularmente em florestas nativas (CORRÊA, 2003; REZENDE et al., 2004; AGUIAR et al., 2005; MELO et al., 2007; SANCHES, 2009).

O perigo de extinção das espécies nativas, assim como *C. echinata*, é atribuído não somente ao intenso extrativismo e a destruição do habitat, mas também pela falta de informações sobre suas características fisiológicas, o que compromete as ações de conservação e manejo. Aliás, as informações que existem sobre o comportamento ecofisiológico de *C. echinata* são bastante contraditórias. Diversos trabalhos foram realizados na tentativa de definir sua preferência ecológica quanto ao requerimento de luz (BUDOWSKI, 1965; LIMA, 1992; CARVALHO, 1994; LORENZI, 2002; ROCHA, 2004; BARONI, 2005; AGUIAR et al., 2005; ZAIDAN et al., 2008; MENGARDA et al., 2009; AGUIAR et al., 2011; MENGARDA et al., 2012; GAMA, 2013).

Os primeiros estudos ecofisiológicos com *C. echinata* procuraram avaliar seu hábito quanto ao requerimento de luz utilizando plantas na fase juvenil e em condições controladas. No entanto, nem sempre os resultados obtidos em condições controladas podem ser extrapolados para os ambientes naturais. Tem sido sugerido que ocorram alterações morfológicas e fisiológicas desde a fase inicial do seu crescimento no estrato inferior da floresta, onde a irradiância é extremamente baixa, até a fase adulta onde suas folhas são completamente expostas à elevada irradiância (KOERSELMAN e MEULEMAN, 1996; DUZ et al., 2004). Tais variações tem sido atribuídas às fases ontogenéticas. Daí o

cuidado em não extrapolar os resultados obtidos na fase juvenil para a fase adulta (CUZZUOL e MILANEZ, 2012).

A ocorrência de mudanças morfológicas e fisiológicas, geralmente discretas, entre diferentes fases ontogenéticas faz supor que as pressões seletivas sejam diferentes em cada fase do desenvolvimento. Inversamente, a ocorrência de diferentes fenótipos em diferentes estádios indica que cada um deles apresenta vantagens adaptativas na superação de diferentes limitações impostas pelo ambiente (LAWSON e POETHIG, 1995).

Plantas em diferentes fases ontogenéticas, geralmente, não têm propriedades ecológicas similares e, assim, podem explorar recursos ambientais e lidar com a ação do meio em diferentes estratégias. A existência de um controle genético das características, duração de cada fase ontogenética e de sua sequência no tempo indicam que seu fenótipo é o resultado de ações seletivas durante um tempo evolutivo (BERNACCI et al., 2008; SILVA, 2009; HOUTER e PONS, 2012).

Com tantas variáveis ambientais e ontogenéticas influenciando as respostas morfológicas e fisiológicas, torna-se difícil encontrar uma distinção clara dos eventos de crescimento, bioquímicos e fisiológicos capazes de caracterizar as espécies quanto a sua preferência ecológica em cada fase ontogenética (CUZZUOL e MILANEZ, 2012).

Dessa forma, a caracterização morfológica e fisiológica de *C. echinata* nas diferentes fases ontogenéticas em um ambiente onde ela ocorre naturalmente, pode ser útil na definição de estratégias de ações para a conservação e reflorestamento dessa espécie em extinção da Mata Atlântica.

## 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 - As preferências ecológicas das espécies na sucessão florestal

Os estudos sobre a sucessão florestal têm sido amplamente utilizados nos programas de reflorestamento (RODRIGUES et al., 2011). Segundo Budowisck (1965), as espécies podem ser classificadas de acordo com a longevidade e tolerância ao sombreamento como pioneiras, secundárias iniciais, secundárias tardias e climácicas. Mas, Whitmore (1989) propôs apenas dois grupos: espécies pioneiras e não pioneiras. O primeiro grupo exige a presença de luz para germinar e as plântulas não se desenvolvem sob baixa condição de irradiância, enquanto no último, a germinação ocorre sob restrição de luz onde as plântulas se ajustam morfológica e fisiologicamente.

Gandolfi (1991) também propõe a classificação das espécies quanto ao seu desenvolvimento em função da irradiância. De acordo com o autor, as espécies pioneiras desenvolvem-se na presença de alta irradiância, as secundárias, em condições intermediárias de sombreamento, e as tardias, em condições de alto sombreamento. Para Catharino (2006), a classificação sucessional das espécies em agrupamentos simplificados, como iniciais *lato sensu* e tardias *lato sensu*, são mais adequados para se classificar as espécies.

Cuzzuol e Milanez (2012) destacam a terminologia plantas de sol (pioneiras, obrigatórias de sol ou tolerantes ao sol) e plantas de sombra (não pioneiras, obrigatórias de sombra ou tolerantes à sombra). As espécies que se posicionam entre essas duas categorias são denominadas plantas facultativas de sol (intermediárias iniciais) que desenvolvem melhor em pleno sol, mas que toleram irradiância moderada e, as facultativas de sombra (intermediárias tardias) que preferem sombreamento intenso, mas que conseguem crescer em sombreamento moderado.

No entanto, devido à grande plasticidade encontrada nas espécies tropicais, sua classificação é dificultada, sendo comum encontrar diferentes classificações para uma mesma espécie (MANAGO et al., 2012).

## 2.2 - O Pau-brasil: comportamento ecofisiológico com vistas ao reflorestamento

O pau-brasil, *Caesalpinia echinata* Lam. (Leguminosae – Caesalpinioideae), é uma espécie arbórea endêmica brasileira típica da Floresta Atlântica. Essa espécie de acordo com a lei no. 6.607, de 12/12/1978 (BRASIL, 1978) é designada Árvore Nacional. Essa espécie apresenta porte médio entre 10 e 15 m de altura e tronco de 25 a 40 cm, podendo chegar até 1 m de diâmetro, recoberto por acúleos presos à casca, folhas bipinadas, flores em cacho amarelo-ouro, com uma mancha vermelho-púrpura numa das pétalas; e sua inflorescência apresenta, em média, 17 cm de comprimento, com 43 flores (Figura 01). Ela ocorre, principalmente, no estrato médio da floresta, podendo atingir cerca de 300 anos de idade (AGUIAR e AOKI, 1983; LIMA, 1992; CARVALHO, 1994).



Figura 01 - *Caesalpinia echinata* Lam. (pau-brasil). A - Inflorescência. B - Tronco recoberto por acúleos. C - Árvore adulta com aproximadamente 10 m de altura. Aracruz/ES.

*C. echinata* é uma espécie característica da Floresta Estacional Semidecidual das Terras Baixas (VELOSO et al., 1991), denominada por Andrade-Lima (1961) e Carvalho (1994) de Floresta Estacional Caducifólia Costeira. Também habita a Floresta Ombrófila Densa de terras baixas (ZANI et al., 2012). Sua ocorrência natural vai do Estado do Rio de Janeiro chegando até as Matas das Dunas em Natal - RN (TAVARES, 1960; AGUIAR e AOKI, 1983; FREIRE, 1990; CUNHA e LIMA, 1992; CARVALHO, 1994; AGUIAR, 2001).

Desde o início do século XVI até 1875, a espécie foi explorada comercialmente por causa do corante presente em sua madeira, a “*brasileína*”. Os índios utilizavam o corante do pau-brasil para colorir penas, enquanto que na indústria

européia, ele era utilizado para tingimento de tecidos, motivo que lhe conferia grande valor comercial (ROCHA, 2004). Segundo esse autor, a exploração descontrolada de *C. echinata* nos primeiros séculos da colonização contribuiu significativamente para a redução de suas populações naturais.

Atualmente, o uso de *C. echinata* restringe-se à arborização urbana, como árvore ornamental, e na fabricação de instrumentos musicais, embora em pequena escala, devido à escassez do produto (RAMALHO, 1978; AGUIAR e BARBOSA, 1985; AGUIAR e PINHO, 1996; ANGYALOSSY, 2005; ROCHA, 2008).

Na época da colonização portuguesa, a espécie encontrava-se amplamente distribuída na costa brasileira (LIMA, 1992), mas após sua intensa e prolongada exploração, chegou a ser considerada extinta por quase um século. Na atualidade, em virtude de iniciativas de conservação *in situ* e *ex situ*, *C. echinata* é encontrada em remanescentes de Floresta 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). No Espírito Santo, durante muitos anos acreditou-se que ela estivesse extinta, sendo que em 2008 populações naturais de pau-brasil foram encontradas em fragmentos florestais no município de Aracruz (ZANI et al., 2012). Devido à sua vasta exploração no período da colonização, o pau-brasil se encontra criticamente em perigo de extinção segundo a Lista de Espécies Ameaçadas de Extinção no Espírito Santo (Espírito Santo, 2005).

A espécie *C. echinata* não apresenta táxons infraespecíficos, embora muitas populações mostrem diferenças marcantes no tamanho e na forma dos foliólulos, na cor da madeira e no hábito (LEWIS, 1998). Sugere-se que existam três diferentes morfotipos de *C. echinata* e, com estudos futuros, a espécie poderá ser subdividida em subespécies ou variedades (LIMA et al., 2002; JUCHUM et al., 2008; GAMA, 2013). O morfotipo mais comum apresenta comparativamente, os menores foliólulos e o cerne de coloração alaranjado, sendo encontrado em muitas localidades ao longo da costa brasileira. Um segundo morfotipo difere do primeiro, apresentando, foliólulos um pouco

maiores e cerne com coloração laranja avermelhado. Deste morfotipo são conhecidos representantes cultivados e de ocorrência natural nos estados do Rio de Janeiro, Espírito Santo e interior do sul da Bahia. O terceiro morfotipo apresenta foliólulos muito grandes e cerne vermelho escuro, sendo encontrados naturalmente, até o momento, apenas em uma localidade na Bahia, no Vale do Rio Pardo (JUCHUM et al., 2008).

Segundo Juchum et al. (2008), existem diferenças genéticas entre as três variantes foliares sendo necessário uma reconstrução taxonômica da espécie *C. echinata* em dois possíveis grupos baseado na distância filogenética entre o morfotipo foliar grande e os outros dois tipos. Possivelmente, essas diferenças em nível de DNA encontradas por Juchum et al. (2008), entre esses morfotipos, possa manifestar diferentes aptidões ecológicas dessas variantes.

As informações existentes quanto ao comportamento ecofisiológico de *C. echinata* são bastante contraditórias. Para Budowski (1965), ela 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) concluíram que *C. echinata* não é uma espécie clímax, mas sim intermediária inicial. Aguiar et al. (2005) constataram que a espécie se desenvolve melhor com a redução do sombreamento. Sustentando essa informação, Rocha (2004) demonstrou que a espécie pode ser cultivada em áreas abertas e de clima seco. Carvalho (1994) sugere que esta espécie possa ser um exemplo de arbórea que necessite de um sombreamento moderado na fase juvenil, e que seu desenvolvimento é completado quando ocorre a formação de clareiras. Essa característica de meia sombra faz de *C. echinata* uma espécie resistente a extremos de luz e que, ao menos quando juvenil, apresenta grande plasticidade de resposta a irradiância (ZAIDAN et al., 2008). Novos resultados de Mengarda et al. (2009) mostraram melhor crescimento em sombreamento parcial o que levou os autores a considerá-la espécie intermediária.

No entanto, produtores de pau-brasil no Espírito Santo informaram que melhor crescimento ocorre em pleno sol em comparação com o plantio no interior de uma floresta. No distrito de Domingos Martins árvores com 8 anos de idade cultivadas em um terreno em declive recebendo luz solar direta, apresentaram

6,60 m em altura enquanto outro lote com a mesma idade e cultivado no interior de um bosque na mesma localidade não ultrapassaram a 1,50 m (MENGARDA, 2010).

Essas informações contraditórias chamaram a atenção para uma possível relação entre dos morfotipos com a irradiância. Em seu trabalho com populações de *C. echinata* de foliólulo médio cultivadas em sombreamento natural e em pleno sol, Gama (2013) observou características de espécie pioneira diferentemente da variante de foliólulo pequeno considerada por Mengarda et al. (2012) espécie intermediária.

Devido aos escassos e contraditórios resultados publicados sobre esta espécie, torna-se complexa uma classificação definitiva de *C. echinata* quanto sua posição na sucessão florestal. Com isso, o estudo do efeito da luminosidade no crescimento e na fisiologia de *C. echinata* é de fundamental interesse, principalmente tendo em vista a sua variação morfológica e importância na integração da Floresta Atlântica (ROCHA e SIMABUKURO, 2008).

Estudos sobre a adaptação das espécies arbóreas à disponibilidade de luz no seu ambiente de crescimento são importantes, no sentido de contribuir para o desenvolvimento de técnicas de plantio e de manejo de mudas dessas espécies, na perspectiva de múltiplos usos da floresta (LIMA et al., 2010).

### **2.3 - O desenvolvimento ontogenético das espécies e suas implicações nos estudos ecofisiológicos**

O ciclo de vida dos indivíduos consiste em uma sequência de fases de desenvolvimento até completar o ciclo de vida. Essas fases ontogenéticas são caracterizadas pela aquisição e/ou perda de certas estruturas, além de várias mudanças morfológicas, anatômicas, fisiológicas e bioquímicas (BERNACCI et al., 2008; SILVA, 2009). Assim, um indivíduo pode ser caracterizado em cada momento de sua vida não só por sua idade cronológica, como também por critérios biológicos específicos para cada fase do desenvolvimento compreendendo todas as etapas ontogenéticas (CARVALHO et al., 1999).

A existência de um controle genético das características e duração de cada fase ontogenética indica que sua expressão fenotípica é o resultado de ações seletivas durante um tempo evolutivo. A ocorrência de diferentes fenótipos em diferentes fases indica que cada uma delas apresenta vantagens adaptativas na superação de diferentes limitações impostas pelo ambiente (LAWSON e POETHIG, 1995). Plantas em diferentes fases ontogenéticas, geralmente, não têm propriedades ecológicas similares e, assim, podem explorar diferentes locais na floresta onde as variáveis ambientais são intensas (BERNACCI et al., 2008, SILVA, 2009).

Ainda são escassos os estudos realizados sobre as mudanças morfológicas e fisiológicas em diferentes fases ontogenéticas. Sanches et al. (2009), em um estudo com indivíduos jovens e adultos de *C. echinata* em uma floresta semi-decídua na Bahia, constataram que as áreas das ráquis, dos foliólulos, o comprimento das ráquis, a largura das folhas, o número de pinas e a massa seca das folhas foram maiores nos indivíduos jovens, porém, a massa foliar específica (MFE) foi menor em relação aos indivíduos adultos. Outro exemplo é o trabalho realizado por Houter e Pons (2012) em uma floresta tropical na Guiana central com indivíduos juvenis e adultos de 17 espécies submetidos à alta irradiância. Os autores observaram que, sob essa condição, os indivíduos juvenis apresentaram menor MFE calculada pela razão entre a massa fresca das folhas e sua área. Nos indivíduos adultos, a MFE foi maior indicando mudanças ontogenéticas.

A sequência das fases ontogenéticas é um dos aspectos mais evidentes da história de vida de uma população, e esta é manifestada através do padrão de crescimento, diferenciação celular, acúmulo de reservas e reprodução, sendo a variação de altura um dos traços morfológicos mais conspícuos (BEGON et al., 1996).

Um dos aspectos que influenciam na caracterização das fases ontogenéticas das espécies é a disponibilidade de luz que incide nos diferentes estratos florestais. O gradiente de irradiância nas florestas tropicais é grande e pode chegar a 6% da intensidade dos raios solares que incidem no dossel (CHAZDON et al., 1996) sugerindo que para cada fase da ontogenia há um

requerimento ideal de irradiância (HOUTER e PONS, 2012). Dessa forma, os indivíduos juvenis que estão no sub-bosque são tolerantes a sombra e quando adultos, ao alcançarem o dossel onde suas folhas são expostas a elevada irradiância, tornam-se tolerantes ao pleno sol. Em função da grande variação de irradiância que ocorre entre os estratos das florestas, muitas mudanças morfológicas e fisiológicas são manifestadas em cada fase da ontogenia até atingir o dossel (LAMBERS et al., 2008).

### 2.3.1 - Morfologia foliar

De acordo com as características do ambiente em que se encontram, as folhas apresentam adaptações anatômicas, morfológicas e fisiológicas que permitem a manutenção de um balanço positivo de carbono. Folhas dos indivíduos mais jovens que se encontram na sombra são, em geral, mais finas, apresentam menor MFE e menor razão entre parênquimas paliçádico e lacunoso do que folhas de indivíduos adultos expostos à alta irradiância no dossel (ARANDA et al., 2004; MENGARDA et al., 2009; GAMA, 2013). Tais características podem variar entre grupos ecológicos ou entre espécies, e influenciam a capacidade de sobreviver e crescer em ambientes de clareiras ou no sub-bosque das matas fechadas (ARANDA et al., 2004).

As grandes alterações anatômicas ocorrem nas folhas por se tratar de um órgão muito exposto à atmosfera e suscetível às mudanças ambientais. Estas modificações podem alterar a intensidade de luz que alcança o cloroplasto, regulando os processos fotossintéticos. O estudo da anatomia foliar é, portanto, de grande importância para a compreensão da plasticidade adaptativa de uma espécie às variações ambientais, e em especial com a luminosidade, por estar correlacionada com processos de trocas gasosas e outras atividades com grande efeito no crescimento vegetal (LIMA JR et al., 2006).

A intensidade e a qualidade da luminosidade pode modificar a estrutura das folhas como espessura da lâmina foliar, espessura cuticular, densidade e distribuição dos estômatos, número e espessura das camadas epidérmicas e do parênquima clorofiliano (LIMA JR. et al., 2006; COSTA et al., 2007; PINTO et al., 2007; OLIVEIRA et al., 2008). Tais modificações podem influenciar no aumento ou na redução da irradiância incidente nos tecidos do mesófilo que,

por sua vez, podem alterar a eficiência da fotossíntese (SULLIVAN et al., 1996; VASCONCELLOS et al., 1998; HOUTER e PONS, 2012).

Dessa forma, a avaliação das mudanças na morfologia foliar em resposta às variações ambientais permite compreender melhor alguns aspectos ecofisiológicos relacionados com a regeneração natural e a reintrodução de espécies arbóreas nativas no seu habitat (SANCHES et al., 2009).

### 2.3.2 - Morfologia caulinar

A madeira é um material heterogêneo, sendo sua variabilidade estrutural e química refletida numa ampla gama de propriedades físicas, tais como densidade, permeabilidade, comportamento quanto à capilaridade, condutividade térmica, difusão da água, entre outras. O arranjo de seus componentes físicos e químicos define a estrutura lenhosa como uma engenhosa organização arquitetônica da madeira. A madeira é um material composto de células produzidas por uma árvore viva para suportar a copa, conduzir água e nutrientes dissolvidos do solo à copa e armazenar materiais de reserva (principalmente carboidratos). A madeira é um tecido complexo devido a sua formação por diferentes tipos de células, as quais desempenham diferentes funções (KLOCK et al., 2005). O crescimento secundário do caule é formado pela atividade do câmbio que origina os tecidos vasculares secundários, e do felogênio que dá origem ao revestimento secundário, a periderme. As células funcionais do xilema secundário são chamadas de albúrnio localizadas externamente no caule e apresentam aspecto mais claro (MENDONÇA, 2010).

Os principais mecanismos evolutivos do xilema estão relacionados à adaptação a taxa de transpiração, à sazonalidade hídrica e à necessidade de investimento em resistência mecânica. Deve-se enfatizar que, mesmo localmente, estas características podem variar de forma considerável. Além disso, plantas diferentes podem utilizar o mesmo hábitat de forma muito diversa (CARLQUIST, 2001).

O diâmetro e o comprimento dos vasos são parâmetros que determinam a eficiência e a segurança na condução de seiva. Vasos curtos e de pequeno

diâmetro são condutores mais seguros de água, enquanto que os mais longos e largos são mais eficientes nessa função (CARQUIST, 2001). Elementos de vaso longos e com diâmetro largo, são parâmetros que determinam a eficiência e resistência na condução de água. Os mais longos e largos representam maior condutividade e menor resistência ao fluxo transpiratório. Como mecanismo de proteção a cavitação, a planta tende a aumentar a espessura da parede do vaso bem como diminuir seu comprimento (CARQUIST, 2001; JACOBSEN et al., 2005). A redução no comprimento de elementos vasculares tem importância adaptativa por aumentar a resistência estrutural dos mesmos às fortes pressões negativas geradas pela transpiração. Logo, devem ser examinadas as influências dos fatores ecológicos e fisiológicos nas variações do comprimento de elementos de vaso dentro de uma espécie ou indivíduo. A extensão do efeito das variações do ambiente, também depende da preferência ecológica da espécie e da sua idade (CARQUIST, 2001). Diferenças significativas, embora pequenas, são encontradas no comprimento das fibras entre espécies de arbóreas, enquanto que diferenças na largura são pequenas e não significativas (MALAN, 1995).

As características morfológicas das fibras variam significativamente entre os indivíduos e podem ser controladas geneticamente, bem como apresentar alterações, em função de diferentes práticas silviculturais e com a idade (JACOBSEN et al., 2005).

### 2.3.3 - Pigmentos Cloroplastídicos

Os teores de clorofila e de carotenóides, assim como a proporção entre as clorofilas *a* e *b*, podem variar em função da intensidade da irradiância (CARVALHO et al., 2006; BOEGER et al., 2009). Isso ocorre porque, enquanto as moléculas de clorofila controlam as taxas fotossintéticas através da absorção de energia luminosa, os carotenóides são capazes de dissipar o excesso de energia (BOEGER et al., 2009). Assim, plantas em ambientes de alta ou baixa irradiância do dossel e sub-bosque, respectivamente, apresentam alterações na coloração de suas folhas como resultado de mudanças na composição dos pigmentos cloroplastídicos que as permitam expressarem sua capacidade fotossintética (MARENCO e LOPES, 2009).

De acordo com Morais et al. (2007), as plantas respondem as mudanças da irradiância alterando a concentração dos pigmentos, o que influencia diretamente na atividade fotossintética. As clorofilas podem ser foto-oxidadas sob alta irradiância incidente no dossel e, devido aos carotenóides serem capazes de prevenir este processo, a relação entre estes pigmentos pode ser um indicador de adaptação à elevada irradiância (HENDRY e PIERCE, 1993). A relação clorofila *a/b* também é um indicativo de adaptação ao gradiente de irradiância (KITAJIMA e HOGAN, 2003; MARTINAZZO et al., 2007). Essa razão, amplamente utilizada na avaliação da irradiância absorvida pelos complexos coletores de luz, é um indicador de adaptação a diferentes condições de irradiância (BAOLI et al., 2005). Sendo essa razão normalmente maior em folhas sob altas irradiâncias (LICHTENTHALER et al., 2007) de espécies arbóreas tropicais (MENGARDA et al., 2009; PORTELA, 2012; SOARES, 2012).

Como os pigmentos cloroplastídicos são os responsáveis em intermediar a captação da irradiância e utilizá-la como principal fonte de energia nas reações fotoquímicas primárias da fotossíntese, a intensidade da irradiância pode alterar a concentração e a relação dos pigmentos, e conseqüentemente, inibir ou otimizar a captação da irradiância (MARTINAZZO et al., 2007).

#### 2.3.4 - Parede Celular

A parede celular desempenha funções de suporte e de formato celular (Figura 02), apresentando uma estrutura rígida em que as microfibrilas de celulose são o componente principal ligadas às hemiceluloses, pectinas, glicoproteínas e substâncias aromáticas (McCANN et al., 2001). Dois tipos de parede celular podem ser observadas: primária e secundária, diferenciadas por suas composições químicas e fase do desenvolvimento celular. A parede primária aparece durante a divisão celular e aumenta sua área de superfície durante a expansão da célula. Já a parede secundária é formada internamente à primária no processo de diferenciação e se diferencia da primária pela deposição de lignina. A parede primária está presente em todas as células vegetais, enquanto a parede secundária ocorre somente em alguns tipos de células (CARPITA e Mc CANN, 2000).

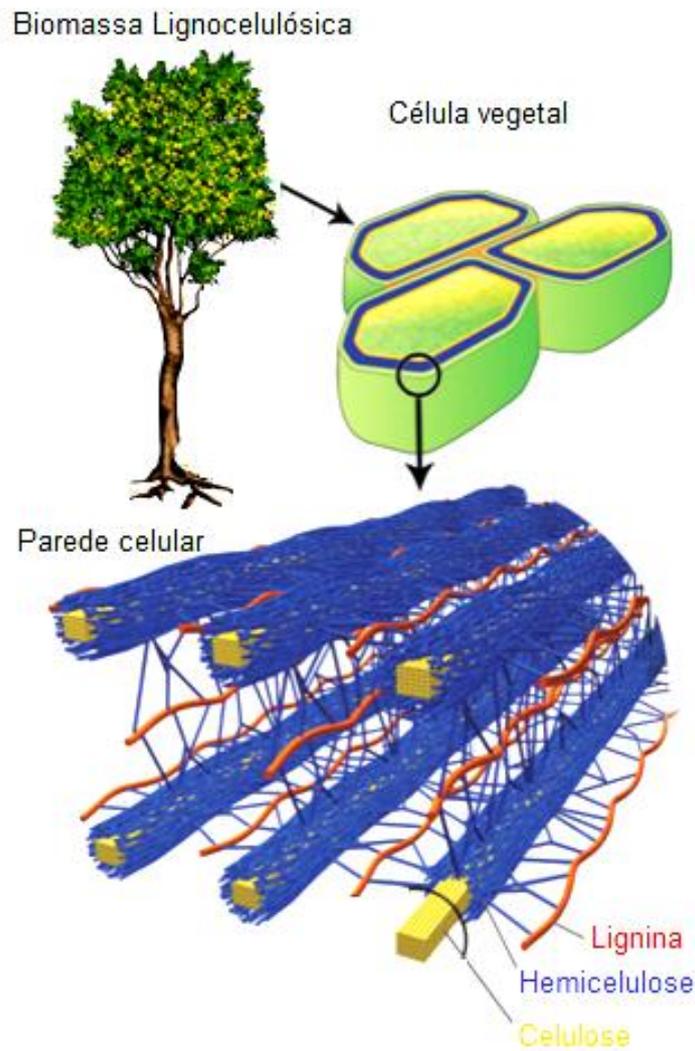


Figura 02. Estrutura da parede celular. Adaptado de Kondo (1997).

A celulose (Figura 03) é considerada o polímero vegetal mais abundante, representando cerca de 15 a 30% da massa seca de paredes celulares primárias (CARPITA e McCANN, 2000) sendo ainda mais abundante em paredes secundárias. Este polissacarídeo apresenta longas cadeias de glicose onde os monômeros são unidos por ligação glicosídica do tipo  $\beta$ -(1-4), que necessitam de mais energia para serem quebradas quando comparadas com  $\alpha$ -(1-4). A celulose pode ser representada pela fórmula geral  $(C_6H_{10}O_5)_n$  em que cada unidade de glicose sofre uma rotação de  $180^\circ$  em relação a glicose vizinha e a unidade básica que se repete é a celobiose (BEGUIN e AUBERT, 1994).

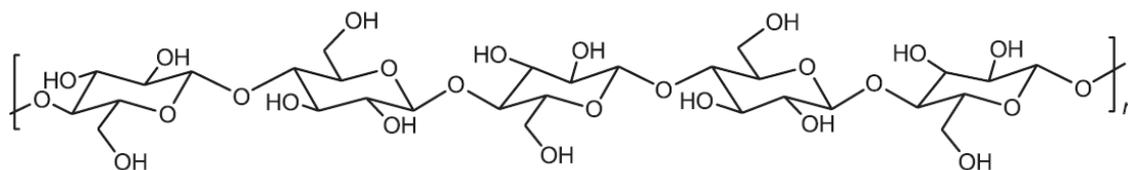


Figura 03. Representação esquemática da molécula de celulose (SANTOS et al., 2012).

Ao contrário do amido, esse polissacarídeo não apresenta ramificações em sua cadeia. 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 a hidratação do polissacarídeo (BUCKERIDGE et al., 2008).

As hemiceluloses (Figura 04) são heteropolissacarídeos, incluindo glucanos, mananos, arabinanos e xilanos, constituindo o segundo grupo de polissacarídeos renováveis mais abundantes na natureza. As hemiceluloses apresentam-se na forma de homopolímeros (e.g. xilano, em que a cadeia principal da molécula é formada por unidades de xilose) ou heteropolímeros (e.g. glucomanano, com a cadeia principal formada por unidades de glicose e manose), estando intimamente associadas à celulose (SAHA, 2003).

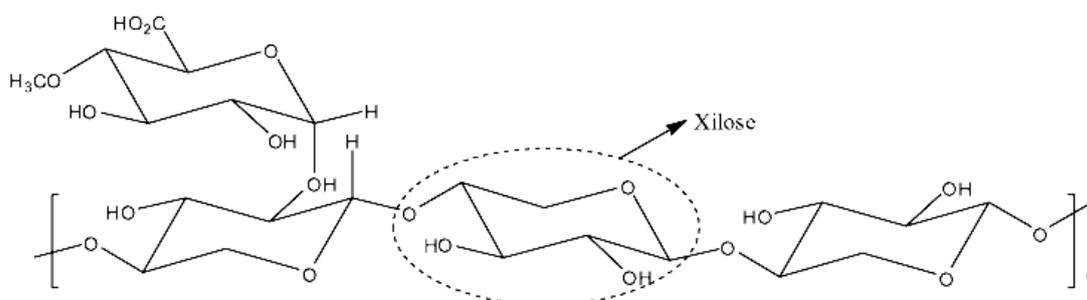


Figura 04 - Representação esquemática da hemicelulose (SANTOS et al., 2012).

As unidades constitutivas das hemiceluloses (Figura 05) compreendem as hexoses (glicose, manose e galactose), pentoses (arabinose e xilose), podendo ainda apresentar quantidades variáveis de ácido D-glucurônico, ácido D-4-O-metilglucurônico, ácido D-galacturônico e ainda os grupos O-acetil ou ésteres de ácido ferúlico e p-cumarico ligados através de unidades de L-arabinose a cadeia principal (SAHA, 2003).

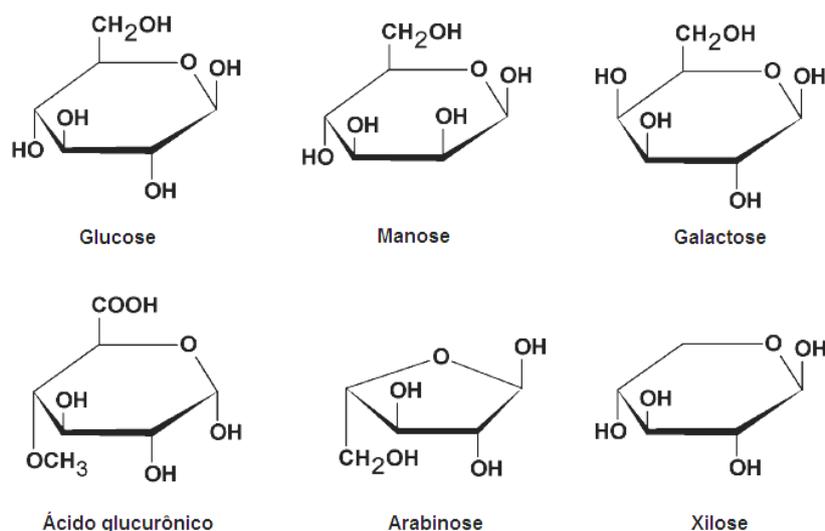


Figura 05 - Representações de alguns monossacarídeos comuns das hemiceluloses (SJÖBERG, 2002).

As hemiceluloses não aparecem de uma forma organizada como a celulose (formando estruturas cristalinas), mas, posicionam-se de uma forma paralela as microfibrilas de celulose e liga-se a estas por pontes de hidrogênio, originando uma intrincada e complexa malha de polissacarídeos. Além disso, as hemiceluloses possuem a propriedade de serem solúveis em soluções básicas diluídas classificadas em xilanos, mananos, galactoglucomanos, arabinanos, galactanos e xiloglucanos (Figura 06) (CARPITA e MACCANN, 2000).

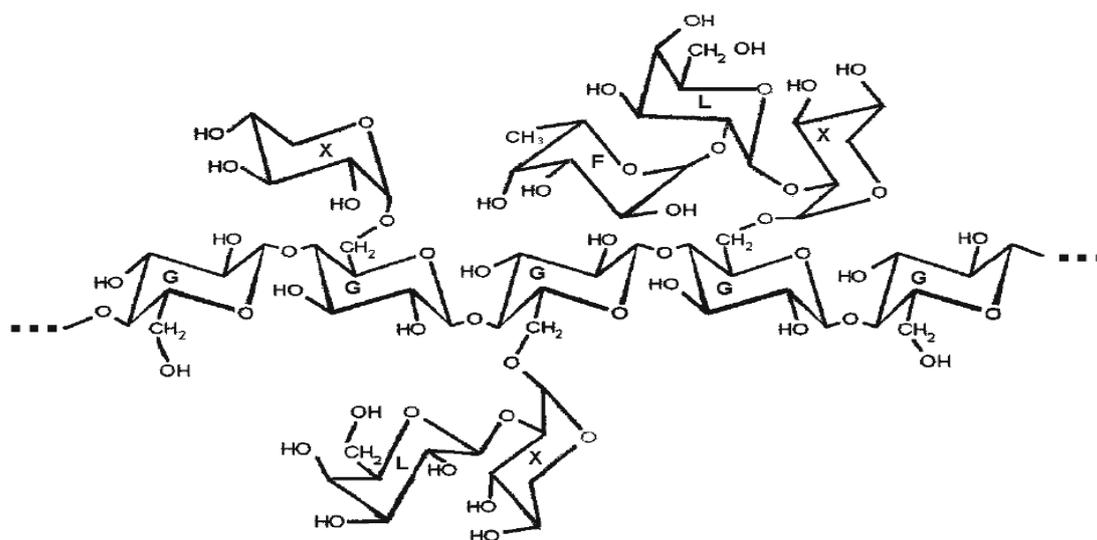


Figura 06 - Representação de um segmento de uma cadeia de xiloglucano. Glucose (G), xilose (X), galactose (L) e fucose (F) (PETKOWICZ et al., 2006).

As funções atribuídas às hemiceluloses são principalmente de equilíbrio das forças de tensão da parede celular e o controle do crescimento celular (BUCKERIDGE et al., 2008). Na parede celular primária das angiospermas as duas principais hemiceluloses são o xiloglucano (XG) e o glucoronoarabinoxilano (GAX), sendo o primeiro presente em todas as eudicotiledôneas e o segundo aparecendo na maioria das monocotiledôneas (CARPITA e MAcCANN, 2000).

A lignina (Figura 07) é considerada um poderoso agente cimentante da parede celular, característico de tecidos de plantas lenhosas. Funciona como barreira química e física, responsável pela condução de água nos tubos condutores e de elevado peso molecular (LATORRACA e ABREU, 1997) proveniente da oxidação desidrogenativa de três monolignóis álcoois precursores: *p*-cumarílico, *trans*-coniferílico e *trans*-sinapílico. Quando estes monolignóis são incorporados à lignina, são chamados trivialmente de p-hidroxifenil, guaiacil e siringilpropano, respectivamente (RAES et al., 2003).

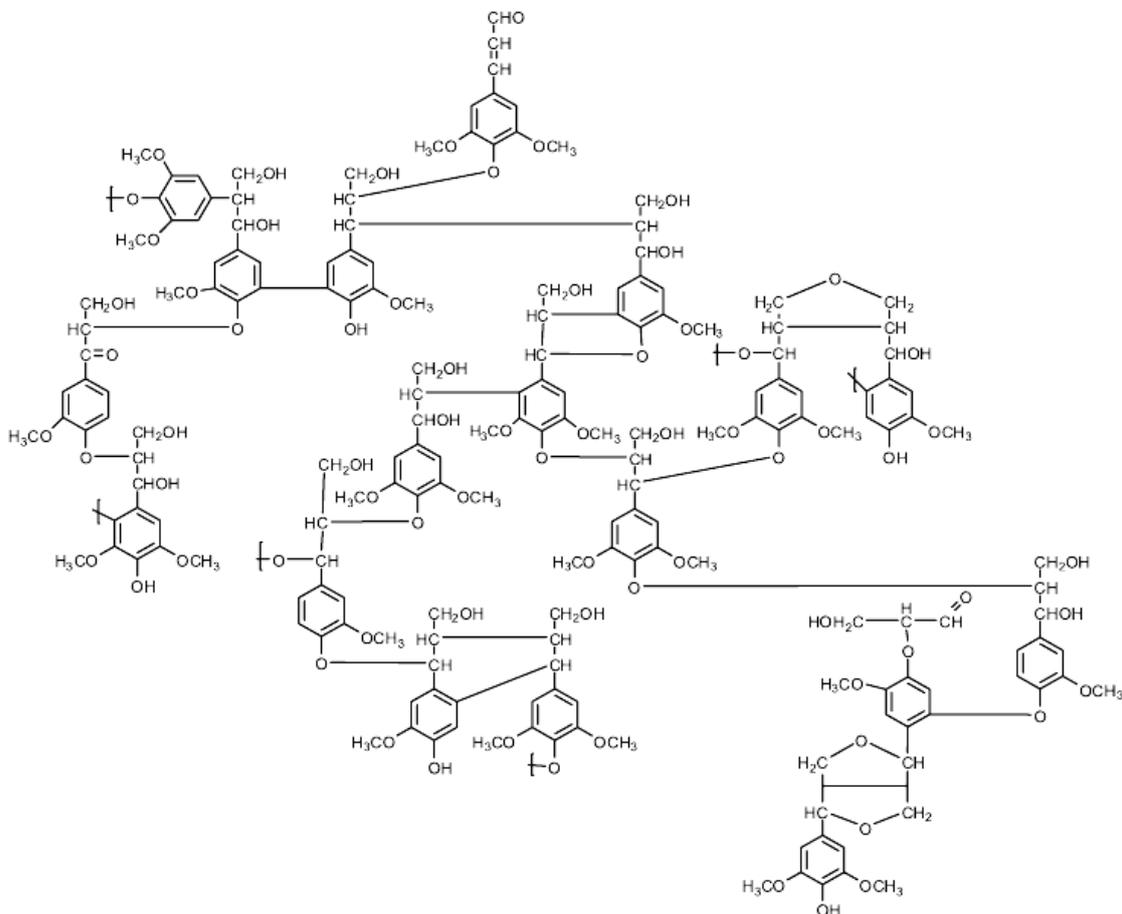


Figura 07. Representação esquemática da lignina de eucalipto (SANTOS et al., 2012)

Durante o desenvolvimento celular, a lignina é incorporada como último componente da parede celular, interpenetrando nas fibrilas e fortalecendo a parede (TENORIO, 2010) no processo de lignificação. A deposição de lignina proporciona à parede celular considerável resistência e rigidez. Essa lignificação, também, pode ser induzida por uma infecção ou ferida, para proteger os tecidos contra o ataque de patógenos (RAES et al., 2003). A lignina é indispensável em diversos processos biológicos como assegurar a existência de vias rápidas de circulação de água e minerais e conferir rigidez necessária à manutenção da verticalidade do caule principal a vários metros de altura, não apresentando mobilidade entre paredes celulares, o que torna compreensível à preservação desse material ao longo de milhares de anos sob a face da terra, em condições rigorosas de alteração ambiental (ABREU et al., 1999).

A composição da lignina varia entre as espécies, dentro da espécie e também na mesma planta, pois há variações de célula para célula de acordo com a localização da parede celular, conforme a fase de desenvolvimento e, ainda, com a influência de estresses ambientais (STUDART-GUIMARÃES et al., 2003). Sua arquitetura molecular difere entre os táxons, entre células e até mesmo dentro da parede celular, respondendo aos efeitos abióticos e bióticos (LARROQUE e PLANCHON, 1990; KITAYAMA et al., 2004). Ela ocorre na parede celular de plantas superiores em diferentes concentrações podendo variar de 25 a 35% em madeiras duras e de 18 a 25% em madeiras macias (BONONI, 1999; LARS, 2000).

### **3. OBJETIVOS**

#### **3.1 - Objetivo geral**

Caracterizar alguns aspectos morfológicos e fisiológicos de *Caesalpinia echinata* Lam. do morfotipo folha média nas fases juvenil, jovem e adulto da ontogenia em condições naturais em um fragmento da Floresta Atlântica.

#### **3.2 - Objetivos específicos**

- 1) Analisar aspectos biométricos como altura, diâmetro do caule, área foliar específica, massa foliar específica e teor de água nos foliólulos de indivíduos de *C. echinata* nas fases juvenil, jovem e adulto
- 2) Analisar características anatômicas dos foliólulos como espessura da folha, espessura dos tecidos epidérmicos, densidade estomática, espessura dos parênquimas e espessura da cutícula dos indivíduos de *C. echinata* nas diferentes fases ontogenéticas.
- 3) Analisar as características anatômicas do caule como espessura e tamanho das fibras e elementos de vasos do xilema dos indivíduos de *C. echinata* nas diferentes fases de desenvolvimento.
- 4) Determinar os teores de pigmentos cloroplastídicos e as razões clorofila *a/b* e clorofila total/carotenoides dos foliólulos dos indivíduos de *C. echinata* nas diferentes fases ontogenéticas.
- 5) Determinar os teores de celulose e lignina bem como possíveis alterações qualitativas das hemiceluloses do caule e foliólulos dos indivíduos de *C. echinata* da fase juvenil até a fase adulta.

## 4 - MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1 - Área de estudo e espécie

O fragmento florestal onde foi realizado o estudo está situado no município de Aracruz, distrito de Barra Riacho, na mesorregião Litoral Norte do Espírito Santo, nas coordenadas 19°40'30"S e 40°09'10"W (Figura 08). A área é propriedade da empresa Fibria e é identificada como AI do Limão (área de identificação utilizada pela proprietária da área de estudo).

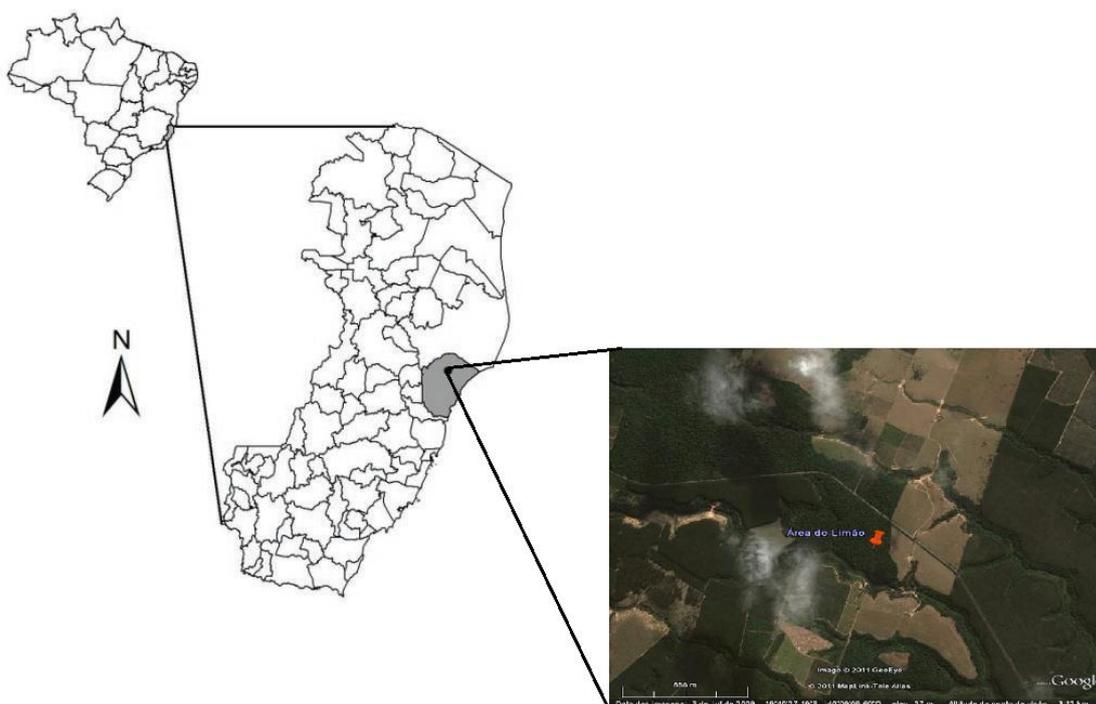


Figura 08. Localização do município de Aracruz em cinza e em destaque a área de estudo (ZANI et al., 2012; Google Eath).

O fragmento analisado possui aproximadamente 30 ha, com altitude variando entre 30 m e 45 m. A área já teve, na sua porção anterior, uma grande área destinada ao plantio de limão, mas hoje essa plantação deu lugar a uma pastagem (ZANI et al., 2012).

De acordo com a classificação de Köppen (KÖPPEN; GEIGER, 1928) o clima da região é tropical úmido (Aw), com estação chuvosa no verão e seca no inverno e a temperatura média anual é de 23°C (EMBRAPA, 2000).

A vegetação do fragmento pode ser classificada como Floresta Ombrófila Densa das Terras Baixas, mas também é conhecida como Florestas de Tabuleiros (ZANI et al., 2012).

A espécie estudada, *C. echinata*, ocorre naturalmente nesse fragmento florestal e atualmente encontra-se bem preservada e em vias de regeneração na área (ZANI et al., 2012).

#### 4.2 - Material vegetal

Foram utilizados foliólulos e segmentos do caule de indivíduos de *C. echinata*, do morfotipo folha média em três diferentes fases: juvenil, jovem e adulto (Tabela 01). Para cada fase foi demarcada uma população amostral de cinco indivíduos.

Tabela 01. Classificação dos indivíduos de *C. echinata* em diferentes fases ontogenéticas.

Estádios	Parâmetro de classificação	
	Altura	Ocorrência no estrato florestal
Juvenil	0,20 m a 1 m	Sub-bosque sombreado
Jovem	2 m a 3 m	Sub-bosque sombreado
Adulto	Acima de 5 m	Dossel

Em campo foram medidas a altura e, com auxílio de uma fita métrica, a circunferência à altura do peito (CAP) dos indivíduos jovens e adultos. Já para os indivíduos juvenis foram medidas a altura, com auxílio de uma fita métrica, e a circunferência do caule, com um paquímetro digital.

Foliólulos da região mediana da folha completamente expandida foram coletados com o auxílio de um podão aéreo e tesoura de poda. Fragmentos do caule dos indivíduos jovens e adultos foram coletados da região à altura do peito com auxílio de um trado manual. Já dos indivíduos juvenis essa operação foi realizada com o auxílio de tesoura de poda.

Amostras de foliólulos e fragmentos do caule coletadas em campo foram, parte congelados em nitrogênio líquido e parte armazenados em caixa térmica com gelo e ambos transportados para o Laboratório de Fisiologia Vegetal do

Departamento de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Espírito Santo onde foram armazenados em ultrafreezer (-80 °C).

### **4.3 - Análises químicas dos foliólulos**

Para as análises químicas foliares, foram utilizados 5 g de massa seca de foliólulos secados em estufa à 60°C até obtenção da massa constante e acondicionados em sacos plásticos devidamente identificados.

As amostras foram enviadas ao Laboratório de Análise Agronômica e Ambiental - Fullin S/A localizado no município de Linhares-ES onde foram analisadas de acordo com métodos analíticos para fins agronômicos pormenorizadamente descrito por Malavolta et al. (1997). Foi utilizado o método semi-micro-Kjeldahl para a quantificação de N, o método de colorimetria do metavanadato para a quantificação de P, o método de turbidimetria do sulfato de bário para a quantificação de S, a fotometria de chama de emissão para a quantificação de K (B462, Micronal, Brasil), o método de colorimetria da curcumina para quantificação de B e espectrofotometria de absorção atômica para a quantificação de Ca, Mg, Fe, Cu, Zn e Mn (Spectraa 55 B, Varian Inc., EUA).

### **4.4 - Medidas biométricas dos foliólulos**

Os foliólulos coletados em campo e armazenados em caixa térmica com gelo foram pesados para obtenção da massa fresca e levados para estufa a 60°C para secagem. Após a secagem, os foliólulos foram pesados novamente para obtenção da massa seca.

A medida da área foliar foi realizada com auxílio de um medidor de área foliar (Area Meter, LI-COR 3100). Com esses dados, foram calculados a massa foliar específica ( $MFE = MFF/AF$ ) segundo Hunt (1982) e o teor de água ou suculência da folha ( $Teor\ H_2O = MFF - MSF/AF$ ) de acordo com Parida et al. (2004). Sendo MFF = massa fresca do foliólulo; AF = área do foliólulo e MSF = massa seca do foliólulo.

#### 4.5 - Extração e quantificação de pigmentos cloroplastídicos

A avaliação de possíveis relações da ontogenia com o metabolismo fotossintético de *C. echinata* foi realizada por meio de dosagens dos pigmentos cloroplastídicos em foliólulos da região mediana da folha totalmente expandida segundo o protocolo de Hiscox e Israeltam (1979). Para isso, retirou-se quatro discos foliares de 0,45 cm de diâmetro na região mediana do foliólulo com o auxílio de um perfurador metálico de folha desprezando a nervura central.

Os discos foram imediatamente transferidos para tubos de ensaio com tampa contendo 7 mL de dimetil sulfóxido (DMSO) e incubados no escuro em banho-maria a 65 °C por 24 horas. Após esse período, o volume de DMSO foi completado para 10 ml nos tubos de ensaio para a realização das leituras das absorbâncias. As leituras foram feitas nos comprimentos de onda de 470, 645, 663 nm em espectrofotômetro Thermo Scientific GENESYS 10S UV-Vis Spectrophotometer, e calculados as concentrações dos pigmentos segundo Lichtenthaler e Welbum (1983) pelas seguintes fórmulas:

$$\text{Clorofila } a = [(12,7.A_{663}) - (2,69.A_{645})].V/(1000.MS) \text{ (mg.g}^{-1} \text{ MS)};$$

$$\text{Clorofila } b = [(22,9.A_{645}) - (4,68.A_{663})].V/(1000.MS) \text{ (mg.g}^{-1} \text{ MS)};$$

$$\text{Clorofila Total} = [(20,2.A_{663}) - (2,69.A_{645})].V/(1000.MS) \text{ (mg.g}^{-1} \text{ MS)}$$

$$\text{Carotenóides} = [(1000.A_{470}) - (1,82.\text{Chl } a - 85,02.\text{Chl } b)].V/(198.1000.MS) \text{ (mg.g}^{-1} \text{ MS)}.$$

Onde: Chl e Carot. significam clorofila e carotenoides, respectivamente.  $A_{470}$  = absorbância a 470 nm;  $A_{663}$  = absorbância a 663 nm;  $A_{645}$  = absorbância a 645 nm; V= volume da amostra (mL); MS = massa seca da amostra (g). Também foi calculada a razão clorofila *a/b* e razão clorofila total/carotenoides ( $\text{Chl}_{\text{Total}}/\text{Carot}$ ). Para a obtenção da massa seca, os discos foram secados em estufa a 70°C até obtenção de massa constante.

#### 4.6 - Análises anatômicas dos foliólulos

Os foliólulos coletados foram armazenados em álcool 70% (v/v). Amostras do terço mediano do limbo, nas regiões da nervura central foram cortadas e desidratadas em série etanólica crescente (70%, 90%, e 100%) e incluídas em

resina glicol-metacrilato (Leica Historesin®), segundo recomendações do fabricante. Após secagem da resina o material incluso foi colado em blocos de madeira com o auxílio de adesivo instantâneo. Foram feitas secções transversais de 10µm de espessura com o micrótomo rotativo Jung® e corados com Azul de Toluidina (O'BRIEN et al., 1964). A análise anatômica quantitativa foi realizada por meio de medições da espessura total do limbo, da cutícula, da epiderme de ambas as faces do foliólulo, e dos parênquimas paliádico e lacunoso.

Para a determinação da densidade estomática (mm<sup>2</sup>) foi feita a impressão da epiderme foliar abaxial em lâmina de vidro, com adesivo instantâneo.

As medições foram realizadas com auxílio do software analisador de imagens TSview. Os valores médios foram obtidos a partir de 25 medições/tratamento. As observações e a documentação fotográfica foram realizadas em fotomicroscópio (Nikon, Eclipse E200, Tóquio, Japão).

#### **4.7 - Análises anatômicas do caule**

Para as análises anatômicas do caule foram utilizados fragmentos do caule para a maceração do xilema. A maceração consiste em dissolver a lamela média para obtenção de células dissociadas. O método utilizado foi o de Franklin modificado por Kraus e Arduin (1997).

Com o auxílio de uma lâmina retirou-se a casca e utilizou-se somente o xilema. O xilema foi fragmentado formando tiras no sentido longitudinal do caule. Posteriormente os fragmentos foram colocados em tubos com tampa contendo 20 mL de solução de água oxigenada e ácido acético na proporção de 1:1 e levados a estufa a 60 °C por 3 dias para a dissociação completa. O material foi lavado em água comum e armazenado em geladeira com álcool 70%.

A partir do material macerado e corado com Safrablau foram feitas 25 medidas/tratamento do comprimento do elemento de vaso (CEV), diâmetro do lúmen do elemento de vaso (DEV), parede do elemento de vaso (PEV), comprimento da fibra (CFI) e diâmetro da fibra (DFI). As medições foram realizadas com auxílio do software analisador de imagens TSview. As

observações e a documentação fotográfica foram realizadas em fotomicroscópio (Nikon, Eclipse E200, Tóquio, Japão).

#### **4.8 - Determinação de celulose e lignina dos foliólulos**

Amostras de foliólulos congeladas em ultrafreezer (-80 °C) foram liofilizadas e, posteriormente, maceradas em nitrogênio líquido até a obtenção de um pó uniforme.

##### **4.8.1- Determinação de celulose dos foliólulos**

A determinação de celulose das amostras de foliólulos foi realizada segundo Brendel et al. (2000). Pesou-se 100 mg de amostras maceradas, em tubos de vidro com tampa. Adicionou-se 2 mL de ácido acético (80% v/v) e 200 µL de ácido nítrico concentrado (69% v/v). Os tubos foram fechados, as amostras misturadas com cuidado, e autoclavados por 25 minutos a 120 °C. Após esfriar, as amostras foram transferidas para tubos falcons de 15 mL, previamente pesados, e logo após adicionado 2,5 mL de etanol (99% v/v). As amostras foram misturadas com agitador do tipo vortex, centrifugadas (6000 rpm por 10 minutos) e o sobrenadante descartado cuidadosamente. Em seguida, as amostras foram lavadas sequencialmente da seguinte forma: (1) com 5 mL de etanol (99% v/v) para remover os produtos degradados na extração; (2) com 5 mL de H<sub>2</sub>O deionizada para remover os vestígios do ácido nítrico; (3) com 5 mL de NaOH (17% v/v) deixando em temperatura ambiente por 10 minutos; (4) com 5 mL de H<sub>2</sub>O deionizada; (5) com 2,2 mL de H<sub>2</sub>O deionizada e 600 µL de ácido acético, misturou, adicionou mais 2,2 mL de H<sub>2</sub>O deionizada para retirada de material não celulósico ainda persistente e (6) com 5 mL de H<sub>2</sub>O deionizada. Entre cada lavagem (1 a 6), as amostras foram sedimentadas por centrifugação (6000 rpm por 10 minutos) e o sobrenadante descartado. Por fim as amostras foram secadas em estufa e pesadas para determinação da porcentagem de celulose das amostras de foliólulos.

##### **4.8.2 - Determinação de lignina dos foliólulos**

A determinação de lignina da folha foi realizada segundo Dos Santos et al. (2008). Foi pesado 150 mg de amostra de folha em pó em tubos de vidro e

homogeneizado em 10 mL de tampão fosfato de sódio e potássio 50 mM pH 7. As amostras foram transferidas para tubos falcons de 15 mL e lavadas sequencialmente com centrifugação (6000 rpm por 10 minutos) e descarte do sobrenadante: três vezes com 7 mL de tampão fosfato; três vezes com 7 mL de TRITON X-100 (1% v/v) em tampão fosfato; duas vezes com 7 mL de NaCl 1M em tampão fosfato; duas vezes com 7 mL de água destilada; duas vezes com 7 mL de acetona.

Após os procedimentos citados o precipitado foi secado em estufa a 60 °C por 24 horas. Do precipitado seco obtido, pesou-se 50 mg em tubos de 15 mL, adicionou-se 1,2 mL de ácido tioglicólico e 6 mL de HCl 2M. Incubou-se a 95 °C por 4 horas. Após esse tempo as amostras foram centrifugadas por 15 minutos e lavadas três vezes com água destilada. Adicionou-se 7 mL de NaOH 0,5M e incubou a 30 °C por 18 horas sob agitação em agitador magnético. Depois as amostras foram centrifugadas e reservou-se o sobrenadante. O precipitado foi lavado com 3 mL de NaOH 0,5M e centrifugado. O sobrenadante resultante foi unido ao anterior, acidificado com 1,8 mL de HCl e acondicionado em 4 °C por 12 horas para precipitação. Após esse período, foi lavado duas vezes com água destilada (centrifugado e descartado o sobrenadante). O precipitado obtido foi secado a 60 °C por 24 horas e ressuspendido em 1 mL NaOH 0,5M.

A determinação do conteúdo de lignina foi realizada por espectrofotometria, sendo as leituras a 280 nm. Foi utilizada a solução de lignina padrão para criação da curva padrão.

#### **4.9 - Análise da celulose, lignina e dos monossacarídeos das hemiceluloses do caule**

As extrações dos componentes das hemiceluloses (fucose, ramnose, arabinose, galactose, glucose e xilose), lignina total, lignina solúvel e lignina insolúvel do caule foram realizadas seguindo referências normativas do Laboratório de Análises Químicas do Centro Tecnológico da empresa Fibria S/A localizada no município de Aracruz - ES onde o procedimento foi conduzido. A extração e quantificação da celulose foram realizadas no

Laboratório de Fisiologia Vegetal da Universidade Federal do Espírito Santo-UFES conforme metodologia descrita detalhadamente no item 3.9.1.

#### 4.9.1- Preparação de amostras livres de extrativos solúveis do caule

Os extrativos da madeira são compostos químicos e representam apenas uma pequena parte da madeira. São solúveis em constituintes menores, em água ou ainda em ambos.

As amostras foram secas em estufa a 50 °C, trituradas com o auxílio de tesoura e logo em seguida moídas em moinho de facas Ciclone Sample Mill© utilizando-se peneira de 1 mm. Foram pesados aproximadamente 3 g das amostras moídas em cartuchos de extração de 25 X 80 mm UNIFIL e acrescentados 60 mL de solvente (etanol/tolueno na proporção de 1:2). Os copos foram fixados no suporte da unidade de extração Soxtec™ com os cartuchos de extração na posição ebulição a 100 °C por 1,5 hora.

Após a extração os cartuchos de extração foram removidos e secados em estufa a 105 °C até peso constante.

#### 4.9.2- Determinação dos monossacarídeos das hemiceluloses do caule

A análise dos componentes das hemiceluloses (fucose, ramnose, arabinose, galactose, glucose e xilose) foi realizada segundo American Society for Testing and Materials (2001b). Foram pesados 100 mg da amostra livre de extrativos em balão volumétrico de 100 mL e em seguida foi determinado a consistência da amostra. Adicionou-se 2 mL de ácido sulfúrico 2N gota a gota à amostra com o balão volumétrico em banho-maria de água gelada para evitar o superaquecimento da mesma. Feito isso, a amostra foi levada à banho-maria por 1 hora à 30 °C e logo após diluída com 56 mL de água ultra-pura e levada à autoclave regulada em 1 atm de pressão por 1 hora. As amostras foram transferidas para um becker e homogeneizadas com ajuda de agitador magnético e durante a agitação foi adicionado uma solução de hidróxido de bário saturada até ajuste do pH 4. Centrifugou-se a amostra neutralizada por 10 minutos e transferiu-se o sobrenadante para um balão de 250 mL onde o volume foi completado com água ultra-pura.

As determinações de fucose, ramnose, arabinose, galactose, glucose e xilose foram realizadas em cromatógrafo de íons DX-600 DIONEX®, programado automaticamente utilizando o amostrador AS50. O eluente de arraste utilizado foi 60 mM de NaOH e o eluente de limpeza foi de 200 mM de NaOH, com fluxo de 1 mL.min<sup>-1</sup>, pressão no sistema de aproximadamente 1500 psi. A coluna utilizada foi a de troca aniônica Dionex® CarboPac PA1 (4 x 250 mm) com coluna-guarda CarboPac PA1(4 x 50mm) e o detector amperométrico associado ao eletrôdo de ouro foi ajustado de acordo com a metodologia descrita por Bragatto (2007). Foram utilizadas amostras concentradas para quantificação de açúcares de menor concentração e amostras diluídas (25 vezes) para quantificação de açúcares de maior concentração, assegurando assim que a amostra encontrava-se dentro da curva de calibração.

As curvas de concentração para cada carboidrato foram construídas de acordo com o perfil cromatográfico das amostras com os referidos padrões de fucose, galactose e xilose da Sigma® e ramnose, arabinose, galactose e glucose da Fluka®.

#### 4.9.3 - Determinação de lignina do caule

A análise dos teores de lignina foi realizada segundo American society for Testing and Materials (2001a) e Technical Association of the Pulp and Paper Industry (1998). Pesou-se 1 g de amostra livre de extrativos em um becker com 2 repetições e em paralelo foi determinado a consistência da amostra. Adicionou-se aos beckers 15 mL de ácido sulfúrico 2 N, macerou-se o material com um bastão de vidro seguido de em banho-maria a 20 °C sob agitação frequente para completa impregnação. O material do becker foi transferido para frasco e lavado com água destilada quente completando o volume para 575 mL. A solução foi fervida por 4 horas em capela, mantendo constante o volume com frequente adição de água destilada quente. Terminado o tempo de ebulição, o material foi esfriado e deixado precipitar a lignina insolúvel por 12 horas. Com o peso do precipitado foi determinada a porcentagem da lignina insolúvel através da fórmula:

$$\% \text{ lignina} = (A/W) \times 100$$

Onde: A= peso de lignina em gramas e W= peso seco da amostra em gramas

Após esse tempo, sem ter agitado o precipitado, a solução sobrenadante foi sifonada através de um cadinho filtrante com porosidade média previamente tarado. Do filtrado foi retirado uma parte para determinação da lignina solúvel em ácido.

A lignina foi lavada com água quente até ficar livre de ácido verificando a medida do pH com papel indicador até o momento que o filtrado ficou com o mesmo valor de pH da água da lavagem. O cadinho filtrante foi secado em estufa a 105 °C até obtenção da massa constante, resfriado em dessecador e pesado para obtenção da lignina insolúvel.

Com a solução sobrenadante foi realizado a leitura em espectrofotômetro a 206 e 246 nm. Com os dados das absorbâncias foram calculados as concentrações de lignina solúvel através da fórmula:

$$C1 = [(3,595 \times A_{206}) - A_{256}] / 339,5$$

Onde: C1= concentração de lignina,  $A_{206}$ =absorbância a 206nm,  $A_{246}$ =absorbância a 256nm. Com o cálculo da concentração de lignina solúvel foi possível determinar a porcentagem de lignina através da seguinte fórmula:

$$\% \text{ lignina solúvel } [(C1 \times \text{diluição}) / \text{peso seco da amostra}] \times 100$$

O fator de diluição utilizado foi de 25%=2,30. Após o cálculo da porcentagem de lignina solúvel e insolúvel foi determinado o a porcentagem total de lignina através da fórmula:

$$\text{Lignina total} = \text{lignina solúvel} + \text{lignina insolúvel}$$

#### **4.10 - Análises estatísticas e delineamento experimental**

O delineamento experimental adotado foi inteiramente casualizado. Para todos os dados foram feitas análises de variância ANOVA seguida do teste de Tukey em nível de 5% de probabilidade pelo Programa Assistat 7.5 beta (2008), UAEG-CTRN-UFCG, Campina Grande – PB e a organização, normalização e tabulação dos dados, executados pelo programa Microsoft Office Excel (2007).

## 5 - Resultados e Discussão

### 5.1 - Nutrientes dos foliólulos

Diferenças significativas nas concentrações dos macronutrientes ocorreram somente para o P, K e Ca (Tabela 02). Enquanto o P aumentou com o avanço das fases ontogenéticas alcançando maior valor nos indivíduos adultos, o inverso foi observado para o K e Ca sem diferença significativa na concentração do K entre indivíduos juvenis e jovens.

Tabela 02 - Concentrações de macronutrientes nos foliólulos de indivíduos de *C. echinata* em diferentes fases ontogenéticas. Valores dados em peso do nutriente/peso de massa seca de foliólulos (g/Kg).  $\pm$  erro padrão da média.

Nutrientes (g/Kg)	Fases Ontogenéticas		
	Juvenil	Jovem	Adulto
N	22,820 <sup>a</sup> $\pm$ 0,431	21,052 <sup>a</sup> $\pm$ 1,112	21,938 <sup>a</sup> $\pm$ 0,631
P	0,802 <sup>b</sup> $\pm$ 0,072	0,966 <sup>ab</sup> $\pm$ 0,128	1,202 <sup>a</sup> $\pm$ 0,064
K	11,752 <sup>a</sup> $\pm$ 0,459	12,502 <sup>a</sup> $\pm$ 1,234	8,130 <sup>b</sup> $\pm$ 0,884
Ca	7,541 <sup>a</sup> $\pm$ 1,167	4,55 <sup>ab</sup> $\pm$ 0,727	3,918 <sup>b</sup> $\pm$ 0,152
Mg	1,788 <sup>a</sup> $\pm$ 0,197	1,704 <sup>a</sup> $\pm$ 0,242	1,176 <sup>a</sup> $\pm$ 0,066
S	3,618 <sup>a</sup> $\pm$ 0,298	3,520 <sup>a</sup> $\pm$ 0,128	2,816 <sup>a</sup> $\pm$ 0,231

Médias seguidas da mesma letra na linha não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey a 5% (n=5).

A concentração dos macronutrientes seguiu a ordem decrescente: N > K > Ca > S > Mg > P para os indivíduos juvenis e jovens, e N > K > Ca > S > P > Mg para os indivíduos adultos. Estas relações demonstraram a maior proporção de P e menor de Mg nos indivíduos adultos em relação aos indivíduos juvenis e jovens.

Os nutrientes nas folhas estão diretamente relacionados com o desenvolvimento e produção da planta (SILVEIRA et al., 2004). Assim, a absorção dos nutrientes pode ser mais elevada no período em que as plantas encontram-se no estágio juvenil, o qual corresponde ao período de maior produtividade do indivíduo (PINTO, 2007). Logo, observa-se uma diminuição na concentração de K e Ca à medida que *C. echinata* avança do estágio juvenil para o adulto. Esse resultado não era esperado uma vez que esses elementos estão intimamente relacionados com mecanismos de osmoregulação mais

intensos nas folhas dos indivíduos adultos expostas ao pleno sol onde a turgescência foliar foi maior, indicando uma característica interespecífica. As maiores concentrações de P nos indivíduos adultos sugere maior necessidade de moléculas rica em energia como o ATP para síntese de componentes de parede celular como a lignina mais representativa em indivíduos adultos.

Entre os micronutrientes, o B foi único elemento que apresentou diferença significativa com maior concentração nos foliólulos dos indivíduos adultos sem diferença entre os indivíduos e sem diferença significativa entre os indivíduos juvenis e jovens (Tabela 03).

Tabela 03 - Concentrações de micronutrientes nos foliólulos de indivíduos de *C. echinata* em diferentes fases ontogenéticas. Valores dados em peso do nutriente/peso de massa seca de foliólulos (mg/Kg).  $\pm$  erro padrão da média.

Nutrientes (mg/Kg)	Fases ontogenéticas		
	Juvenil	Jovem	Adulto
Fe	103,00 <sup>a</sup> $\pm$ 7,021	107,200 <sup>a</sup> $\pm$ 9,297	90,400 <sup>a</sup> $\pm$ 3,311
Zn	19,600 <sup>a</sup> $\pm$ 1,327	23,400 <sup>a</sup> $\pm$ 1,860	16,000 <sup>a</sup> $\pm$ 3,194
Cu	8,400 <sup>a</sup> $\pm$ 0,748	8,600 <sup>a</sup> $\pm$ 1,400	8,800 <sup>a</sup> $\pm$ 2,354
Mn	89,000 <sup>a</sup> $\pm$ 14,963	74,400 <sup>a</sup> $\pm$ 10,633	52,800 <sup>a</sup> $\pm$ 2,782
B	29,600 <sup>ab</sup> $\pm$ 2,421	39,400 <sup>a</sup> $\pm$ 5,997	20,600 <sup>b</sup> $\pm$ 0,812

Médias seguidas da mesma letra na linha não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey a 5% (n=5).

O B é importante na formação da parede celular, mais especificamente na síntese de seus componentes como pectina, celulose e lignina (MORAES, 2002). A maior concentração de B observado nos indivíduos jovens pode estar relacionado tanto a intensa atividade da uridina difosfato (UDP) formando celulose e pectinas quanto a formação de complexos de boratos com certos fenóis, regulando a taxa de fenóis livres e aumentando os precursores da síntese de lignina.

## 5.2 - Medidas biométricas

Os indivíduos juvenis de *C. echinata* apresentaram altura média de 0,56 m e 7,05 cm de diâmetro do caule, já os indivíduos jovens apresentaram altura média de 4,20 m e 13,10 cm de diâmetro do caule e os indivíduos adultos apresentaram altura média de 9,04 m e 55,30 cm de diâmetro do caule (Tabela

04). Sabe-se que *C. echinata* é uma espécie arbórea que pode atingir até 30 m de altura e 1 m de diâmetro, sendo capaz de se regenerar no sub-bosque das florestas tropicais (SANCHES, 2009). Os indivíduos juvenis apresentaram os maiores valores de área foliar específica (AFE), enquanto que os indivíduos adultos apresentaram os maiores valores de teor de água e massa foliar específica (MFE) (Tabela 04).

Tabela 04 - Medidas de altura (m), diâmetro do caule (cm), teor de água foliar (mg H<sub>2</sub>O cm<sup>-2</sup>), área foliar específica (AFE) (cm<sup>2</sup>) e massa foliar específica (MFE) (mg MF cm<sup>-2</sup>) de indivíduos de *C. echinata* em diferentes fases ontogenéticas. ± erro padrão da média.

Medidas	Fases ontogenéticas		
	Juvenil	Jovem	Adulto
Altura	0,560 <sup>b</sup> ± 0,109	4,200 <sup>b</sup> ± 0,406	9,040 <sup>a</sup> ± 1,631
Diâmetro caule	7,050 <sup>b</sup> ± 1,023	13,100 <sup>b</sup> ± 0,640	55,300 <sup>a</sup> ± 8,635
Teor H <sub>2</sub> O	0,010 <sup>b</sup> ± 0,003	0,011 <sup>b</sup> ± 0,001	0,017 <sup>a</sup> ± 0,002
AFE	67,190 <sup>a</sup> ± 11,515	58,750 <sup>ab</sup> ± 5,848	36,995 <sup>b</sup> ± 1,093
MFE	0,016 <sup>b</sup> ± 0,001	0,017 <sup>b</sup> ± 0,001	0,023 <sup>a</sup> ± 0,001

Médias seguidas da mesma letra na linha não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey a 5% (n=5).

Os indivíduos juvenis e jovens de *C. echinata* estavam localizados respectivamente, no estrato inferior e no sub-bosque sombreado do fragmento florestal, enquanto que as copas dos indivíduos adultos, que alcançavam o dossel, estavam expostas ao pleno sol. Assim, as condições microclimáticas distintas do estrato florestal influenciaram várias características morfológicas analisadas.

Os maiores valores de MFE observados nos foliólulos dos indivíduos adultos também encontrados em outras espécies arbóreas em dosséis de florestas tropicais (RIJKERS et al., 2000; THOMAS e WINNER, 2002; SANTIAGO et al., 2004, SANCHES et al, 2009; HOUTER e PONS, 2012) demonstram a elevada capacidade de *C. echinata* em se adaptar ao gradiente de irradiância (BOEGER e WISNIEWSKI, 2003) indicando elevado grau de esclerofilia dos indivíduos dessa população como parte de suas estratégias adaptativas (LIMA et al., 2008; MENGARDA et al., 2009; KWAK et al., 2011; PORTELA, 2012; GAMA, 2013). Essa adaptação eleva a resistência à perda de água por

transpiração e controle de foto-danos (MENDES et al., 2001; DUZ et al., 2004; PORTELA, 2012) sem comprometer a atividade fotossintética (NAKAZONO et al., 2001) e minimiza os efeitos do aquecimento (FINI et al., 2010).

Assim, além da alta densidade de fluxo de fótons, outros fatores ambientais como temperaturas elevadas e maiores déficits de pressão de vapor d'água podem intervir nas características morfofisiológicas foliares (LÜTTGE, 1997).

Além das variáveis atmosféricas, cabe ressaltar que *C. echinata* ocorre preferencialmente na parte baixa da floresta, sujeita à seca sazonal sugerindo o envolvimento das relações hídricas nos ajustes fisiológicos (SANCHES, 2004).

Os foliólulos de indivíduos juvenis e jovens expostos a baixas densidades de fluxo de fótons mostraram maior AFE em relação aos indivíduos adultos, característica essa que pode contribuir para o aumento da absorção de luz em um ambiente onde esse recurso é limitante (POORTER e NAGEL, 2000).

Embora as variáveis ambientais tenham grande influência na morfologia foliar, não podemos descartar o controle endógeno das mudanças ontogenéticas (ISHIDA et al., 2005). Alguns estudos têm demonstrado que folhas de indivíduos adultos apresentam maior MFE independente do regime de luminosidade (RIJKERS et al., 2000; THOMAS e WINNER, 2002).

### **5.3 - Pigmentos cloroplastídicos**

Os teores de pigmentos cloroplastídicos dos indivíduos de *C. echinata* apresentaram diferenças entre as fases ontogenéticas (Tabela 05). Os indivíduos juvenis apresentaram os maiores valores de Chl *a*, de Chl<sub>Total</sub> e de Carot.

Tabela 05 - Concentrações de pigmentos cloroplastídicos de indivíduos de *C. echinata* em diferentes fases ontogenéticas. Clorofila *a* (Chl *a*); clorofila *b* (Chl *b*); clorofila total (Chl<sub>Total</sub>); carotenoides (Carot) ambos em mg.g MS<sup>-1</sup>; relação entre clorofila *a* e clorofila *b* (Chl *a/b*) e relação entre clorofila total e carotenóide (Chl<sub>Total</sub>/Carot). ± erro padrão da média.

Pigmentos	Fases ontogenéticas		
	Juvenil	Jovem	Adulto
Chl <i>a</i> (mg.g MS <sup>-1</sup> )	16,192 <sup>a</sup> ± 1,111	10,635 <sup>b</sup> ± 1,235	7,522 <sup>b</sup> ± 1,264
Chl <i>b</i> (mg.g MS <sup>-1</sup> )	12,537 <sup>a</sup> ± 1,664	6,915 <sup>a</sup> ± 0,718	8,053 <sup>a</sup> ± 2,362
Chl <sub>Total</sub> (mg.g MS <sup>-1</sup> )	27,096 <sup>a</sup> ± 1,917	17,702 <sup>b</sup> ± 2,026	12,740 <sup>b</sup> ± 2,195
Carot (mg.g MS <sup>-1</sup> )	27,519 <sup>a</sup> ± 4,560	12,805 <sup>b</sup> ± 1,156	10,237 <sup>b</sup> ± 2,436
Chl <i>a/b</i>	1,343 <sup>a</sup> ± 0,102	1,564 <sup>a</sup> ± 0,147	1,112 <sup>a</sup> ± 0,202
Chl <sub>Total</sub> /Carot	0,984 <sup>a</sup> ± 0,109	1,382 <sup>a</sup> ± 0,079	1,245 <sup>a</sup> ± 0,140

Médias seguidas da mesma letra na linha não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey a 5% (n=5).

De acordo com Laisk et al. (2005), as plantas quando alcançam o dossel onde a irradiância é elevada, investem menos em complexos coletores de luz, isso porque em alta irradiância, as folhas absorvem mais energia radiante que a capacidade de processamento do aparato fotossintético, e o excesso de energia pode levar a fotoinibição da fotossíntese. Assim, a diminuição da antena coletora de luz, ou seja, a redução dos teores de clorofila pode ser interpretada como mecanismo eficiente para reduzir o aporte de energia para os fotossistemas (MAGALHÃES et al., 2009) e controlar a fotoinibição (FERMINO-JR, 2004). Em presença de luz, a clorofila é constantemente sintetizada e degradada, mas sob alta irradiância a taxa de degradação é maior e, assim, um ajuste fisiológico é estabelecido com a baixa concentração de clorofila (TAN et al., 2000).

Tanto a concentração total de clorofila, quanto à proporção entre a Chl *a* e Chl *b* mudam em função da intensidade luminosa (RIBASKI e MARTINS, 2001). A Chl *b* e os Carot são considerados pigmentos acessórios do processo fotossintético, pois, embora não estejam relacionados à captura da energia luminosa nos centros de reação (papel desenvolvido pela Chl *a*), promovem fotoproteção do sistema (MARENCO e LOPES, 2009). Almeida et al. (2004) e Fermino-Jr (2004) relataram maior teor de clorofila em folhas sombreadas (sub-

bosque) e verificaram que folhas expostas ao sol (dossel) apresentaram redução da razão clorofila *a/b* como observado no presente estudo.

A Chl *b* em quantidades relativamente maiores nas plantas do sub-bosque é justificada pelas suas características de absorção, cujos picos máximos em 453 e 643 nm aproximam-se mais da região do verde comparados com a Chl *a* que absorve na faixa de 430 e 660 nm (GONÇALVES et al., 2001).

O teor de Carot também foi maior nas plantas do sub-bosque, pois no sombreamento, a concentração de Carot pode aumentar otimizando a absorção de luz na faixa do azul (400-500 nm) e transferência da energia luminosa para os centros de reação na tentativa de melhorar o desempenho fotossintético (Lichtenthaler et al. 2007, Lima et al. 2010).

#### **5.4 - Análises anatômicas do foliólulo e do caule**

Os foliólulos de *C. echinata* de indivíduos adultos apresentam maior espessura total do limbo, cutícula, parênquima lacunoso e relação parênquima lacunoso/parênquima paliçádico (Tabela 06). De acordo com Boeger et al. (2006), a alteração da espessura do mesofilo está diretamente relacionada à espessura dos parênquimas e, no caso de *C. echinata*, o maior espessamento do limbo dos indivíduos adultos é devido, principalmente, ao alongamento do parênquima lacunoso devido a entrada de moléculas de água indicada pelo maior teor de água (Tabela 4) em resposta à possível aumento na concentração de moléculas osmorreguladoras como os carboidratos solúveis já observado em folhas de *C. echinata* quando expostas ao pleno sol (MENGARDA et al. 2012).

Tabela 06 - Dados anatômicos quantitativos de indivíduos de *C. echinata* em diferentes fases ontogenéticas. Espessuras do limbo, cutícula, epiderme adaxial e abaxial, parênquimas paliçádico e lacunoso todos em  $\mu\text{m}$ . Densidade estomática em  $\text{mm}^2$  e razão entre as espessuras dos parênquimas lacunoso e paliçádico (PL/PP).

Dados anatômicos	Fases ontogenéticas		
	Juvenil	Jovem	Adulto
Limbo ( $\mu\text{m}$ )	171,922 <sup>c</sup> $\pm$ 5,221	211,270 <sup>b</sup> $\pm$ 8,985	241,450 <sup>a</sup> $\pm$ 8,889
Cutícula ( $\mu\text{m}$ )	9,930 <sup>b</sup> $\pm$ 0,332	12,650 <sup>ab</sup> $\pm$ 1,552	15,820 <sup>a</sup> $\pm$ 0,308
Epiderme adaxial ( $\mu\text{m}$ )	21,710 <sup>a</sup> $\pm$ 1,181	20,870 <sup>a</sup> $\pm$ 1,190	22,430 <sup>a</sup> $\pm$ 1,421
Parênquima paliçádico ( $\mu\text{m}$ )	36,900 <sup>a</sup> $\pm$ 1,257	41,580 <sup>a</sup> $\pm$ 2,078	41,920 <sup>a</sup> $\pm$ 2,095
Parênquima lacunoso ( $\mu\text{m}$ )	101,500 <sup>b</sup> $\pm$ 6,553	137,270 <sup>a</sup> $\pm$ 8,141	154,880 <sup>a</sup> $\pm$ 7,491
Epiderme abaxial ( $\mu\text{m}$ )	13,050 <sup>a</sup> $\pm$ 0,607	13,660 <sup>a</sup> $\pm$ 0,246	15,080 <sup>a</sup> $\pm$ 0,728
Densidade estomática ( $\text{mm}^2$ )	39,200 <sup>b</sup> $\pm$ 1,772	54,000 <sup>a</sup> $\pm$ 2,302	60,000 <sup>a</sup> $\pm$ 2,168
PL/PP	2,756 <sup>b</sup> $\pm$ 0,254	3,304 <sup>ab</sup> $\pm$ 0,220	3,650 <sup>a</sup> $\pm$ 0,146

Médias seguidas da mesma letra na linha não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey a 5% (n=25).

Foi observada maior espessura do limbo nas plantas adultas, possivelmente devido ao maior conteúdo de água (Tabela 04 e Figura 09), especialmente no parênquima lacunoso que foi mais espesso nesses indivíduos. Essas alterações na estrutura interna da folha sugerem melhor desempenho no processo de captura de luz através da lamina foliar (MENDES et al., 2007).

Nos foliólulos de *C. echinata* a razão entre parênquima lacunoso e parênquima paliçádico (PL/PP) foi maior nas plantas adultas expostas à alta irradiância indicando uma resposta fisiológica adaptativa dos indivíduos adultos em reduzir a chegada de luz aos cloroplastos, evitando danos pelo excesso de luz (BOEGER et al., 2009).

Variações na espessura dos tecidos foliares são amplamente relatadas na literatura (PAIVA et al., 2003; LIMA JR et al., 2006; CRAVEN et al., 2010;

SABBI et al., 2010; SILVA et al., 2010; MARCH e CLARK, 2011) e são associadas a mudanças estruturais para a manutenção do processo fotossintético e maior eficiência no uso da água, uma vez que aumentam as taxas fotossintéticas por unidade de área foliar (ROSSATO e KOLBI, 2010).

A espessura da cutícula nos indivíduos adultos, também foi maior em relação às plantas juvenis. De acordo com Gurevitch et al. (2009), o espessamento da cutícula é uma resposta observada em plantas submetidas à condição de elevada irradiância, pois aumenta a resistência cuticular à transpiração, evitando a perda de água mesmo quando os estômatos estão fechados, e também auxilia na reflexão de parte da luz que incide sobre as folhas. Assim, o aumento na espessura da cutícula pode desempenhar importante papel na manutenção dos níveis ótimos de temperatura foliar, mantendo a efetividade dos processos fotossintéticos em elevada irradiância (DICKISON, 2000). Isso também foi observado no trabalho de Cao (2000) que, comparando a anatomia foliar de doze arbóreas tropicais em diferentes condições de luminosidade, verificou maior espessura da cutícula nas plantas exposta a elevada irradiância.

A densidade estomática foi maior nos indivíduos adultos expostos a alta irradiância (Tabela 06 e Figura 09). Este resultado também foi verificado em espécies de diversas fitofisionomias da Mata Atlântica como o cerrado (MARQUES et al., 2000), Floresta Ombrófila Densa (SANTIAGO et al., 2001), restinga (FERMINO-JR., 2004), Floresta Ombrófila Mista e Alto Montana (BOEGER et al., 2006) sob diferentes regimes de irradiância. Duz et al. (2004) também constataram que o aumento da intensidade da irradiância eleva o número de estômatos por área em arbóreas da Floresta Ombrófila Densa. Gurevitch et al. (2009) ressaltam que, geralmente, associado à maior densidade estomática, as plantas podem apresentar redução da área da fenda estomática. A condição de maior irradiância geralmente é associada à menor umidade relativa do ar e, nesta condição, menor área de abertura da fenda e a maior densidade de estômatos permitem que, quando abertos, haja a formação de uma camada de vapor de água envolvendo a epiderme foliar, aumentando a resistência da folha à perda de água e, ainda, reduzindo a difusão do CO<sub>2</sub> nas

células fotossintetizantes, maximizando o ganho de carbono (MARQUES et al., 2000; MENDES et al., 2001; GUREVITCH et al., 2009). Foi possível observar também uma relação inversa entre a densidade estomática e o tamanho das células guardas entre os indivíduos de *C. echinata*. Nos indivíduos juvenis, que apresentaram as menores densidades estomáticas, foi possível observar células guardas maiores (Figura 09D) possivelmente associado à maior concentração de K e Ca que funcionam como osmorreguladores facilitando a entrada de água na célula guarda no processo de abertura dos estômatos. A densidade estomática pode, também, estar ligada ao grau de esclerofilia de uma planta, sendo que células guardas menores e maiores densidades estomáticas geralmente estão associadas às folhas expostas a alta irradiância (BOERGER e WISNIEWSKI, 2003).

Além disso, Dickison (2000) e Fermino-Jr (2004) afirmam que espécies com folhas hipoestomáticas como *C. echinata* podem ter vantagens na ocupação de diferentes ambientes, pois este padrão estomático pode minimizar a perda de água para a atmosfera, permitindo que essa espécie ocupe ambientes de maior temperatura e incidência luminosa.

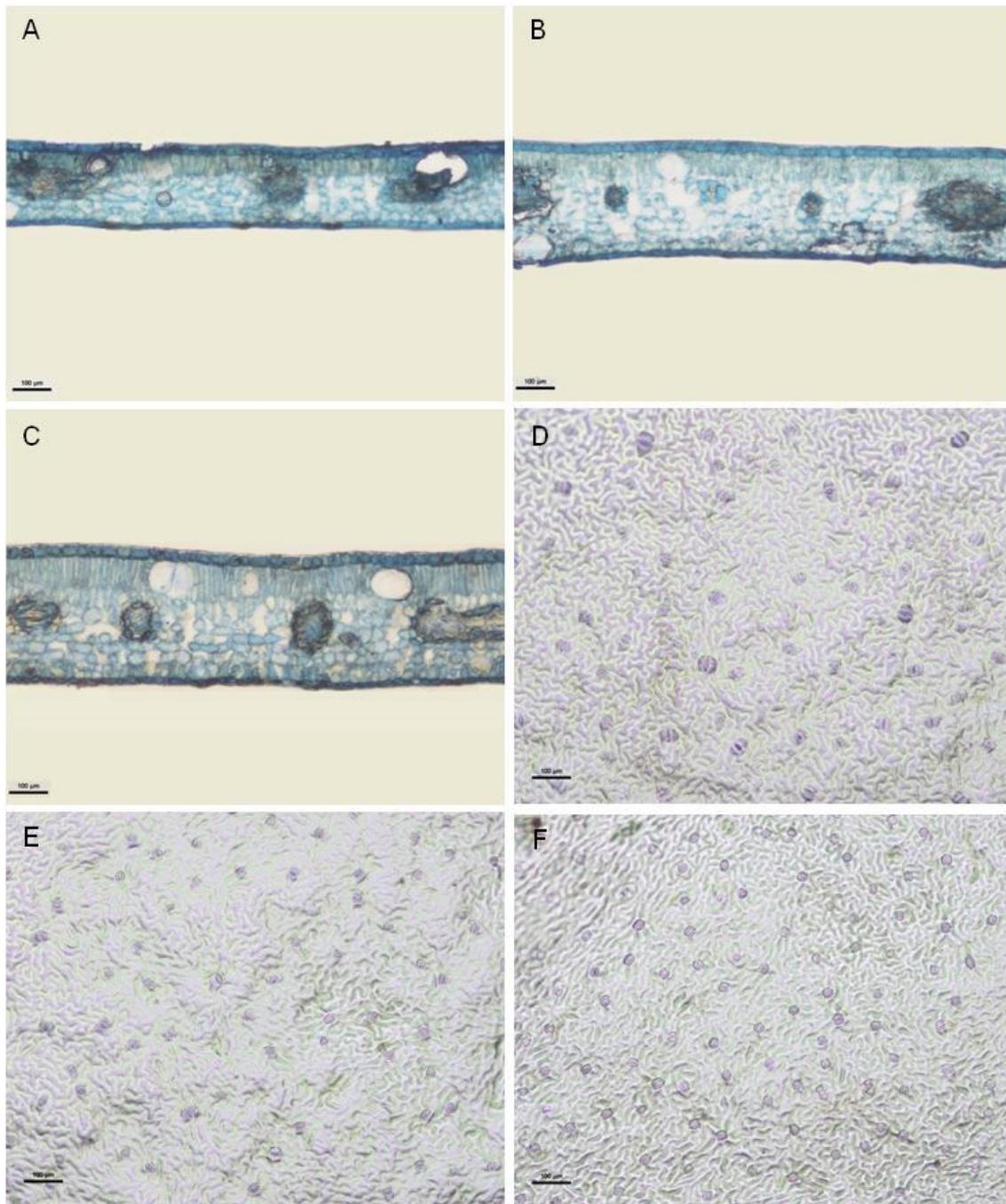


Figura 09 - Secções transversais do limbo e impressão epidérmica mostrando a relação inversa entre densidade estomática e o tamanho das células guardas nos indivíduos de *C. echinata* em diferentes fases ontogenéticas. A - Corte transversal do limbo mediano de foliólulos de indivíduos juvenis. B - Jovens. C - Adultos. D - Densidade estomática da epiderme da face abaxial de foliólulos de indivíduos juvenis. B - Jovens. C - Adultos. As barras horizontais são equivalentes 100 µm.

Com relação aos elementos de vasos do xilema foi possível observar diferenças significativas em todas as medidas. O comprimento do elemento de vaso (CEV), o diâmetro do elemento de vaso (DEV), o diâmetro do lúmen do elemento de vaso (DLEV) e a espessura da parede do elemento de vaso (PEV) aumentaram com o avanço das fases ontogenéticas (Tabela 07).

Com relação às fibras do xilema foi possível observar diferenças significativas apenas entre os valores do comprimento das fibras (CFI) que foi maior nos indivíduos jovens e adultos (Tabela 07). O diâmetro da fibra (DFI) não variou entre as fases ontogenéticas.

Tabela 07 - Características quantitativas da madeira de indivíduos de *C. echinata* de diferentes fases ontogenéticas. Comprimento do elemento de vaso (CEV), diâmetro do elemento de vaso (DEV), diâmetro do lúmen do elemento de vaso (DLEV), espessura da parede do elemento de vaso (PEV), comprimento da fibra (CFI) e diâmetro da fibra (DFI) do xilema.  $\pm$  erro padrão da média.

Medidas	Fases ontogenéticas		
	Juvenil	Jovem	Adulto
CEV	142,627 <sup>b</sup> $\pm$ 9,014	191,620 <sup>a</sup> $\pm$ 5,910	206,027 <sup>a</sup> $\pm$ 0,970
DEV	36,830 <sup>c</sup> $\pm$ 3,718	48,576 <sup>b</sup> $\pm$ 1,619	74,260 <sup>a</sup> $\pm$ 2,040
DLEV	31,071 <sup>b</sup> $\pm$ 3,914	39,426 <sup>b</sup> $\pm$ 1,262	62,737 <sup>a</sup> $\pm$ 1,792
PEV	5,655 <sup>c</sup> $\pm$ 0,328	9,208 <sup>b</sup> $\pm$ 0,361	11,632 <sup>a</sup> $\pm$ 0,479
CFI	242,663 <sup>b</sup> $\pm$ 16,797	309,692 <sup>a</sup> $\pm$ 12,550	281,179 <sup>a</sup> $\pm$ 15,974
DFI	4,492 <sup>a</sup> $\pm$ 0,271	4,790 <sup>a</sup> $\pm$ 0,131	4,573 <sup>a</sup> $\pm$ 0,225

Médias seguidas da mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey a 5% (n=25).

O aumento do CEV, DEV, DLEV, PEV da fase juvenil até a maturidade está associado à maior capacidade de síntese e incorporação de biomassa na fase adulta de *C. echinata* e, é influenciado tanto por fatores genéticos, edáficos e climáticos (JACOBSEN et al., 2005). Dessa forma, a maior espessura da PEV nos indivíduos adultos é uma estratégia associada à condução da seiva, pois garante maior resistência mecânica (CARLQUIST, 2001; HACKE et al., 2001; JACOBSEN et al., 2005) dos indivíduos adultos que requerem maior aporte de água e nutrientes para construção da arquitetura vegetal. Como o CFI é diretamente influenciado pelas divisões longitudinais e tangenciais no câmbio

que pode se controlado pela ontogenia (SILVA et al., 2007) as células cambiais passam a produzir elementos com maiores dimensões até atingir a sua estabilização em idades mais avançadas (ESTEBAN et al., 2003).

### **5.5 - Monossacarídeos estruturais do caule**

No caule foram observadas diferenças significativas apenas entre os monossacarídeos menos representativos como a fucose, ramnose, arabinose e galactose com maiores valores nos indivíduos juvenis. Já os monossacarídeos em maiores proporções como a xilose e glucose não variaram entre as diferentes fases ontogenéticas (Figura 10).

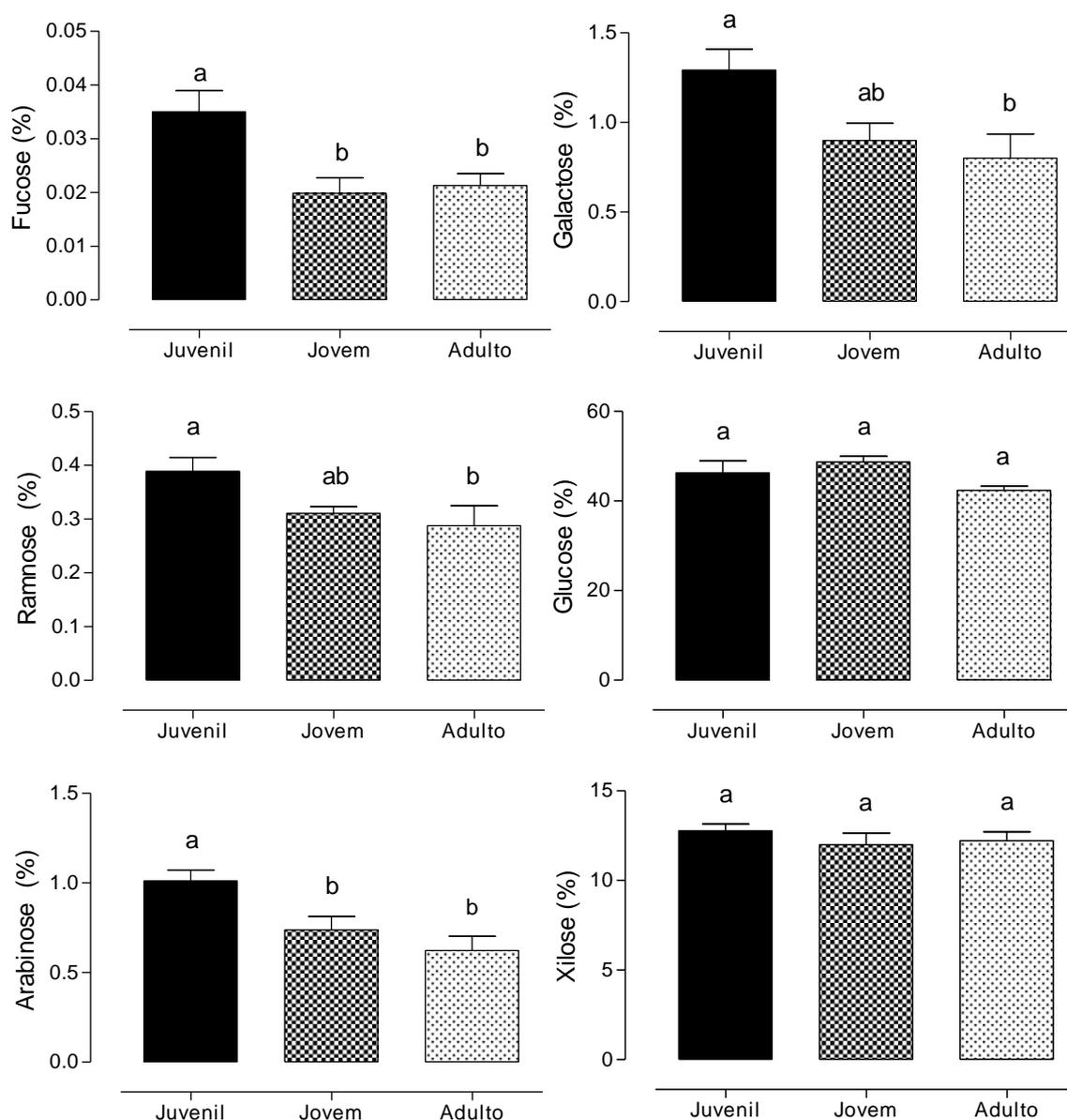


Figura 10: Composição de monossacarídeos estruturais da parede celular do caule de indivíduos de *C. echinata* em diferentes fases ontogenéticas. Valores dados em % do total de massa seca utilizada no início da extração (100 mg). Barras seguidas da mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey a 5% (n=5).

A maior representatividade de xilose ( $\pm 14\%$  MS), galactose ( $\pm 1\%$  MS) e arabinose ( $\pm 1\%$  MS) depois da glicose ( $\pm 40\%$  MS), indica que o xilano e xiloglucano sejam as frações mais representativas de domínio das hemiceluloses. A definição de qual a hemicelulose seja mais abundante depende de uma análise por metilação ou métodos enzimáticos. A presença de ramnose e arabinose pode ser constituinte das pectinas. Sabe-se que os xilanos são responsáveis por 1/3 de todo carbono orgânico renovável disponível na terra (PETZOLD, et al., 2006) e perfazem cerca 15-30% do

conteúdo da parede celular de angiospermas localizando-se na parede celular secundária (LI et al., 2000; BRÜX et al., 2006).

### 5.6 - Celulose dos foliólulos e do caule

O teor de celulose do caule e das folhas não variou nas diferentes fases ontogenéticas (Figura 11) confirmando observações anteriores de que esse polímero de parede celular se mantém constante ao longo do crescimento da planta (SALMÉN, 2004).

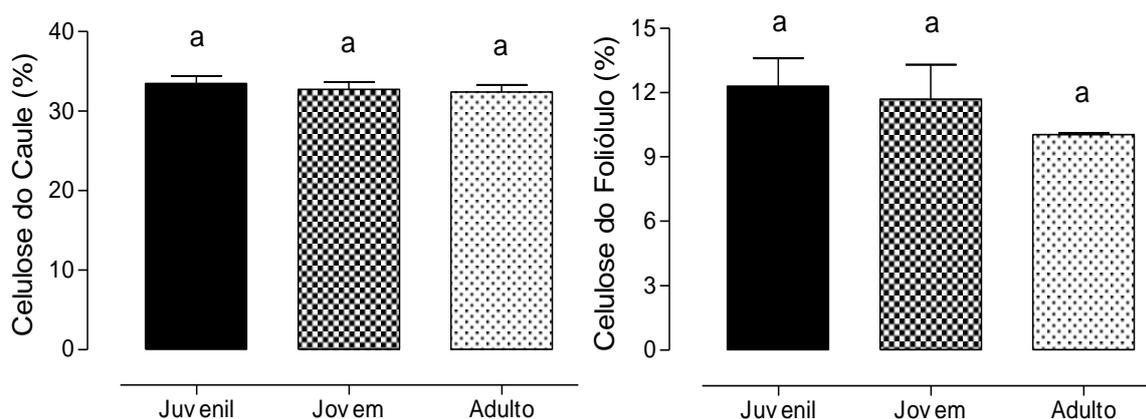


Figura 11 - Teores de celulose do caule e do foliólulo de indivíduos de *C. echinata* em diferentes fases ontogenéticas. Valores dados em % do total de massa seca utilizada no início da extração (100 mg). Barras seguidas da mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey a 5% (n=5).

De fato, a celulose é um polímero que apresenta pouca variação ao longo do desenvolvimento ontogenético. A celulose é mobilizada somente em circunstâncias singulares como, por exemplo, na degradação de paredes celulares de reservas encontradas em sementes ou ainda na formação de aerênquima durante condições de alagamento (BUCKERIDGE et al., 2008).

### 5.7 - Lignina dos foliólulos e do caule

Foram observados maiores teores de lignina total e lignina insolúvel no caule de indivíduos adultos de *C. echinata*, enquanto que os valores de lignina solúvel foram maiores nos indivíduos jovens. Nos foliólulos os indivíduos adultos apresentaram a maior porcentagem de lignina (Figura 12).

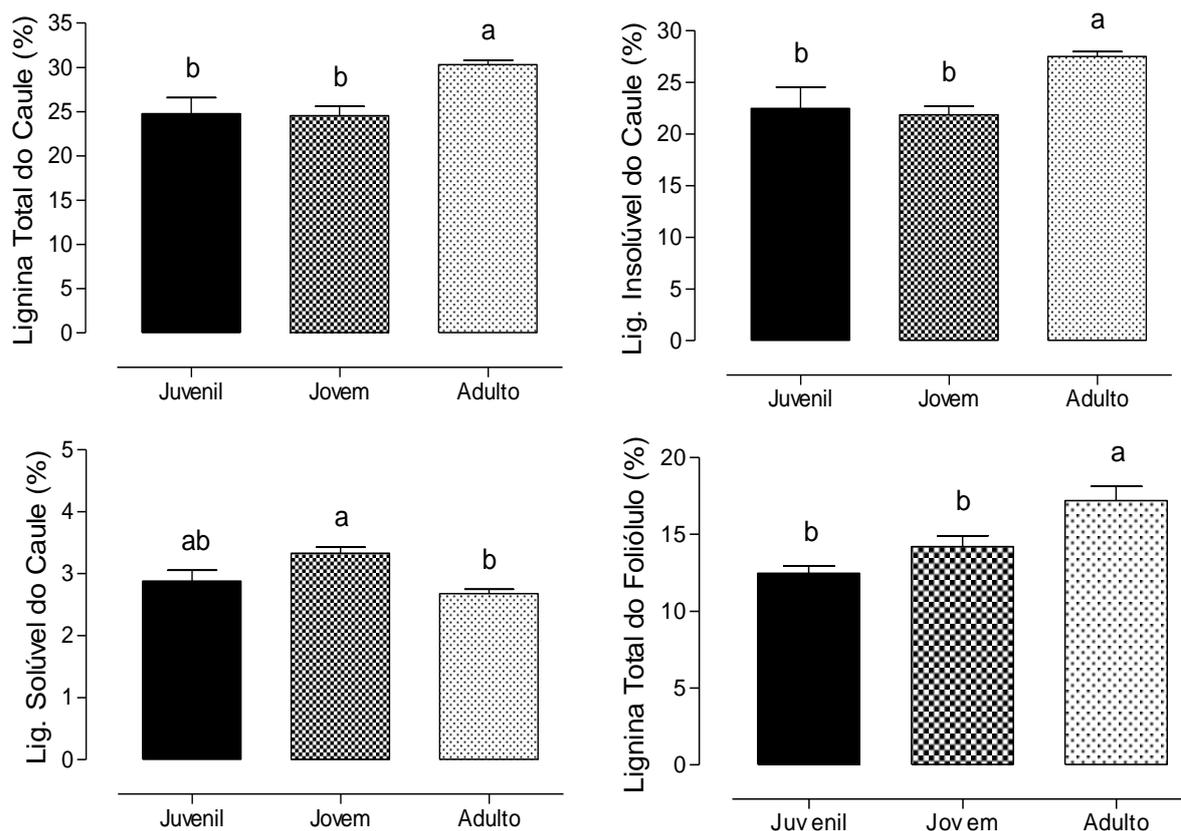


Figura 12 - Porcentagem de lignina insolúvel (A), solúvel (B) e total do caule (C) e lignina do foliólulo (D) de indivíduos de *C. echinata* em diferentes fases ontogenéticas. Valores dados em % do total de massa seca utilizada no início da extração (100 mg para o caule e 150 mg para o foliólulo). Barras seguidas da mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey a 5% (n=5).

Esses resultados estão em conformidade com a afirmação de que o teor de lignina é maior em indivíduos adultos onde o aumento de constituintes fibrosos e lignificação da parede secundária das células do xilema do caule em crescimento secundário confere maior resistência mecânica (PEIXE et al., 2007) como sugere o porte arbóreo dos indivíduos adultos de *C. echinata*. Nessa fase ontogenética, a lignina possibilita o crescimento em altura e a absorção de água e minerais pelo xilema (MESCHEDE et al., 2012) para a produção de biomassa mais expressivo nas fases mais avançadas do desenvolvimento.

## 6 - CONCLUSÃO

Os indivíduos juvenis e jovens de *C. echinata* crescendo no estrato inferior e no sub-bosque da floresta exibiram características que aparentemente permitiram maior absorção de luz nesse ambiente sombreado proporcionado pelos maiores teores de pigmentos cloroplastídicos, maior área foliar específica e maiores células guardas e caules menos lignificados que estão associados ao crescimento primário.

Ao atingirem o dossel, as plantas adultas desenvolvem características associadas à maior tolerância ao pleno sol como maior massa foliar específica, maior teor de água foliar, maior densidade estomática e maiores teores de lignina possivelmente estimulada pela maior concentração de P foliar. O caule dos indivíduos adultos foi caracterizado pelas maiores dimensões dos elementos de vasos do xilema secundário típico de indivíduos mais avançados no desenvolvimento ontogenético.

O conteúdo de celulose foliar e caulinar não apresentou diferenças entre as fases ontogenéticas. O xilano e o xiloglucano parecem ser as hemiceluloses mais representativas.

*C. echinata* apresentou características que maximizaram sua sobrevivência nas condições ambientais distintas para cada fase do desenvolvimento em cada nível do estrato florestal. Compreendendo um pouco mais as estratégias de ocupação da espécie na floresta em suas diferentes fases ontogenéticas, indicamos o plantio consorciado de *C. echinata* como uma das ações para seu reflorestamento.

## 7 - REFERÊNCIAS

ABREU, H. S.; NASCIMENTO, A. M.; MARIA, M. A. **Lignin and structure, Wood and Fiber**, v.31, p.426-433, 1999.

AGUIAR, F. F. A.; AOKI, H. Regiões de ocorrência natural do pau-brasil (*Caesalpinia echinata* Lam.). In: **CONGRESSO FLORESTAL BRASILEIRO**, 4., 1982, Anais. Belo Horizonte: Sociedade Brasileira de Silvicultura, p.1-5. 1983.

AGUIAR, F. F. A.; BARBOSA, J. M. Estudo de conservação e longevidade de sementes de pau-brasil (*Caesalpinia echinata* Lam.). **Ecossistema**, v. 10, p. 145-50, 1985.

AGUIAR, F. F. A.; KANASHIRO, S; TAVARES, A. R.; NASCIMENTO, T. D. R. DO; ROCCO, F. M. Crescimento de mudas de pau-brasil (*Caesalpinia echinata* Lam.), submetidas a cinco níveis de sombreamento. **Revista Ceres**, v. 58, n.6, p. 729-734, 2011.

AGUIAR, F. F. A.; PINHO, R. A. **Pau-Brasil: *Caesalpinia echinata* Lam.** 2. ed. São Paulo: Instituto Botânico, (Folheto, 18). 1996.

AGUIAR, F. F. A. Fenologia do Pau-Brasil (*Caesalpinia echinata* Lam.). **Ecossistema**, v.26, n.1, p. 107-112, 2001.

AGUIAR, F. F. A.; KANASHIRO, S.; TAVARES, A. R.; PINTO, M. M.; STANCATO, G. C.; AGUIAR, J. DE; NASCIMENTO, T. D. R. Germinação de sementes e produção de mudas de *Caesalpinia echinata* Lam. (pau-brasil): efeito de sombreamento. **Árvore**, v. 29, n. 6, p. 871-875. 2005.

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

AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS. **E 1721-01**: standard test method for acid insoluble residue in biomass. [S.I.], 2001a.

AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS. **E 1757-01**: standard test method for determination of carbohydrates in biomass by high performance liquid chromatography. [S.I.], 2001b.

ANDRADE-LIMA, D. de. Tipos de florestas de Pernambuco. **Anais da Associação Brasileira de Geógrafos** v.12, p. 69-85, 1961.

ANGYALOSSY, V.; AMANO, E.; ALVES, E. S. Madeiras utilizadas na fabricação de arcos para instrumentos de corda: aspectos anatômicos. **Acta Botânica Basílica**, v.19, n.4, p. 819-834, 2005.

ARANDA, I. PARDO, F.; GIL, L.; PARDOS, J. A. Anatomical basis of the change in leaf mass per area and nitrogen investment with relative irradiance within the canopy of eight temperate tree species. **Acta Oecologica**, v.25, n.3, p.187-195, 2004.

BAOLI, D.; YANWEI, L.; CHUNYING, Y.; CHUNYANG, L. Morphological and physiological plasticity of woody plant in response to high light and low light. Chin. **Journal of Applied and Environmental Biology**. v. 11, n. 2, p. 238-245, 2005.

BARONI, A. M. Caracterização do sistema fotossintético em folhas de plantas jovens de *Caesalpinia echinata* Lam. (pau-brasil). **Dissertação de Mestrado**, Pós-Graduação em Biodiversidade Vegetal e Meio Ambiente, Instituto de Botânica, São Paulo. 2005.

BEGON, M.; HARPER, J. L.; TOWNSEND, C. R. **Ecology: individuals, populations and communities**. 3rd. ed. Oxford, Blackwell Sci.1996.

BEGUIN, P.; AUBERT, J. The biological degradation of cellulose. **FEMS Microbiol Rev.**, v. 13, p. 25-28, 1994.

BERNACCI, L. C.; GOLDENBERG, R.; METZGER, J. P. Estrutura florística de 15 fragmentos florestais ripários na Bacia do Jacaré-Pepira (SP). **Naturalia**, v. 23, p. 23-54, 1998.

BERNACCI, L. C., MARTINS, F. R.; SANTOS, F. A. M. estrutura de estádios ontogenéticos em população nativa da palmeira *Syagrus romanzoffiana* (Cham.) Glassman (arecaceae). **Acta Botanica Brasilica**, v. 22, p. 119-130, 2008.

BOEGER M. R. T.; KAEHLER, M; JÚNIOR, J. C. F. DE M.; GOMES, M. Z.; OLIVEIRA, L. DA S.; CHAVES, C. R. M.; SCHOTTZ, E. DE S. Estrutura foliar de seis espécies do sub-bosque de um remanescente de Floresta Ombrófila Mista. **Hoehnea**, v. 33, n.4, p.521-53, 2006.

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

BOEGER, M. R. T.; ESPÍNDOLA JÚNIOR, A.; MACARI JÚNIOR, A.; REISSMANN, C. B.; ALVES, A. C. A.; RICKLI, F. L. Variação estrutural foliar de espécies medicinais em consórcio com erva-mate, sob diferentes intensidades luminosas. **Floresta**, v. 39, n. 1, p. 215-225, 2009.

BONONI, V. L. R. **Zigomicetos, basidiomicetos e deuteromicetos**: noções básicas de taxonomia e aplicações biotecnológicas. São Paulo: Instituto de Botânica, Secretaria do Meio Ambiente, 184 p.1999.

BRAGATTO, J. Avaliação da composição química da parede celular de plantas de tabaco (*Nicotiana tabacum*) que superexpressam o gene *ugdH* de soja, que codifica a enzima UDP-glicose desidrogenase (EC 1.1.1.22). 2007. 73 f. **Dissertação de Mestrado**, Escola Superior de Agricultura Luiz e Queiroz, Piracicaba. 2007.

BRASIL. Leis e Decretos Lei 6.607. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, **Brasília**, 12 de dezembro, 1978.

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

BRÜX, C.; DAVID, A. B.; SHEZIFI, D. S.; LEON, M.; NIEFIND, K.; SHOHAM, Y.; The structure of an inverting GH43  $\beta$ -Xylosidase from *Geobacillus stearothermophilus* with its substrate reveals the role of the three catalytic residues. **Journal of Molecular Biology**, n.359, p. 97-109, 2006.

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.; RAYON, C.; URBANOWICZ, B.; TINÉ, M. A.; CARPITA, N. C. Mixed linkage (1-3)(1-4) Beta-D-glean of grasses. **Cereal Chem.**, v. 81, n.1, p. 115-127, 2004.

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

CAO, K. F. Leaf anatomy and chlorophyll content of twelve woody species in contrasting light conditions in a Bornean heath forest. **Canadian Journal of Botany**, v. 78, p.1245-1253. 2000.

CARLQUIST, S. **Comparative wood anatomy**. Berlin: Springer-Verlag, 448 p. 2001.

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.

CARVALHO, P. E. R. **Espécies florestais brasileiras** - recomendações silviculturais, potencialidades e uso da madeira. Brasília: EMBRAPA-CNPQ/SPI, 1994.

CARVALHO, R. M.; MARTINS, F. R.; SANTOS, F. A. M. Leaf ecology of pre-reproductive stages of the palm tree *Euterpe edulis* Mart. (Arecaceae). **Annals of Botany**, v. 83, p. 225-233, 1999.

CARVALHO, N. O. S.; PELACANI, C. S.; RODRIGUES, M. O. S.; CREPALDI, I. C. Crescimento inicial de plantas de licuri (*Syagrus coronata* (Mart.) Becc.) em diferentes níveis de luminosidade. **Revista Árvore**, v. 30, n. 3, p. 351-357, 2006.

CATHARINO, E. L. M.; BERNACCI, L. C.; FRANCO, G. A. D. C.; DURIGAN, G.; METZGER, J. P. Aspectos da composição e diversidade do componente arbóreo das florestas da Reserva Florestal do Morro Grande, Cotia, SP. **Biota Neotropica** v. 6, p. 1-28, 2006.

CHAZDON, R. L.; PEARCY, R. W.; LEE D. W.; Fetcher N Photosynthetic responses of tropical forest plants to contrasting light environments. In: Mulkey SS, Chazdon RL, Smith AP (eds) **Tropical forest plant ecophysiology**. Chapman and Hall, New York, pp 5–55. 1996.

CORRÊA, A. M. S. Morfologia polínica de *Caesalpinia echinata* Lam. **Revista Brasileira de Botânica**, v.26, n.3, p.355-359, 2003.

COSMO, N. L. Anatomia ecológica e crescimento do lenho de *Sebastiania commersoniana* (Baillon) Smith & Downs, em diferentes condições geomorfológicas e pedológicas da planície do Rio Iguaçu-PR. Dissertação de mestrado. Pós-Graduação em Engenharia Florestal. Paraná. 2008.

COSTA, L. C. B. Aspectos da anatomia foliar de *Ocimum selloi* Benth. (Lamiaceae) em diferentes condições de qualidade de luz. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 5, n.3, p. 587-596, 2007.

CRAVEN, D.; GULAMHUSSEIN, S.; BERLYN, G. P. Physiological and anatomical responses of *Acacia koa* (Gray) seedlings to varying light and drought conditions. **Environmental and Experimental Botany**, v. 60, p. 205-213, 2010.

CUNHA, M. W.; LIMA, H. C. Viagem à terra do Pau-brasil. Rio de Janeiro: **Agência Brasileira de Cultura**, 64p. 1992.

CUZZUOL, G. R. F.; MILANEZ, C. R. D. Morphological and Physiological Adjustments in Juvenile Tropical Trees Under Constrasting Sunlight Irradiance. In: Mohammad Mahdi Najafpour. (Org.). **Photosynthesis - Fundamental Aspects**. Rijeka: InTech - Open Access Publisher, v. 1, p. 501-518, 2012.

DICKISON, W. C. **Integrative Plant anatomy**. San Diego: Harcourt Academic Press, 2000.

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

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

EMBRAPA (Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Centro Nacional e Pesquisas de Solo). Levantamento generalizado e semidetalhado de solos da Aracruz Celulose S.A. no Espírito Santo e no extremo sul do estado da Bahia e sua aplicação aos plantios de eucaliptos. **Rio de Janeiro**, 93p. 2000.

ESPÍRITO SANTO. **Decreto Estadual nº 1499-R**, de 14 de junho de 2005.

ESTEBAN, L. G. et al. **Madera y su anatomia**. Madri: AMVE Ediciones, 327p. 2003.

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

FINI, A.; FERRINI, F; FRANGI, P.; AMOROSO, G.; GIORDANO, C. Growth, leaf gas Exchange and leaf anatomy of three ornamental shrubs grown under different light intensities. **European Journal of Horticultural Science**, v. 75, n. 3, p. 111-117, 2010.

FREIRE, M. S. B. Levantamento florístico do parque Nacional das Dunas do Natal. **Acta bot. Bras.** v.4, p.41-59, 1990.

GAMA, V. N. Análises morfofisiológicas de plantas de pau-brasil (*Caesalpinia echinata* Lam.) cultivadas em ambientes lumínicos distintos. 91 F. **Dissertação de Mestrado**, Pós-Graduação em Biologia Vegetal, Departamento Botânica, Vitória. 2013.

GANDOLFI, S. Estudo florístico e fitossociológico de uma floresta residual na área do Aeroporto Internacional de São Paulo, município de Guarulhos, SP. 232 p. **Dissertação** (Mestrado em Biologia Vegetal) - Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas. Campinas, 1991.

GONÇALVES, J. F. C.; MARENCO, R. A.; VIEIRA, G. Concentration of photosynthetic pigments and chlorophyll fluorescence of mahogany and tonka bean under two light environments. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v. 13, n. 2, p. 149-157, 2001.

GUREVITCH, J.; SCHEINER, S. M.; FOX, G. A. **Ecologia Vegetal**. Artmed, Porto Alegre. 2009.

HACKE U.; SPERRY, J. S. Functional and ecological xylem anatomy. **Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics**. Urban & Fischer Verlag, v.4/2, p. 97-115, 2001.

HENDRY, G. A. F.; PIERCE, A. H. Stress indicators: chlorophylls and carotenoids. In: Hendry GAF, Grime JP (eds) **Methods in comparative plant ecology**. Chapman & Hall, London, pp 148-152.1993.

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

HOUTER N. C.; PONS, T. L. Ontogenetic changes in leaf traits of tropical rainforest trees differing in juvenile light requirement. **Oecologia**, v. 169, p.33–45, 2012.

HUNT, R. Plant growth curves: the functional approach to plant growth analysis. **Edward Arnold Publishers**, London. 1982.

ISHIDA, A.; YAZAKI, K.; HOE, A. L. Ontogenetic transition of leaf physiology and anatomy from seedlings to mature trees of a rain forest pioneer tree, *Macaranga gigantea*. **Tree Physiology**, v.25, n.5, p.513-522, 2005.

JACOBSEN, A. L.; EWERS, F. W.; PRATT, R. B.; PADDOCK III, W. A.; DAVIS, S. D. Do xylem fibers affect Vessel Cavitation Resistance? **Plant Physiology** v. 139, p. 546-556, 2005.

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.

KITAJIMA, K.; HOGAN, K. P. Increases of chlorophyll *a/b* ratios during acclimation of tropical woody seedlings to nitrogen limitation and high light. **Plant, Cell and Environment**, v. 26, p. 857-865, 2003.

KLOCK, U.; MUÑIZ, G. I. B.; HERNANDEZ, J. A.; ANDRADE, A. S. **Química da madeira**. Departamento de Engenharia e Tecnologia Florestal da Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2005.

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

KONDO, T.; J. Polym. Sci.: Part B: **Polym. Physics**, v. 35, p 717, 1997.

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

KRAUS, J. E.; ARDUIN, M. **Manual básico de métodos em morfologia vegetal**. Seropédica: EDUR, 198 p., 1997.

KWAK, M. J.; LEE, S. H.; WOO, S. Y. Growth and anatomical characteristics of different water and light intensities on a cork oak (*Quercus suber* L.) seedlings. **African Journal of Biotechnology**, v. 10, n. 53, p. 10964-10979, 2011.

KYTAYAMA, K.; SUZUKI, S.; HORI, M.; TAKYU, M.; AIBA, S. I.; MALAJALAPLEE, N.; KIKUZAWA, K. On the relationships between leaf-litter lignin and net primary productivity in tropical rain forests. **O junho ecologia**, V.140, p.335-339, 2004.

LAISK, A.; EICHELMANN, H.; OJA, V.; RASULOV, B.; PADU, E.; BICHELE, I.; PETTAI, H.; KULL, O. Adjustment of leaf photosynthesis to shade in a natural canopy: rate parameters. **Plant Cell Environment**. 28:375-388. 2005.

LAMBERS, H.; CHAPIN III, F. S.; PONS, L. T. **Plant physiological ecology**. New York: Springer-Verlag, 2008.

LARROQUE, C. M.; PLANCHON C. L. Lignification and physiological factors of yield in maize. **Published in Crop Sci**, v.30, p.1105-1109, 1990.

LARS, H.; GUNNAR, J.; GÖRAN P.; JIEBING L.; PIERRE L.; GUNNAR H. Do the extracellular enzymes cellobiose dehydrogenase and manganese peroxidase form a pathway in lignin biodegradation? **FEBS**, v. 477, n. 1-2, p. 79-83, 2000.

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

LAWSON, E. J. R.; POETHIG, R. S. Shoot development in plants: time for a change. **Trends in Genetics**, v. 11, p. 263-268, 1995.

LEWIS, G. P. *Caesalpinia*, a revision of the Poincianella-Erythrostemon group. **Royal Botanic Gardens**, Kew, UK. 1998.

LI, G.; AMMERMANN, U.; QUIRÓS, C. F. Glucosinolate contents in maca (*Lepidium peruvianum* chacón) seeds, sprouts, mature plants and several derived commercial products, **Economic Botany**, v.55, p.255-262, 2001.

LICHTENTHALER, H. K.; WELBURN, A. R. Determination of total carotenoids and chlorophylls *a* and *b* of leaf extracts in different solvents. **Biochemical Society Transactions**, v.11, p.591-592, 1983.

LICHTENTHALER, H. K.; AC, A.; MAREK, M. V.; KALINA, J.; URBAN, O. Differences in pigment composition, photosynthetic rates and chlorophyll fluorescence images of sun and shade leaves of four tree species. **Plant physiology and biochemistry**, v. 45, p. 577-588, 2007.

LIMA, H. C., LEWIS, G. P., BUENO, E. Pau-Brasil. In: Bueno E et al (ed) Pau-brasil: uma biografia. Axis Mundi, São Paulo, p. 39–76, 2002.

LIMA, H. C. Aspectos botânicos do pau-brasil. In: CUNHA, M. W.; LIMA, H. C. (Eds.). Viagem à terra do pau-brasil. Rio de Janeiro: **Agência Brasileira de Cultura**, p. 23-38. 1992.

LIMA, M. A. O.; MIELKE, M. S.; LAVINSKY, A. O.; FRANÇA, S.; ALMEIDA, A. F.; GOMES, F. P. Crescimento e plasticidade fenotípica de três espécies arbóreas com uso potencial em sistemas agroflorestais. **Sci. For.**, Piracicaba, v. 38, n. 87, p. 527-534, 2010.

LIMA, J. D.; SILVA, B. M. S.; MORAES, W. S.; DANTAS, V. A. V.; ALMEIDA, C. C. Efeitos da luminosidade no crescimento de mudas de *Caesalpinia ferrea* Mart. Ex Tul. (Leguminosae, Caesalpinoideae). *Acta Amazônica*, v. 38, n. 1, p. 5-10, 2008.

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

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

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

MAGALHÃES, N. S.; MARENCO, R. A.; MENDES, K. R. Aclimação de mudas de acariquara à alta irradiância. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. 44:687-694. 2009.

MALAVOLTA, E.; VITTI, G. C.; OLIVEIRA, S. A. **Avaliação nutricional das plantas: princípios e aplicações**. Associação Brasileira para Pesquisa do Potássio e do Fósforo, Piracicaba, São Paulo, 319 p, 1997.

MALLAN, F. A. *Eucalyptus* improvement for lumber production. In: **SEMINARIO INTERNACIONAL DE UTILIZAÇÃO DA MADEIRA DE EUCALIPTO PARA SERRARIA**, São Paulo, IPEF/IPT, Anais, São Paulo, IPEF/IPT, 05-06, abr., 1995. p.1-19.

MANAGO, L. F. S., MARTINS, S. V., VENZKE, T. S.; IVANAUSKAS N. M. Os processos e estágios sucessionais da mata atlântica como referência para a restauração florestal. In: S. V. Martins (ed.). **Restauração ecológica de ecossistemas degradados**. Editora UFV, Viçosa, pp. 69-100. 2012.

MARCH, R. H.; CLARK, L. G. Sun-shade variation in bamboo (Poaceae: Bambusoideae) leaves. **Telopea**, v. 13, n. 1-2, p. 93-104. 2011.

MARENCO, R. A.; LOPES, N. F. **Fisiologia Vegetal**. UFV, Viçosa. 2009.

MARQUES, A. R.; GARCIA, Q. S.; REZENDE, J. L. P.; FERNANDES, G. W. Variations in leaf characteristics of two species of *Miconia* in the Brazilian cerrado under different light intensities. **Tropical Ecology**, v. 41, p.47-60, 2000.

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

McCann, M. C.; Bush, M; Milioni, D.; Sado, P.; Stacey, N. J.; Catchpole, G.; Defernez, M.; Carpita, N. C.; Hofte, H.; Ulvskov, P.; Wilson, R. H.; Roberts, K. Approaches to understanding the functional architecture of the plant cell wall. **Phytochemistry**, v. 57, n. 6, p. 811-821, 2001.

MELO, S. C. O.; GAIOTTO, F. A.; CUPERTINO, F. B.; CORRÊA, R. X.; REIS, A. M. M.; GRATTAPAGLIA, D.; BRONDANI, R. P. V. Microsatellite markers for *Caesalpinia echinata* Lam. (Brazilwood), a tree that named a country. **Conservation Genetics**, v.8, n.6, p.1269-1271, 2007.

MENDES, F. S.; CASTRO, D. S.; N, C. F. O.; LOBATO, A. K.; CUNHA, R. L. M.; COSTA R. C. L. Níveis de prolina e carboidratos solúveis totais em folhas de mogno (*Swietenia macrophylla* King R.A) induzidas ao estresse hídrico e reidratação. **Revista Brasileira de Biociências**. v. 5, n. 2, p. 939-941, 2007.

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

MENGARDA, L. H. G. Respostas morfofisiológicas de plantas jovens de pau-brasil (*Caesalpinia echinata* Lam., Leguminosae) à radiação solar. 2010. 97 f. **Dissertação de Mestrado**, Pós-Graduação em Biologia Vegetal, Departamento Botânica, Vitória. 2010.

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.). **Brazilian Journal of Plant Physiology**. v. 21, p. 55 - 64, 2009.

MESCHEDE, D. K.; VELINI, E. D.; CARBONARI, C. A.; MORAES, C. P. Teores de lignina e celulose em plantas de cana-de açúcar em função da aplicação de maturadores. **Planta Daninha**, v. 30, p.121-127, 2012.

MORAES, L. A. C.; MORAES, V. H. F.; MOREIRA, A. Relação entre flexibilidade do caule de seringueira e a carência de boro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 37, p. 1431-1436, 2002.

MORAIS, R. R. Chloroplastid pigment contents and chlorophyll a fluorescence in Amazon tropical three species. **Árvore**, v. 31, n. 5, p. 959-966, 2007.

NAKAZONO, E. M. et al. Crescimento inicial de *Euterpe edulis* Mart. em diferentes regimes de luz. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 24, n. 2, p. 173-179, 2001.

O'BRIEN, T. P., FEDER, N.; MCCULLY, M. E. Polychromatic staining of plant cell walls by toluidine blue O. **Protoplasma**, v. 59, p. 368-373, 1964.

OLIVEIRA, E. C. P.; Lameira, O. A.; Sousa, F. I. B.; Silva, R. J. F. Estrutura foliar de curauá em diferentes intensidades de radiação fotossinteticamente ativa. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.43, n. 2, p. 163-169, 2008.

PAIVA, E. A. S.; ISAIAS, R. M. S.; VALE, F. H. A.; QUEIROZ, C. G. S. The influence of light intensity on anatomical structure and pigment contents of *Tradescantia pallid* (Rose) Hunt. cv. *Purpurea Boom* (Commelinaceae) leaves. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 46, n. 4, p. 617-624, 2003.

PARIDA, A. K.; DIAS, A. B.; MITTRA, B. Effects of salt on growth, ion accumulation, photosynthesis and leaf anatomy of the mangrove, *Bruguiera parviflora*. **Trees**, v. 18, p. 167-174, 2004.

PEIXE, A.; SERRAS, M.; CAMPOS, C.; ZAVATTIERI, M. A.; DIAS, M. A. Estudo histológico sobre a formação de raízes adventícias em estacas. **Revista de Ciências Agrárias**, p. 476-482, 2007.

PETKOWICZ, C. L. O.; RECHIA, C. G. V.; BUSATO, A. P.; REICHER, F. Xiloglucanas: estrutura, propriedades e aplicações. In. **Carboidratos en alimentos regionales iberoamericanos**. Ed. F. M. Lajolo; E. W. Menezes. p.127-147. Edusp, São Paulo, 2006.

PETZOLD, K.; SCHWIKAL, K.; HEINZE, T. Carboxymethyl xylan - synthesis and detailed structure characterization. **Carbohydrate Polymers**, v. 64, p. 292-298, 2006.

PINTO, J. E. B. P.; Cardoso, J. C. W.; Castro, E. M; Bertolucci, S. K. V.; Melo L. A.; Dousseau, S. Aspectos morfofisiológicos e conteúdo de óleo essencial de plantas de alfazema-do-Brasil em função de níveis de sombreamento. **Horticultura Brasileira**, v. 5, p. 210-214, 2007.

POORTER, H.; NAGEL, O. The role of biomass allocation in the growth response of plants to different levels of light, CO<sub>2</sub>, nutrients and water: a quantitative review. **Australian Journal of Plant Physiology**. v. 27, p. 595-607, 2000.

PORTELA, F. C. S. Influência da irradiância na fisiologia e anatomia de *Carinina legalis* e *Cariniana estrellensis*. 110 f. **Dissertação de Mestrado**, Pós-Graduação em Biologia Vegetal, Departamento Botânica, Vitória. 2012.

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

RAMALHO, R. S. Pau-brasil (*Caesalpinia echinata* Lam.). Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 11p. (**Boletim de Extensão**, 12). 1978.

REZENDE, C. M.; Corrêa, V. F. S.; Costa, A. V. M.; Castro, B. C. S. Constituintes químicos voláteis das flores e folhas do pau-brasil (*Caesalpinia echinata* Lam.). **Química Nova**, v.27, n.3, p.414-416, 2004.

RIJKERS, T.; PONS T. L.; BONGERS, F. The effect of tree height and light availability on photosynthetic leaf traits of four neotropical species differing in shade tolerance. **Functional Ecology**, v.14, n.1, p.77-86, 2000.

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.

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.

RODRIGUES, R. R.; GANDOLF, S.; NAVE, A. G. et al. Large-scale ecological restoration of high-diversity tropical forests in SE Brazil. **Forest Ecology and Management**, v. 261, p. 9, 2011.

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

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

SAHA, B. C. Hemicellulose bioconversion. **Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology** 30: 279-291. 2003.

SALMÉN, L. Micromechanical understanding of the cell-wall structure. **C. R. Biologies**, v. 327, n. 9-10, p. 873-880, 2004.

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

SANTIAGO, E. J. A. et al. Aspectos da anatomia foliar da pimenta-longa (*piper hipidinerium* C.DC.) sob diferentes condições de luminosidade. **Ciência e Agrotecnologia**. v. 25, n. 5, p. 1035-1042, 2001.

SANTIAGO, L. S.; KITAJIMA, K.; WRIGHT, S. J.; MULKEY S. S. Coordinated changes in photosynthesis, water relations and leaf nutritional traits of canopy trees along a precipitation gradient in lowland tropical forest. *Oecologia*, v. 139, p. 495–502, 2004.

SANTOS, F. A.; Queiróz, J. H. de; Colodette, J. L.; Fernandes, S. A.; Guimarães, V. M.; Rezende, S. T. Potencial da palha de cana-de-açúcar para produção de etanol. **Quim. Nova**, v. 35, n. 5, p. 1004-1010, 2012.

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

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

SILVA, M. G. C. P. C.; MARTINI, A. M. Z.; ARAÚJO, Q. R. DE. Estrutura populacional de *Euterpe edulis* Mart. no Sul da Bahia, Brasil. **Revista Brasileira de Botânica**, v.32, n.2, p.393-403, 2009.

SILVEIRA, P. M. da; SILVA, O. F. da; STONE, L. F.; SILVA, J. G. da. Efeitos do preparo do solo, plantio direto e de rotações de culturas sobre o rendimento e a economicidade do feijoeiro irrigado. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 36, p. 257-263, 2001.

SJÖBERG, J. Characterization of chemical pulp fiber surfaces with na emphasis on the hemicelluloses. **Tese de doutorado**. 67 F. Royal Institut of Technology. Stockholm. 2002.

SOARES, M. G. Plasticidade de plantas jovens de *Handroanthus chrysotrichus* (Mart. ex DC.) Mattos (Bignoniaceae) em resposta a radiação solar. 2012. 92 f.

**Dissertação de Mestrado**, Pós-Graduação em Biologia Vegetal, Departamento Botânica, Vitória. 2012.

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

SULLIVAN, J. H. et al. Changes in leaf expansion and epidermal screening effectiveness in *Liquidambar styraciflua* and *Pinus taeda* in response to UV-B radiation. **Physiologia Plantarum**, v. 98, p. 349-357, 1996.

TAN, Y.; Jiang, J.; Wu, H.; Cui, H.; Yu, R. Resolution of kinetic system of simultaneous degradation of chlorophyll *a* and *b* by Parafac. **Analytic Chem Acta** v. 412, p. 195-202, 2000.

TAVARES, S. **Estudos geobotânicos no Rio Grande do Norte**. Arq. Inst. Pesquisa Agrônômica, v. 5, p. 39-51, 1960.

TECHNICAL ASSOCIATION OF THE PULP AND PAPER INDUSTRY. **Test method T222 om-88**. Test method T222 om-98: Acid Insoluble Lignin Wood and Pulp. Atlanta, 1v, 1998.

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

THOMAS, S. C.; WINNER W. E. Photosynthetic differences between saplings and adult trees: na integration of field results by meta-analysis. **Tree Physiology**, v.22, n.2-3, p.117-127, 2002.

VASCONCELLOS, A. G.; GOMES, D. M.; ESQUIBEL, M. A. Anatomical plasticity of *Physalis angulata* L. (Solanaceae) monoclonal plants in relation to light intensity. **Leandra**, v.13, p. 17-27, 1998.

VELOSO, H. P.; RANGEL-FILHO, A. L. P.; LIMA, J. C. A. **Classificação da vegetação brasileira, adaptada a um sistema universal**. Rio de Janeiro: IBGE, 124p. 1991.

WITHMORE, T. C. **An introduction to tropical rain Forest**. Clarendon Press, Oxford. 1990.

Z Aidan, L. B. P. et al. Crescimento e propagação de plantas de 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, 2008. p. 58-66.

ZANI, L. B.; SARNAGLIA-JUNIOR, V. B.; GOMES, J. M. L.; THOMAZ, L. D. Estrutura de um fragmento de Floresta Atlântica em regeneração com ocorrência de *Caesalpinia echinata* Lam. (pau-brasil). **Biotemas**, v. 25, n. 4, p. 75-89, 2012.