



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
DEPARTAMENTO DE BOTÂNICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA DE FUNGOS
ALGAS E PLANTAS



**Respostas morfoanatômicas foliares de *Seemannia sylvatica*
(Gesneriaceae) submetida a elevação de temperatura e CO₂
atmosférico**

Annielly da Silva Zini

Florianópolis
2017

Annielly da Silva Zini

**Respostas morfoanatômicas foliares de *Seemannia sylvatica* (Gesneriaceae)
submetida a elevação de temperatura e CO₂ atmosférico**

Dissertação apresentada ao
Programa de Pós-Graduação em
Biologia de Fungos, Algas e
Plantas da Universidade Federal
de Santa Catarina como parte
dos requisitos para obtenção do
título de mestre.

Orientadora: Profa. Dra. Ana
Claudia Rodrigues

Florianópolis
2017

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Zini, Annielly da Silva
Respostas morfoanatômicas foliares de *Seemannia
sylvatica* (Gesneriaceae) submetida a elevação de
temperatura e CO₂ atmosférico / Annielly da Silva
Zini ; orientador, Ana Claudia Rodrigues - SC, 2017.
43 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de
Santa Catarina, , Programa de Pós-Graduação em ,
Florianópolis, 2017.

Inclui referências.

1. . 2. CO₂. 3. temperatura. 4. mesofilo. 5.
aclimação. I. Rodrigues, Ana Claudia. II.
Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de
Pós-Graduação em . III. Título.

**“Respostas Morfoanatômicas foliares de
Seemannia sylvatica (Cesneriaceae) submetida à
elevação de temperatura e de CO₂ atmosférico”**

por

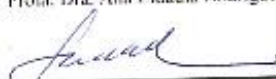
Annielly da Silva Zini

Dissertação julgada e aprovada em sua forma final pelos membros titulares da Banca Examinadora (Port. 03/PPGFAP/2017) do Programa de Pós-Graduação em Biologia de Fungos, Algas e Plantas - UFSC, composta pelos Professores Doutores:

Banca Examinadora:



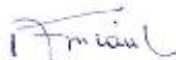
Profa. Dra. Ana Claudia Rodrigues



Profa. Dra. Larissa Corrêa do Bonfim Costa



Profa. Dra. Mabeli Geribotti Lusa



Profa. Dra. Ana Maria Viane



Prof. Dr. Elisandro Ricardo Drechsler dos Santos
Coordenador do Programa de Pós-Graduação
em Biologia de Fungos, Algas e Plantas

Florianópolis, 06 de março de 2017.

“A persistência é o menor caminho do êxito”
(Charles Chaplin)

AGRADECIMENTOS

À Deus por ter me concedido o dom perfeito da vida e possuir toda a capacidade de chegar exatamente onde estou hoje.

À minha família, que apesar das dificuldades e distância nunca deixaram de acreditar em meu sucesso acadêmico. Pelo amor incondicional e pela compreensão sempre.

À minha orientadora, Ana Claudia Rodrigues, por todos os ensinamentos e conhecimentos compartilhados, pela paciência e diálogo durante esses dois anos. Por toda a dedicação à nossa pesquisa realizada, muito obrigada!

Aos meus colegas dessa jornada, em especial à minha amiga de laboratório Graziela Blanco, pelos ensinamentos compartilhados e por todo o companheirismo, sem dúvida com a sua parceria tudo se tornou mais fácil. Ao Alisson Alves, meu aprendiz, meu companheiro, meu amigo nas horas difíceis de pesquisa, o qual desejo todo o sucesso na vida acadêmica. Aos meus amigos do coração, Amanda Carmes, Luciana e Hérlon, que me ajudaram sempre que possível.

Ao Programa de Pós Graduação em Biologia de Fungos, Algas e Plantas e a CAPES pela bolsa concedida.

Aos laboratórios que disponibilizaram estrutura, equipamentos e ajuda técnica para a realização da pesquisa. O Laboratório de Anatomia Vegetal (LAVEG), o Laboratório de Ficologia (LAFIC) e o Laboratório Central de Microscopia Eletrônica (LCME), nesse, com agradecimento em especial à técnica Eliana Medeiros, pela paciência e dedicação.

Agradeço de modo geral a todos que não mencionei, e que, de alguma forma estiveram envolvidos para me tornar melhor durante essa formação.

RESUMO

As concentrações de CO₂ aumentaram de 280 ppm na era pré-industrial para 451 ppm em 2017, estima-se que sua concentração tem aumentado cerca de 1% ao ano, o que também vai elevar a temperatura de 3 a 6°C até 2100. O aumento na concentração de CO₂ é o principal responsável pelo efeito estufa, que eleva a temperatura média global causando as mudanças climáticas, alterando o regime de chuvas, a intensidade dos ventos e os níveis dos mares dentre outros danos. Os impactos desse acréscimo de dióxido de carbono para a atmosfera tem sido a causa de preocupações e dúvidas, já que os seus efeitos causam mudanças importantes tanto nas fisionomias de ambientes terrestres quanto dos aquáticos bem como de toda a flora e fauna associados. Diante do exposto, o presente trabalho teve como objetivo submeter a espécie vegetal *Seemannia sylvatica* à atmosfera futura, com elevada concentração de CO₂ e de temperatura, a fim de verificar o comportamento morfoanatômico foliar diante de condições extremas. Para isso mudas da espécie foram submetidas à quatro tratamentos: T1: temperatura e CO₂ ambientes, T2: temperatura elevada e CO₂ ambiente, T3: temperatura ambiente e CO₂ elevado e T4: temperatura e CO₂ elevados. Cada tratamento foi composto de 10 réplicas e teve duração de 30 dias. Os resultados indicam que a estrutura anatômica da folha de *S. sylvatica* é comum para espécies de Gesneriaceae, principalmente na presença de tricomas totores e glandulares. Os resultados ainda revelam que a folha de *S. sylvatica* é sensível ao aumento da temperatura e ao aumento da concentração de CO₂ mostrando variação na estrutura anatômica como: aumento da área foliar e na densidade de tricomas glandulares da face abaxial; redução da densidade estomática e aumento da espessura da folha, devido ao aumento da espessura das células epidérmicas de ambas as faces, do parênquima paliádico e do parênquima esponjoso.

Palavras-chave: CO₂, temperatura, mesófilo, aclimação.

ABSTRACT

The concentration of CO₂ has increased from 280 ppm in the preindustrial age, to 451 ppm in 2017, taking into account that this concentration has increased about 1% a year, what will also be increasing the temperature from 3 to 6 °C till 2100. The raise in the CO₂ concentration is the main reason of the greenhouse effect, which raises the average temperature, changing the weather, modifying the raining period, the wind intensity, the sea level and other consequential damages. The impacts of this increase of carbon dioxide on the atmosphere have been the cause of concerns and doubts since its effects are causing major changes in both, the physiognomies of terrestrial environments and marine, as well as all the flora and fauna associated with it. In view of what was shown, the purpose of this essay was to submit the plant species *Seemannia sylvatica* on a future atmosphere, with high concentrations of CO₂ and temperature, in order to verify the the morphological and anatomical characteristics of leaves facing extreme conditions. For this, seedlings of the species were submitted to four treatments: T1: environmental temperature and CO₂; T2: high temperature and environmental CO₂; T3: environmental temperature and high CO₂; T4: high temperature and CO₂. Each treatment was composed of 10 replicas and lasted for 30 days. The results indicate that the anatomical structure of the *S. sylvatica* leaf is common for species of Gesneriaceae, mainly in the presence of tectorial and glandular trichomes. The results reveal that the leaf of *S. sylvatica* is sensitive to temperature rise and the increase in CO₂ concentration showing variation in anatomical structure: increased leaf area and density of glandular trichomes on the abaxial face; reduction in stomatal density and increased thickness of the leaf, due to the increased thickness of the epidermis and palisade and spongy parenchyma.

Key-words: CO₂, temperature, mesophyll, acclimatization.

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	11
MATERIAL E MÉTODOS	15
Local	15
Condições de cultivo.....	16
Área foliar	17
Epiderme	17
Lâmina foliar	18
Delineamento Experimental.....	19
Análises Estatísticas.....	19
RESULTADOS.....	20
Área foliar.....	20
Epiderme.....	20
Lâmina foliar.....	25
DISCUSSÃO.....	29
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	33

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Hábito de *Seemannia sylvatica*.

Figura 2. Experimento em casa de vegetação da UFSC. A. Visão geral do arranjo experimental. B. Mudas de *Seemannia sylvatica*. C. Detalhe das câmaras acopladas aos vasos. D. Detalhe do IRGA medidor de [CO₂].

Figura 3. Valores médios e erro padrão, da área foliar de *Seemannia sylvatica* submetidas aos diferentes tratamentos. T1 (controle); T2: ↑T/(a)CO₂; T3: (a)T/↑CO₂; T4: ↑T/↑CO₂. (a) ambiente.

Figura 4. A-L. Eletromicrografia da folha de *Seemannia sylvatica* sob diferentes tratamentos. Observam-se tricomas tectores (Tt), glandulares (Tg) e estômatos (Es).

Figura 5. A-H Vista frontal da face abaxial da folha de *Seemannia sylvatica* submetida à diferentes tratamentos. Observam células epidérmicas comuns com paredes sinuosas e estômatos anomocíticos (es).

Figura 6. A-H Eletromicrografia da folha de *Seemannia sylvatica* submetida à diferentes tratamentos. A-C; F-G. Epiderme abaxial. D-E, H. Epiderme adaxial.

Figura 7. A-L Secções transversais de folhas de *Seemannia sylvatica* submetidas à diferentes tratamentos. Observam-se epiderme unisseriada, mesofilo dorsiventral, estômatos, tricomas, Nervura mediana central com feixe vascular colateral C; F; I; L com feixe vascular colateral. ED: epiderme da face adaxial; EB: epiderme da face abaxial; ES: estômato; FV: feixe vascular; PE: parênquima esponjoso; PP: parênquima paliádico; TG: tricoma glandular; seta: base do tricoma tector; asterisco: espaços intercelulares.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Concentrações médias e desvio padrão da concentração de dióxido de carbono no interior das câmaras, por semana, durante o experimento.

Tabela 2. Temperatura média e desvio padrão no interior das câmaras durante o experimento.

Tabela 3. Valores médios e desvio padrão da densidade de tricomas de *Seemannia sylvatica* em ambas as faces foliares submetidas aos diferentes tratamentos. As letras minúsculas diferentes indicam diferença significativa ($p \leq 0,05$) entre os tratamentos.

Tabela 4. Valores médios e desvio padrão dos parâmetros estomáticos da folha de *Seemannia sylvatica* submetidas aos diferentes tratamentos. As letras minúsculas diferentes indicam diferença significativa ($p \leq 0,05$) entre os tratamentos.

Tabela 5. Valores médios e desvio padrão dos parâmetros anatômicos foliares de *Seemannia sylvatica* submetidas aos diferentes tratamentos. As letras minúsculas diferentes indicam diferença significativa ($p \leq 0,05$) entre os tratamentos.

1. INTRODUÇÃO

Desde a era pré-industrial, as emissões antropogênicas de gases de efeito estufa aumentaram em grande parte, devido ao crescimento “econômico” e “populacional”, elevando as concentrações atmosféricas de dióxido de carbono, metano e óxido nitroso, que em conjunto com outros fatores, provavelmente são as principais causas do aquecimento global (IPCC, 2013, 2014). A concentração de CO₂ aumentou de 280 ppm na era pré-industrial para 451 ppm em 2017 (KORNER, 2009; PRENTICE, 2001; WATSOM *et al.*, 2001; APOLLO11, 2017). Estima-se que a concentração de dióxido de carbono atmosférico aumente cerca de 1% por ano, podendo atingir 600 a 750 ppm dentro de 90 anos (IPCC, 2013) e elevando de 1,8° a 6° C a temperatura média da Terra até 2100 (IPCC, 2007).

A atmosfera do planeta tem recebido em média 117,9 gigatoneladas (Gt) de dióxido de carbono, que provêm de atividades como a queima dos combustíveis fósseis, deste total, cerca de 111,0 Gt são utilizados pelas plantas para a realização da fotossíntese e também são absorvidos pelos oceanos, permanecendo ainda um excedente na atmosfera (BUCKERIDGE, 2008). Esse remanescente de CO₂ é o principal responsável pelo efeito estufa, que eleva a temperatura média global causando as mudanças climáticas, alterando o regime de chuvas, a intensidade dos ventos e os níveis dos mares dentre outros danos (IPCC, 2014). Os impactos desse acréscimo de dióxido de carbono para a atmosfera tem sido a causa de preocupações e dúvidas, já que os seus efeitos causam mudanças importantes tanto nas fisionomias de ambientes terrestres quanto dos aquáticos (IPCC, 2015).

Dessa maneira, devido a esses impactos do aumento de dióxido de carbono, vários experimentos procuram simular as condições do clima futuro ou apenas traçar respostas relacionadas à alguma das variáveis envolvidas com as mudanças climáticas (RODRIGUES, 2013). Os primeiros experimentos com aumento da concentração de dióxido de carbono com câmaras de topo aberto onde a planta é circundada por ar contendo a concentração desejada de CO₂ (BROWN & ESCOMBE, 1902). Esse método limita-se às plantas de pequeno porte ou à estudos com plantas de grande porte apenas em fase inicial de crescimento (AINSWORTH & LONG, 2005).

Uma pequena mudança na distribuição da quantidade de carbono para as plantas, pode influenciar em seu desenvolvimento, podendo haver alterações na alocação de biomassa entre folhas e raízes (MONSI & MURATA, 1970; STULEN & DEN HERTOOG, 1993). Sendo que cerca

de 40% da massa seca das plantas é composta de carbono proveniente da fotossíntese (LAMBERS *et al.*, 2008). Um aumento na concentração de CO₂ será determinante e fundamental sob as respostas das plantas em relação à sua interação ecológica futuramente (KAROWE & GRUBB, 2011).

O acréscimo na concentração de CO₂ atmosférico não significa obrigatoriamente maior assimilação de carbono pelas plantas (KORNER, 2006). A exposição das plantas ao aumento de dióxido de carbono pode causar dois tipos de respostas relacionadas ao tempo de exposição: respostas a curto prazo (*short-term responses*), e respostas a longo prazo (*long-term responses*). Na primeira, quando as plantas são expostas por poucos segundos a minutos, esse tipo de resposta apresenta efeito direto na assimilação de carbono pelas plantas, o que resulta em aumento da taxa fotossintética devido à alta concentração de CO₂ no sítio ativo da rubisco e fechamento parcial dos estômatos, o qual ocasiona diminuição na condutância estomática reduzindo a perda de água por transpiração (SHARKEY, 1985; SAGE *et al.*, 1989; STTIT, 1991; SAGE, 1994; AINSWORTH & ROGERS, 2007). No segundo, quando as plantas são expostas à longos períodos, dias a semanas, levam ao aumento de carboidratos não estruturais nas folhas e uma mudança na relação carbono/nitrogênio, bem como reduções na atividade da rubisco (SHARKEY, 1985; SAGE *et al.*, 1989; STTIT, 1991; DRAKE *et al.*, 1997; CENTRITO *et al.*, 1999). Há ainda redução na capacidade fotossintética e na quantidade de proteínas e nitrogênio presentes nas folhas, alteração na taxa de respiração e na composição química (AMTHOR, 1991; STTIT, 1991; CEULEMANS *et al.*, 1999; POORTER & PÉREZ-SOBA, 2002; AINSWORTH & LONG, 2005)

Alguns estudos com plantas e acréscimo de dióxido de carbono atmosférico relacionam o aumento do rendimento agrícola ao funcionamento dessas plantas no ecossistema (CURE & ACOCK, 1986; MOONEY *et al.*, 1991), por exemplo, o aumento de CO₂ pode melhorar alguns parâmetros que diminuem o estresse hídrico nas plantas (RODRIGUES, 2013). O CO₂ é a única fonte de carbono para a fotossíntese, portanto, seu aumento estimularia a fotossíntese e o crescimento principalmente das espécies C₃, causando um efeito de “fertilização” (SILVA, 2012) e ocasionando aumento na biomassa devido ao aumento da taxa fotossintética (GRANDIS *et al.*, 2010).

Assim os estômatos podem se fechar sob alta concentração de CO₂, tornando os efeitos das mudanças climáticas positivos para as folhas, por ocasionar aumento na fotossíntese e maior eficiência hídrica (YEPES & BUCKERIDGE, 2011).

O aquecimento do ambiente pode alterar quase todas as propriedades no ecossistema, como a composição vegetal, taxas de crescimento, estrutura do dossel e profundidade das raízes (LORETO & CENTRITTO, 2008). As plantas terrestres estão adaptadas para crescer e produzir massa em uma variação de temperatura entre 5 a 40°C, as espécies tropicais se desenvolvem melhor numa temperatura ótima entre 15 e 35°C (YEPES & BUCKERIDGE, 2011). O aumento da temperatura pode causar danos às plantas, principalmente em seu crescimento vegetativo, danificando os componentes fotossintéticos, o que leva à diminuição na assimilação de CO₂, quando comparadas às plantas que estão se desenvolvendo em temperatura “ótima”. Distúrbios na fotossíntese estão entre as primeiras indicações de estresse por calor, o fotossistema II é inibido e, em seguida, o metabolismo de carbono fica fora de equilíbrio, levando a danos nos cloroplastos, que resulta num déficit da fotossíntese causando a morte da célula. (BERRY & BJORKMAN, 1980; AL-KHATIB & PAULSEN, 1999; LARCHER, 1929). Algumas plantas sobrevivem a temperaturas elevadas por desenvolverem mecanismos de proteção, como inclinação das folhas, protegendo as partes mais sensíveis das plantas (LARCHER, 1929).

Estudos com plantas envolvendo mudanças climáticas e sua fisiologia, já são muitos na literatura, principalmente enfatizando a fotossíntese, taxas de crescimento, condutância e densidade estomática (WOODWARD, 1987; MALONE *et al.*, 1993; CEULEMANS *et al.* 1995; MARABESI, 2007; BUNCE, 2014; XU *et al.*, 2014). A formação das células epidérmicas durante a fase inicial de desenvolvimento da folha envolve mudanças tanto na densidade de células da superfície foliar como da quantidade de estômatos, sendo que a formação dos estômatos está relacionada com os sinais ambientais, como a luminosidade e as pressões de dióxido de carbono (LAKE *et al.* 2001, 2002). Segundo Lima *et al.* (2003) em eucalipto foram observadas respostas estomáticas ao aumento da concentração de CO₂ e ao estresse hídrico, com menores taxas de condutância estomática e maior fechamento dos estômatos nos tratamentos com aumento do dióxido de carbono. Resultados semelhantes também foram observados por Lammertsma *et al.* (2011) em coníferas, samambaias e angiospermas mais comuns na Florida. Rodrigues (2013), observou em *Panicum maximum* Jacq. que o aumento na concentração de CO₂ exerce maior influência sobre os parâmetros avaliados, como a redução da condutância estomática e da taxa transpiratória. Karowe & Grubb (2011) observaram, em *Brassica rapa* L. que em elevada concentração de CO₂, ocorre aumento da densidade de tricomas e queda na produção de compostos fenólicos, os quais aumentam sob CO₂

ambiente. Riikonen *et al.* (2010) analisaram as folhas de *Betula papyrifera* Marsh. expostas por nove anos a alta concentração de dióxido de carbono e observam redução do tamanho das células epidérmicas bem como redução na densidade das células epidérmicas, porém as folhas não mudaram de tamanho e a densidade estomática permaneceu inalterada, já o índice estomático teve um aumento. Zhang *et al.* (2012) observaram em *Impatiens hawkeri*, uma espécie ornamental, sob elevada concentração de CO₂, um aumento na produção de flores e aumento na fotossíntese, além de alterações significativas no cloroplasto, sendo que esses resultados mostram-se positivos frente ao valor ornamental da espécie.

Gesneriaceae é uma das famílias tropicais mais diversas, com cerca de 150 gêneros e 4000 espécies, de grande valor ornamental, devido as suas flores grandes e vistosas, entretanto, as espécies nativas de valor ornamental no Brasil ainda são subexploradas (SOUZA & LORENZI, 2012). No Brasil ocorrem 28 gêneros e cerca de 200 espécies (SOUZA & LORENZI, 2012). A espécie *Seemannia sylvatica* (Kunth) Hanstein (sinonímia *Gloxinia sylvatica*) (Fig. 1) é nativa do Brasil e pertencente à família Gesneriaceae. São plantas herbáceas, perenes com rizomas escamosos, numerosas flores de corolas vistosas e tubulares, com presença de tricomas (ARAUJO & CHAUTEMS, 2015; ROALSON *et al.* 2005). Apresenta distribuição na Bolívia, Brasil e Peru, formando densas populações em encostas de rios, zonas abertas da planície amazônica e em bosques.



Figura 1. Hábito de *Seemannia sylvatica*.

É uma espécie com alto valor econômico, devido ser amplamente comercializada como espécie ornamental (WIEHLER, 1976).

Na literatura poucos são os trabalhos relacionados a *S. sylvatica*, destacando-se apenas uma pesquisa sobre sua polinização e biologia floral (CAMARGO *et al.*, 2011) e outra sobre sua forma de propagação vegetativa (LEAL & BIONDI, 2007). Da mesma forma trabalhos envolvendo anatomia foliar de espécies de Gesneriaceae são escassos (SOLEREDER, 1908; IMAICHI *et al.*, 2001). Por ser uma espécies de ocorrência em regiões tropicais, cujo delicado equilíbrio pode ser afetado pelas mudanças climáticas em curso, o presente estudo tem por objetivo descrever a anatomia foliar de *S. sylvatica*, além de investigar as respostas de *S. sylvatica* exposta à elevada concentração de CO₂ e temperatura a fim de verificar possíveis modificações na estrutura dos diferentes tecidos foliares relacionadas à atmosfera futura. Além disso fornecerá informações inéditas sobre a anatomia foliar da referida espécie.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Local

O experimento foi realizado em casa de vegetação na Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC) e mantido por 30 dias após o plantio das mudas. Durante o período experimental o controle da temperatura foi mantido com condicionador de ar e registrado com sensores digitais de temperatura, com bateria interna e cápsula em aço inoxidável (Ibuttons datalogger). A concentração do CO₂ foi controlada por solenóide acoplado ao cilindro de gás, a qual foi medida semanalmente através de analisador de trocas gasosas por infravermelho (IRGA, Li-cor), o suprimento hídrico foi fornecido a base diária, cerca de 200 mL.

As câmaras foram confeccionadas com garrafas pet de 5 L. Em cada uma foram inseridos tubos independentes para injeção de dióxido de carbono, ar frio e exaustão dos gases (para evitar a contaminação dos tratamentos) (Fig. 2A-D).

Ao final do 30º. dia de experimento foram coletadas as folhas, necessárias de cada tratamento, a partir do segundo nó caulinar, em número distinto para cada análise.



Figura 2. Experimento em casa de vegetação da UFSC. A. Visão geral do arranjo experimental. B. Mudas de *Seemannia sylvatica*. C. Detalhe das câmaras acopladas aos vasos. D. Detalhe do IRGA medidor de [CO₂].

2.2 Condições de cultivo

As plantas foram obtidas por clonagem de um único indivíduo de *S. sylvatica* as quais foram transplantadas com cerca de 3-5 cm de comprimento para vasos com capacidade de 10 L, contendo substrato formado por solo, areia e húmus, na proporção 3:1:1 respectivamente. Sobre os vasos foram adaptadas câmaras transparentes para aplicação dos tratamentos de dióxido de carbono e temperatura.

As concentrações de dióxido de carbono e a temperatura foram medidos durante as quatro semanas ao longo do experimento, sendo seus valores médios representados nas Tabelas 1 e 2, respectivamente.

Tabela 1. Concentrações médias e erro padrão da concentração de dióxido de carbono no interior das câmaras, por semana, durante o experimento.

Tratamento	Dióxido de carbono ppm
CO ₂ ambiente	401±3,28
CO ₂ elevado	689±3,45

Tabela 2. Temperatura média e erro padrão no interior das câmaras durante o experimento.

Tratamento	Temperatura média °C
Temperatura ambiente	21,67±0,08
Temperatura elevada	23,09±0,10

2.3 Variáveis analisadas

2.3.1 Área foliar

Para determinação da área foliar foram utilizadas 22 folhas de cada tratamento, sendo excluído 2 medidas de cada tratamento sendo consideradas *outliers*. Para tanto foi realizado o contorno de cada folha em papel com peso constante (tamanho ofício padrão 75g/m²), em seguida os moldes foram recortados e pesados em balança digital. O peso destes moldes foi relacionado com o peso médio de área conhecida em cm² do mesmo papel, tendo a determinação da área foliar em cm².

2.3.2 Epiderme

Foi analisada a superfície foliar e a densidade de tricomas em ambas as faces epidérmicas, mensuradas em Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV). Para isso, cinco amostras da região mediana das folhas, de cada tratamento, foram fixadas em FAA 70° GL (JOHANSEN, 1940), desidratadas em série etílica crescente até álcool etílico 100° GL e submetidas ao ponto crítico de CO₂ (Leica CDP 03, Germany). As amostras secas foram fixadas em suportes de alumínio, com fita dupla face de carbono e cobertas com 20 nm de ouro em metalizador (Baltec CED 030) e analisadas em Microscópio Eletrônico de Varredura (Jeol JSM-6390 LV) no Laboratório Central de Microscopia (LCME) da UFSC. Para a contagem dos tricomas foram registradas quatro imagens distintas de cada amostra, contendo cinco amostras de cada tratamento, num total de 20 contagens para cada tratamento, sendo excluída uma contagem de cada tratamento considerada *outliers*, de ambas as faces epidérmicas num aumento de 110X, correspondendo à uma área de 1,15

mm², porém os dados foram convertidos para área correspondente à 1,0 mm².

Foram ainda mensurados os seguintes parâmetros: NCEP = número de células epidérmicas por campo (face abaxial); DE = densidade estomática por 1,0 mm²; DPOE = diâmetro polar dos estômatos em μm ; DEQE = diâmetro equatorial dos estômatos em μm , IE = índice estomático em % ($IE = [NE / (NE + NCEP)] \times 100$), onde NE corresponde ao número de estômatos, e RE = razão estomática em μm ($RE = DPOE / DEQE$). Para essas análises amostras de cinco folhas por tratamento, foram submetidas à dissociação (FRANKLIN, 1945), posteriormente lavadas em água, coradas com safranina 1% (BUKATSCH, 1972), a epiderme dissociada foi montada em lâminas semi-permanentes com glicerina 50%, cobertas com lamínula. As lâminas foram analisadas em fotomicroscópio (Leica DM 2500) acoplado em câmera DFC 295 com auxílio do software Leica Application Suit 3.7.0.

2.3.3 Lâmina foliar

Para o estudo quantitativo e qualitativo da lâmina foliar foram utilizadas a região mediana de dez folhas, de cada tratamento, as quais foram fixadas em FAA 70° GL (JOHANSEN, 1940) por 24 horas e posteriormente conservadas em etanol 70% (SASS, 1951). Posteriormente as amostras foram infiltradas em hidroxietilmetacrilato (historesina Leica), de acordo com as regras do fabricante, seccionadas (5 μm) em micrótomo rotativo (Leica RM 2125 RT) e coradas com azul de toluidina pH 5,8 (FEDER & O'BRIEN, 1968).

Foram mensurados os seguintes parâmetros em μm : EEAD = espessura da epiderme na face adaxial; EEAB = espessura da epiderme na face abaxial; EPP = espessura do parênquima paliçádico; EPE = espessura do parênquima esponjoso e EF = espessura da lâmina foliar.

Foram ainda realizados os testes histoquímicos em cinco amostras de folhas por tratamento, previamente fixadas, as quais foram seccionadas transversalmente a mão livre, com auxílio de lâmina de barbear, e posteriormente submetidas aos seguintes reagentes: Sudan IV (SASS, 1951) para a identificação de lipídeos, cloreto férrico (JOHANSEN, 1940) para compostos fenólicos e lugol para identificação de amido (BERLYN & MIKSCHE, 1976). Todas as lâminas foram analisadas em fotomicroscópio descrito acima.

2.4 Delineamento experimental

Os tratamentos realizados foram: T1) 401 ppm de CO₂ e temperatura ambiente (temperatura média: 21,67±0,08) (controle); T2) 401 ppm de CO₂ e temperatura elevada (cerca de 3°C acima da temperatura ambiente) (temperatura média: 23,09±0,10); T3) 689 ppm de CO₂ e temperatura ambiente; T4) 689 ppm de CO₂ e temperatura elevada (cerca de 3°C acima da temperatura ambiente). O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com quatro tratamentos e nove repetições, cada repetição constituída por duas mudas, totalizando 18 plantas (indivíduos) por tratamento.

2.5 Análises Estatísticas

O teste T foi utilizado para testar a diferença significativa entre os dados abióticos medidos durante o experimento. O modelo linear generalizado (GLM) foi utilizado para testar as hipóteses de tamanho da área e densidade dos tricomas entre os tratamento e o modelo linear generalizado misto (GLMM) foi utilizado para testar as hipóteses referentes aos dados de estômatos e tecidos da lâmina. Todos os testes foram realizados com nível de significância 5% e intervalo de confiança 95%, para tal testes foi utilizado o programa estatístico R.

3. RESULTADOS

3.1 Área foliar

A área foliar foi significativamente maior nos tratamentos com temperatura elevada (T2 e T4), sendo que o fator CO₂ não apresentou diferença significativa para esse parâmetro (Fig. 3).

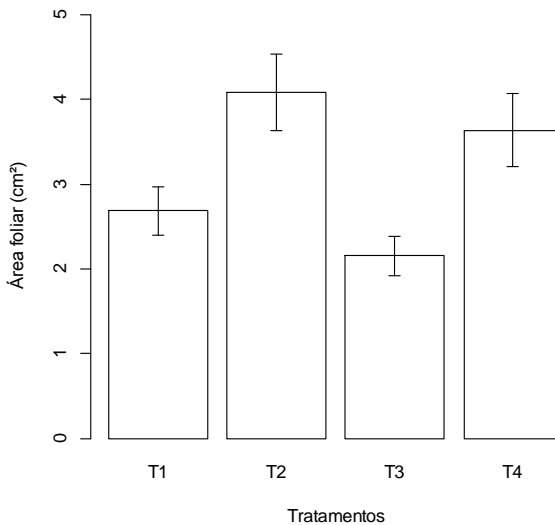


Figura 3. Valores médios e erro padrão, da área foliar de *Seemannia sylvatica* submetidas aos diferentes tratamentos. T1 (controle); T2: ↑T/(a)CO₂; T3: (a)T/↑CO₂; T4: ↑T/↑CO₂. (a) ambiente.

3.2 Epiderme

Em vista frontal as células epidérmicas apresentam paredes com contorno sinuoso em ambas as faces, porém com sinuosidade mais acentuada na face abaxial (Fig. 4C, F, I, L; 4A-H). Observam-se ainda a presença de tricomas não glandulares e tricomas glandulares em ambas as faces (Fig. 4A-L; Figura 6A-H). Os tricomas tectores são unisseriados, pluricelulares, com duas a três células e base multicelular (Fig. 6A, C, E, G; 7C-F, L). Os tricomas glandulares são do tipo capitado com pedúnculo bisseriado curto e cabeça secretora com uma à quatro células (Fig. 6B, D,

F, H). A folha é hipostomática com estômatos anomocíticos (Fig. 4C, F, I, L; 5A-H).

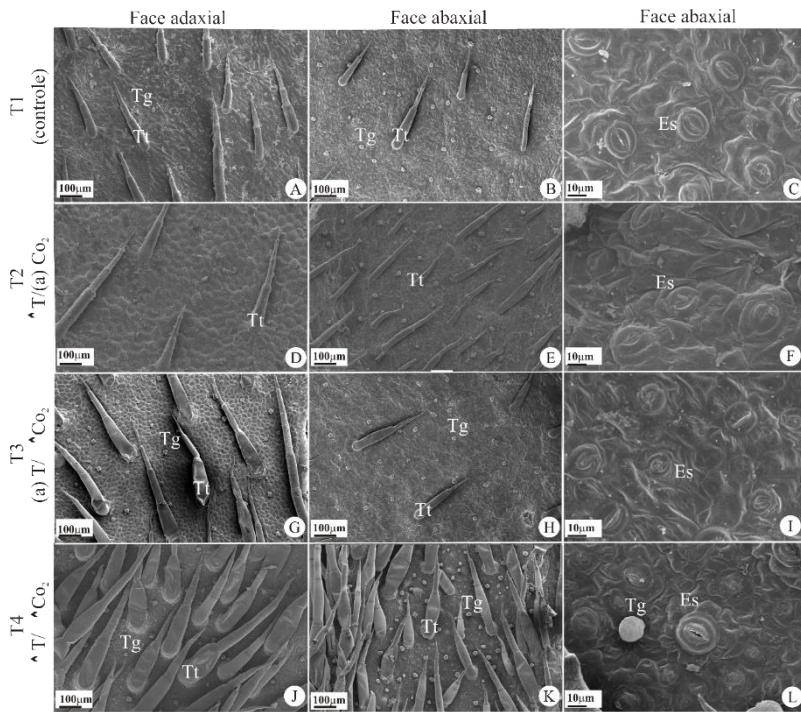


Figura 4. A-L. Eletromicrografia da folha de *Seemannia sylvatica* sob diferentes tratamentos. Observam-se tricomas tectores (Tt), glandulares (Tg) e estômatos (Es).

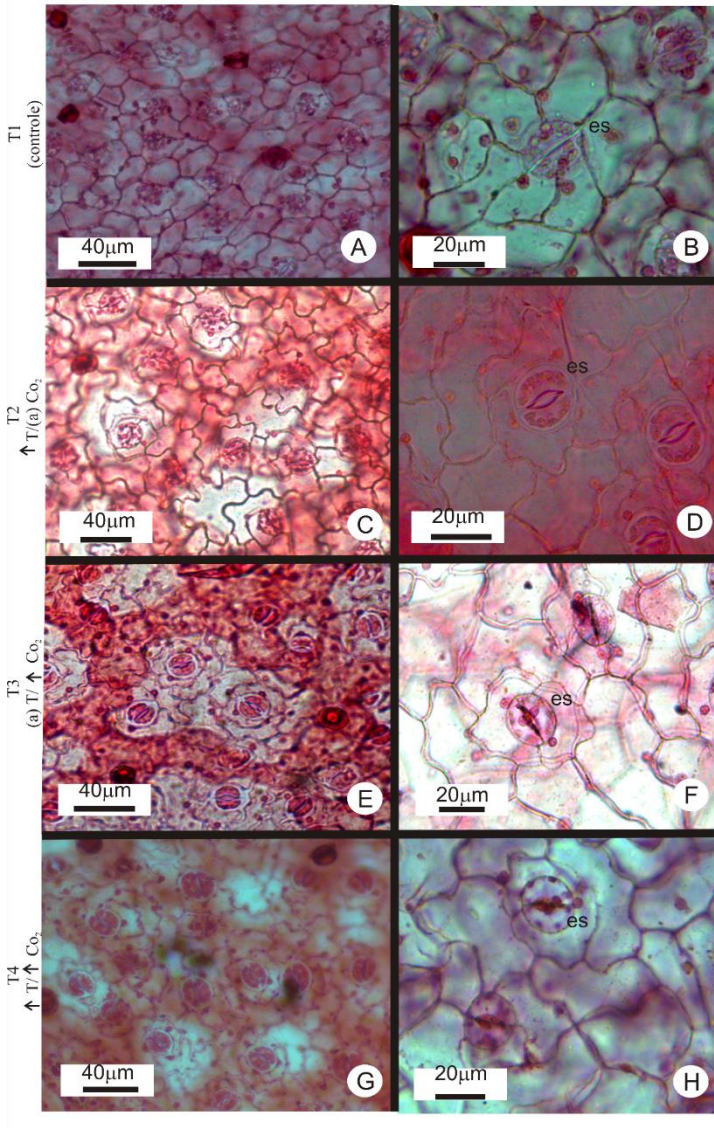


Figura 5. A-H Vista frontal da face abaxial da folha de *Seemannia sylvatica* submetida à diferentes tratamentos. Observam células epidérmicas comuns com paredes sinuosas e estômatos anomocíticos (es).

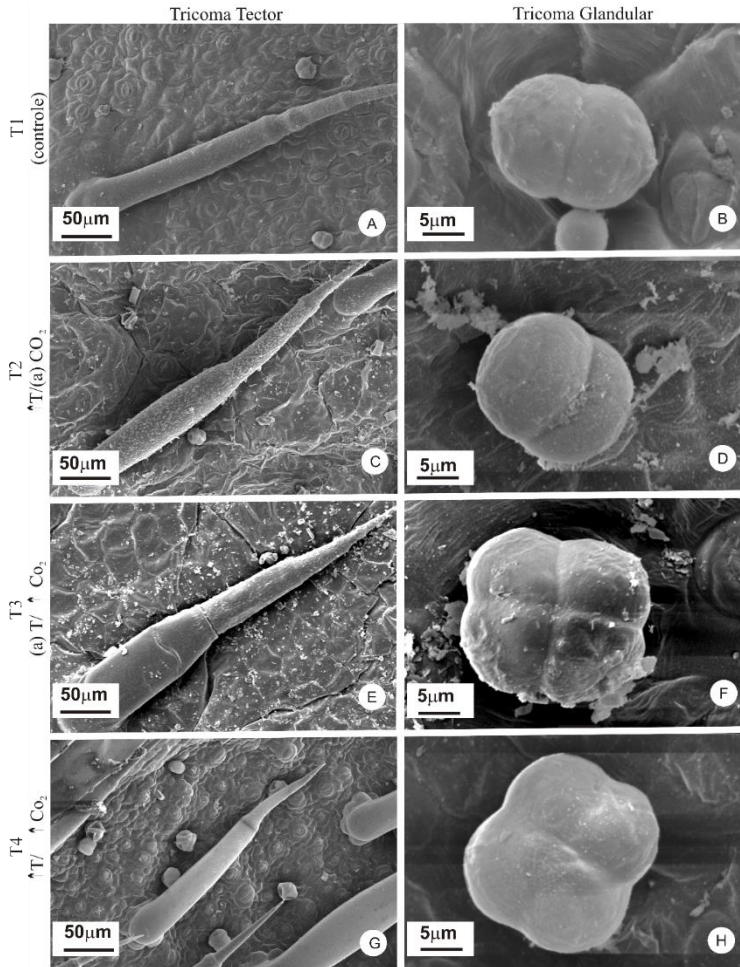


Figura 6. A-H Eletromicrografias da folha de *Seemannia sylvatica* submetida à diferentes tratamentos. A-C; F-G. Epiderme abaxial. D-E, H. Epiderme adaxial.

A análise da densidade dos tricomas em ambas as faces (Tabela 3) indicou que não houve diferença significativa entre os fatores temperatura e CO₂ com exceção dos tricomas glandulares da face abaxial, os quais foram significativamente mais abundantes em temperatura elevada e interação da temperatura e CO₂ elevados.

Tabela 3. Valores médios e erro padrão da densidade de tricomas de *Seemannia sylvatica* em ambas as faces foliares submetidas aos diferentes tratamentos. Medidos em número/mm².

	T1 (controle)	T2 (T↑, CO ₂ (a))	T3 (T (a), CO ₂ ↑)	T4 (T↑, CO ₂ ↑)
Tricoma tector adaxial	10,57 ± 1,25	9,88 ± 1,91	9,75 ± 0,95	14 ± 1,55
Tricoma glandular adaxial	15,7 ± 2,26	14,55 ± 1,84	14,6 ± 1,97	19,13 ± 2,15
Tricoma tector abaxial	12,63 ± 1,22	17,16 ± 1,85	10,07 ± 0,99	17,44 ± 3,4
Tricoma glandular abaxial	45,63 ± 4,6	27,09 ± 2,73	47,88 ± 6,44	65,03 ± 4,44

(a) ambiente.

O estudo quantitativo dos estômatos pode ser observado na tabela 4. O maior diâmetro polar (DPOE) significativo foi observado em temperatura elevada, seguido pelo tratamento com elevado CO₂ e interação de ambos. O maior diâmetro equatorial (DEQE) significativo ocorreu em elevado CO₂ e elevada temperatura, seguido da interação de ambos os fatores. Os diâmetros diferiram significativamente em tamanho para ambos os fatores, bem como a junção deles. A razão estomática mostrou variação significativa em temperatura elevada, bem como em CO₂ elevado, porém a interação dos dois fatores não mostrou variação. A temperatura elevada causou maior aumento significativo no índice estomático seguido pelo tratamento com interação entre os dois fatores e depois pelo tratamento com elevação de CO₂. A densidade estomática foi significativamente maior no controle, seguida pelo tratamento com aumento de temperatura, interação dos fatores e elevado CO₂.

Tabela 4. Valores médios e erro padrão dos parâmetros estomáticos da folha de *Seemannia sylvatica* submetidas aos diferentes tratamentos.

	T1 (controle)	T2 (T↑, CO ₂ (a))	T3 (T (a), CO ₂ ↑)	T4 (T↑ CO ₂ ↑)
DPOE (μm)	18,51 ± 0,16	23,01 ± 0,23	22 ± 0,16	22 ± 0,17
DEQE (μm)	16,2 ± 0,13	19,63 ± 0,18	19,82 ± 0,14	18,83 ± 0,15
RE (μm)	1,15 ± 0,009	1,18 ± 0,009	1,12 ± 0,009	1,18 ± 0,01
IE (%)	16,27 ± 1,15	25,99 ± 1,39	19,55 ± 1,21	21,83 ± 1,87
DE (n°/mm ²)	37,6 ± 1,15	31,28 ± 1,39	23,92 ± 1,21	29,52 ± 1,87
NCEP (n°/mm ²)	97,32 ± 2,09	44,24 ± 0,83	48,6 ± 0,84	52,48 ± 2,26

(a) ambiente; DPOE diâmetro polar dos estômatos; DEQE diâmetro equatorial dos estômatos; RE razão estomática; IE índice estomático; DE densidade estomática; NCEP número de células epidérmicas.

3.4. Lâmina foliar

Em secção transversal da região mediana da folha de *S. sylvatica* (Fig. 7A-L), em todos os tratamentos, observam-se a epiderme esporadicamente biestratificada na face adaxial e uniestratificada na face abaxial, com paredes finas e cutícula delgada em ambas as faces (Fig. 7A-L). As células epidérmicas da face adaxial são quadradas e maiores, apresentando características de tecido com reserva de água, em relação àquelas da face abaxial, as quais são retangulares e achatadas (Fig. 7B, E), nestas observam-se os estômatos localizados no mesmo nível das demais células epidérmicas (Fig. 7B, H, K). Observam-se também, em ambas as faces, tricomas tectores e tricomas glandulares (Fig. 6D-F), chama-se atenção a base pluricelular dos tricomas tectores (Fig. 7C-D, F). O mesofilo é dorsiventral, com uma a duas camadas de parênquima paliçádico de células pouco alongadas e cerca de cinco à sete camadas de parênquima esponjoso com espaços intercelulares conspícuos. Os feixes

vasculares são colaterais de pequeno calibre (Fig. 7D, J). A nervura mediana é plana adaxialmente e convexa abaxialmente (Fig. 7C, F, L). A região pode parecer adaxialmente convexa quando visualizada a base multicelular de tricomas não glandulares (Fig. 7I). Internamente à epiderme da face abaxial há presença de colênquima anelar pouco evidente. O sistema vascular é representado por um feixe colateral central (Fig. 7C, F, L), que pode ser visualizado se dividindo e originando as nervuras laterais (Fig. 7I).

Os testes histoquímicos para detecção de amido, compostos de origem lipofílica e compostos fenólicos foram negativos para todos os tratamentos.

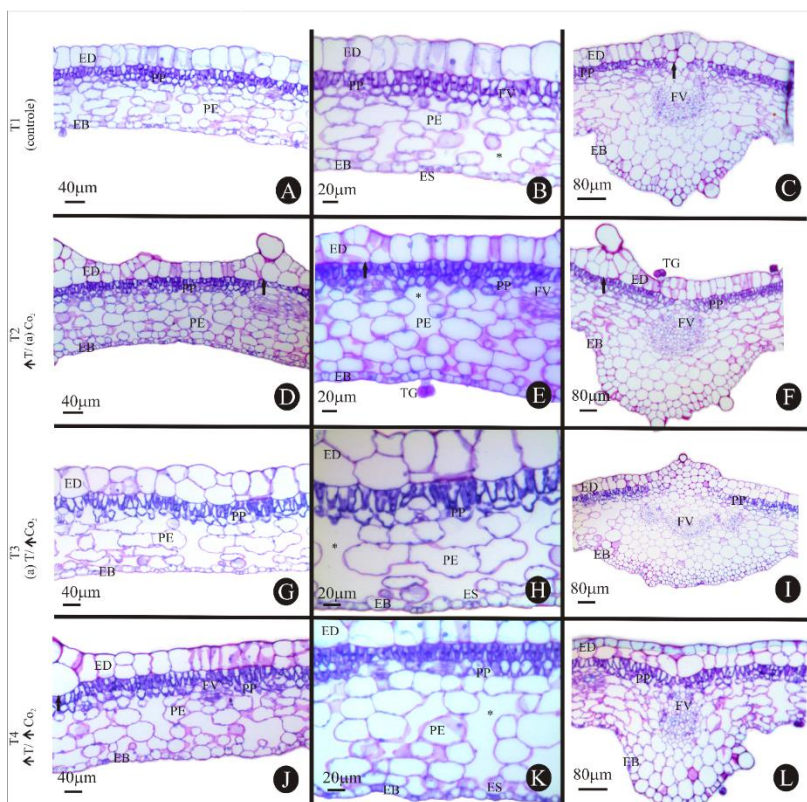


Figura 7. A-L Seções transversais de folhas de *Seemannia sylvatica* submetidas à diferentes tratamentos. Observam-se epiderme unisseriada, mesofilo dorsiventral, estômatos, tricomas, Nervura mediana central com feixe vascular colateral C; F; I; L com feixe vascular colateral. ED: epiderme da face adaxial; EB: epiderme da face abaxial; ES: estômato; FV: feixe vascular; PE: parênquima esponjoso; PP: parênquima paliádico; TG: tricoma glandular; seta: base do tricoma tector; asterisco: espaços intercelulares.

A análise quantitativa dos tecidos constituintes da lâmina foliar, nos diferentes tratamentos, podem ser observadas na tabela 5. Observam-se os maiores valores para todos os parâmetros analisados no tratamento com CO₂ elevado, seguido pelo tratamento com a interação de CO₂ e temperatura elevados, os quais obtiveram os segundos valores mais altos. Chama-se atenção para o tratamento com elevada temperatura, onde os valores dos parâmetros foram sempre menores, exceto para a espessura do parênquima esponjoso, cujo menor valor apresentado foi no tratamento controle. Todos os parâmetros analisados diferiram significativamente ($p \leq 0,05$) para ambos os fatores e também para a interação deles, com exceção da espessura epiderme abaxial (EEAB), a qual não diferiu significativamente na interação de temperatura e CO₂ elevados.

Tabela 5. Valores médios e erro padrão dos parâmetros anatômicos foliares de *Seemannia sylvatica* submetidas aos diferentes tratamentos.

	T1	T2	T3	T4
	(controle)	(T↑, CO ₂ amb)	(T amb, CO ₂ ↑)	(T↑ CO ₂ ↑)
EEAD (μm)	43,81 ± 0,51	38,18 ± 0,79	58,45 ± 1,36	44,21 ± 0,63
EEAB (μm)	15,39 ± 0,35	13,17 ± 0,26	20,65 ± 0,52	15,7 ± 0,41
EPP (μm)	38,7 ± 0,79	35,76 ± 0,81	55,17 ± 1	44,8 ± 0,69
EPE (μm)	80,59 ± 1,58	107,78 ± 1,7	111,15 ± 2,42	118,52 ± 2,38
EF (μm)	172,9 ± 2,77	191,76 ± 2,69	240,21 ± 3,92	219,99 ± 2,66

(amb) ambiente; EEAD espessura epiderme adaxial; EEAB espessura epiderme abaxial; EPP espessura parênquima paliçádico; EPE espessura parênquima esponjoso; EF espessura da folha.

4. DISCUSSÃO

O aumento da concentração de CO₂, normalmente, estimula o aumento da área foliar (FERRIS & TAYLOR, 1994; CEULEMANS *et al.*, 1995; MORISON & LAWLOR, 1999; NORBY *et al.*, 1999; FERRIS *et al.*, 2001), assim como a taxa de desenvolvimento das plantas também pode ser acelerada pelo aumento da temperatura em curtos períodos de tempo (TAYLOR *et al.*, 1994; MORISON & LAWLOR, 1999). Taylor *et al.* (1994) observaram aumento da área foliar em concentrações elevadas de CO₂ devido à expansão das células epidérmicas em *Sanguisorba minor* e *Plantago media*. Entretanto, Peñuelas & Matamala (1990), Riikonen *et al.* (2008) e Riikonen *et al.* (2010) relatam ausência de alteração nos tamanhos das folhas sob alta concentração de CO₂. Espécimes de *S. sylvatica* cultivadas em maior concentração de CO₂ não mostraram aumento da área foliar, entretanto, quando cultivadas em temperatura elevada ou com ambos os fatores elevados, mostraram aumento da área foliar, esse aumento foi acompanhado por diminuição do número de células epidérmicas por campo, sugerindo que as células epidérmicas nesses tratamentos tenham aumentado de tamanho, aumentando a área foliar. De acordo com Andrade & Abreu (2007) temperaturas elevadas geralmente estão associadas à baixa umidade do solo, limitando a expansão da área foliar, entretanto, no presente estudo a disponibilidade hídrica diária foi controlada, esse fator pode ter contribuído para o aumento da área foliar em *S. sylvatica* em temperatura elevada.

Alguns estudos tem demonstrado que altas concentrações de CO₂ aumentam a espessura da folha (THOMAS & HARVEY, 1983; CEULEMANS, 1997), devido ao aumento dos tecidos constituintes do mesófilo, como a epiderme, hiperdeme e tecidos vasculares (LIN *et al.*, 2001) e também como aumento dos parênquimas (NORBY *et al.*, 1999). No presente estudo observa-se aumento da espessura total da folha causado pelo aumento nas espessuras das células epidérmicas de ambas as faces e no parênquima paliçádico. A epiderme adaxial de *S. sylvatica* apresenta células volumosas com paredes finas, as quais possivelmente estão relacionadas à reserva de água, portanto, o aumento na espessura da epiderme, também pode ser considerado uma estratégia para aumento da reserva de água. O parênquima paliçádico e o esponjoso são tipos de parênquima clorofiliano, os quais tem como principal função a fotossíntese, seu aumento pode estar relacionado ao aumento na taxa fotossintética, como observado em plantas submetidas à maiores concentrações de CO₂ (AIDAR *et al.*, 2002; LIMA *et al.*, 2003;

GRANDIS *et al.*, 2010; MORTARI, 2012, XU *et al.*, 2014). Lobo (2003), apesar de não ter observado resultados significativos no aumento do parênquima paliçádico, constatou incremento de 46% na fotossíntese das plantas de soja cultivadas sob elevada concentração de CO₂. Segundo Lin *et al.* (2001), que também observaram aumento da espessura das folhas de *Pinus silvestres*, devido ao aumento da espessura do parênquima clorofiliano, após 4 anos de exposição ao enriquecimento com dióxido de carbono, as alterações nos tecidos do mesófilo influenciam nas alterações fisiológicas das plantas. Desta forma, a maior disponibilidade de CO₂ favorece o maior desenvolvimento do parênquima clorofiliano bem como da taxa fotossintética, como observado em folhas de *S. sylvatica*.

Variações na densidade estomática podem estar relacionadas ao aumento da concentração de dióxido de carbono, bem como alterações na temperatura (FERNÁNDEZ *et al.*, 1998; BEERLING & CHALONER, 1993). Muitos autores relatam diminuição da densidade estomática em plantas submetidas ao aumento da concentração de CO₂ (WOODWARD 1987; MALONE *et al.*, 1993; PEÑUELAS & MATAMALA, 1999; LIN *et al.*, 2001; HETHERINGTON & WOODWARD, 2003; PAOLETTI & GRULKE, 2005; MACHADO, 2007), como observado no presente estudo. Entretanto, para as espécies *Pinus bankasiana* e *P. pinaster* foi relatado o aumento da densidade estomática sob elevada concentração de CO₂ (STEWART & HODDINOTT, 1993; GUEHL *et al.*, 1994) e em *Betula papyrifera* (RIIKONEN *et al.*, 2010) não há mudança na densidade estomática sob elevados níveis de CO₂. A densidade estomática está relacionada às trocas gasosas, à condutância estomática e também à eficiência do uso da água (LUOMALA *et al.*, 2005; WOODWARD & BAZZAZ, 1988). Embora não tenhamos medido a condutância estomática nesse estudo, seu efeito, relatado por outros autores, é que esta diminui em altas concentrações de CO₂, a qual geralmente vem acompanhada do aumento da taxa fotossintética (DRAKE *et al.*, 1997; AINSWORTH & ROGERS, 2007; MORTARI, 2012). Para Lin *et al.* (2001) e Wang & Kellomaki (1997) as mudanças paralelas na redução da densidade estomática e da condutância estomática podem ter consequências importantes na resposta da planta ao estresse hídrico sob elevados níveis de CO₂, já que a concentração elevada de CO₂ ou a combinação de CO₂ e temperatura elevados elevam em média, de 50 e 30% na eficiência do uso da água, respectivamente, em folhas de *Pinus silvestris* L. (WANG & KELLOMAKI, 1997). O enriquecimento de CO₂ aumenta a sua disponibilidade em relação à água, portanto, a redução da condutância estomática é um fator regulatório, já que o aumento de CO₂ reduz os esforços para aquisição da mesma (FIELD *et al.*, 1995). A menor

quantidade de estômatos na presença de alta concentração de CO₂, pode ser explicado pelo aumento no tamanho das células epidérmicas (CEULEMANS *et al.*, 1995; LIN *et al.*, 2001), em *S. sylvatica* também foi observado a diminuição do número de estômatos em CO₂ elevado com diminuição do número de células epidérmicas por campo, sugerindo aumento no tamanho das células epidérmicas.

A temperatura é um fator de grande relevância para a configuração da anatomia dos estômatos (PANDEY *et al.*, 2007), em *S. sylvatica* os estômatos foram mais largos e mais compridos com elevada temperatura, também apresentando o maior índice estomático nessa mesma condição, o tamanho do estômato relaciona-se com a transpiração na planta, se a temperatura aumenta a transpiração se eleva, sendo sensíveis também ao aumento de CO₂ (MORISON & LAWLOR, 1999; VIEIRA *et al.*, 2010), podendo esse fator ser um mecanismo de resfriamento para a planta. A razão estomática foi significativamente diferente em alta concentração de CO₂ e em elevada temperatura, corroborando o trabalho realizado por Alves *et al.* (2001), o qual observaram em *Tradescantia* (clone híbrido 4430) que os estômatos da face abaxial são maiores em ambientes poluídos quando comparados ao controle, porém não obtiveram mudanças significativas no índice estomático. Concluímos que *S. sylvatica* apresentou mudanças significativas na configuração de sua anatomia estomática frente às condições impostas de alta temperatura.

Em *S. sylvatica* não houve alteração significativa na quantidade de tricomas tectores nos tratamentos analisados. A literatura relata diferentes resultados em plantas submetidas à altas concentrações de CO₂, como em *Betula papyrifera* e *Asclepias syriaca* as quais não mostram variação de tricomas (RIKONEN *et al.*, 2010; VANNETTE & HUNTER, 2011), *Brassica nigra* (TRAW & DAWSON, 2002) em e *B. rapa* (KAROWE & GRUBB, 2011) a qual mostra aumento da densidade de tricomas ou ainda como em *Arabidopsis thaliana* que diminui a densidade de tricomas com elevados níveis de dióxido de carbono (BIDART-BOUZAT *et al.*, 2005; LAKE & WADE, 2009). Em *S. sylvatica* observamos aumento de tricomas glandulares na face abaxial em elevada temperatura e na interação dos fatores temperatura e CO₂ elevados. Os tricomas podem reduzir a ovoposição, crescimento e sobrevivência de insetos herbívoros, funcionando como uma defesa mecânica e química para a planta (SIMMONS & GURR, 2005; PLETT *et al.*, 2010). Karowe & Grubb (2011) relatam ainda que em *B. rapa* o CO₂ elevado aumenta a densidade de tricomas, aumentando a defesa mecânica, entretanto, diminuem as defesas químicas, os fenólicos. *S. sylvatica* não apresentou

reação positiva para compostos fenólicos nos tratamentos analisados. Segundo os mesmo autores acima citados, essas variações de respostas no número de tricomas sob elevadas concentrações de CO₂ devem permanecer em estudos, como assunto de alta relevância.

Os resultados revelam que a folha de *S. sylvatica* é sensível ao aumento da temperatura e ao aumento da concentração de CO₂ mostrando variação na estrutura anatômica das folhas como: aumento da área foliar e na densidade de tricomas glandulares da face abaxial; redução da densidade estomática; aumento da espessura da folha, devido ao aumento da espessura da epiderme e parênquima paliçádico e esponjoso. Entretanto, não mostra variação na densidade de tricomas tectores. Tais variações possivelmente estão compensando a atmosfera futura e estão permitindo a sobrevivência da referida espécie. Os resultados aqui apresentados sugerem a continuação dos estudos anatômicos sob condições de clima futuro, para entender como as diversas espécies irão se comportam frente às mudanças climáticas.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AIDAR, M. P. M.; MARTINEZ, C. A.; COSTA, A. C.; COSTA, P. M. F., DIETRICH, S. M. C.; BUCKERIDGE, M. S. Effect of atmospheric CO₂ enrichment on the establishment of seedlings of jatobá, *Hymenaea courbaril* L. (Leguminosae, Caesalpinioideae). *Biota Neotropica*, v. 2(1), p. 1-10, 2002.

AINSWORTH, E. A.; LONG, S. P. What have we learned from 15 years of free-air CO₂ enrichment (FACE)? A meta-analytic review of the responses of photosynthesis, canopy properties and plant production to rising CO₂. *New Phytologist*, v. 165, p. 351-372, 2005.

AINSWORTH, E. A. & ROGERS, A. The response of photosynthesis and stomatal conductance to rising [CO₂]: mechanisms and environmental interactions. *Plant, Cell and Environment*, v. 30, p. 258-270, 2007.

AL-KHATIB, K. & PAULSEN, G. M. High-temperature effects on photosynthetic processes in temperate and tropical cereals. *Crop Science*, v. 39, p. 119-125, 1999.

ALVES, E.S.; GIUSTI, P.M.; DOMINGOS, M.; SALDIVA, P.H.; GUIMARÃES, E.T.; LOBO, D.J. Estudo anatômico foliar do clone híbrido 4430 de *Tradescantia*: alterações decorrentes da poluição aérea urbana. *Revista Brasileira de Botânica*, v. 24, p. 567-576, 2001.

AMTHOR, J. S. Respiration in a future, higher-CO₂ world. *Plant, Cell and Environment*, v. 14, p. 13-20, 1991.

ANDRADE, J. A. & ABREU, F. G. Influência da temperatura e do teor de humidade do solo na área foliar e acumulação de matéria seca durante o estabelecimento da ervilha, do milho e do girassol. *Revista de Ciências Agrárias*, v. 1, p. 27-37, 2007.

APOLLO11 2017. Relógio Carbônico CO₂. Disponível em: <<http://www.apolo11.com/relogiocarbonico.php>> Acessado em 06.02.2017.

ARAUJO, A. O. & CHAUTEMS, A. 2015. *Seemannia* in Lista de Espécies da Flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro.

Disponível em:
 <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB7878>> Acessado em 30.11.2016.

BERLYN, G. P. & MIKSCHE, J. P. Botanical microtechnique and cytochemistry. Ames: Iowa State University, p. 121, 276. 1976.

BEERLING, D. J. & CHALONER, W. G. The impact of atmospheric CO₂ and temperature change on stomatal density: observations from *Quercus robur* lammas leaves. *Annals of Botany*, v. 71, p. 231-235, 1993.

BERRY, J. & BJORKMAN, O. Photosynthetic response and adaptation to temperature in higher plants. *Annual Review of Plant Physiology*, v. 31, p. 491-543, 1980.

BIDART-BOUZAT, M.; MITHEN, R.; BERENBAUM, M. Elevated CO₂ influences herbivory-induced defense responses of *Arabidopsis thaliana*. *Oecologia*. v. 145, p. 415–424, 2005.

BROWN, H. T. & ESCOMBE, F. The influence of varying amounts of carbon dioxide in the air on the photosynthetic process of leaves and on the mode of growth of plants. *Proceedings of the Royal Society of London*, v. 70, p. 397-413, 1902.

BUCKERIDGE, M.S. *Biologia & Mudanças Climáticas no Brasil*. São Carlos: Ed. Rima, 316p., 2008.

BUKATSCH, F. Bemerkungen zur Doppel färbung Astrablau-Safranin. *Mikrokosmos*, v. 61, p.255, 1972.

BUNCE, J. A. Limitations to soybean photosynthesis at elevated carbon dioxide in free-air enrichment and open top chamber systems. *Plant Science*, v. 226, p. 131-135, 2014.

CAMARGO, E.; RODRIGUES, L. C.; ARAUJO, A. C. Pollination biology and reproduction of *Seemannia sylvatica* (Kunth) Hanstein (Gesneriaceae) in the Serra da Bodoquena National Park, Mato Grosso do Sul. *Biota Neotropica*, v. 11, n. 4, p. 125-130, 2011.

CEULEMANS, R.; JIANG, X. N.; SHAO, B. Y. Growth and physiology of one-year-old poplar (*Populus*) under elevated atmospheric CO₂ levels. *Annals of Botany*, v. 75, p. 609–617, 1995.

CEULEMANS, R. Direct impacts of CO₂ and temperature on physiological processes in trees. In: *Impacts of global change on tree physiology and forest ecosystems*. Springer Netherlands, p. 3-14, 1997.

CEULEMANS, R.; JANSSEN, I. A.; JACH, M. E. Effects of CO₂ enrichment on trees and forests: lessons to be learned in view of future ecosystem studies. *Annals of Botany*, v. 84, p. 577-590, 1999.

CURE, J. D. & ACOCK, B. Crop responses to carbon dioxide doubling: a literature survey. *Agricultural and Forest Meteorology*, v. 38, p. 127-145, 1986.

DRAKE, B. G.; GONZÁLEZ-MELER, M. A.; LONG, S. P. More efficient plants: a consequence of rising atmospheric CO₂? *Annual Reviews on Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, v. 48, p. 609-639, 1997.

FEDER, N. & O'BRIEN, T. P. Plant microtechnique: some principles and new methods. *American Journal of Botany*. v. 55, p. 123-142, 1968.

FERRIS, R.; SABATTI, M.; MIGLIETTA, F.; MILLS, R. F.; TAYLOR, G. Leaf area is stimulated in *Populus* by free air CO₂ enrichment (POPFACE), through increased cell expansion and production. *Plant, Cell & Environment*, v. 24, n. 3, p. 305-315, 2001.

FERRIS, R. & TAYLOR, G. Stomatal characteristics of four native herbs following exposure to elevated CO₂. *Annals of Botany*, v. 73, n. 4, p. 447-453, 1994.

FIELD, C. B.; JACKSON, R. B.; MOONEY, H. A. Stomatal responses to increased CO₂: implications from the plant to the global scale. *Plant, Cell and Environment*, v. 18, p. 1214-1225, 1995.

FRANKLIN, G. L. Preparation of thin sections of synthetic resin and wood-resin composites, and a new macerating method for wood. *Nature*, v. 155, p. 51, 1945.

GUEHL, J. M.; PICON, C.; AUSSENAC, G.; GROSS, P. Interactive effects of elevated CO₂ and soil drought on growth and transpiration efficiency and its determinants in two European forest tree species. *Tree Physiology*, v.14, p. 707-724, 1994.

GRANDIS, A; GODOI, S.; BUCKERIDGE, M. S. Respostas fotossintéticas e de crescimento da espécie amazônica *Senna reticulata* sob elevada concentração de CO₂. Dissertação de Mestrado em Ciências, na área de Fisiologia e Bioquímica de Plantas – Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo, 126. São Paulo, 2010.

HETHERINGTON, A. M., WOODWARD, F. I. The role of stomata in sensing and driving environmental change. *Nature*, v. 424, p. 901–908, 2003.

HUNT, R.; HAND, D.W.; HANNAH, M.A.; NEAL; A.M. Response to CO₂ enrichment in 27 herbaceous species. *Functional Ecology*, v. 5, p. 410–421, 1991.

IMAICHI, R.; INOKUCHI, S.; KATO, M. Developmental morphology of one-leaf plant *Monophyllaea singularis* (Gesneriaceae). *Plant Systematics and Evolution*, v. 229, n. 3, p. 171-185, 2001.

INTERGOVERNMENTAL PAINEL ON CLIMATE CHANGE. Climate Change 2007: The Physical Science Basis IPCC WGI, TAR,18p. 2007.

INTERGOVERNAMENTAL PAINEL ON CLIMATE CHANGE. Climate change 2013: The Physical Science Basis. Contribution of Working Group I to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change. Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom and New York, NY, USA, 1535p., 2013.

INTERGOVERNAMENTAL PAINEL ON CLIMATE CHANGE. Summary for Policymakers. In: Climate Change 2014: Impacts, Adaptation, and Vulnerability. Part A: Global and Sectoral Aspects. Contribution of Working Group II to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate. Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom and New York, NY, USA, p. 1-32, 2014.

INTERGOVERNAMENTAL PAINEL ON CLIMATE CHANGE. Future Work of the IPCC: Consideration of the Recommendations by the Task Group on Future Work of the IPCC, 2015.

JONHANSEN, D.A. Plant microtechnique. McGraw-Will, New York. 491p., 1940.

KORNER, C. 2006. Plant CO₂ responses: na issue of definition, time and resource supply. *New Phytologist*, v. 172, p. 393-411, 2006.

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

KAROWE, D. N. & GRUBB, C. Elevated CO₂ increases constitutive phenolics and trichomes, but decreases inducibility of phenolics in *Brassica rapa* (Brassicaceae). *Journal of Chemical Ecology*, v. 37, p. 1332-1340, 2011.

LAKE, J. A.; QUICK, W. P.; BEERLING, D. J.; WOODWARD, F. I. Plant development signals from mature to new leaves. *Nature*, v. 411, p. 154, 2001.

LAKE, J. A.; WOODWARD, F. I.; QUICK, W. P. Long-distance CO₂ signalling in plants. *Journal of Experimental Botany*, v. 53, p. 183-193, 2002.

LAKE, J. & WADE, R. Plant-pathogen interactions and elevated CO₂: morphological changes in favour of pathogens. *Journal of Experimental Botany*, v. 60, p. 3123–3131, 2009.

LAMBERS, H.; CHAPIN, S. F.; PONS, T. *Plant Physiological Ecology*. Second edition. Springer. 604p. 2008.

LAMMERTSMA, E. I.; BOER, H. J.; DEKKER, S. C.; DILCHER, D. L.; LOTTER, A. F.; CREMER, F. W. Global CO₂ rise leads to reduced maximum stomatal conductance in Florida vegetation. *Proceedings of de National Academy of Sciences*, v. 108, p. 4035-4040, 2011.

LAWLOR, D. W. Photosynthesis, productivity and environment. *Journal of Experimental Botany*, v. 46, p. 1449–1461, 1995.

LEAL, L. & BIONDI, D. Propagação vegetativa de *Gloxinia sylvatica* (HB & K.) Wiehler. Revista Brasileira de Biociências, v. 5, n. 1, p. 300-302, 2007.

LIMA, W. P.; JARVIS, P.; RHIZOPOULOU, S. Stomatal responses of *Eucaliptus* species to elevated CO₂ concentration and drought stress. Scientia Agricola, v. 60, p. 231-238, 2003.

LIN, J.; JACH, M. E.; CEULEMANS, R. Stomatal density and needle anatomy of Scots pine (*Pinus sylvestris*) are affected by elevated CO₂. New Phytologist, v. 150, n. 3, p. 665-674, 2001.

LOBO, F. A. Alterações na assimilação e metabolismo do carbono em plantas de soja sob condições de atmosfera enriquecida com CO₂. Tese (Doutorado) – Fisiologia Vegetal, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa. 2003.

LORETO, F. & CENTRITTO, M. Leaf carbon assimilation in a water-limited world. Plant Biosystems, v. 142, p. 154-161, 2008.

LUOMALA, E.; LAITINEN, K.; SUTINEN, S.; KELLOMAKI, S.; VAPAAVUORI, E. Stomatal density, anatomy and nutrient concentrations of Scots pine needles are affected by elevated CO₂ and temperature. Plant, Cell & Environment, v. 28, p. 733-749, 2005.

MACHADO, M. R. Estudo bioquímico e da estrutura foliar de plântulas do jatobá da mata (*Hymenaea courbaril* L.) e do cerrado (*Hymenaea stigonocarpa* Mart.) expostas à concentração elevada de CO₂. Tese de Doutorado em Biologia Celular e Estrutural, na área de Biologia Celular - Instituto de Biologia da Universidade Estadual de Campinas, 95p., 2007.

MALONE, S.R.; MAYEUX, H.S.; JOHNSON, H.B.; POLLEY, H. W. Stomatal density and aperture length in four plant species grown across a subambient CO₂ gradient. American Journal of Botany, p. 1413-1418, 1993.

MARABESI, M. A. Efeito do alto CO₂ no crescimento inicial e na fisiologia da fotossíntese em plântulas *Senna alata* (L.) Roxb. 2007. 78 f.

Dissertação (Mestrado em Biodiversidade Vegetal e Meio Ambiente). Instituto de Botânica da Secretária do Meio Ambiente, São Paulo, 2007.

MONSI, M. & MURATA, Y. Development of photosynthetic systems as influenced by distribution of matter. *In*: SETIK, I. (Ed.). Prediction and Measurement of Photosynthetic Productivity. Pudoc, Wageningen, The Netherlands, p. 115-129, 1970.

MORTARI, L.C. Efeitos de uma atmosfera enriquecida com CO₂ sobre a fotossíntese, o crescimento e o metabolismo de carboidratos do açaí (*Euterpe oleracea* Mart.). 2012. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo, São Paulo, 2012.

MORISON, J. I. L. & LAWLOR, D. W. Interactions between increasing CO₂ concentration and temperature on plant growth. *Plant, Cell & Environment*, v. 22, n. 6, p. 659-682, 1999.

MOONEY, H. A.; DRAKE, B. G.; LUXMOORE, R. J.; OECHEL, W. C.; PITELKA, L. F. Predicting ecosystem responses to elevated CO₂ concentrations. *BioScience*, v. 41, p. 96-104, 1991.

NORBY R. J.; WULLSCHLEGER, S. D.; GUNDERSON, C. A.; JOHNSON, D. W.; CEULEMANS, R. Tree responses to rising CO₂ in field experiments: implications for the future forest. *Plant, Cell & Environment*, v. 22, p. 683–714, 1999.

PAOLETTI, E. & GRULKE, N. E. Does living in elevated CO₂ ameliorate tree response to ozone? A review on stomatal responses. *Environmental Pollution*, v. 137, p. 483–493, 2005.

PANDEY, R.; CHACKO, P. M.; CHOUDHARY, M. L.; PRASAD, K. V.; PAL, M. Higher than optimum temperature under CO₂ enrichment influences stomata anatomical characters in rose (*Rosa hybrida*). *Scientia Horticulturae*, v. 113, p. 74–81, 2007.

PEÑUELAS, J. & MATAMALA, R. Changes in N and S leaf content, stomatal density and specific leaf area of 14 plant species during the last three centuries of CO₂ increase. *Journal of Experimental Botany*, v. 41, n. 9, p. 1119-1124, 1990.

PLETT, J.; WILKINS, O.; CAMPBELL, M.; RALPH, S.; REGAN, S. Endogenous over expression of *Populus* MYB186 increases trichome density, improves insect pest resistance, and impacts plant growth. *Plant Journal*, v. 64, p. 419–432, 2010.

PRENTICE, I. C. The carbon cycle and atmospheric carbon dioxide. In: *Climate change 2001: The Scientific Basis* (ed. IPCC). Cambridge University Press, p. 183-237, 2001.

POORTER, H.; PÉREZ-SOBA, M. Plant growth at elevated CO₂. The Earth system: biological and ecological dimensions of global environmental change. In: MOONEY, H. A.; CANADELL, J. G. *Encyclopedia of Global Environmental Change*. John Wiley & Sons, p. 489-496, 2002.

RAN1: Primeiro relatório de avaliação nacional, Base científica das mudanças climáticas, 197 p., 2013.

RIIKONEN, J.; KETS, K.; DARBAH, J.; OKSANEN, E.; SOBER, A.; VAPAAVUORI, E.; NELSON, N.; KUBISKE, M.; KARNOSKY, D. Carbon gain and bud physiology in *Populus tremuloides* and *Betula papyrifera* grown under long-term exposure to elevated concentrations of CO₂ and O₃. *Tree Physiology* v. 28, p. 243–254, 2008.

RIIKONEN, J.; PERCY, K. E.; KIVIMAENPAA, M.; KUBISKE, M. E.; NELSON, N. D.; VAPAAVUORI, E.; KARNOSKY, D. F. Leaf size and surface characteristics of *Betula papyrifera* exposed to elevated CO₂ and O₃. *Environmental Pollution*, v. 158, p. 1029-1035, 2010.

ROALSON, E.H.; BOGGAN, J.K.; SKOG, L.E. Reorganization of tribal and generic boundaries in the Gloxinieae (Gesneriaceae: Gesnerioideae) and the description of a new tribe in the Gesnerioideae, Sphaerorrhizeae. *Selbyana*, p. 225-238, 2005.

RODRIGUES, A. S. Efeito do elevado CO₂ e do aquecimento sobre o balanço hídrico e a temperatura foliar de *Panicum maximum* Jacq., uma espécie forrageira tropical C₄. Monografia, 46p. Ribeirão Preto – São Paulo, 2013.

SAGE, R. F. Acclimation of photosynthesis to increasing atmospheric CO₂: The gas Exchange perspective. *Photosynthesis Research*, v. 39, p. 351-368, 1994.

SAGE, R. F.; SHARKEY, T. D.; SEEMANN, J. R. Acclimation of photosynthesis to elevated CO₂ in five C₃ species. *Plant Physiology*, v. 89, p. 569-590, 1989.

SASS, J. E. *Botanical microtechnique* (2nd. ed.) Ames, Iowa State College Press, 228 p. 1951.

SHARKEY, T. D. Photosynthesis in intact leaves of C_i plants: physics, physiology and rate limitations. *Botanical Review*, v. 51, p. 53-106, 1985.

SIMMONS, A. and GURR, G. 2005. Trichomes of *Lycopersicon* species and their hybrids: effects on pests and natural enemies. *Agricultural and Forest Entomology*. 7:265–276.

SOLERDER, H. *Systematic Anatomy Of The Dicotyledons*, Vol-2. 1908.

SOUZA, V. C. & LORENZI, H. *Botânica Sistemática: guia ilustrado para identificação das famílias de Fanerógamas nativas e exóticas no Brasil, baseado em APG III*. 3^a. Ed. Plantarum, Nova Odessa, 768p. 2012.

STEWART, J. D. & HODDINOTT, J. Photosynthetic acclimation to elevated atmospheric carbon dioxide and UV irradiation in *Pinus banksiana*. *Physiologia Plantarum*, v. 88, p. 493-500, 1993.

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

STULEN, I.; DEN HERTOOG, J. Root growth and functioning under atmospheric CO₂ enrichment. *Vegetatio*, v. 104, p. 99-115, 1993.

TAYLOR, G; RANASINGHE, S; BOSAC, C; GARDNER, S. D. L.; FERRIS, R. Elevated CO₂ and plant growth: cellular mechanisms and responses of whole plants. *Journal of Experimental Botany*, v. 45, p. 1761–1774, 1994.

TRAW, M. & DAWSON, T. Reduced performance of two specialist herbivores (Lepidoptera: Pieridae, Coleoptera: Chrysomelidae) on new leaves of damaged black mustard plants. *Environmental Entomology*, v. 31, p. 714–722, 2002.

THOMAS, J. F.; HARVEY, C. N. Leaf anatomy of four species grown under continuous CO₂ enrichment. *Botanical Gazette*, v.3, p. 303-309, 1983.

VANNETTE, R. & HUNTER, M. Genetic variation in expression of defense phenotype may mediate evolutionary adaptation of *Asclepias syriaca* to elevated CO₂. *Global Change Biology*, v. 17, p. 1277–1288, 2011.

VIEIRA, E. L.; SOUZA, G. S.; SANTOS, A. R.; SANTOS SILVA, J. (2010). *Manual de fisiologia vegetal*. São Luis: EDUFMA, 230 p., 2010.

WANG, K. y. & KELLOMÄKI, S. Stomatal conductance and transpiration in shoots of Scots pine after 4-year exposure to elevated CO₂ and temperature. *Canadian Journal of Botany*, v. 75, n. 4, p. 552-561, 1997.

WATSON, R. T. & the Core Writing Team (Eds.). *Climate Change 2001: Synthesis Report*. Intergovernmental Panel on Climatic Change Third Assessment Report. United Nations Environment Programme/World Meteorological Organization, Geneva. 2001.

WIEHLER, H. A report on the classification of *Achimenes*, *Eucondonia*, *Gloxinia*, *Goyazia*, and *Anetanthus* (Gesneriaceae). *Selbyana*, v. 1, p. 374-404, 1976.

WOODWARD, F.I. *Climate and plant distribution*. Cambridge University Press, 1987.

WOODWARD, F. I. & BAZZAZ, F. A. The responses of stomatal density to CO₂ partial pressure. *Journal of Experimental Botany*, v. 39, p. 1771–1781, 1988.

YEPES-MAYORGA, A.; BUCKERIDGE, M. Respuestas da las plantas ante los factores ambientales del cambio climático global- Revisión. *Revista Colombia Forestal*, v. 14, p. 211-230, 2011.

XU, S.; ZHU, X.; LI, C.; YE, Q. Effects of CO₂ enrichment on photosynthesis and growth in *Gerbera jamesonii*. *Scientia Horticulturae*, v. 177, p. 77-84, 2014.

ZHANG, F.F.; WANG, Y.L.; HUANG, Z.Z.; ZHU, X.C.; ZHANG, F.J.; CHEN, F.D.; TENG, N.J. Effects of CO₂ Enrichment on Growth and Development of *Impatiens hawkeri*. *The Scientific World Journal*, v. 2012, p. 1-9, 2012.