



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO  
*Campus* UFRJ-Macaé Professor Aloísio Teixeira  
Programa de Pós-Graduação em Ciências Ambientais e Conservação

***ALLAGOPTERA ARENARIA***: ANÁLISE PROTEÔMICA E ANATÔMICA DO  
SISTEMA RADICULAR E SUAS RELAÇÕES COM ASPECTOS DAS CONDIÇÕES  
EDAFOCLIMÁTICAS DO PARNA DE JURUBATIBA

Ramon Ermida Fontes



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO  
*Campus* UFRJ-Macaé Professor Aloísio Teixeira  
Programa de Pós-Graduação em Ciências Ambientais e Conservação

***ALLAGOPTERA ARENARIA*: ANÁLISE PROTEÔMICA E ANATÔMICA DO  
SISTEMA RADICULAR E SUAS RELAÇÕES COM ASPECTOS DAS CONDIÇÕES  
EDAFOCLIMÁTICAS DO PARNA DE JURUBATIBA**

Ramon Ermida Fontes

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Ambientais e Conservação, *Campus* UFRJ-Macaé, Professor Aloísio Teixeira, da Universidade Federal do Rio de Janeiro, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre em Ciências Ambientais e Conservação.

**Orientador:** Dr. Marco Antônio Lopes Cruz

**Coorientadoras:** Dr<sup>a</sup>. Elane da Silva Ribeiro  
Dr<sup>a</sup>. Naiara Viana Campos

Macaé  
Julho, 2018.

***ALLAGOPTERA ARENARIA*: ANÁLISE PROTEÔMICA E ANATÔMICA DO SISTEMA RADICULAR E SUAS RELAÇÕES COM ASPECTOS DAS CONDIÇÕES EDAFOCLIMÁTICAS DO PARNA DE JURUBATIBA**

Ramon Ermida Fontes

**Orientador:** Dr. Marco Antônio Lopes Cruz

**Coorientadoras:** Dr<sup>a</sup>. Elane da Silva Ribeiro  
Dr<sup>a</sup>. Naiara Viana Campos

Dissertação de Mestrado submetida ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Ambientais e Conservação, Campus UFRJ-Macaé Professor Aloísio Teixeira, da Universidade Federal do Rio de Janeiro, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre em Ciências Ambientais e Conservação.

Aprovado por:

---

Presidente, Prof. Dr. Fabio Di Dario

---

Prof. Dr. Diogo Antônio Tschoeke

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Mirella Pupo Santos

Macaé  
Julho, 2018.

## AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer a minha família principalmente, sou eternamente grato a todos, pela paciência, conforto, suporte, carinho, compreensão e amor. Sem eles teria sido impossível chegar até aqui;

A minha mãe, Rosana Ermida Fontes, por todo carinho, amor, compreensão, mimos e pela pessoa incrível que és, que nunca deixou de acreditar em mim. Proporcionou o possível e o impossível, para que aqui eu chegasse. Obrigado por tudo;

Ao meu Pai, Almir Fontes da Silva, por todo o suporte e dedicação, que me inspira com sua dedicação e espírito trabalhador;

Ao meu orientador Dr. Marco Antônio Lopes Cruz, pela oportunidade e sabedoria;

A Dr<sup>a</sup> Izabela Silva dos Santos, pelo imenso apoio técnico e moral. Sou eternamente grato por tudo que já fez por mim, durante toda minha passagem pelo Laboratório de Biotecnologia Vegetal do NUPEM/UFRJ. A pessoa por trás de todo meu sucesso dentro de todas as atividades desde a graduação até o mestrado, desde como me arrumar para uma apresentação até nos conselhos, que com seu “jeitinho feminino” fizeram possíveis todas minhas conquistas. As vezes como mãe, as vezes como chefe, não tenho palavras para expor toda minha gratidão, só tenho a agradecer. Obrigado por tudo;

A minha coorientadora Dr<sup>a</sup>. Naiara Viana Campos pelo completo apoio, calma e principalmente sua grande compreensão comigo durante a produção deste documento, participando imensamente para que fosse possível finalizar essa etapa da minha vida. Muito obrigado;

A minha coorientadora Dr<sup>a</sup>. Elane da Silva Ribeiro pelo auxílio e paciência durante a produção do documento de dissertação;

A Dr<sup>a</sup>. Tatiana Ungaretti Paleo Konno, por todos os incentivos, carinho e conselhos durante toda minha estadia no NUPEM/UFRJ;

Ao Dr. Daniel Basílio Zandonadi, por toda ajuda e preocupação;

Ao Dr. Eduardo Alves Gamosa de Oliveira, pelo exemplo de pessoa, conhecimento e inspiração;

A FUNEMAC pela ajuda financeira durante certo período durante minha jornada no programa de mestrado;

A todo o grupo de pesquisa de “Biologia Integrativa” do Laboratório de Biotecnologia Vegetal da UENF, principalmente ao Doutorando Lucas Passamani, por todo apoio que tive;

A todos meus colegas do NUPEM/UFRJ e do PPG-CIAC;

A todos do Laboratório de Biotecnologia Vegetal NUPEM/UFRJ. A antiga e a nova geração;

A TODOS meus amigos de graduação, principalmente a mestranda Lorena Soares Agostinho e ao doutorando Thiago dos Reis Araujo, pelo suporte, inspiração e parceria durante momentos difíceis e engraçados;

A Roberta Pimentel Domingos, pela imensa compreensão diante de minhas dificuldades, pelo suporte durante minha jornada pelo mestrado, pelo amor e carinho nos momentos difíceis, e pela felicidade e sorrisos em momentos de felicidade;

E por último, mas não menos importante, a pessoa que não esteve presente fisicamente, mas, foi essencial como inspiração e exemplo de pessoa durante toda minha vida. Muito obrigado Marli Machado Ermida;

De maneira geral agradeço a todos que me ajudaram a chegar até aqui, não foram poucos. Muito obrigado a todos que acreditaram em mim, a todos que me deram coragem e me fizeram ir além do que eu acreditava conseguir.

## FICHA CATALOGRÁFICA

### CIP - Catalogação na Publicação

EFF628  
aa ERMIDA FONTES, RAMON  
ALLAGOPTERA ARENARIA: ANÁLISE PROTEÔMICA E  
ANATÔMICA DO SISTEMA RADICULAR E SUAS RELAÇÕES COM  
ASPECTOS DAS CONDIÇÕES EDAFOCLIMÁTICAS DO PARNA DE  
JURUBATIBA / RAMON ERMIDA FONTES. -- Rio de  
Janeiro, 2018.  
83 f.

Orientador: Marco Antônio Lopes Cruz.  
Coorientadora: Elane da Silva Ribeiro e Naiara  
Viana Campos .  
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal do  
Rio de Janeiro, Campus Macaé, Programa de Pós  
Graduação em Ciências Ambientais e Conservação, 2018.

1. Allagoptera arenaria. 2. Proteômica. 3.  
Morfoanatomia. 4. Sistema Radicular. 5. PARNA  
Jurubatiba. I. Antônio Lopes Cruz, Marco, orient.  
II. Naiara Campos Viana, Elane da Silva Ribeiro e,  
coorient. III. Título.

Elaborado pelo Sistema de Geração Automática da UFRJ com os  
dados fornecidos pelo(a) autor(a).

## RESUMO

### ***ALLAGOPTERA ARENARIA*: ANÁLISE PROTEÔMICA E ANATÔMICA DO SISTEMA RADICULAR E SUAS RELAÇÕES COM ASPECTOS DAS CONDIÇÕES EDAFOCLIMÁTICAS DO PARNA DE JURUBATIBA**

Ramon Ermida Fontes

**Orientador:** Dr. Marco Antônio Lopes Cruz

**Coorientadoras:** Dr<sup>a</sup>. Elane da Silva Ribeiro

Dr<sup>a</sup>. Naiara Viana Campos

Resumo de dissertação de Mestrado submetida ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Ambientais e Conservação, Campus UFRJ-Macaé Professor Aloísio Teixeira, da Universidade Federal do Rio de Janeiro, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre em Ciências Ambientais e Conservação.

A restinga é um espaço geográfico formado por depósitos arenosos paralelos à linha da costa, produzido por processos de sedimentação e que apresenta cobertura vegetal em mosaico. A restinga do PARNA de Jurubatiba localiza-se ao norte do estado do Rio de Janeiro e é caracterizada por ilhas de vegetação intercaladas por areia nua, onde foram descritas espécies pioneiras ou facilitadoras tais como a *Allogoptera arenaria*, *Aechmea nudicaulis* e *Clusia hilariana*. *A. arenaria* é uma monocotiledônea pertencente à família Arecaceae, popularmente conhecida como guriri. Esta é apontada como principal reservatório nutricional na restinga por acumular ao seu redor matéria orgânica proveniente de suas folhas senescentes. Apesar de sua importância, pouco se sabe sobre os mecanismos bioquímicos e moleculares envolvidos nas suas respostas adaptativas a este ambiente. O objetivo desse projeto foi avaliar o perfil proteico e a anatomia do sistema radicular, o solo e o clima desse ambiente, buscando entender como essa planta responde a diferentes aspectos das condições edafoclimáticas. Poucos trabalhos são voltados para o sistema radicular de plantas de restinga, assim esse trabalho teve uma abordagem pioneira na compreensão de algumas respostas desta planta ao ambiente, fornecendo dados que possam indicar possíveis adaptações dessa espécie ao ambiente de restinga. Seja

pela grande reserva energética na forma de amido, pela camada proeminente de epiderme que pode ser substituída por diversas camadas de exoderme proporcionando maior proteção para a raiz, pela formação de aerênquima para difusão longitudinal de gases. Por apresentar 45,3% do total de proteínas identificadas na forma de aquaporinas voltadas para a resposta ao déficit hídrico e 22,1% desse total voltadas para o estresse oxidativo, dentre outras em menores quantidades, mas também de resposta a estresses em geral. Todas essas características adaptativas permitem que *A. arenaria* habite no ambiente de restinga, podendo ainda facilitar a entrada de outras espécies no ambiente.

**Palavras-chave:** 1. *Allagoptera arenaria*. 2. Proteômica. 3. Morfoanatomia. 4. Sistema Radicular. 5. PARNA Jurubatiba.



## ABSTRACT

### ***ALLAGOPTERA ARENARIA*: ROOT SYSTEM PROTEOMIC AND ANATOMIC ANALYSIS THROUGH EDAPHOCLIMATIC ASPECTS IN PARNA DE JURUBATIBA**

Ramon Ermida Fontes

**Orientador:** Dr. Marco Antônio Lopes Cruz

**Coorientadoras:** Dr<sup>a</sup>. Elane da Silva Ribeiro

Dr<sup>a</sup>. Naiara Viana Campos

Dissertation Abstract subjected to Environmental Science and Conservation Program, Campus UFRJ-Macaé Professor Aloísio Teixeira, Universidade Federal do Rio de Janeiro, as a requirement to obtain master degree in environmental science and conservation.

The restinga is a geographic space formed by sandy deposits parallel to the coastline, produced by sedimentation processes, and that presents mosaic plant cover. PARNA da Restinga de Jurubatiba is located in the north of the state of Rio de Janeiro and characterized by vegetation islands interspersed with bare sand where pioneering or facilitating species such as *Allogoptera arenaria*, *Aechmea nudicaulis* and *Clusia hilariana* have been described. *A. arenaria* is a monocotyledon from Arecaceae family that is popularly known as guriri. This is indicated as the main nutritional reservoir in the restinga for accumulating surrounding organic matter coming from its senescent leaves. Despite its importance, little is known about the biochemical and molecular mechanisms involved in its adaptive responses to this environment. The aim of this project was to evaluate the protein profile and anatomy of the root system, soil and climate of this environment; trying to understand how this plant responds to different aspects of edaphoclimatic conditions. Few studies are aimed at the root system of restinga plants, so this work had a pioneering approach in the understanding of some responses of this plant to the environment, providing data that may indicate possible adaptations of this species to the restinga environment. Whether due to its large energy reserves in the form of starch, due to a prominent layer of epidermis that can be replaced by several layers of exoderm providing greater protection for the root, due to

the formation of aerenchyme for longwise spreading of gases. Due to present 45,3% of the total identified proteins in the form of aquaporins responsible to water deficit response and 22,1% of total proteins responsible to oxidative stress response, among others proteins in smaller quantities but still responsible to different stress responses. All the adaptive characteristics allow *A. arenaria* to survive in the restinga environment, and still being able to facilitate the entry of other species in the restinga environment..

**Key-Words:** 1. *Allagoptera arenaria*. 2. Proteomics. 3. Morfo-anatomy. 4. Root System. 5. PARNA Jurubatiba.

## Everything Changes (SOJA)

“Maybe we need more  
Shoes on our feet  
Maybe we need more  
Clothes and TV's

Maybe we need more  
Cash and jewelry  
Or maybe we don't know  
What we need

Maybe we need  
To want to fix it  
Maybe stop talking  
Maybe start listening

Maybe we need  
To look at this world  
Less like a square  
And more like a circle

Maybe just maybe  
God's not unfair  
Maybe were all his kids  
And he's up there

Maybe he loves us  
For all our races  
Maybe he hates us  
When were all so racist

Maybe he sees us  
When we don't care  
And it's Heaven right here  
But is Hell over there

And maybe the meek  
Will inherit tis earth  
Cuz it was written before

So everything changes  
And nothing stays the same  
And everything changes  
And if you feel ashamed  
Maybe you should change this  
Before it gets too late  
Maybe you should change this  
My brother, we're standing at the gate.”

“There is nothing permanent except change” - Heraclitus

## SUMÁRIO

SUMÁRIO .....	xiii
ÍNDICE DE FIGURAS .....	xv
ÍNDICE DE GRÁFICOS .....	<b>Erro! Indicador não definido.</b>
ÍNDICE DE TABELAS .....	xvii
1. INTRODUÇÃO .....	1
1.1 A restinga .....	1
1.2 A família Arecaceae.....	4
1.3 Proteômica .....	7
2. OBJETIVO GERAL .....	8
2.1. Objetivos específicos.....	8
3. METODOLOGIA DA PESQUISA .....	9
3.1. Área de estudo .....	9
3.2. Coleta de dados abióticos .....	10
3.3. Coleta de amostras vegetal e de solo.....	11
3.4. Análise físico-química do solo .....	11
3.5. Análise anatômica .....	11
3.6. Análise proteômica .....	13
3.6.1. <i>Extração proteica e quantificação de proteínas</i> .....	15
3.6.2. <i>Digestão proteica</i> .....	15
3.6.3 <i>Análise de espectrometria de massas</i> .....	16
3.7. Ferramentas de bioinformática utilizadas na leitura de dados.....	17
3.8. Produção de 'Networks' de proteínas para visualização global de suas interações.....	18
4. RESULTADOS .....	18
4.1. Análise de dados abióticos .....	18
4.2. Análise físico-química do solo .....	20
4.3. Caracterização morfoanatômica.....	22

4.4. Análise proteômica .....	26
4.5 Produção de ' <i>Networks</i> ' de proteínas para visualização global de suas interações .....	33
5. DISCUSSÃO .....	38
6. CONCLUSÃO .....	51
7. REFERÊNCIAS.....	53

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1:</b> Exemplificação da distribuição dos tipos de vegetação de restinga (extraído de SOUZA et al., 1997).	2
<b>Figura 2:</b> Exemplar de <i>Allagoptera arenaria</i> em meio a areia nua (localizada na parte inferior da imagem) no Parque Nacional da Restinga de Jurubatiba.	6
<b>Figura 3:</b> Mapa do Parque Nacional da Restinga de Jurubatiba. Algumas das lagoas encontradas no parque: (1) Cabiúnas; (2) Comprida; (3) Carapebus; (4) Paulista; (5) Amarra-Boi; (6) Garças; (7) Piripiri II; (8) Piripiri I; (9) Maria-Menina; (10) Robalo; (11) Visgueiro; (12) Pires; (13) Preta e (14) Ubatuba. A Localização de onde foram coletados os indivíduos de <i>Allagoptera arenaria</i> está sinalizado (seta). Fonte: Modificado de LUZ et al., (2011) e GOOGLE MAPS. (Disponível em: < <a href="https://www.google.com.br/maps/place/Parque+Nacional+Restinga+de+Jurubatiba/">https://www.google.com.br/maps/place/Parque+Nacional+Restinga+de+Jurubatiba/</a> >).	9
<b>Figura 4:</b> Monitoramento de dados abióticos. (A) Dispositivo de coleta de dados, Data Logger (HOBO, modelo U12-012), colocado no Parque Nacional da Restinga de Jurubatiba ao lado de um exemplar de <i>A. arenaria</i> ; (B) Modelo esquemático do Data Logger. (1) Sensor para medidas de temperatura e umidade relativa do ar; (2) Sensor para medidas de intensidade luminosa; (3) Fio com sensor para medidas de temperatura no solo. Indivíduo jovem de <i>Allagoptera arenaria</i> está sinalizado (seta).	10
<b>Figura 5:</b> Exemplar de <i>A. arenaria</i> . As regiões utilizadas para preparo das lâminas histológicas estão em evidência. (1 e 2) Raiz de segunda ordem. Cortes transversais feitos a 0,8 cm (Região 1) e 9,2 cm (Região 2) do ápice; (3 e 4) Raiz de primeira ordem. Cortes transversais feitos a 8,0 cm (Região 3) e 25 cm (Região 4) do ápice.	12
<b>Figura 6:</b> Fluxograma da metodologia utilizada para a análise proteômica.	14
<b>Figura 7: Gráfico 1:</b> Variação da temperatura do ar (linha azul) e do solo (0 – 10 cm de profundidade) (linha vermelha) próximo a um exemplar de <i>A. arenaria</i> do PARNA da Restinga de Jurubatiba. <b>Gráfico 2:</b> Variação da umidade relativa do ar próximo a um exemplar de <i>A. arenaria</i> do PARNA da Restinga de Jurubatiba. <b>Gráfico 3:</b> Variação de intensidade luminosa próximo a um exemplar de <i>A. arenaria</i> do PARNA da Restinga de Jurubatiba. Dados coletados durante 5 dias utilizando o Data Logger HOBO U12-012. As marcações (traços em preto) indicam um período de 24 h.	19

**Figura 8:** Exemplar de *Allagoptera arenaria* do PARNA de Jurubatiba. (A) Imagem representativa do exemplar em meio a restinga; (B) Parte aérea com estrutura reprodutiva (seta amarela) e frutos maduros ao chão (seta vermelha); (C) Sistema radicular com cerca de 3 m de comprimento; (D) Imagem de frutos frescos e secos.

.....22

**Figura 9:** Cortes transversais da raiz de *A. arenaria* em diferentes regiões. Região 1 (A - C); Região 2 (D - F); Região 3 (G - I); Região 4 (J - L). Na primeira coluna (A, D, G e J), visão geral dos cortes transversais, com setas apontando aerênquima em diferentes fases de desenvolvimento. Na segunda coluna (D, E, H e K), visão das camadas mais externas do córtex e epiderme, com setas e barras apontando nos cortes B e E a epiderme, e nos cortes H e K apontando a ausência da epiderme e diversas camadas de exoderme. Na terceira coluna (C, F, I e L), visão do cilindro vascular e camadas mais internas do córtex, com barras vermelhas apontando nos cortes F, I e L a endoderme e seta e barra vermelha no corte I indicando a presença de células esclerenquimáticas externamente a endoderme.....24

**Figura 10:** Corte transversal da raiz de *A. arenaria*. (A-B) Raiz sem coloração; (C-D) teste histoquímico positivo para detecção de amido, corado em roxo na região do córtex apenas. Barra = 0,25 mm.....25

**Figura 11:** Relação simplificada das proteínas identificadas qualitativamente nas amostras de *A. arenaria*. Referente à Tabela 1.....28

**Figura 12:** Relação qualitativa das proteínas, agrupadas por família, identificadas na amostra de *A. arenaria* contrastadas por BLAST no banco de dados de *A. thaliana* referente a (Tabela 2).....32

**Figura 13:** 'Network' global de interação perante todas as proteínas encontradas na amostra de *A. arenaria*. O **grupo 1:** Proteína PIP-1 (*'Plasma Membrane Intrinsic Protein'*), gene (AT4G00430); **grupo 2:** Proteína SMK 2 (*'Sterility-Regulating Kinase Member 2'*), gene (AT5G56040); **grupo 3:** Proteína PR5K (*'PR5-LIKE Receptor Kinase'*), gene (AT5G38280); **grupo 4:** Proteína KUP6 (*'K<sup>+</sup> Uptake Permease 6'*), gene (AT1G70300); **grupo 5:** Proteína CHC 1 (*'Clathrin Heavy Chain 1'*), gene (AT3G11130); **grupo 6:** Proteína *'Copper/Zinc Superoxide Dismutase 1'*, gene (AT1G08830); **grupo 7:** Proteína RCF 1 (*'Regulator of CBF Gene Expression 1'*), gene (AT1G20920); **grupo 8:** Proteína *'GNAT Acetyltransferase'*, gene (AT1G10490); **grupo 9:** Proteína *'CCHC-type Zinc Finger'*, (AT5G47430); **grupo 10:** Proteína *'60s Acidic Ribosomal Family'*, gene (AT3G44590); **grupo 11:** Proteína



'C2H2-type Zinc Finger Family', gene (AT5G04390); **grupo 12:** Proteína 'HAD superfamily', gene (AT4G29260); **grupo 13:** Proteína APTX ('Aprataxin-Like'), gene (AT5G01310); **grupo 14:** Proteína 'TGN-Localized SYP41 Interacting', gene (AT1G24460); **grupo 15:** Proteína NPF5.10, gene (AT1G22540); **grupo 16:** Proteína ORF158, referente ao gene (ATMG00860); **grupo 17:** Proteína ADH 1 ('Alcohol Dehydrogenase 1'), gene (AT1G77120); **grupo 18:** Proteína 'ATP synthase subunit C', gene (AT2G07671); **grupo 19:** Proteína 'RNA-binding', gene (AT5G55670); **grupo 20:** Proteína ATU2AF65B, gene (AT1G60900); **grupo 21:** Proteína 'RING/U-box', gene (AtTG19950); **grupo 22:** Proteína 'UDP-Glycosyltransferase', gene (AT2G36780).....36

## ÍNDICE DE TABELAS

<b>Tabela 1:</b> Análise físico-química do solo próximo a um exemplar de <i>A. arenaria</i> do PARNA da Restinga de Jurubatiba. (pH) Potencial Hidrogeniônico, (N) Nitrogênio, (S-SO <sub>4</sub> ) Enxofre, (P) Fósforo, (K) Potássio, (Ca) Cálcio, (Mg) Magnésio, (Al) Alumínio, (H+Al) Acidez Potencial, (Na) Sódio, (C) Carbono, (MO) Matéria Orgânica, (CTC) Capacidade de Troca de Cátions, (SB) Soma de Bases Trocáveis, (V) Índice de Saturação de Bases, (m) Índice de Saturação de Alumínio, (Fe) Ferro, (Cu) Cobre, (Zn) Zinco, (Mn) Manganês, (B) Boro e (C.E.) Condutividade Elétrica. Padrão proposto pelo Guia Prático para Interpretação de Resultados de Análises de Solo da Embrapa. A letra x significa que o guia não possuía dados a respeito do parâmetro apontado. .....	21
<b>Tabela 2:</b> Relação de proteínas identificadas pela espectrometria de massa da amostra de <i>A. arenaria</i> .....	26
<b>Tabela 3:</b> Relação das proteínas encontradas na amostra de <i>A. arenaria</i> contrastadas por BLAST no banco de dados de <i>A. thaliana</i> .....	29

## 1.INTRODUÇÃO

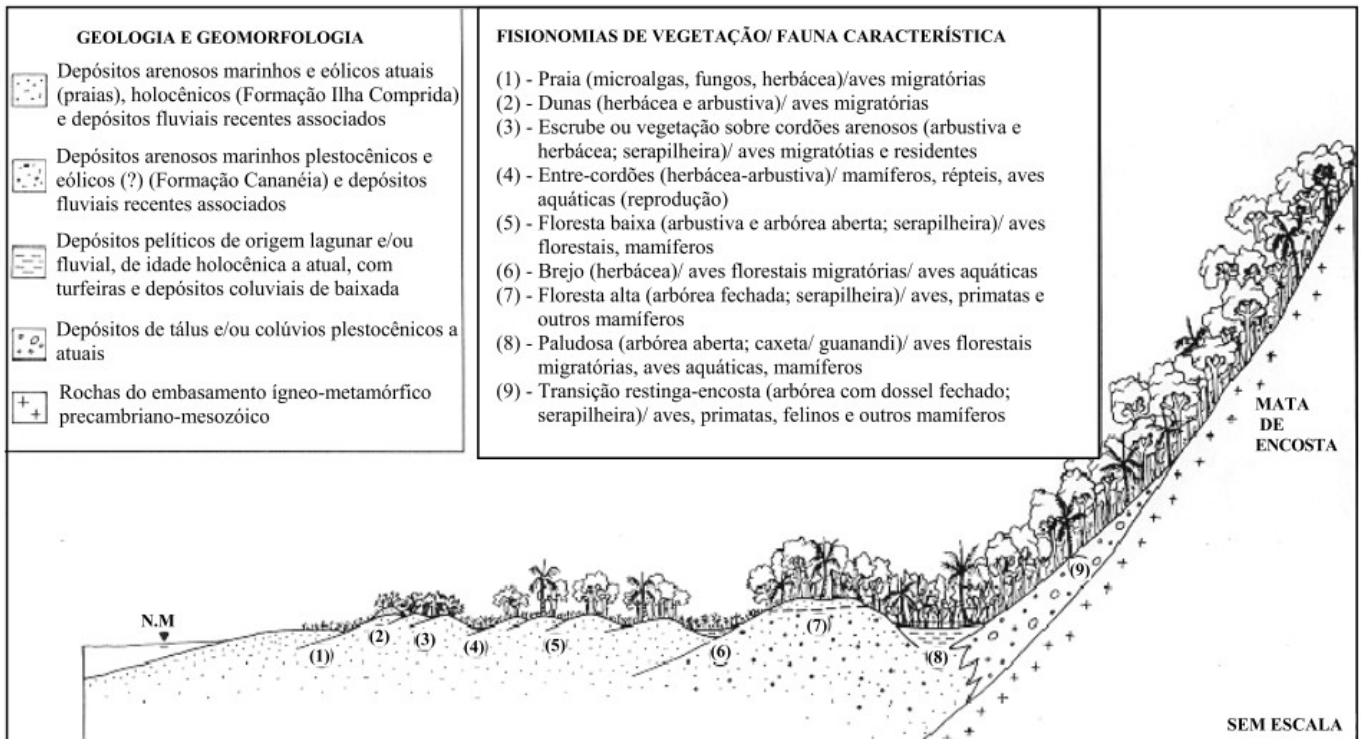
### 1.1 A restinga

A mata atlântica apresenta diferentes fisionomias (RIZZINI, 1997), com uma maior diversidade no seu interior e menor em suas comunidades periféricas (SCARANO, 2002). Sendo a restinga uma dessas comunidades periféricas (PEREIRA *et al.*, 2009).

Segundo ROCHA (2012) a palavra restinga tem dois sentidos, o fitogeográfico que entende restinga como sendo uma formação de vegetais que cobrem planícies arenosas litorâneas; e o sentido ecológico que entende restinga como o conjunto de fatores abióticos e bióticos que interagem formando um ecossistema peculiar.

A restinga foi gradualmente moldada por regressões e transgressões marinhas (MARTIN *et al.*, 1993), as quais produziram drásticas modificações em seu nível e intenso transporte de areia, construindo planícies marinhas, cordões litorâneos pleistocênicos e holocênicos juntamente a cordões lagunares (SUGUIO & TESSLER, 1984).

Trata-se de um ambiente unicamente brasileiro, que ocupa cerca de 79% da costa do nosso país (ESTEVES, 2011). O ambiente de restinga é composto por diferentes tipos de vegetação: formações herbáceas, formações arbustivas e pequenas florestas (com dossel de até 20 metros de altura). A restinga agrupa ecossistemas variados, tanto fisionomicamente quanto geomorfologicamente, apresentando climas e etapas sucessionais diferentes (GOMES, 2005) (Figura 1). Esse mosaico de ambientes expõe a condições extremas os organismos que ali vivem (LACERDA *et al.*, 1993).



**Figura 1:** Exemplificação da distribuição dos tipos de vegetação de restinga (extraído de SOUZA *et al.*, 1997).

A diversidade, produtividade primária e complexidade estruturais deste mosaico de ambientes é baixa, devido às drásticas variações de temperatura, secas, ventos constantes, alta salinidade e escassez de nutrientes (SCARANO, 2002). Outra característica é a superficialidade do lençol freático, gerando locais de intercordões inundáveis e cordões arenosos não inundáveis (PEREIRA, 2002).

No Estado do Rio de Janeiro existem 1.194,3km<sup>2</sup> de área onde ocorre vegetação de restinga (ASSUMPÇÃO & NASCIMENTO, 2000). Ao norte do estado podemos encontrar a Restinga de Jurubatiba, a qual compreende uma série de praias pleistocênicas paralelas ao continente (1200 anos) e que foi formada pelo assoreamento de sedimento marinho. Esta restinga possui diversas lagoas formadas a partir da obstrução de deltas de rios antigos (HENRIQUES *et al.*, 1986). Sua vegetação é caracterizada por ilhas de vegetação intercaladas por areia nua, onde já foram descritas plantas consideradas como pioneiras ou facilitadoras, dentre elas: *Allagoptera arenaria*, *Aechmea nudicaulis* e *Clusia hilariana*. Essas plantas têm a capacidade de proporcionar condições favoráveis para a germinação e desenvolvimento de outras espécies no ambiente de restinga (SCARANO, 2002; ZALUAR & SCARANO, 2000).

A Restinga de Jurubatiba tem como característica um lençol freático superficial que aflora durante os períodos de chuva em depressões topográficas da planície. Durante as chuvas, que ocorrem entre Julho e Agosto, as planícies costeiras, que tem solos arenosos, ficam saturados com água e em pouco tempo essa água é perdida voltando a um estado de déficit hídrico (MANTUANO, 2008).

Mesmo tendo um solo pobre em nutrientes, as plantas que sobrevivem na restinga tem alta eficiência na utilização dos nutrientes disponíveis (MELO JUNIOR, 2015), exercendo um papel-chave no funcionamento desse ecossistema (DIAS, 2005). As plantas atuam na estabilização do substrato e principalmente na regulação do regime hídrico, aumentando o tempo de estadia da água no solo superficial (ESTEVES, 1998). A vegetação da restinga influencia também a integridade e fertilidade do solo, transferindo minerais e matéria orgânica para a sua superfície (BONADIMAN, 2007).

Um ambiente tão extremo como o de restinga pode induzir diferentes padrões fenotípicos nos organismos que ali vivem, principalmente em plantas que tem que se adequar rapidamente ao ambiente (SCHLICHTING, 1986). Para sobreviver no ambiente da restinga, as plantas precisam de mecanismos eficazes para a absorção de água e de nutrientes, podendo ser mecanismos moleculares, fisiológicas e estruturais. A formação de moitas é um mecanismo estrutural capaz de proporcionar um microambiente menos severo para o crescimento vegetal, pois o sombreamento e o acúmulo de matéria orgânica facilitam o desenvolvimento das plantas (RIBAS, 1993; SCARANO *et al.*, 2005).

O desenvolvimento de um conjunto de adaptações morfológicas, anatômicas e fisiológicas (SILVA & AZEVEDO, 2007) permitem a sobrevivência de plantas na restinga, tais como: folhas mais grossas e suculentas com cutículas, para evitar a perda de água (AOYAMA & MAZZONI-VIVEIROS, 2006), produção de xantofila e antocianinas nas folhas protegendo-a da alta luminosidade (PALACIOS *et al.*, 2013). Além destas, existem as adaptações fisiológicas como o metabolismo CAM que possibilita a fixação de CO<sub>2</sub> durante a noite (ROCHA, 2012).

De todos os órgãos vegetais, as folhas são as que apresentam a maior variação morfológica (DICKISON, 2000), sendo esta parte da planta a mais utilizada nos estudos sobre a adaptação das plantas ao ambiente. Embora a folha seja considerada

um dos órgãos mais plásticos do corpo vegetal (GRATANI *et al.*, 2006), a raiz tem um papel primordial para sobrevivência da planta em ambientes áridos.

O sistema radicular, representa uma importante interface entre as plantas e o ambiente, passando por modificações na sua estrutura para ajudar na aclimação desta ao ambiente. As raízes possuem diversas funções, sendo a mais marcante a absorção de nutrientes e água. A região as raízes e o solo entram em contato é denominada rizosfera e esta forma um microambiente que auxilia na absorção de nutrientes (WATT *et al.*, 1994; WATT *et al.*, 1999).

## 1.2 A família Arecaceae

A família Arecaceae, pertencente ao grupo das monocotiledôneas (CHASE, 2004), é alvo de constante exploração do homem (SOUZA & LORENZI, 2012). Com 5 subfamílias, 28 tribos, 19 subtribos e 183 gêneros (ARAÚJO, 2012), abrange um total de 2.700 espécies (LORENZI, 2010). Das 296 espécies encontradas no Brasil, 131 são endêmicas (LEITMAN *et al.*, 2015).

As plantas da família Arecaceae são popularmente conhecidas como coqueiros e palmeiras e, apresentam uma morfologia similar entre elas, o que pode dificultar a sua identificação (PINEDO, 2015). Facilmente encontrada na natureza por se destacar na paisagem com sua forma conspícua (ARAÚJO, 2012), apresenta um grande potencial ornamental (PINEDO, 2015), medicinal, na indústria alimentícia, na produção de combustíveis, na produção de madeira e industrial (DRANSFIELD *et al.*, 2005). Esta foi muito importante para a sobrevivência de povos indígenas na América (PLOTKIN & BALICK, 1984; BATES, 1988; MACÍA, 2004). De acordo com MACÍA (2004), cerca de 37 espécies de palmeiras serviam como alimento ou para produção de abrigo para a população da Amazônia equatorial.

A família Arecaceae possui diversas espécies com relevância gastronômica e farmacêutica, como *Euterpe edulis* (palmito), *Cocos nucifera* (coqueiro), *Euterpe aoleracea* (açai) (PINEDO, 2015); além de espécies utilizadas para tratar problemas gastrointestinais (CARVALHO *et al.*, 2006) e com propriedades anestésicas (SOSNOWSKA & BALSLEV, 2008). Em Macaé (RJ), há relatos do uso dessas plantas para consumo pela população nativa, sendo um dos possíveis motivos da escolha do nome do município. A espécie *Acrocomia aculeata*, utilizada como símbolo na bandeira da cidade, é facilmente encontrada na região e produz um coco doce vulgarmente chamado de macaba doce ou maca-ê.

Arecaceae é amplamente distribuída no Brasil, ocorrendo em 13 estados (Bahia, Maranhão, Piauí, Sergipe, Distrito Federal, Goiás, Mato Grosso do Sul, Mato Grosso, Espírito Santo, Minas Gerais, Rio de Janeiro, São Paulo e Paraná) que abrangem os biomas caatinga, cerrado e mata atlântica (DEFAVERI *et al.*, 2015; LEITMAN *et al.*, 2015). Sua ampla distribuição indica a capacidade de suas espécies de se adaptarem a diversos tipos de habitat (GENOVESE-MARCOMINI *et al.*, 2013).

O gênero *Allagoptera* (Nees) é um dos 183 gêneros dentro de Arecaceae, considerado como um dos gêneros com maior capacidade adaptativa (SEUBERT, 1998), restrito a América do Sul, apresentando registros na Bolívia, Paraguai e Argentina (HENDERSON, 1990; MORAES, 1996). De acordo com LEITMAN *et al.* (2015) o gênero é representado por 6 espécies: *Allagoptera arenaria* (Gomes) Kuntze; *Allagoptera brevicalyx* M. Moraes; *Allagoptera campestris* (Mart.) Kuntze; *Allagoptera caudencens* (Mart.) Kuntze; *Allagoptera leucocalyx* (Drude) Kuntze e *Allagoptera robusta* R. C. Martins & Kalunga.

As seis espécies apresentam frutos comestíveis, porém apenas *Allagoptera caudencens* (Mart.) Kuntze produz palmito comestível (ROLIM *et al.*, 2006). *Allagoptera arenaria* produz grande quantidade de cera em suas folhas, a qual pode servir como uma fonte alternativa para produção de cera industrial (DEFAVERI *et al.*, 2015).

*Allagoptera arenaria* (Figura 2) é facilmente encontrada no ambiente de restinga, sendo localmente conhecida pelos nomes populares: “guriri”, “buriri”, “canxandó”, “pissandó” (REIS, 2006) e “horyry” (TOMCHINSKY, 2017). Dita como uma planta facilitadora (SCARANO, 2002). Comumente encontrada em meio a areia nua, muitas vezes solitária, podendo chegar até 2 metros de altura

*Allagoptera arenaria* é comumente encontrada em meio a areia nua, muitas vezes solitária. Apresenta um estipe subterrâneo encurtado ou cespitoso, com raízes adventícias de organização fasciculada. Sua coroa foliar apresenta de 2 a 30 folhas pinadas que podem chegar até 2 metros de altura, de organização espiralada envolto por cera. (CARVALHO *et al.*, 2014). Apresenta frutos de coloração amarelo-esverdeado de formato oval contendo uma única semente por fruto. *A. arenaria* é apontada como principal reservatório nutricional em restinga (HAY & LACERDA, 1984), por acumular ao seu redor matéria orgânica proveniente de suas folhas senescentes (FRANGI *et al.*, 1992; ZALUAR, 2002).



**Figura 2:** Exemplar de *Allagoptera arenaria* em meio a areia nua (localizada na parte inferior da imagem) no Parque Nacional da Restinga de Jurubatiba.

Trabalhos feitos na Restinga de Marambaia por PINEDO *et al.* (2016), na Barra da Tijuca por FILHO (2009), ambos no Rio de Janeiro; e na APA de Conceição da Barra no Espírito Santo por COVER *et al.* (2015) indicam que *A. arenaria* se encontra em maior número que as demais plantas. A abundância de indivíduos de *A. arenaria* em regiões de restinga também foi relatado por SCARANO (2002; 2008). Nos estados da Bahia, Espírito Santo e Rio de Janeiro esta espécie pode ser encontrada em até 100 m de altitude em relação ao nível do mar (BONDAR 1939; MORAES 1996).

A grande abundância desta palmeira pode estar ligada a sua plasticidade, podendo ser encontrada dentro de moitas ou fora delas (COVER *et al.*, 2015), conservadas ou alteradas pela ação do homem (SYLVESTRE *et al.*, 1989). Esta apresenta uma capacidade de germinar em solos nutricionalmente pobres (HAY & LACERDA, 1984) e de florescer durante todo o ano (SYLVESTRE *et al.*, 1989). Suas

folhas, quando mortas e aglomeradas ao seu redor, acabam funcionando como um 'mulch' que é um tipo de cobertura vegetal seca utilizado para diversos fins (HEADY, 1956), um deles é impedir grandes variações de temperatura no solo em contato com as raízes (WU *et al.*, 2007).

Segundo SCARANO (2002), *A. arenaria* é capaz de germinar em meio a areia nua que pode chegar a temperatura de 70 °C em sua superfície, sendo umas das plantas pioneiras e facilitadoras presentes na Restinga de Jurubatiba. Sua presença e colonização na restinga está ligada à formação de ilhas de vegetação favorecendo a entrada de outras espécies vegetais (SCARANO, 2002). Mesmo sabendo de suas características adaptativas, pouco se sabe como este mecanismo/fenômeno funciona.

### 1.3 Proteômica

A proteômica é uma ferramenta que possibilita quantificar e estudar sistemas biológicos complexos, por avaliar diferentes perfis proteicos produzidos durante diversas etapas da vida do organismo e inclusive em resposta à fatores estressantes (CHEN & HARMON, 2006).

O estudo do conteúdo proteico de plantas é muito utilizado de forma comparativa, possibilitando entender a resposta da planta refletido em modificações em seu conteúdo proteico ao observar organismos da mesma espécie sob condições diferentes. Como o trabalho feito por BUDAK *et al.* (2013), que avaliou o efeito da falta de água em folhas de trigo comparando o conteúdo proteico do vegetal sob estresse e sob condições amenas. Estudos como este, ajudam a entender melhor a resposta desses organismos diante determinado estresse.

Aquaporina é um exemplo de uma proteína com um importante papel na resposta diante de um estresse hídrico em plantas. Estas estão diretamente relacionadas com o transporte de água, abertura e fechamento de estômatos em folhas e no controle de homeostase citoplasmático (MAUREL *et al.*, 2015).

Conhecer o perfil de proteínas de uma planta indica conhecer a resposta do organismo em determinado momento, tornando a proteômica uma ótima ferramenta para o entendimento de determinadas respostas das plantas nesses ambientes (KOSOVÁ *et al.*, 2011).



Baseado no exposto acima, *A. arenaria* apresenta uma grande importância para a restinga em geral, principalmente na Restinga de Jurubatiba. Porém nada se sabe sobre o conteúdo proteico envolvido na resposta molecular ao ambiente de restinga e, menos ainda, sobre sua anatomia radicular envolvida em suas adaptações e estratégias de resposta ao ambiente.

## **2. OBJETIVO GERAL**

Avaliar o conteúdo proteico do sistema radicular de *Allagoptera arenaria*, sua anatomia, o solo e o clima do local, buscando entender como essa planta responde a diferentes aspectos das condições edafoclimáticas no PARNA da Restinga de Jurubatiba.

### **2.1. Objetivos específicos**

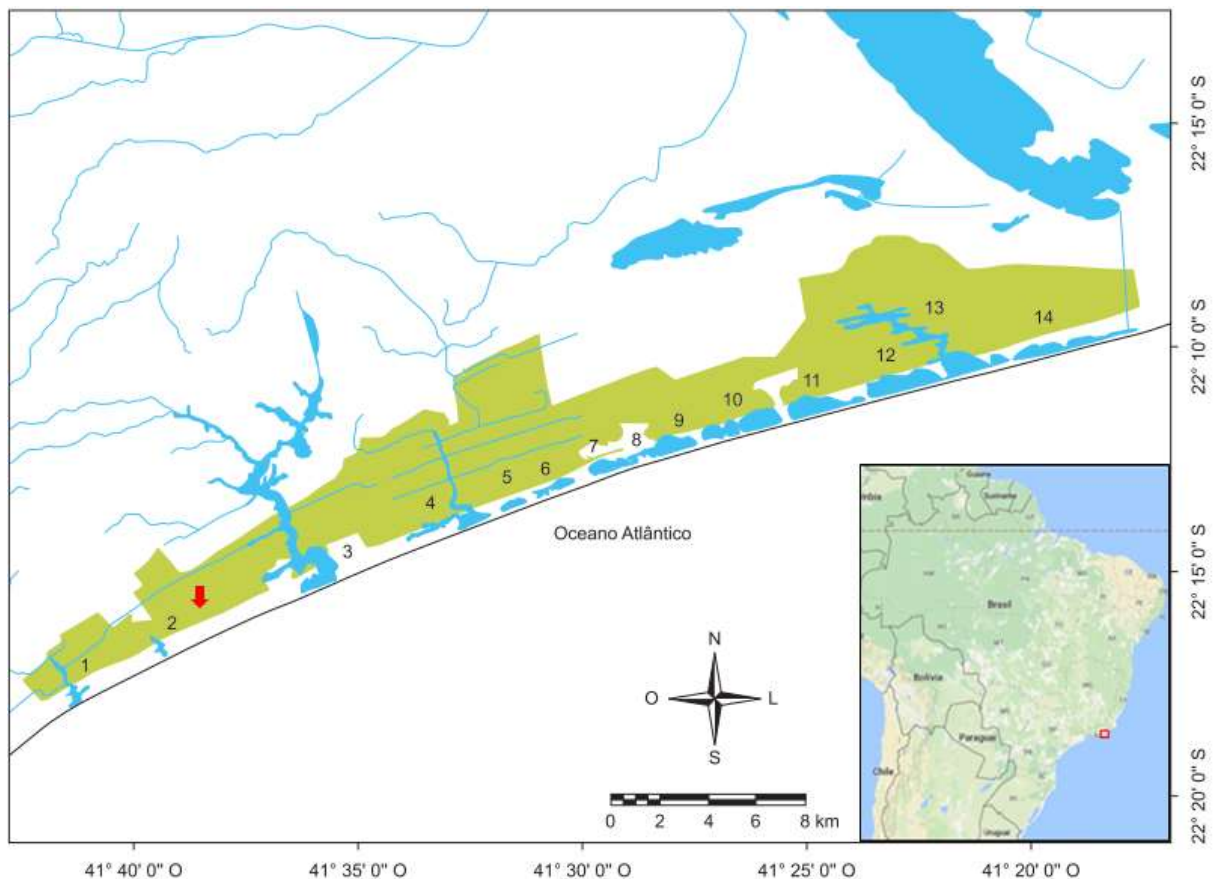
- Analisar as condições edafoclimáticas da restinga onde ocorre espécies de *Allagoptera arenaria*;
- Analisar a fertilidade do solo local onde ocorre espécies de *Allagoptera arenaria*;
- Caracterizar a anatomia de raízes de *Allagoptera arenaria* em seus diferenciados calibres e fases de desenvolvimento;
- Caracterizar a biodiversidade de proteínas presentes no sistema radicular de *Allagoptera arenaria*.

### 3. METODOLOGIA DA PESQUISA

#### 3.1. Área de estudo

O Parque Nacional(PARNA) da Restinga de Jurubatiba compreende cerca de 44 km da costa norte do Estado do Rio de Janeiro abrangendo os municípios de Macaé, Carapebus e Quissamã. É o único parque nacional de preservação de restinga do Brasil, sendo dotado de 18 lagoas e aproximadamente 15 mil hectares (PEREIRA *et al.*, 2004; FREIRE *et al.*, 2016).

A coleta do material biológico e do solo ocorreu após a segunda lagoa do parque, a lagoa Comprida, localizada no município de Carapebus, nas coordenadas 22°16'14.7" S 41°38'43.9" W (GOOGLE MAPS. [Restinga de Jurubatiba]. [2017]. Coordenadas. Disponível em: <<https://www.google.com.br/maps>>).

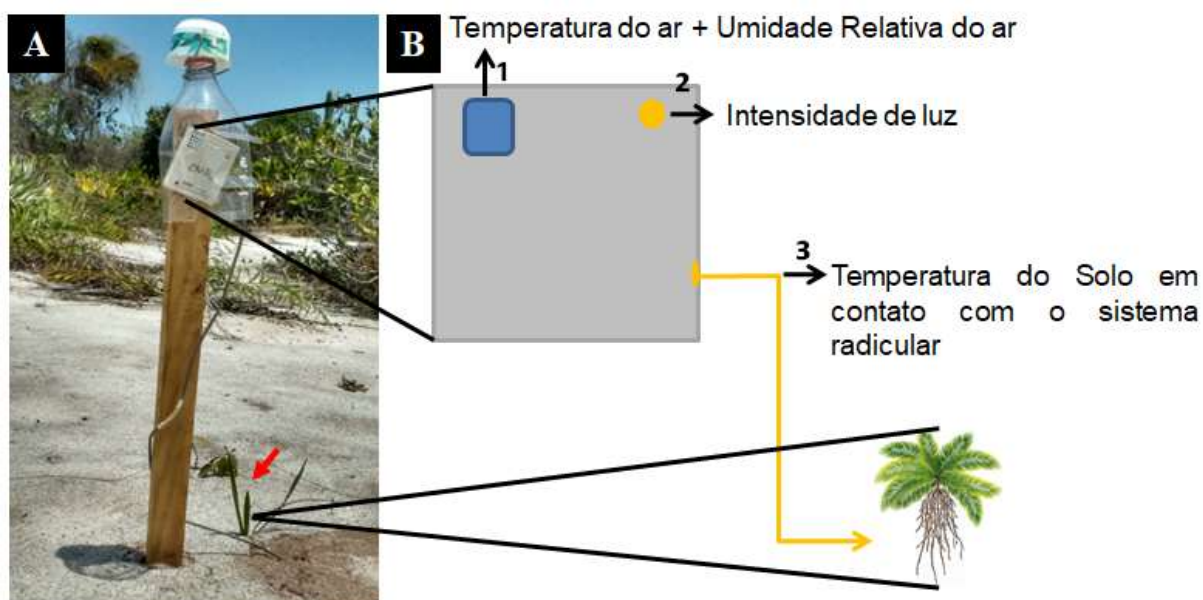


**Figura 3:** Mapa do Parque Nacional da Restinga de Jurubatiba. Algumas das lagoas encontradas no parque: (1) Cabiúnas; (2) Comprida; (3) Carapebus; (4) Paulista; (5) Amarra-Boi; (6) Garças; (7) Piripiri II; (8) Piripiri I; (9) Maria-Menina; (10) Robalo; (11) Visgueiro; (12) Pires; (13) Preta e (14) Ubatuba. A Localização de onde foram coletados os indivíduos de *Allagoptera arenaria* está sinalizado (seta). Fonte: Modificado de LUZ *et al.*, (2011) e GOOGLE MAPS. (Disponível em: <<https://www.google.com.br/maps/place/Parque+Nacional+Restinga+de+Jurubatiba/>>).

### 3.2. Coleta de dados abióticos

Próximo ao local de coleta foi feito o monitoramento e registro das variáveis: temperatura do ar e do solo, umidade relativa do ar e luminosidade com a ajuda do aparelho *Data Logger* (HOBO, modelo U12-012) previamente programado (Figura 3). O período de coleta de dados foi das 10h53min do dia 04/01/2017 até às 11h do dia 09/01/2017, gerando um total de 120 horas de monitoramento em um intervalo de coleta de 5 minutos. A área de alcance do aparelho é de 50 m<sup>2</sup>. O *Data Logger* foi instalado o mais próximo possível de indivíduos de *Allagoptera arenaria* (Figura 3).

Após a obtenção dos dados foram elaborados gráficos utilizando o programa Excel, versão 2013.



**Figura 4:** Monitoramento de dados abióticos. (A) Dispositivo de coleta de dados, *Data Logger* (HOBO, modelo U12-012), colocado no Parque Nacional da Restinga de Jurubatiba ao lado de um exemplar de *A. arenaria*; (B) Modelo esquemático do *Data Logger*. (1) Sensor para medidas de temperatura e umidade relativa do ar; (2) Sensor para medidas de intensidade luminosa; (3) Fio com sensor para medidas de temperatura no solo. Indivíduo jovem de *Allagoptera arenaria* está sinalizado (seta).

### 3.3. Coleta de amostras vegetal e de solo

No último dia de monitoramento dos parâmetros abióticos foram coletadas amostras de material vegetal e de solo. Três exemplares de *Allagoptera arenaria*, próximos ao ponto de instalação do *Data Logger*, foram coletados, observados e fotografados para caracterização morfológica. Foram coletados 500 g de solo ao redor de cada exemplar, na profundidade de 0 – 10 centímetros. Todas as coletas foram feitas em triplicata. As amostras radiculares das plantas foram coletadas, congeladas em nitrogênio líquido e levadas para o Laboratório de Biotecnologia Vegetal (NUPEM/UFRJ).

Outros quatro exemplares de *A. arenaria* foram coletados para análise anatômica das raízes. Amostras radiculares foram armazenadas em sacos plásticos, acondicionadas em uma caixa de isopor contendo gelo até o processamento no Laboratório Integrado de Botânica do NUPEM/UFRJ Macaé.

### 3.4. Análise físico-química do solo

As amostras de solo foram analisadas no Laboratório de Solos da Fundação Norte Fluminense de Desenvolvimento Regional (FUNDENOR) em Campos dos Goytacazes, RJ. Os seguintes parâmetros foram analisados: concentração de Carbono (C), Nitrogênio (N), Fósforo (P), Potássio (K), Cálcio (Ca), Magnésio (Mg), Sódio (Na), Enxofre (S-SO<sub>4</sub>), Alumínio (Al), Acidez Potencial (H+Al), Matéria Orgânica (MO), Capacidade de Troca de Cátions (CTC), Soma de Bases Trocáveis (SB), Índice de Saturação de Bases (V), Índice de Saturação de Alumínio (m), Ferro (Fe), Cobre (Cu), Zinco (Zn), Manganês (Mn) e Boro (B).

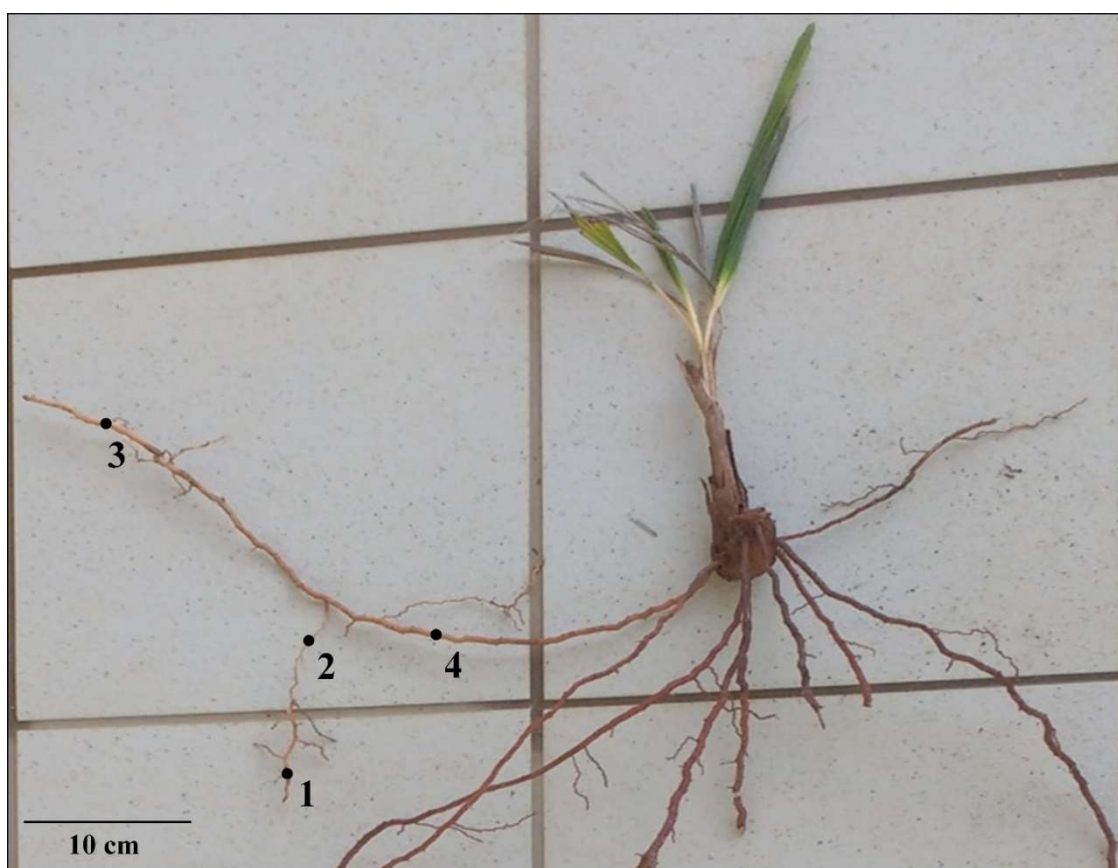
### 3.5. Análise anatômica

Para a análise anatômica foram feitos cortes transversais a mão livre de raízes frescas de *Allagoptera arenaria*. Os cortes foram feitos em diferentes distâncias a partir do ápice da raiz e para cada região da raiz foram obtidos ao menos 5 cortes, com intuito de avaliar variações estruturais ao longo do sistema radicular (Figura 4).

Parte dos cortes foram clarificados em solução de hipoclorito de sódio 50% e posteriormente corados com safranina 0,5% e azul de astra 0,5% (v/v 1:9) por 2 min (BUKATSCH, 1972). Cortes frescos sem coloração foram utilizados para realização

de testes histoquímicos. Para a detecção de amido, as amostras foram submetidas a uma solução de lugol durante 10 minutos (JOHANSEN, 1940). Para a análise de fenóis livres as amostras foram submetidas a uma solução de cloreto férrico aquoso por 5 minutos (ARDUIN & KRAUSS, 1997).

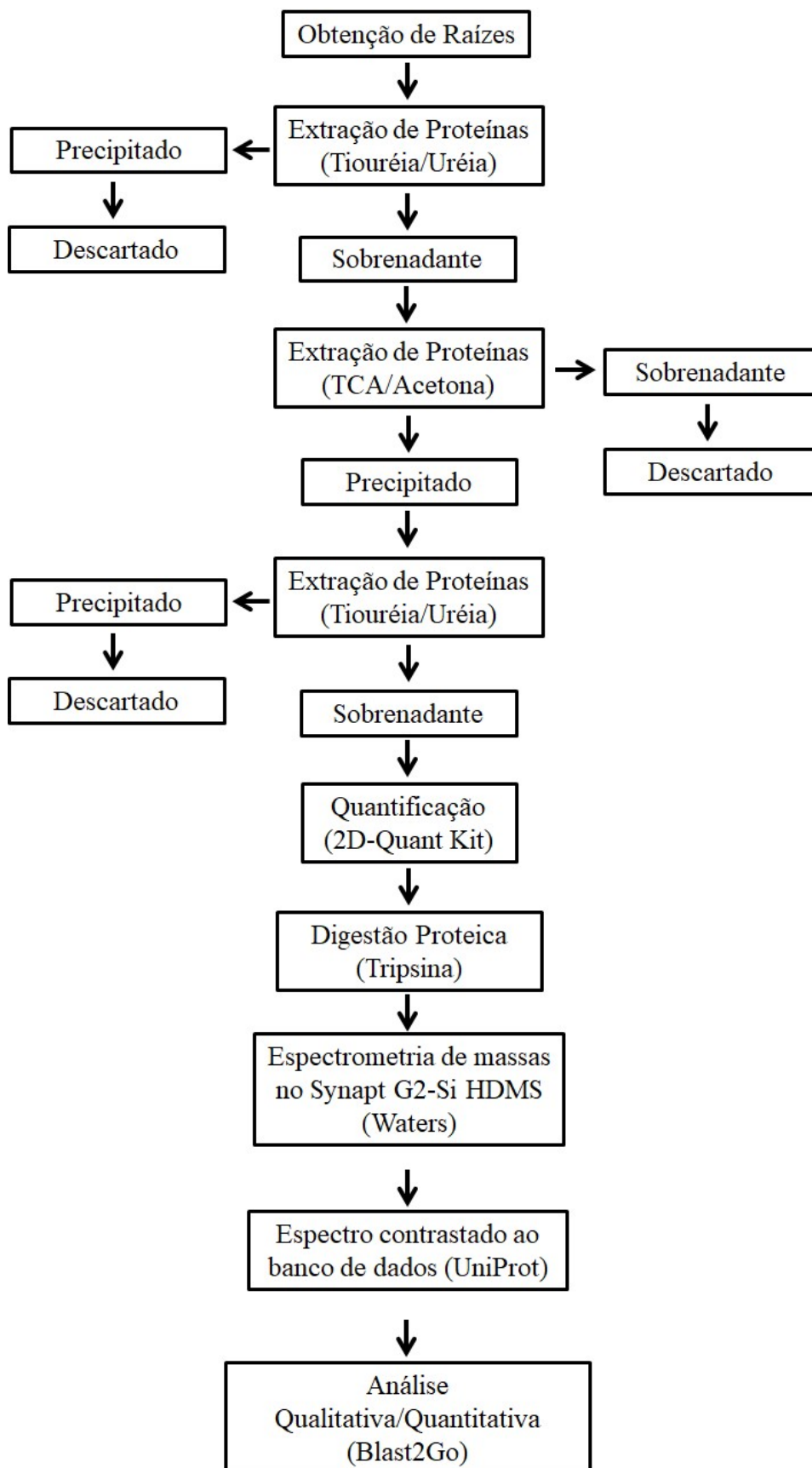
Os cortes foram montados em lâminas contendo água glicerinada (50%), as quais foram cobertas por lamínula e vedadas com esmalte incolor. A observação e documentação fotográfica foram realizadas em microscópio óptico Olympus CX31 com câmera acoplada (AmScope MA1000-CK).



**Figura 5:** Exemplar de *A. arenaria*. As regiões utilizadas para preparo das lâminas histológicas estão em evidência. (1 e 2) Raiz de segunda ordem. Cortes transversais feitos a 0,8 cm (Região 1) e 9,2 cm (Região 2) do ápice; (3 e 4) Raiz de primeira ordem. Cortes transversais feitos a 8,0 cm (Região 3) e 25 cm (Região 4) do ápice.

### 3.6. Análise proteômica

Para análise proteômica seguiu-se a metodologia descrita por HERINGER *et al.*, 2017, com algumas modificações. Este protocolo teve que ser adaptado porque neste projeto a amostra utilizada, raízes *in natura*, tem baixa concentração de proteínas, as quais são de difícil extração. Assim, foi feita a adição de mais uma etapa de maceração utilizando Tiourea/Ureia para aumentar o rendimento e eficiência da extração proteica. Conforme o esquema a seguir:



**Figura 6:** Fluxograma da metodologia utilizada para a análise proteômica.

### 3.6.1. Extração proteica e quantificação de proteínas

As raízes foram coletadas, armazenadas em nitrogênio líquido e posteriormente maceradas utilizando nitrogênio líquido até obtenção de um fino pó. Em seguida, foi feita uma nova maceração na proporção de 200 mg de pó para 1 mL da solução Tiourea/Ureia (ureia 8 M, tiourea 2 M, de ditioneitol (DTT) 1%, triton X-100 2%, pharmalyte 0,5%, Fluoreto de Fenilmetilsulfonil (PMSF) 1mM e pepstatina 5  $\mu$ M), de acordo com o protocolo de BALBUENA *et al.* (2009). Após esta etapa, o material foi transferido para microtubos de 1,5 mL e centrifugado a 12.000 x *g* por 5 minutos a 4°C. Posteriormente, o sobrenadante foi recuperado e suas proteínas foram precipitadas com uma solução de TCA/Acetona (ácido tricloroacético 10% em acetona) contendo DTT a 20 mM (DAMERVAL *et al.*, 1986). Para esta precipitação, o sobrenadante foi deixado por 1 h a 4°C, e posteriormente, por 1 h a -20°C.

Finalizado este período, a amostra foi centrifugada a 16.000 x *g* por 30 min a 4°C. Após a centrifugação, descartou-se o sobrenadante e o precipitado foi lavado por 3x com 500  $\mu$ L de acetona gelada (vortex por 30 segundos) e posteriormente recuperado por centrifugação (16.000 x *g* a 4°C). Uma vez recuperado, o precipitado foi colocado para secar e posteriormente ressuspensão em 1 mL da solução de Tiourea/Ureia (sob agitação por 1 h a 4°C). Após a ressuspensão, a amostra foi centrifugada por 15 min a 16.000 x *g* (4°C) e o sobrenadante coletado para a quantificação de proteínas utilizando o 2-D Quanti kit (GE-Healthcare®). Albumina de soro bovino foi utilizada como padrão para esta quantificação (Figura 5).

### 3.6.2. Digestão proteica

Após a quantificação proteica, foi padronizado uma solução estoque de concentração de 100  $\mu$ g de proteína em 0,5 mL de solução de Tiourea/Ureia. Para a etapa de digestão proteica, foram retirados 50  $\mu$ L da solução estoque e acrescentados em 50  $\mu$ L de tampão bicarbonato de amônio 50 mM pH 8,5 e centrifugado a 12.000 x *g* por 5 min a 8 °C. Posteriormente, 100  $\mu$ L do sobrenadante foi filtrado numa membrana Amicon (GE-Healthcare®) e em seguida foram feitas 2 lavagens da membrana com 400  $\mu$ L de bicarbonato de amônio 50 mM pH 8,0. Durante as etapas de lavagens, foram feitas centrifugação a 12.000 x *g* por 10 minutos a 8 °C. Ao final, 50  $\mu$ L da amostra foram utilizados para a digestão proteica (Figura 5).



Para a digestão proteica, aos 50  $\mu\text{L}$  da amostra foram adicionados 25  $\mu\text{L}$  de RapiGEST 0.2% v/v (Waters, USA) e, posteriormente, a amostra foi vigorosamente agitada por 5 segundos e aquecida a 80  $^{\circ}\text{C}$  por 15 minutos em banho seco (Eppendorf Thermomixer Comfort). Feito isso foram adicionados 2,5  $\mu\text{L}$  de dithiothreitol (DTT) 100 mM e a amostra novamente foi levada ao banho seco a 60  $^{\circ}\text{C}$  por 30 minutos. Após este período, esta foi colocada em banho de gelo por 30 segundos e em seguida adicionou-se 2,5  $\mu\text{L}$  de iodoacetamida (IAA) 300 mM. A amostra foi então agitada vigorosamente por 5 segundos e incubada por 30 minutos em temperatura ambiente protegida de luz. Passado este período, foram adicionados à amostra 20  $\mu\text{L}$  de tampão bicarbonato de amônio 50 mM pH 5,0 contendo tripsina (50  $\text{ng}\cdot\mu\text{L}^{-1}$ ) (Promega, USA) e esta foi levada ao banho seco a 37  $^{\circ}\text{C}$  por 16 h. No dia seguinte, foram adicionados 10  $\mu\text{L}$  de ácido trifluoroacético para precipitar o surfactante Rapigest SF (vortex por 5 segundos e incubação por 90 minutos a 37  $^{\circ}\text{C}$  sem agitação). Após este procedimento, a amostra foi centrifugada a 4.000 x g por 30 minutos a 8  $^{\circ}\text{C}$ . Então, foram coletados 100  $\mu\text{L}$  do sobrenadante e colocados no Total Recovery Vial (Waters, USA) para então ser feita a análise proteômica do tipo *shotgun* no espectrômetro de massas Synapt G2-Si HDMS (Waters).

### 3.6.3 Análise de espectrometria de massas

O espectrômetro de massas conta com uma nanoUPLC tandem bidimensional nanoESI-HDMS (‘Nano Electrospray High Definition Mass Spectrometry’), para análise de dados independentes, onde o experimento foi conduzido usando duas fases: Fase de gradiente reverso por uma hora de 7% para 40% (v/v) de acetonitrila (0.1% v/v de ácido fórmico) e fase do sistema de tecnologia nanoACQUITY UPLC 2D 500  $\text{nL}\cdot\text{min}^{-1}$ .

A coluna nanoACQUITY UPLC HSS T3 (1.8  $\mu\text{m}$  x 15 cm, pH 3,0) foi usada em conjunção com uma coluna de fase reversa XBridge BEH130 C18 5  $\mu\text{m}$  nanoFlow (300  $\mu\text{m}$  x 50 mm pH 10,0). Foram utilizados aproximadamente 10  $\mu\text{g}$  de proteínas digeridas para cada teste. O espectrômetro foi operado em modo de resolução com (*‘typical m/z’*) de poder de resolução de 35000 FWHM e uma (*‘ion mobility cell’*) que é preenchida com nitrogênio gasoso.

As análises foram feitas utilizando um nano-eletrospray ionizado em positivo (nanoESI (+) e nanoLock-Spray) (Waters, Manchester, UK) com fonte de ionização. O

espectrômetro foi calibrado usando MS/MS com espectro da solução de [Glu1]-Fibrinopeptide B humano (Glu-Fib) a  $100 \text{ fmol} \cdot \mu\text{L}^{-1}$ ). Foi feita outra calibração usando MS/MS fragmentando íons de Glu-Fib usados para obter a calibração final. Em adição, um dispositivo específico e não linear (*'T-wave ion mobility'*) (HDMS<sub>e</sub>) foi usado simultaneamente com o espectrômetro de massas SYNAPT G2-HDMS (Waters, Manchester, UK), que é automaticamente programado para sair de MS (3 eV) para elevada colisão de energia em HDMS<sub>e</sub> (19-45 eV), estando pronto para a adição de (*'T-wave CID'*) (colisão induzida por dissociação) com gás argônio. As (*'trap collision cells'*) foram ajustadas para 1 eV, usando um scanner de 1 milissegundo que foi previamente ajustado baseando-se na velocidade de picos de cromatografia que passaram pelo nanoACQUITY UPLC para gerar no mínimo 20 pontos de scans para cada pico (baixa e alta transmissão), em uma aceleração ortogonal de TOF (time of flight) e de área de massa de  $m/z$  50 para 2000. As amostras foram injetadas na mesma quantidade na coluna e foram feitas medidas estequiométricas baseadas nas corridas exploratórias, assegurando uma melhor eficiência, buscando melhores valores em todas as condições.

### 3.7. Ferramentas de bioinformática utilizadas na leitura de dados

Todas as ferramentas utilizadas no trabalho são de caráter livre para uso, podendo ser encontradas gratuitamente *online*. A principal ferramenta utilizada nesse estudo foi o Blast2GO (GÖTZ *et al.*, 2008) que permite a produção de tabelas contendo informações sobre a identidade e funcionalidade de cada proteína baseando-se em um banco de dados escolhido. O Blast2GO está disponível em <<https://www.blast2go.com/>>.

Foi utilizada ainda o banco de dados UNIPROT (WASMUTH *et al.*, 2016) disponível em <<http://www.uniprot.org/>>, utilizada para identificação ontológica das proteínas, funcionando como um banco de dados de toda a informação referente às proteínas alvo.

Também foi utilizado o *'The Arabidopsis Information Resource'*, que é um banco de dados de *Arabidopsis thaliana* (TAIR) (RHEE *et al.*, 2003), encontrado em <<https://www.arabidopsis.org/>>, o qual funcionou como um guia para buscar proteínas com sequencias semelhantes em *A. thaliana* através de BLAST das proteínas encontradas em *A. arenaria*

### **3.8. Produção de redes de interação proteína-proteína para visualização global de suas interações**

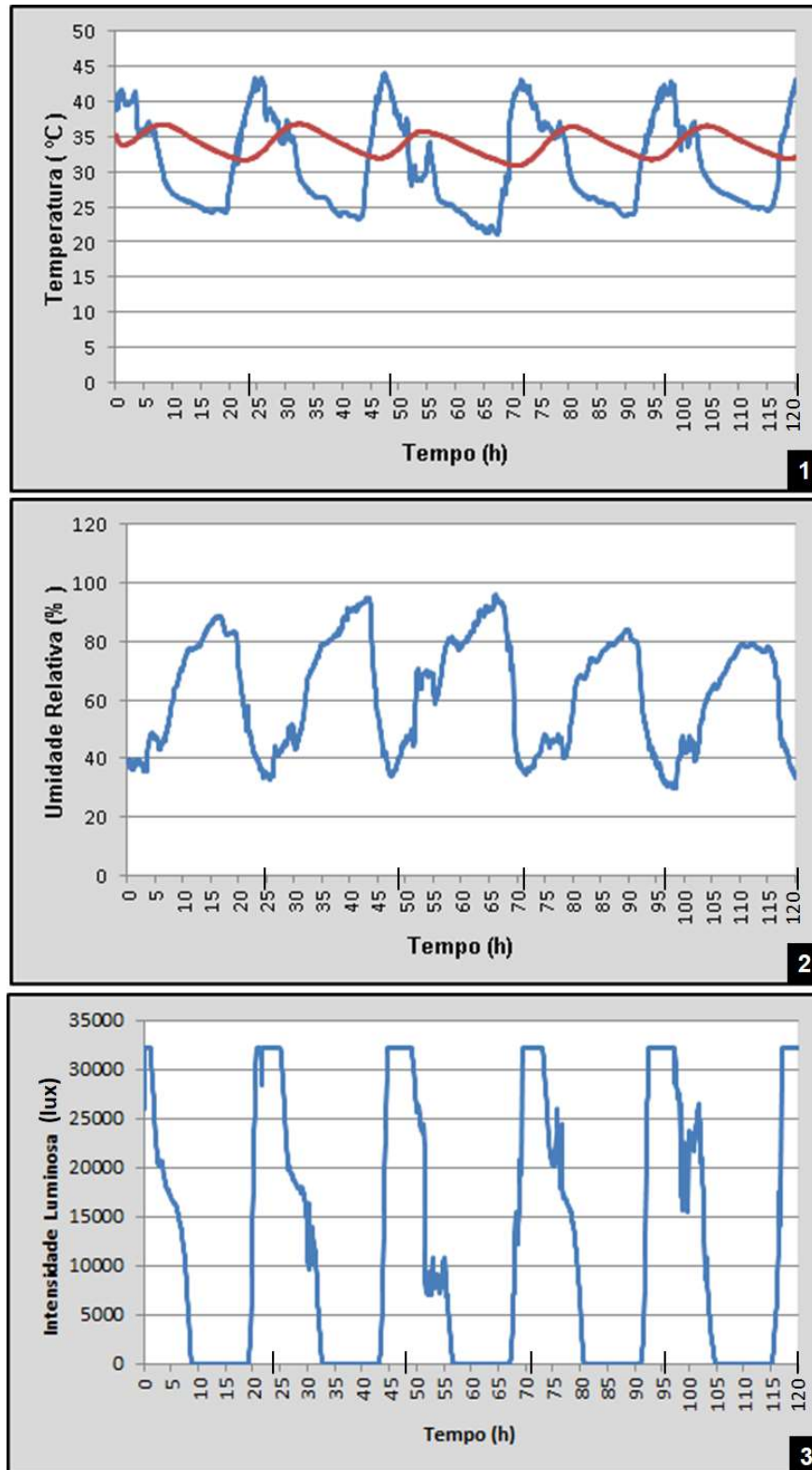
Para a produção de redes de interação proteína-proteína foi utilizado o (*Arabidopsis interaction Viewer*) (GEISLER-LEE *et al.*, 2007), disponível em <<http://bar.utoronto.ca/>>. Esta ferramenta foi utilizada para produzir redes de interação proteína-proteína das proteínas alvo com proteínas secundárias, propondo assim certa funcionalidade a partir de suas interações.

A ferramenta Cytoscape (CHRISTMAS *et al.*, 2005), disponível em <<http://www.cytoscape.org/>>, foi utilizada para fazer um mapa de interação global envolvendo todas as redes de interação proteína-proteína encontradas. Esta ferramenta propicia uma melhor compreensão da interação global entre proteínas.

## **4. RESULTADOS**

### **4.1. Análise de dados abióticos**

Foi observado que a temperatura do ar sofreu uma maior alteração em comparação à temperatura do solo, tendo chegado ao máximo de 43 °C, próximo às 12 h e ao mínimo de 22 °C, próximo à 0 h. Quanto ao solo, foi observado o máximo de 36 °C às 19 h e o mínimo de 31 °C às 9 h (Gráfico 1). Com relação à umidade relativa do ar, observou-se que esta é inversamente proporcional à intensidade luminosa, com valores maiores durante a noite (começando a aumentar por volta das 19 h) e valores menores durante o dia (começando a diminuir por volta das 7 h), apresentando máxima de 93% e mínima de 30% (Gráfico 2). Os maiores valores de intensidade luminosa ocorrem entre 6 e 12 h e em outros horários seus valores caem drasticamente, com máxima de 322 mil lux durante o dia e mínima de 118 lux durante a noite (Gráfico 3).



**Figura 7:** **Gráfico 1:** Variação da temperatura do ar (linha azul) e do solo (0 – 10 cm de profundidade) (linha vermelha) próximo a um exemplar de *A. arenaria* do PARNA da Restinga de Jurubatiba. **Gráfico 2:** Variação da umidade relativa do ar próximo a um exemplar de *A. arenaria* do PARNA da Restinga de Jurubatiba. **Gráfico 3:** Variação de intensidade luminosa próximo a um exemplar de *A. arenaria* do PARNA da Restinga de Jurubatiba. Dados coletados durante 5 dias utilizando o Data Logger HOBO U12-012. As marcações (traços em preto) indicam um período de 24 h.

## 4.2. Análise físico-química do solo

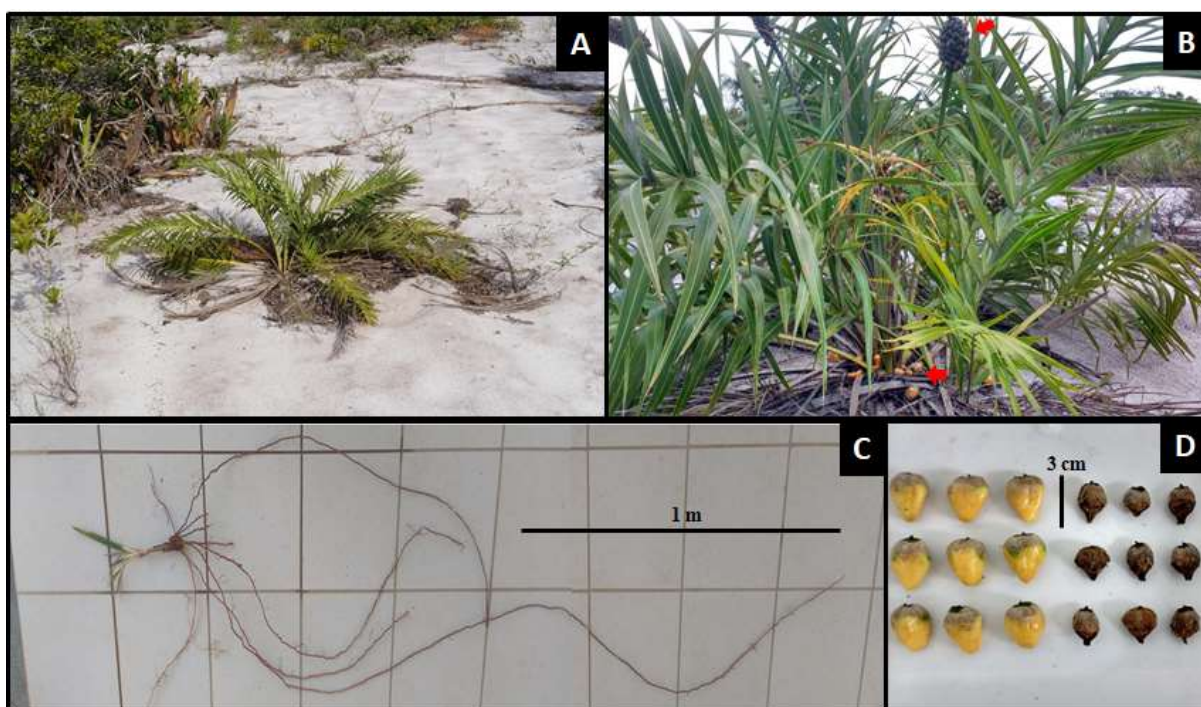
A camada superficial dos solos coletados no intervalo de 0 a 10 cm de profundidade são altamente arenosos, apresentando um **pH** médio de 5,3 levemente ácido. Em relação a sua composição química (Tabela 1), quando comparada com os parâmetros ideais propostos pelo Guia Prático para Interpretação de Resultados de Análises de Solo da EMBRAPA, foi possível concluir que a análise das amostras apresentou um solo pobre em nutrientes chegando as quantidades a seguir: **Nitrogênio (N)** com média de 0,102 g/kg, **Enxofre (S-SO<sub>4</sub>)** com média de 3,33 mg/dm<sup>3</sup>, **Fósforo (P)** com média de 3,0 mmol./dm<sup>3</sup>, **Potássio (K)** com média de 0,1 mmol./dm<sup>3</sup>, **Cálcio (Ca)** com média de 2,7 mmol./dm<sup>3</sup>, **Magnésio (Mg)** com média de 6,23 mmol./dm<sup>3</sup>, **Alumínio (Al)** com média de 0,96 mmol./dm<sup>3</sup>, **Acidez Potencial (H+Al)** com média de 10,67 mmol./dm<sup>3</sup>, **Sódio (Na)** com média de 0,3 mmol./dm<sup>3</sup>, **Carbono (C)** com média de 5,0 g/dm<sup>3</sup>, **Matéria Orgânica (MO)** com média de 8,62 g/dm<sup>3</sup>, **Capacidade de Troca de Cátions (CTC)** com média de 20,03 mmol./dm<sup>3</sup>, **Soma de Bases Trocáveis (SB)** com média de 9,36 mmol./dm<sup>3</sup>, **Índice de Saturação de Bases (V)** com média de 42,6 %, **Índice de Saturação de Alumínio (m)** com média de 10,67 %, **Ferro (Fe)** com média de 6,3 mg/dm<sup>3</sup>, **Cobre(Cu)** com média de 0,073 mg/dm<sup>3</sup>, **Zinco (Zn)** com média de 0,406 mg/dm<sup>3</sup>, **Manganês (Mn)** com média de 0,97 mg/dm<sup>3</sup>, **Boro (B)** com média de 0,276 mg/dm<sup>3</sup> e **Condutividade Elétrica (C.E.)** com média de 0,07 dS/m.

**Tabela 1:** Análise físico-química do solo próximo a um exemplar de *A. arenaria* do PARNA da Restinga de Jurubatiba. (pH) Potencial Hidrogeniônico, (N) Nitrogênio, (S-SO<sub>4</sub>) Enxofre, (P) Fósforo, (K) Potássio, (Ca) Cálcio, (Mg) Magnésio, (Al) Alumínio, (H+Al) Acidez Potencial, (Na) Sódio, (C) Carbono, (MO) Matéria Orgânica, (CTC) Capacidade de Troca de Cátions, (SB) Soma de Bases Trocáveis, (V) Índice de Saturação de Bases, (m) Índice de Saturação de Alumínio, (Fe) Ferro, (Cu) Cobre, (Zn) Zinco, (Mn) Manganês, (B) Boro e (C.E.) Condutividade Elétrica. Padrão proposto pelo Guia Prático para Interpretação de Resultados de Análises de Solo da Embrapa. A letra x significa que o guia não possuía dados a respeito do parâmetro apontado.

	pH	N	S-SO <sub>4</sub>	P	K	Ca	Mg	Al	H+Al	Na	C	MO	CTC	SB	V	M	Fe	Cu	Zn	Mn	B	C.E.
	(H <sub>2</sub> O)	(g/Kg)	(mg/dm <sup>3</sup> )	(mmol./dm <sup>3</sup> )				(g/dm <sup>3</sup> )	(mmol./dm <sup>3</sup> )	%		(mg/dm <sup>3</sup> )				(dS/m)						
<b>Padrão</b>	5,0-6,0	X		0,77-1,53	16-30	4-10	5,0-10,0	X				20-40	X	50-70	X							
<b>Jurubatiba</b>	5,3	0,1	3,33	3	0,1	2,7	6,23	0,97	10,7	0,33	5	8,62	20	9,37	42,7	10,7	6,33	0,07	0,41	0,97	0,28	0,07

### 4.3. Caracterização morfoanatômica

*Allagoptera arenaria* é comumente encontrada em meio a areia nua, muitas vezes solitária (Figura 6-A), e pode chegar até 2 metros de altura. Apresenta um estipe subterrâneo encurtado ou cespitoso, de onde saem suas raízes adventícias, podendo chegar até 3 metros de comprimento (Figura 6-C). Sua coroa foliar apresenta de 2 a 30 folhas pinadas, de organização espiralada envolta por cera, com bráctea peduncular lenhosa (Figura 6-B). Apresenta frutos de coloração amarelo-esverdeado de formato oval contendo uma semente (Figura 6-D).



**Figura 8:** Exemplar de *Allagoptera arenaria* do PARNA de Jurubatiba. (A) Imagem representativa do exemplar em meio a restinga; (B) Parte aérea com estrutura reprodutiva (seta amarela) e frutos maduros ao chão (seta vermelha); (C) Sistema radicular com cerca de 3 m de comprimento; (D) Imagem de frutos frescos e secos.

*Allagoptera arenaria* apresenta uma anatomia radicular peculiar, com variações conforme a distância do ápice e o nível de ramificação.

No corte transversal da região mais apical da raiz de segunda ordem (região 1) observa-se uma epiderme uniestratificada composta por células volumosas e

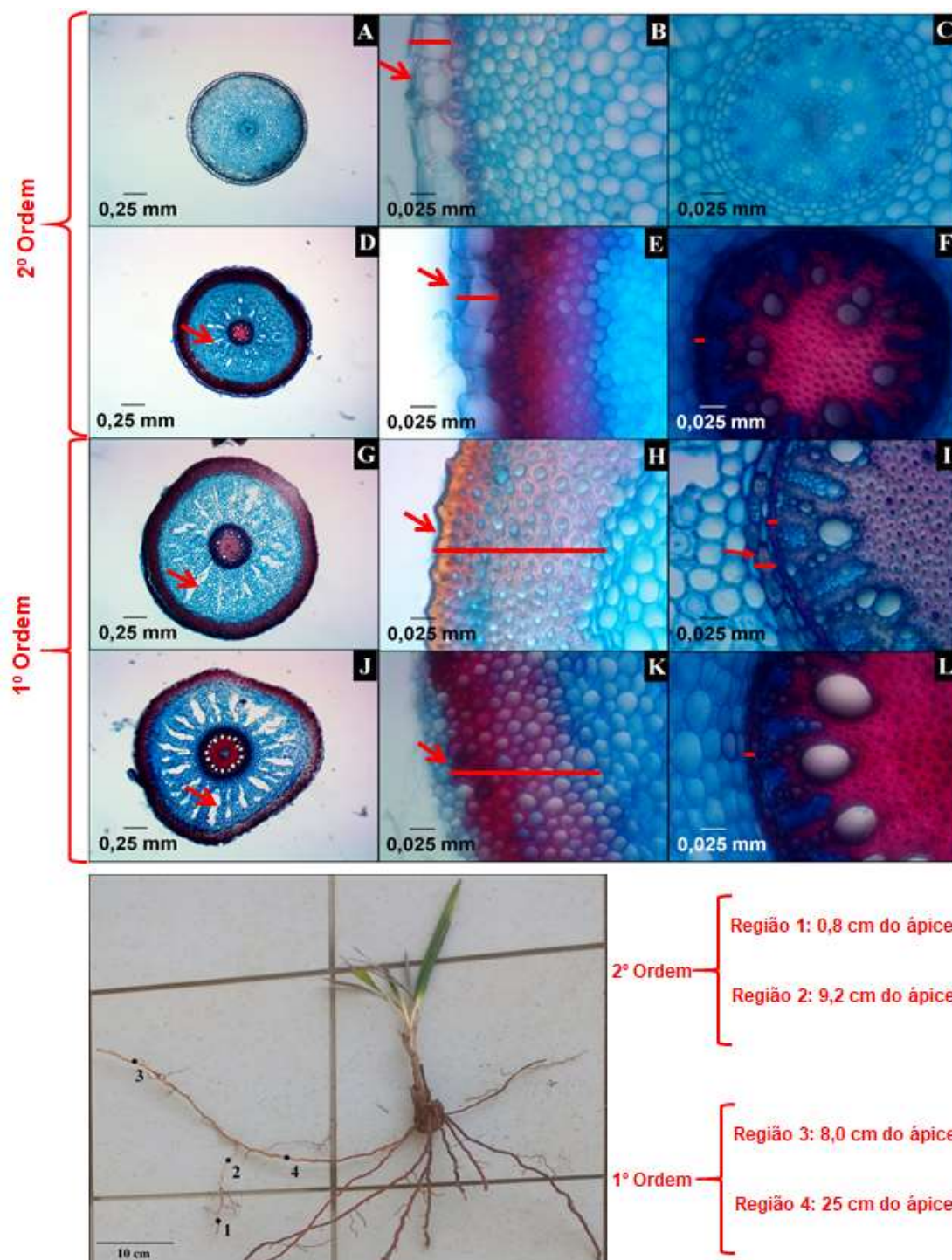
aparentemente sem tricomas (Figura 7B). O córtex é composto por células parenquimáticas com parede primária com exceção da exoderme e acamada cortical mais externa é formada por células esclerificadas de menor diâmetro. A raiz apresenta estrutura poliarca, com os elementos condutores ainda em diferenciação e possui uma medula cuja região mais interna é esclerificada (Figura 7C).

Na região da raiz de segunda ordem mais distante do ápice (região 2), observa-se uma faixa subepidérmica de células esclerificadas com cerca de 8 camadas, constituindo uma exoderme multiextratificada (Figura 7 E). Nas camadas mais internas do córtex são observadas lacunas simetricamente espaçadas entre as células parenquimáticas (Figura 7 D). Ao redor do cilindro vascular é possível observar uma camada de células com paredes espessas em formato de U que constitui a endoderme. Os elementos condutores do xilema e do floema encontram-se diferenciados e a medula está totalmente esclerificada.

Na região mais apical da raiz de primeira ordem (região 3), não se observa mais a epiderme e a exoderme passa ser a camada mais externa (Figura 7 H). As lacunas presentes no córtex apresentam maior diâmetro e maior comprimento evidenciando a estrutura aerênquimatosa (Figura 7 G). Externamente à endoderme observa-se uma camada de células esclerenquimáticas do tipo braquiesclereide. (Figura 7 I).

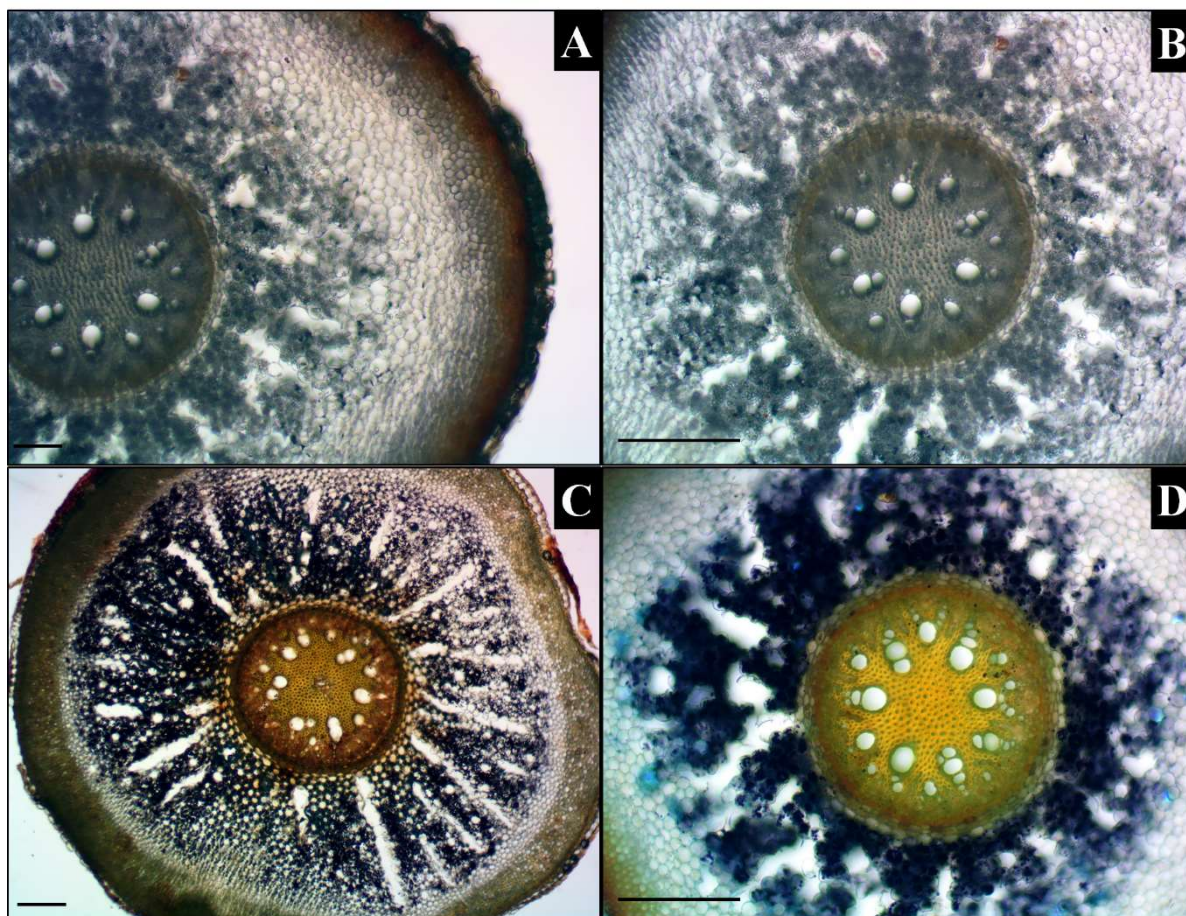
Em regiões mais desenvolvidas da raiz de primeira ordem (região 4) observa-se na parte mais externa do córtex faixas de células com parede espessa intercaladas com faixas de células com parede delgada (Figura 7 J-K). Na região cortical interna as lacunas do aerênquima estão completamente formadas ocupando grande parte da área do córtex (Figura 7 J). Os elementos condutores do xilema apresentam maior calibre e observa-se a presença de células com parede celulósica na região central da medula (Figura 7 L).





**Figura 9:** Cortes transversais da raiz de *A. arenaria* em diferentes regiões. Região 1 (A - C); Região 2 (D - F); Região 3 (G - I); Região 4 (J - L). Na primeira coluna (A, D, G e J), visão geral dos cortes transversais, com setas apontando aerênquima em diferentes fases de desenvolvimento. Na segunda coluna (D, E, H e K), visão das camadas mais externas do córtex e epiderme, com setas e barras apontando nos cortes B e E a epiderme, e nos cortes H e K apontando a ausência da epiderme e diversas camadas de exoderme. Na terceira coluna (C, F, I e L), visão do cilindro vascular e camadas mais internas do córtex, com barras vermelhas apontando nos cortes F, I e L a endoderme e seta e barra vermelha no corte I indicando a presença de células esclerenquimáticas externamente a endoderme.

O teste histoquímico para detecção de amido apresentou resultado positivo para região do córtex evidenciando o acúmulo de grãos de amido especialmente na região do aerênquima (Figura 8 C-D), tanto em raízes de primeira ordem como de segunda ordem. Não foi observado acúmulo de fenóis livres na raiz de *A. arenaria* (dados não mostrados). Cortes sem coloração foram utilizados como controle (Figura 8 A-B).



**Figura 10:** Corte transversal da raiz de *A. arenaria*. (A-B) Raízes sem coloração; (C-D) teste histoquímico positivo para detecção de amido, corado em roxo na região do córtex apenas. Barra = 0,25 mm.

#### 4.4. Análise proteômica

Através de uma análise inicial utilizando a ferramenta Blast2GO com base no banco de dados UniProt foram identificadas 307 proteínas de *A. arenaria* (Tabela 1 e Figura 11). Uma análise comparativa destas proteínas com o banco de dados UniProt mostrou que 36,8% destas proteínas ainda não foram caracterizadas.

Dentre as 307 proteínas identificadas na espectrometria, cerca de 27,1% deste total foi representada pela família de proteínas transmembrana Aquaporina, seguida de proteínas pertencentes a família Superóxido Dismutase (20,3%). Ainda, verificou-se menores porcentagens em relação às proteínas de atividade estrutural da família 'Clathrin Heavy Chain' com 3,6%, entre outras proteínas de diferentes funções (0,3% do total) (Tabela 1 e Figura 11).

**Tabela 2:** Relação de proteínas identificadas pela espectrometria de massa da amostra de *A. arenaria*.

Nº de Acesso	Descrição da Proteína	Quantidade	Localização Subcelular
<b>Metabolismo de Carboidrato e Energia</b>			
(ATP9_ORYSI)	ATP synthase subunit 9	7	Membrana mitocondrial
<b>Oxirredutase</b>			
(SODC1_ORYSI)	Superoxide dismutase [Cu-Zn]	66	Citoplasma
(K7VIB2_MAIZE)	Superoxide dismutase 9 isoform 1	1	Citoplasma
(R7W850_AEGTA)	Alcohol dehydrogenase 3	1	Complexo de Golgi
<b>Transportador Transmembrana</b>			
(Q08IH5_HORVU)	Aquaporin	26	Membrana Plasmática
(Q2QBA1_9LILI)	Aquaporin PIP 1	33	Membrana Plasmática
(A0A0A9TN04_ARUDO)	Aquaporin PIP 1e	1	Membrana Plasmática
(M8A623_TRIUA)	Aquaporin PIP1-1	7	Membrana Plasmática
(A6N0M3_ORYSI)	Aquaporin PIP 1-2	4	Membrana Plasmática
(PIP13_ORYSJ)	Aquaporin PIP 1-3	2	Membrana Plasmática
(PIP13_MAIZE)	Aquaporin PIP1-3/PIP1-4	2	Membrana Plasmática

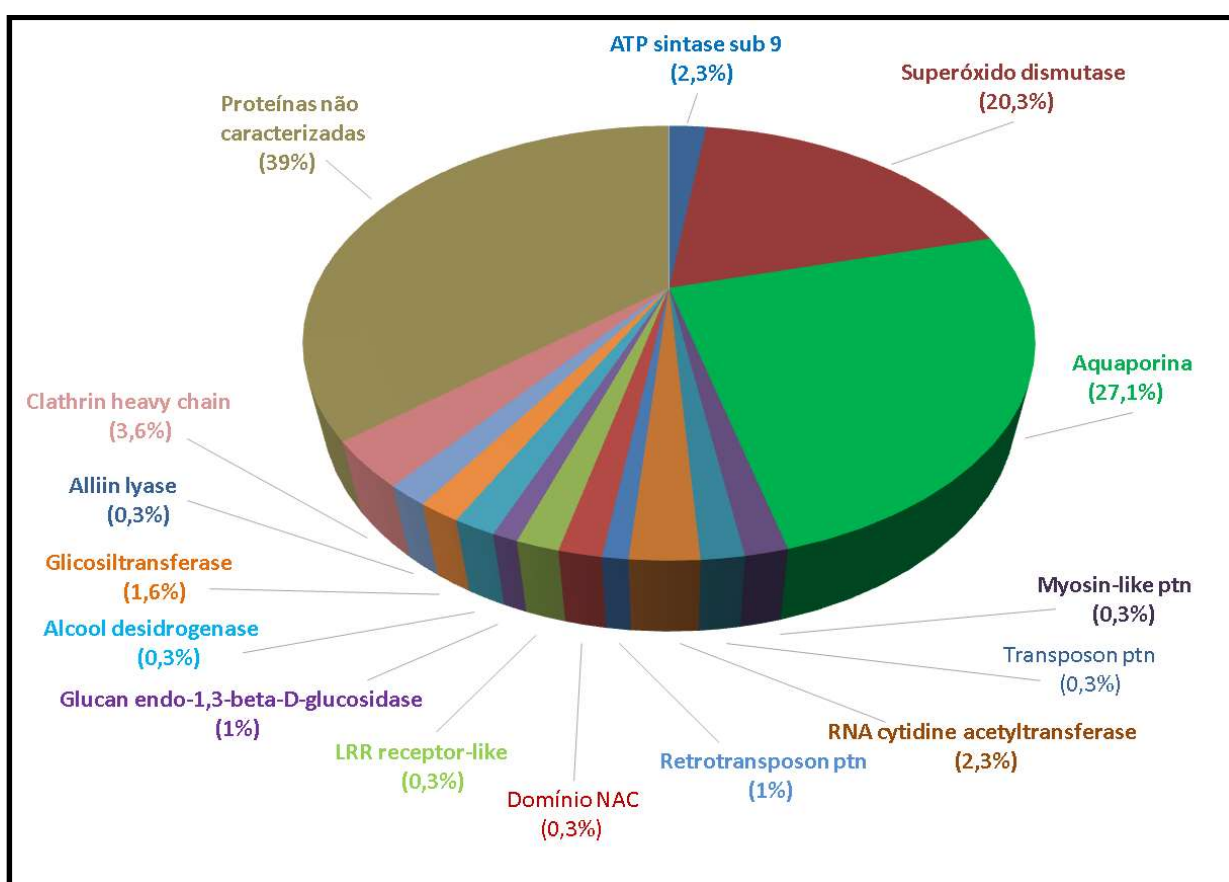
**Tabela 2:** Relação de proteínas identificadas pela espectrometria de massa da amostra de *A. arenaria*.

<b>Nº de Acesso</b>	<b>Descrição da Proteína</b>	<b>Quantidade</b>	<b>Localização Subcelular</b>
(A0A0K9PZD3_ZOSMR)	Aquaporin PIP 1-4	1	Membrana Plasmática
(M7YSX3_TRIUA)	Aquaporin PIP1-5	5	Membrana Plasmática
(Q9M4S9_ALLCE)	Aquaporin 2	1	Membrana Plasmática
(G3E8E2_WHEAT)	Aquaporin 8	1	Membrana Plasmática
(F2D616_HORVD)	Predicted protein	1	Membrana Plasmática
(Q01H94_ORYSA)	B0103C08-B0602B01.9	1	Membrana Plasmática
<b>Atividade Estrutural</b>			
(M1H500_ELAGV)	60S acidic ribosomal protein P2B	1	Ribossomo
(Q6K5K0_ORYSJ)	Myosin-like protein	1	Citoplasma
(Q0DZU3_ORYSJ)	Os02g0598300	1	Citoplasma
(Q337X8_ORYSJ)	Transposon protein	1	Núcleo
(Q2QSN2_ORYSJ)	Retrotransposon protein	3	Complexo de Golgi/Membrana do Endossomo
(A3CE45_ORYSJ)	Clathrin heavy chain	9	Citoplasma/Membrana Vesicular
(CLH1_ORYSJ)	Clathrin heavy chain 1	1	Citoplasma/Membrana Vesicular
(CLH2_ORYSJ)	Clathrin heavy chain 2	1	Citoplasma/Membrana Vesicular
<b>Ligante de DNA/RNA</b>			
(F2DH58_HORVD)	Predicted protein	1	Núcleo
(B6TUH8_MAIZE)	NAC domain-containing protein 78	1	Núcleo
(Q6ZBP8_ORYSJ)	Os08g0490300	1	Núcleo
(Q6K280_ORYSJ)	s09g0122000	1	Núcleo
<b>Atividade de Fosfatase Ácida</b>			
(Q9LG77_ORYSJ)	Os01g0191200	1	Cloroplasto
<b>Atividade de Hidrólise</b>			
(Q1EM99_SECCE)	Glucan endo-1,3-beta-D-glucosidase	3	Parede Celular/Membrana Vacuolar
<b>Ligante de ATP</b>			
(F2DL38_HORVD)	Predicted protein	1	Membrana Plasmática
(N1R4Q5_AEGTA)	LRRreceptor like serine/threonine	1	Membrana Plasmática
<b>Atividade de Glicosiltransferase</b>			
Q9FU69_ORYSJ	Glycosyltransferase	1	Membrana intracelular Ligado a Organela
<b>Atividade de Liase de Carbono/Enxofre</b>			

**Tabela 2:** Relação de proteínas identificadas pela espectrometria de massa da amostra de *A. arenaria*.

Nº de Acesso	Descrição da Proteína	Quantidade	Localização Subcelular
(M8BN45_AEGTA)	Putative Alliin lyase	1	Membrana Plasmática
<b>Proteínas Desconhecidas</b>			
X	Uncharacterized protein	113	X

\*A letra x significa que não existe dados a respeito da proteína encontrada.



**Figura 11:** Relação simplificada das proteínas identificadas qualitativamente nas amostras de *A. arenaria*. Referente à Tabela 1.

Como visto acima, a análise dos resultados utilizando o banco de dados UniProt, forneceu um total de 39% de proteínas desconhecidas. Na tentativa de refinar estes dados, as sequencias de proteínas encontradas foram comparadas por BLAST no banco de dados TAIR de *Arabidopsis thaliana*, um banco de dados de uma espécie modelo que tem seu conteúdo proteico mais conhecido e estudado (Tabela 2 e Figura 12). Nesta nova análise, foi possível a identificação de homólogos de 98% das

proteínas encontradas, sendo, possivelmente, as demais 2% proteínas com função ainda desconhecida. Dentre as 307 proteínas identificadas, cerca de 45,3% são de proteínas pertencentes a família das Aquaporinas, seguida de proteínas pertencentes a família Superóxido Dismutase (22,1%). Ainda, verificou-se menores porcentagens em relação as proteínas de atividade estrutural da família de 'Clathrin Heavy Chain' (4%) e outras proteínas de diferentes funções (apenas 0,3% do total).

**Tabela 3:** Relação das proteínas encontradas na amostra de *A. arenaria* contrastadas por BLAST no banco de dados de *A. thaliana*.

Nº de Acesso	GI	Descrição da Proteína	Quantidade	Localização Subcelular
<b>Metabolismo de Carboidrato e Energia</b>				
(ATP9_ORYSI)	(AT2G07671)	ATP synthase subunit 9	7	Membrana mitocondrial
(A0A0A9TVC1_ARUDO)	(AT2G07671)	Uncharacterized protein	1	Membrana mitocondrial
<b>Oxirredutase</b>				
(SODC1_ORYSI)	(AT1G08830)	Superoxide dismutase [Cu-Zn]	57	Citoplasma
(SODC1_ORYSI)	(AT1G08830)	Uncharacterized protein	5	Citoplasma
(A0A0N7KP08_ORYSJ)	(AT1G08830)	Os07g0665200	1	Citoplasma
(SODC2_MAIZE)	(AT1G08830)	Superoxide dismutase [Cu-Zn] 2	2	Citoplasma
(SODC5_MAIZE)	(AT1G08830)	Superoxide dismutase [Cu-Zn] 4AP	1	Citoplasma
(SODC4_MAIZE)	(AT1G08830)	Superoxide dismutase [Cu-Zn] 4A	1	Citoplasma
(SODC1_ORYSI)	(AT1G08830)	Superoxide dismutase [Cu-Zn] 1	2	Citoplasma
(K7VIB2_MAIZE)	(AT1G08830)	Superoxide dismutase 9 isoform 1	1	Citoplasma
(R7W850_AEGTA)	(AT1G77120)	Alcohol dehydrogenase 3	1	Citosol/Membrana Plasmática
<b>Transportador Transmembrana</b>				
(Q08IH5_HORVU)	(AT4G00430)	Aquaporin	32	Membrana Plasmática
(M7YSX3_TRIUA)	(AT4G00430)	Aquaporin PIP1-5	5	Membrana Plasmática
(A0A0E0GF26_ORYNI)	(AT4G00430)	Uncharacterized protein	57	Membrana Plasmática

**Tabela 3:** Relação das proteínas encontradas na amostra de *A. arenaria* contrastadas por BLAST no banco de dados de *A. thaliana*.

Nº de Acesso	GI	Descrição da Proteína	Quantidade	Localização Subcelular
(M8A623_TRIUA)	(AT4G00430)	Aquaporin PIP1-1	7	Membrana Plasmática
(Q2QBA1_9LILI)	(AT4G00430)	PIP1 aquaporin	16	Membrana Plasmática
(O48518_HORVU)	(AT4G00430)	Aquaporin PIP 1-3	2	Membrana Plasmática
(A6N0M3_ORYSI)	(AT4G00430)	Aquaporin PIP 1-2	6	Membrana Plasmática
(A0A0A9TN04_ARUDO)	(AT4G00430)	PIP1e	1	Membrana Plasmática
(Q40047_HORVU)	(AT4G00430)	Transmembrane protein	2	Membrana Plasmática
(S5E2M2_MISSI)	(AT4G00430)	PIP-type aquaporin	3	Membrana Plasmática
(G3E8E2_WHEAT)	(AT4G00430)	Aquaporin 8	1	Membrana Plasmática
(Q01H94_ORYSA)	(AT4G00430)	B0103C08-B0602B01.9	1	Membrana Plasmática
(A0A0K9PZD3_ZOSMR)	(AT4G00430)	Putative aquaporin PIP1-4	1	Membrana Plasmática
(Q8GUR1_9POAL)	(AT4G00430)	Plasma membrane MIP protein	1	Membrana Plasmática
(K7U754_MAIZE)	(AT4G00430)	Aquaporin PIP1-3/PIP1-4	2	Membrana Plasmática
(F2D616_HORVD)	(AT4G00430)	Predicted protein	1	Membrana Plasmática
(Q2QSN2_ORYSJ)	(AT1G70300)	Retrotransposon protein (K+ UPTAKE PERMEASE 6)	1	Membrana Plasmática
<b>Atividade estrutural</b>				
(M1H500_ELAGV)	(AT3G44590)	60S acidic ribosomal protein P2B	1	Ribossomo
(K3YP83_SETIT)	(AT1G24460)	TGN SYP41 INTERACTING PROTEIN	23	Citoplasma/Membrana do Golgi
(B9G5U8_ORYSJ)	(AT5G47430)	PQT3	1	Membrana Plasmática/Núcleo
(Q6K5K0_ORYSJ)	(AT1G24460)	Myosin-like protein	1	Citoplasma
(Q0DZU3_ORYSJ)	(AT1G24460)	Os02g0598300	1	Citoplasma
(Q337X8_ORYSJ)	(AT5G47430)	Transposon protein	1	Núcleo
(CLH2_ORYSJ)	(AT3G11130)	Clathrin heavy chain 2	1	Membrana Vesicular Citoplasmática

**Tabela 3:** Relação das proteínas encontradas na amostra de *A. arenaria* contrastadas por BLAST no banco de dados de *A. thaliana*.

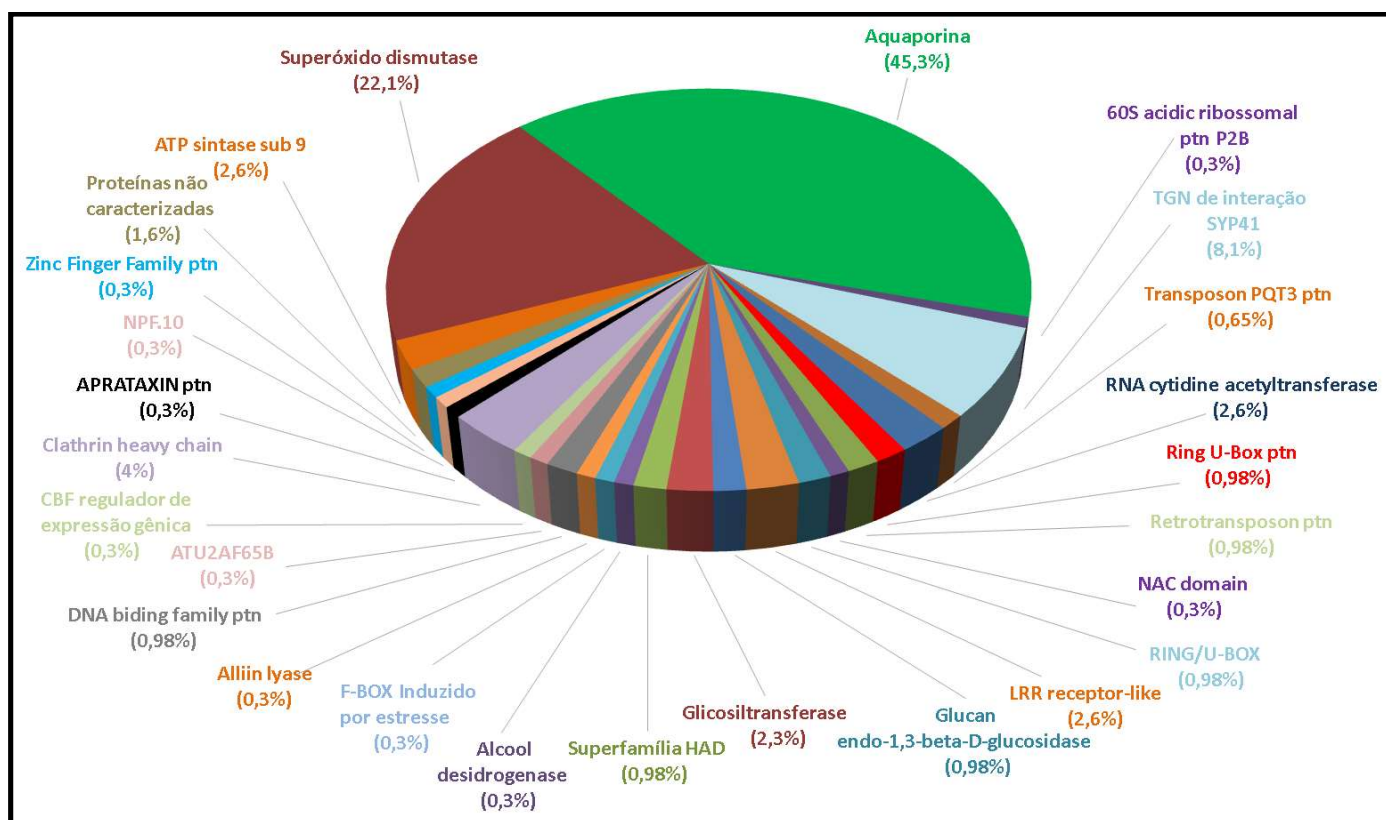
Nº de Acesso	GI	Descrição da Proteína	Quantidade	Localização Subcelular
(A3CE45_ORYSJ)	(AT3G11130)	Clathrin heavy chain	10	Membrana Vesicular Citoplasmática
(CLH1_ORYSJ)	(AT3G11130)	Clathrin heavy chain 1	1	Membrana Vesicular Citoplasmática
(M0UK66_HORVD)	(AT4G10940)	RING/U-box protein	4	Núcleo
(J3N3K5_ORYBR)	(AT3G19950)	RING/U-box Superfamily (ATCRT1)	1	x
<b>DNA binding</b>				
(M7ZPI7_TRIUA)	(AT1G10490)	RNA cytidine acetyltransferase	6	Núcleo
(W5DX14_WHEAT)	(AT1G10490)	Uncharacterized protein (RNA cytidine acetyltransferase)	1	Núcleo
(Q2R099_ORYSJ)	(ATMG00860)	DNA/RNA polymerases superfamily protein	1	Mitocôndria
(B6TUH8_MAIZE)	(AT5G64530)	<b>NAC</b> domain- containing protein 78	1	Núcleo
(J3KVJ8_ORYBR)	(AT4G05010)	F-BOX STRESS INDUCED protein	1	Citoplasma
(Q6ZBP8_ORYSJ)	(AT5G55670)	DNA binding family protein	1	Núcleo
(Q6K280_ORYSJ)	(AT5G04390)	Zinc Finger Family protein	1	Núcleo
<b>Receptor Transmembrana</b>				
(Q2QPR8_ORYSJ)	(AT5G38280)	PR5-LIKE RECEPTOR KINASE	1	Membrana Plasmática/Plasmodesm a
<b>ATP Binding</b>				
(N1R4Q5_AEGTA)	(AT5G56040)	<b>LRR</b> receptor like	8	Membrana Plasmática
(A0A0Q3J7F4_BRADI)	(AT1G20920)	REGULATOR OF CBF GENE EXPRESSION 1	1	Núcleo/Nucléolo
(J3LMT5_ORYBR)	(AT5G01310)	APRATAXIN-LIKE	1	Núcleo
<b>Acid phosphatase activity</b>				
(I1NL09_ORYGL)	(AT4G29260)	HAD superfamily	2	Membrana Vacuolar
(I1NL09_ORYGL)	(AT4G29260)	Os01g0191200 protein	1	Membrana Vacuolar
<b>Atividade de hidrólise</b>				
(Q1EM99_SECCE)	(AT4G16260)	Glucan endo-1,3-beta- D-glucosidase	3	Parede Celular/Membrana Vacuolar
<b>Atividade de glucosyltrasnferase</b>				



**Tabela 3:** Relação das proteínas encontradas na amostra de *A. arenaria* contrastadas por BLAST no banco de dados de *A. thaliana*.

Nº de Acesso	GI	Descrição da Proteína	Quantidade	Localização Subcelular
(Q9FU69_ORYSJ)	(AT2G36780)	Glycosyltransferase	7	Cloroplasto
<b>Atividade de Liase de Carbono e Enxofre</b>				
(M8BN45_AEGTA)	(AT1G34060)	Alliin lyase	1	Membrana Plasmática
<b>RNA Binding</b>				
(J3NA92_ORYBR)	(AT1G60900)	ATU2AF65B	1	Núcleo
(J3MU17_ORYBR)	(AT5G55670)	MEI 2 Like protein	2	Núcleo
<b>Transportador</b>				
(AOAOE0QLI3_ORYRU)	(AT1G22540)	NPF 5.10	1	Membrana Plasmática
<b>Proteínas Desconhecidas</b>				
X*	X	Uncharacterized protein	2	X
X	X	Os10g0431150	1	X
X	X	Os07g0665200	1	X

\*A letra x significa que não existe dados a respeito da proteína encontrada.



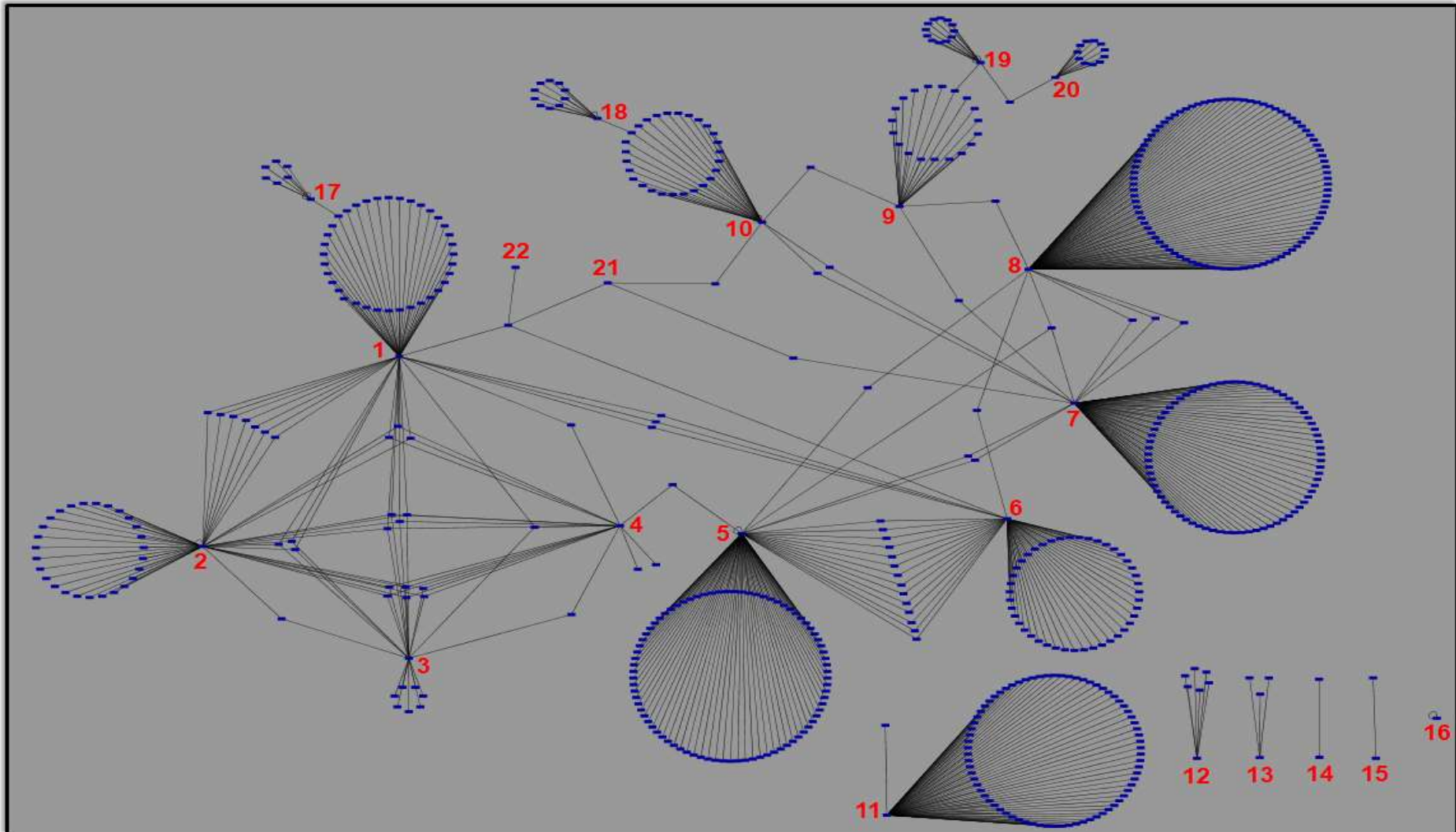
**Figura 12:** Relação qualitativa das proteínas, agrupadas por família, identificadas na amostra de *A. arenaria* contrastadas por BLAST no banco de dados de *A. thaliana* referente a (Tabela 2).

#### 4.5 Produção de redes de interação proteína-proteína para visualização global de suas interações

Com os dados proteômicos contrastados ao banco de dados TAIR, a rede de interação (Figura 9) produzida para *A. arenaria* detêm um total de 617 proteínas e 691 interações, sendo dividida em 22 grupos, onde cada grupo é composto por uma proteína chave a qual todas as proteínas do grupo interagem diretamente, levando em consideração a função da proteína chave como a função central do grupo. O **grupo 1** tem como proteína chave a proteína PIP-1 (*Plasma Membrane Intrinsic Protein*), referente ao gene (AT4G00430), uma proteína transmembrana localizada na membrana plasmática, responsável pela entrada de água na célula servindo como um canal de passagem de água. O **grupo 2** tem como proteína chave a proteína SMK 2 (*Sterility-Regulating Kinase Member 2*), referente ao gene (AT5G56040), proteína localizada na membrana plasmática, tendo função de ligante de ATP e atividade quinase, responsável pela fosforilação de outras proteínas, pela sinalização de proteínas tirosinaquinase (servindo de receptor transmembrana) e por regular o crescimento do meristema radicular. O **grupo 3** tem como proteína chave a proteína PR5K (*PR5-LIKE Receptor Kinase*), referente ao gene (AT5G38280), proteína que pode estar presente tanto na membrana plasmática como também no plasmodesma, com função de receptor transmembrana de serina/treonina quinase, responsável pela resposta a qualquer processo anômalo na célula referente a um estímulo provocado por fungos. A proteína chave do **grupo 4** é a proteína KUP6 (*K<sup>+</sup> Uptake Permease 6*), referente ao gene (AT1G70300), presente na membrana plasmática funcionando como um transportador transmembrana de íons de potássio. Já o **grupo 5** tem como proteína chave a proteína CHC 1 (*Clathrin Heavy Chain 1*), referente ao gene (AT3G11130), podendo estar presente em diferentes organelas, porém, mais precisamente no vacúolo; é uma proteína de atividade estrutural, ligante de proteínas *clathrin light chain*, responsável pelo movimento estomático. No **grupo 6**, a proteína chave é a proteína *Copper/Zinc Superoxide Dismutase 1*, referente ao gene (AT1G08830), podendo estar localizada dentro da célula no citoplasma, núcleo e mitocôndria como também no espaço extracelular, proteína ligante de íons de cobre e zinco e proteínas de superóxido dismutase, responsável pela resposta a qualquer processo anômalo na célula referente a um estímulo provocado por luminosidade, espécies reativas de oxigênio, ozônio, sal, sacarose, bactérias, silenciamento por

miRNA e íons de cobre e zinco. O **grupo 7** corresponde a proteína RCF 1 (*'Regulator of CBF Gene Expression 1'*), referente ao gene (AT1G20920), podendo estar localizada no citoplasma ou no núcleo, funciona como um ligante de ATP ou RNA e é responsável pela correta junção de éxons dos transcritos de mRNA via spliceossomo e regulação de expressão genica. O **grupo 8** tem como proteína chave a proteína *'GNAT Acetyltransferase'*, referente ao gene (AT1G10490), localizada no núcleo, é ligante de ATP, com sua função ainda pouco conhecida. O **grupo 9** tem como proteína chave a proteína *'CCHC-type Zinc Finger'*, referente ao gene (AT5G47430), geralmente está localizada no núcleo, mas pode ser encontrada também na membrana plasmática, funciona como um ligante de ácido nucléico e de íons de zinco, tem atividade de transferase, mas sua função ainda pouco conhecida. O **grupo 10** tem como proteína chave a proteína *'60s Acidic Ribosomal Family'*, referente ao gene (AT3G44590), localizada majoritariamente no núcleo, podendo ser encontrada no citosol e ribossomo, que funciona como um constituinte estrutural do ribossomo, atuando na adição de aminoácidos sucessivamente na cadeia de biossíntese de proteínas. Já o **grupo 11** corresponde a proteína *'C2H2-type Zinc Finger Family'*, referente ao gene (AT5G04390), localizada no núcleo, é ligante de zinco e ácido nucleico, com função ainda pouco conhecida. O **grupo 12** tem como proteína chave a proteína *'HAD superfamily'*, referente ao gene (AT4G29260), localizada majoritariamente no interior do vacúolo ou em sua membrana, podendo ser localizado também no citosol, atuando como um catalisador de reações, com função de liberar fosfato e deixar o pH local mais ácido. No **grupo 13** a proteína chave é a proteína APTX (*'Aprataxin-Like'*), referente ao gene (AT5G01310), localizada no núcleo, atua como ligante de ATP, íons de metal e DNA, catalisador de reações de adenililulfatase além de produção de dímeros proteicos, funcionando como um replicador de DNA e regulador de transcrição. O **grupo 14** tem como proteína chave a proteína *'TGN-Localized SYP41 Interacting'*, referente ao gene (AT1G24460), localizada na membrana de Golgi ou no citoplasma, funciona interagindo com a proteína SYP41, responsável pelo desenvolvimento da raiz, transporte vacuolar e da resposta ao estresse salino. A proteína chave do **grupo 15** é a proteína NPF5.10, referente ao gene (AT1G22540), localizada na membrana plasmática, um transportador transmembrana, com função de transporte de di e polipeptídeos, e nitrato. No **Grupo 16** a proteína ORF158 é a proteína chave, referente ao gene (ATMG00860), localizada na mitocôndria, com funções pouco conhecidas. O **grupo 17** é o grupo da proteína

ADH 1 (*Alcohol Dehydrogenase 1*), referente ao gene (AT1G77120), localizada no Golgi, atua como um ligante de nucleotídeo e de íons de zinco, e também como catalisador da reação de quebra de *alcohol dehydrogenase*, responsável pela resposta a qualquer processo anômalo na célula referente a um estímulo provocado por hipóxia, ácido abscísico, íons de cádmio, cafeína, frio, estradiol, excesso de água, peróxido de hidrogênio, sal, sacarose, falta de água, além de ser responsável por processos metabólicos liberando energia para a respiração celular e para processos de redução e oxidação. O **grupo 18** é centralizado na proteína *ATP synthase subunit C*, referente ao gene (AT2G07671), localizada na membrana plasmática, que funciona como um transportador transmembrana, utilizando a energia da quebra do ATP para transportar prótons entre células. No **grupo 19** a proteína chave é uma proteína *RNA-binding*, referente ao gene (AT5G55670), localizada no núcleo, cuja função ainda é pouco estudada. O **grupo 20** tem como proteína chave a proteína ATU2AF65B, referente ao gene (AT1G60900), localizada no núcleo, no *U2-type prespliceosome* ou no *nuclear speck*, é um ligante de DNA e proteína, com função de maturação de mRNA para a tradução. Já o **grupo 21** tem como proteína chave a proteína RING/U-box, referente ao gene (AT3G19950), que é localizada no Golgi, atua como ligante de íons de zinco. Finalmente o **grupo 22** que corresponde a proteína *UDP-Glycosyltransferase*, referente ao gene (AT2G36780), localizada no cloroplasto, com função de catalisador da transferência do grupo glicosil de um açúcar UDP para uma molécula hidrofóbica, responsável por reações de catabolismo e anabolismo, transformando tanto macro quanto micromoléculas.



**Figura 13:** 'Network' global de interação perante todas as proteínas encontradas na amostra de *A. arenaria*. O **grupo 1:** Proteína PIP-1 (*Plasma Membrane Intrinsic Protein*), gene (AT4G00430); **grupo 2:** Proteína SMK 2 (*Sterility-Regulating Kinase Member 2*), gene (AT5G56040); **grupo 3:** Proteína PR5K (*PR5-*

*LIKE Receptor Kinase*'), gene (AT5G38280); **grupo 4:** Proteína KUP6 (*'K+ Uptake Permease 6'*), gene (AT1G70300); **grupo 5:** Proteína CHC 1 (*'Clathrin Heavy Chain 1'*), gene (AT3G11130); **grupo 6:** Proteína *'Copper/Zinc Superoxide Dismutase 1'*, gene (AT1G08830); **grupo 7:** Proteína RCF 1 (*'Regulator of CBF Gene Expression 1'*), gene (AT1G20920); **grupo 8:** Proteína *'GNAT Acetyltransferase'*, gene (AT1G10490); **grupo 9:** Proteína *'CCHC-type Zinc Finger'*, (AT5G47430); **grupo 10:** Proteína *'60s Acidic Ribosomal Family'*, gene (AT3G44590); **grupo 11:** Proteína *'C2H2-type Zinc Finger Family'*, gene (AT5G04390); **grupo 12:** Proteína *'HAD superfamily'*, gene (AT4G29260); **grupo 13:** Proteína APTX (*'Aprataxin-Like'*), gene (AT5G01310); **grupo 14:** Proteína *'TGN-Localized SYP41 Interacting'*, gene (AT1G24460); **grupo 15:** Proteína NPF5.10, gene (AT1G22540); **grupo 16:** Proteína ORF158, referente ao gene (ATMG00860); **grupo 17:** Proteína ADH 1 (*'Alcohol Dehydrogenase 1'*), gene (AT1G77120); **grupo 18:** Proteína *'ATP synthase subunit C'*, gene (AT2G07671); **grupo 19:** Proteína *'RNA-binding'*, gene (AT5G55670); **grupo 20:** Proteína ATU2AF65B, gene (AT1G60900); **grupo 21:** Proteína *'RING/U-box'*, gene (AtTG19950); **grupo 22:** Proteína *'UDP-Glycosyltransferase'*, gene (AT2G36780).

## 5. DISCUSSÃO

Segundo SCARANO(2002), mudanças de temperatura, secas, ventos constantes, alta salinidade e escassez de nutrientes, são apenas alguns dos diversos tipos de condições ambientais encontradas na restinga que podem dificultar a diversidade e produtividade das comunidades vegetais. Para as plantas, o estresse abiótico pode levar a diversas alterações morfológicas, fisiológicas, bioquímicas e moleculares, prejudicando o crescimento e a produtividade (WANG *et al.*, 2001). Dentre os estresses abióticos, a temperatura é um fator que atua diretamente nas taxas de processos bioquímicos das plantas, sendo importante para seu desenvolvimento (DÍAZ-PÉREZ, 2009). A temperatura da restinga já foi analisada por MONTEZUMA & ARAUJO (2007) e PEREIRA *et al.* (2009), que chegaram a média de 25°C de temperatura do ar no mês de janeiro, porém neste trabalho foi encontrado uma temperatura que variou entre a máxima de 43 °C às 12 horas e mínima de 22 °C à 00 hora (Gráfico 1).

No solo ocorreu a variação de temperatura diária de apenas 5 °C, em torno das raízes de *A. arenaria*. Essa baixa variação de temperatura no solo diretamente ligado as raízes, promove processos fisiológicos benéficos para a planta, como uma melhor absorção de água e nutrientes (DODD *et al.*, 2000).

Na Restinga de Jurubatiba a umidade relativa do ar é inversamente proporcional a intensidade luminosa e temperatura (Gráficos 1, 2 e 3), apresentando valores maiores durante a noite (começando a aumentar por volta das 19 h) e valores menores durante o dia (começando a diminuir por volta das 7 h), com máxima de 93% e mínima de 30%. Segundo GRAMMATIKOPOULOS & MANETAS (1994), uma atmosfera saturada de umidade em ambientes áridos pode levar as plantas a absorverem água pelas folhas por meio de diferença de potencial entre uma atmosfera saturada e a folha. Além disso, esta água pode ser realocada até as raízes onde possibilitará a melhor absorção de nutrientes (BREAZEALE *et al.*, 1950). Segundo SCHULZE *et al.* (1972), plantas de deserto tendem a abrir os estômatos durante momentos de alta umidade do ar e fechar durante momentos de baixa umidade do ar, por estarem em um local com grande variação diária de umidade relativa do ar. Diante dos dados encontrados neste trabalho, existe uma grande variação de umidade do ar do dia para a noite, onde a abertura e fechamento dos estômatos talvez possa funcionar da mesma maneira que em plantas de deserto, tendo ainda que ser testado.

O solo da restinga (profundidade de 0 - 10 cm) é altamente arenoso, podendo apresentar granulometria variada de acordo com sua profundidade (MARDEGAN, 2013). Segundo o Guia Prático para Interpretação de Resultados de Análises de Solo da EMBRAPA, a análise do solo como um todo pode ser considerada com todos os atributos abaixo do mínimo para a sobrevivência de qualquer organismo vegetal. Segundo as características apresentados neste guia, o solo da Restinga de Jurubatiba pode ser considerado um solo pobre em nutrientes, apresentando todos os atributos abaixo do mínimo. Com exceção do pH e Magnésico (Mg), considerados como médios, e também da sua capacidade de troca de cátions (CTC), que se encontra em excesso, acima da categoria considerada como alta (SOBRAL *et al.*, 2015).

Os solos de restinga, em geral, apresentam uma alta acidez. Segundo MARDEGAN (2013), essa acidez é devido a pobreza de bases, à matéria orgânica em decomposição e a características intrínsecas de solos arenosos. O valor de acidez potencial (H+Al) encontrada no PARNA da Restinga de Jurubatiba foi de 10,6 mmol./dm<sup>3</sup> (Tabela 1), um valor menor quando comparada a valores encontrados por outros autores em outras restingas, por exemplo: SILVA *et al.* (2016) encontrou para este parâmetro o valor de 21,67 mmol./dm<sup>3</sup> na restinga do Parque Estadual do Acaará de Santa Catarina; já ROCHA (2012) encontrou o valor de 28,4 mmol/dm<sup>3</sup> na restinga do Parque Estadual Paulo Cesar Vinha no Espírito Santo; e MARDEGAN (2013) o valor de 30,8 mmol/dm<sup>3</sup> na restinga de Massambaba no Rio de Janeiro;. A capacidade de troca de cátions (CTC) encontrada foi de 20,03 mmol./dm<sup>3</sup> (Tabela 1), um resultado próximo a 30,47 mmol./dm<sup>3</sup> encontrado na restinga de Santa Catarina (SILVA *et al.*, 2016) e menor ao da restinga de Massambaba, 60,04 mmol./dm<sup>3</sup>, (MARDEGAN, 2013). Segundo GOMES (2002), os solos de restingas são geralmente ácidos e com baixa capacidade de troca de cátions (CTC), diferente dos resultados encontrados. Além disso, quanto mais perto do mar, maior é a capacidade de cátions trocáveis, pois sua fonte vem do spray marinho (GOMES *et al.*, 1998). A capacidade de troca de cátions está diretamente relacionada com a fertilização (CHAVES *et al.*, 2004), indicando que a restinga é um ambiente não muito favorável ao desenvolvimento de espécies vegetais, no entanto, quanto mais próximo à linha do mar, mais favorável é o ambiente (MARDEGAN, 2013; SILVA *et al.*, 2016).

O pH encontrado nas amostras do PARNA da Restinga de Jurubatiba foi levemente ácido, com valor médio de 5,3 (Tabela 1). Um valor próximo ao encontrado na restinga do Parque Estadual Paulo Cesar Vinha no Espírito Santo (pH 5,2)



(ROCHA, 2012) e na Restinga de Massambaba no Rio de Janeiro (pH 4,7) (MARDEGAN, 2013), porém diferente do encontrado na restinga do Parque Estadual do Acaraí em Santa Catarina (pH 3,53) (SILVA *et al.*, 2016). Os valores mais baixos de pH geralmente encontrados na restinga, podem ser explicados pelas vegetações arbustivas que atuam como acidificadoras do solo (MILES, 1985).

Com relação aos macronutrientes, aqueles utilizados em concentrações elevadas pelas plantas, foram identificados elementos enxofre (S), potássio (K), cálcio (Ca), magnésio (Mg) e carbono (C), (Tabela 1). A quantidade média de enxofre livre (S-SO<sub>4</sub>) encontrada foi de 3,33 mg/dm<sup>3</sup>, uma concentração muito baixa quando comparada com solos mais argilosos (8 mg/kg<sup>-1</sup>) (BISSANI, 1985), mas compatível com solos de restinga. A baixa concentração deste elemento em Jurubatiba pode ser explicada pela sua alta capacidade de perda por lixiviação (ENSMINGER, 1954). Assim como observado para o enxofre, a concentração de potássio (K), 0,1 mmol./dm<sup>3</sup>, foi dez vezes menor quando comparado às restingas do Parque Estadual do Acaraí de Santa Catarina e a do Parque Estadual Paulo Cesar Vinha no Espírito Santo (SILVA *et al.*, 2016; ROCHA, 2012) e seis vezes menor em comparação à restinga de Massambaba (MARDEGAN, 2013). De acordo com SOBRAL *et al.* (2015), a baixa quantidade de potássio encontrada pode indicar intemperização do solo.

Outros macronutrientes também foram encontrados em concentrações baixas, tais como o cálcio (Ca) e médias, tais como o magnésio (Mg) (Tabela 1). A concentração de cálcio encontrada foi de 1,82 mg/dm<sup>3</sup>, em comparação aos valores de 5,67 mg/dm<sup>3</sup> no Parque Estadual do Acaraí (SILVA *et al.*, 2016); 28,45 mg/dm<sup>3</sup> no Parque Estadual Paulo César Vinha (ROCHA, 2012) e 19,4 mg/dm<sup>3</sup> na restinga de Massambaba (MARDEGAN, 2013). Para as plantas, o cálcio é essencial para a divisão celular e funcionalidade da membrana celular, estando presente diretamente em pontos de crescimento (RAIJ, 1991); Enquanto que a concentração encontrada de magnésio foi de 6,23 mmol/dm<sup>3</sup>, quando comparados com as concentrações de 1,0 mmol/dm<sup>3</sup> no Parque Estadual do Acaraí (SILVA *et al.*, 2016), 0,34 mmol/dm<sup>3</sup> no Parque Estadual Paulo César Vinha (ROCHA, 2012) e 9,2 mmol/dm<sup>3</sup> na restinga de Massambaba (MARDEGAN, 2013). Com relação ao magnésio, mesmo apresentando um solo intemperizado, o local da coleta, (0-10 cm de profundidade) do solo próximo aos indivíduos coletados pode ter influenciado na quantidade de magnésio encontrada (FAQUIN, 2005). A matéria orgânica no local da coleta, proveniente de *A. arenaria* pode ter contribuído com Mg trocável.

Levando em consideração os elementos limitantes, o nitrogênio (N) é considerado um elemento essencial para o crescimento de plantas em ambientes naturais (AERTS & CHAPIN, 2000). De acordo com os resultados aqui apresentados, (Tabela 1), o nitrogênio foi encontrado em baixíssimas quantidades (0,102 g/kg), bem menor até do que o encontrado por MARDEGAN (2013), em Massambaba (0,48 g/kg). O baixo teor de nitrogênio encontrado na restinga de Jurubatiba e o sucesso de algumas plantas em sobreviver a este ambiente, pode ter relação com uma possível associação de plantas com fungos micorrízicos, que podem auxiliar na fixação do nitrogênio (ANDRADE, 2012; BRAGA, 2008). A presença da proteína (*'PR5-LIKE Receptor Kinase'*), a qual é descrita, em *A. thaliana*, como uma proteína de resposta a processos anômalos na célula induzidos por fungos (WANG *et al.*, 1996), indica uma possível relação entre fungos e a raiz do guriri, embora não seja conhecida a natureza dessa interação (Figura 9). Por outro lado, uma menor quantidade de nitrogênio, pode ser explicada pelo fato de que durante períodos de intensa chuva, além dos nutrientes serem lixiviados em maior quantidade, também ocorre o preenchimento dos poros do solo com água produzindo um ambiente anaeróbio, impedindo a ação desses microrganismos, possivelmente diminuindo as taxas de nitrogênio no solo da restinga (MARDEGAN, 2013).

Assim como o nitrogênio, o fósforo (P) também é um elemento importante para o funcionamento do maquinário molecular de plantas e organismos vivos em geral (VITOUSEK *et al.*, 2010), estando ligado a processos do metabolismo energético (ALVES & DELATORRE, 2009). Apesar disso, a quantidade encontrada deste elemento foi baixa na Restinga de Jurubatiba (3,0 mg/dm<sup>3</sup>), porém maior do que na restinga do Parque Estadual do Acaraí estudada por SILVA *et al.* (2016), em Santa Catarina que foi de 1,0 mg/dm<sup>3</sup>; e na Restinga do Parque Estadual Paulo Cesar Vinha no Espírito Santo (0,34 mg/dm<sup>3</sup>) (ROCHA, 2012). No entanto, a concentração de fósforo foi bem menor do que a encontrada na restinga de Massambaba (4,8 mg/dm<sup>3</sup>) no Rio de Janeiro por MARDEGAN (2013). A baixa quantidade de fósforo (P) encontrada pode ser explicada pelo local da coleta, o qual pode não apresentar fósforo livre e sim fósforo na forma de matéria orgânica (MO), que por meio da ciclagem de nutrientes será devolvido ao solo (PEREIRA *et al.*, 2012). De acordo com MARDEGAN (2013), a quantidade de fósforo disponível para as plantas pode ser influenciada por características físico-químicas do óxido de ferro e alumínio, sendo um dos fatores limitantes mais problemáticos para a restinga.

Um outro macronutriente bem comum e muito importante, é o carbono (C). A quantidade de carbono encontrada na Restinga de Jurubatiba foi de  $5,0 \times 10^{-3}$  g/kg, um valor muito menor do que o encontrado em Massambaba (12,17 g/kg), (MARDEGAN, 2013). O carbono é o principal constituinte da matéria orgânica (MO) e por isso, a concentração desta foi analisada em Jurubatiba. Foram encontrados valores de concentração de matéria orgânica baixos ( $8,0 \text{ g/dm}^3$ ) em comparação aos  $14,67 \text{ g/dm}^3$  e  $3,8 \times 10^3 \text{ g/dm}^3$  das restinga do Parque Estadual do Acaiaí em Santa Catarina e do Parque Estadual Paulo César Vinha no Espírito Santo, respectivamente (ROCHA, 2012; SILVA *et al.*, 2016). A quantidade de carbono está diretamente ligada à quantidade de matéria orgânica livre no solo. Um solo arenoso está sujeito a intensa lixiviação, o que leva toda matéria orgânica junto com carbono para a camada superficial do lençol freático (CASAGRANDE, 2003). É de se esperar, que um dos grandes fatores que tornam *A. arenaria* uma planta considerada “facilitadora” é a sua capacidade de gerar matéria orgânica a sua volta, decorrente se suas próprias folhas, aumentando naquele local a retenção de água (FRANGI *et al.*, 1992; ZALUAR, 2002). Em seu estudo ROCHA (2012) concluiu que a matéria orgânica na camada de 0-20 cm de profundidade tem um papel importante para a retenção de água local.

Analisando os micronutrientes, àqueles utilizados pelas plantas em pequenas quantidades, identificamos no solo coletado a presença dos elementos Fe, Cu, Zn, Mn e B (Tabela 1). A quantidade de ferro (Fe) encontrada foi de  $6,3 \text{ mg/dm}^3$ , a maior quando comparada com os outros metais, resultado já esperado uma vez que o Fe é o micronutriente mais abundante na crosta terrestre, (FAQUIN, 2005). Assim como Fe, Mn, Cu e Zn são metais indispensáveis que atuam como cofatores enzimáticos, essenciais para o bom funcionamento das vias bioquímicas. Já o elemento boro (B), não atua como cofator enzimático, mas, segundo FAQUIN (2005) é um elemento importante para a sobrevivência vegetal.

Também foram analisados outros elementos químicos, tais como o alumínio e sódio. Segundo BONILHA(2011), o alumínio é considerado um elemento tóxico que dificulta a absorção de outros nutrientes e conseqüentemente dificulta o crescimento de raízes, porém, este foi encontrado em quantidades baixas no PARNA da Restinga de Jurubatiba ( $0,96 \text{ mmol/dm}^3$ ), valor idêntico ao encontrado por ROCHA (2012), no Espírito Santo. O alumínio encontrado na restinga não prejudica o crescimento das plantas, pois diante de um pH 5,3 este elemento está perto de sua insolubilidade máxima, não causando danos às raízes (SOBRAL *et al.*, 2015). Já a concentração de

sódio (Na) encontrado na região de estudo foi de 11,7 mg/dm<sup>3</sup>, valor este bem maior do que o encontrado na restinga do Parque Estadual Paulo César Vinha (0,46 mg/dm<sup>3</sup>) (ROCHA, 2012). Segundo GOMES (2002), por ser um dos elementos mais abundante no ambiente de restinga, as plantas tendem a usar o sódio no lugar do potássio, substituindo-o em funções osmóticas ou metabólicas. Além disso, este elemento é considerado essencial para o crescimento de algumas plantas halófitas (FAQUIN 2005). A alta concentração de sódio encontrada na Restinga de Jurubatiba pode ser explicada pela constante influência do spray marinho, pois os sais tendem a ser facilmente lixiviados pela água da chuva (ROCHA, 2012) chegando rapidamente ao lençol freático superficial encontrado na região.

A vegetação de restinga se desenvolve longe de locais onde a saturação por alumínio é alta (SATO, 2007), sendo a relação da fertilidade dos solos inversamente proporcional à saturação por alumínio (GOODLAND, 1971). Por se apresentar de forma tóxica, muitas plantas de restinga apresentam exsudados que promovem a complexação do alumínio, aumentando sua tolerância ao mesmo, e também agregando em sua rizosfera grãos de areia (FAQUIN, 2005; ROCHA, 2012).

A Soma de Bases Trocáveis (SB) encontrada foi de 9,36 mmol./dm<sup>3</sup> (Tabela 1), sendo menor que o valor encontrado nas restingas de Santa Catarina (30,47 mmol./dm<sup>3</sup>) (SILVA *et al.*, 2016) e Espírito Santo (3,8 x 10<sup>3</sup> g/dm<sup>3</sup>) (ROCHA, 2012). Segundo SOBRAL *et al.* (2015), as bases trocáveis são cálcio, magnésio, potássio e sódio. Sua quantidade determina o grau de intemperismo do solo, sendo alto para solos jovens (menos intemperismo), e baixo para solos antigos (mais intemperismo). Indicando um solo altamente intemperizado na Restinga de Jurubatiba.

O valor de Saturação de Bases (V) encontrada no solo da Restinga de Jurubatiba foi de 42,6 %, (Tabela 1) maior do que a encontrada na restinga do Parque Estadual do Acaraí em Santa Catarina por SILVA *et al.* (2016), com 29,0 %. Esse maior valor do teor de bases é explicado pelos elevados valores de Ca<sup>2+</sup> e Mg<sup>2+</sup>. Apesar disso, o solo de restinga possui um valor de saturação de bases abaixo do ideal (70%), isso se deve ao caráter ácido do solo (SOBRAL *et al.*, 2015). Já o índice de saturação de alumínio (m) encontrado foi de 10,6 %, menor do que o valor de 32,34 %, encontrado no Parque Estadual Paulo César Vinha no ES por ROCHA *et al.* (2012).

Na restinga de Jurubatiba os indivíduos de *A. arenaria* podem ser encontrados dentro e fora de moitas, mas em geral apresentam um estilo de vida solitário. O guriri apresenta características capazes de minimizar diversos tipos de estresses abióticos

locais, como altas temperaturas (GURNEY & LAWTON, 1996; VALIENTE-BANUET & EZCURRA, 1991), facilitando a entrada de outras espécies no ambiente. Visto isso, *A. arenaria* pode ser considerada, segundo SAMPAIO *et al.*, (2005), uma '*nurse plant*'. Estudos indicam que existem diversos tipos de '*nurse plants*' na restinga (SAMPAIO *et al.*, 2005), juntamente a *A. arenaria*, esse grupo de plantas é essencial para a estrutura e funcionalidade de comunidades de plantas na restinga (SCARANO, 2002).

A matéria orgânica agrupada ao redor dos indivíduos de guriri favorece o acúmulo de nutrientes na superfície do solo (CALLAWAY, 1995), diminui a velocidade da perda de água por infiltração (JOFFRE & RAMBAL, 1993), e ameniza a variação de temperatura do solo próximo as raízes (WU *et al.*, 2007).

*Allagoptera arenaria* apresenta um caule encurtado subterrâneo e cespitoso (Figura 6). Diante de um ponto de vista competitivo, o guriri que é uma planta pioneira do ambiente de restinga, não encontra competição por espaço ou luz, excluindo a necessidade de investimento no desenvolvimento de um caule robusto. O caule encurtado otimiza também o transporte de água entre sua área foliar e radicular e reduz a área da planta exposta a altas luminosidades e temperaturas, deixando a mostra apenas suas folhas.

Sua coroa foliar é formada por folhas pinadas bem desenvolvidas (Figura 6), proporciona uma maior área de contato com a luz, favorecendo a fotossíntese. Mesmo que constantemente expostas a altas luminosidades suas folhas são protegidas por uma camada de cera, tanto abaxial quanto adaxialmente, o que confere uma proteção mecânica para folha, reduz a perda de água por transpiração, reflete o excesso de luminosidade e protege contra microrganismos (HEREDIA, 2003; BARGEL *et al.*, 2004; SHEPERD & GRIFFITHS, 2006; BUSCHHAUS & JETTER, 2011). Além disso, o fato das folhas serem recortadas auxilia o resfriamento da superfície foliar pela ação do vento.

Segundo MORAES (1996), *A. arenaria* apresenta raízes adventícias longas que chegam até 50 cm, porem em dados obtidos neste trabalho foram encontradas raízes de até 3 m de comprimento em um indivíduo pequeno (Figura 6). O padrão de crescimento das raízes de *A. arenaria* possibilita cobrir grandes áreas em busca de nutrientes e água. As raízes apresentam pequeno calibre, sendo seu crescimento e renovação menos custosos para a planta, possibilitando a exploração de uma maior área.

Anatomicamente, a raiz de *A. arenaria* apresenta uma epiderme proeminente, cujas células possuem um maior diâmetro em relação as células do cortex (Figura 7). Essa característica indica a importância da epiderme para a proteção mecânica e térmica da raiz. Entretanto, em regiões mais desenvolvidas da raiz e menos ativas na absorção, a epiderme é substituída pela exoderme.

As células da exoderme apresentam parede espessa e esclerificada (Figura 7), em função da deposição de suberina ou lignina, proporcionando uma maior proteção para a raiz. Como visto por STASOVSKI & PETERSON (1991), raízes que apresentam células esclerificadas conseguem manter o conteúdo interior intacto e permanecem funcionais por mais tempo. A deposição de lignina junto a suberina promove impermeabilização da parede celular impedindo a entrada de patógenos ou substâncias indesejáveis (ENSTONE *et al.*, 2002).

Na região do córtex, foi observada uma progressiva formação de lacunas, conforme ocorre a maturação do órgão. A presença de restos de células no interior das lacunas indica que, possivelmente, o aerênquima é do tipo lisógeno, formado a partir da lise celular, que caracteriza a formação do aerênquima (Figura 7). O aerênquima, geralmente encontrado em plantas aquáticas, desempenha função de melhorar o suprimento de oxigênio para os tecidos da raiz (COLMER, 2003a; COLMER, 2003b). Acredita-se que em *A. arenaria*, o aerênquima esteja relacionado ao armazenamento de gases e à difusão longitudinal do oxigênio e gás carbônico ao longo da raiz, de modo a evitar a anoxia. Por apresentar um lençol freático superficial, indivíduos de *A. arenaria* estão sujeitos a alagamento em épocas de chuva. Sabe-se também que em plantas C3, como *A. arenaria*, a produção de aerênquima pode ter benefícios fotossintéticos, facilitando a difusão do CO<sub>2</sub> produzido pela respiração da raiz até a folha (CONSTABLE *et al.*, 1992).

Em arroz (*Oryza sativa* L.), a formação de aerênquima, do tipo lisógeno, é induzida por diversos fatores como estresse salino (KRISHNAMURTHY *et al.*, (2009), deficiência parcial de oxigênio (hipóxia), deficiência de N ou P e por elevada concentração de etileno endógeno (DREW *et al.*, 1989). A formação de aerênquima diante de fatores estressantes também foi observada em *Metroxylon sagu* por NITTA *et al.* (2002) e milho (*Zea mays* L.) por DREW *et al.* (1989).

Em ambientes pobres em P, a formação de aerênquima contribui para redução do gasto energético com respiração através da diminuição do número de células, o

que reduz também a demanda de P e o consumo de energia na exploração do solo (LYNCH & BROWN, 1998).

A identificação da proteína ADH 1 (*Alcohol Dehydrogenase 1*) de resposta a hipoxia (HOEREN *et al.*, 1998) nas amostras de raízes de *A. arenaria* corrobora com o papel do aerênquima na difusão de gases. A formação de aerênquima também pode ser explicada pela deficiência de N e P observada nos solos da restinga de Jurubatiba.

A endoderme, a camada mais interna do córtex, apresenta células com parede espessa em formato de “U”, juntamente com a exoderme ela contribui para a proteção das raízes contra diferentes estresses, como a falta de água, patógenos, contaminantes orgânicos, metais pesados e salinidade (ENSTONE *et al.*, 2002). Células esclerificadas, do tipo braquiesclereide, foram observadas ao redor da endoderme formando um anel esclerenquimático bem definido, assim como o encontrado na folha de *A. arenaria* (DEFAVERI *et al.*, 2015). Os braquiesclereides representam uma proteção mecânica adicional que garante a funcionalidade do cilindro vascular.

Em folhas, uma das funções do esclerênquima é a de proteção contra herbívoros (MATTO *et al.*, 2015), em raízes sabe-se que sua ação está mais relacionada com a sustentação do órgão e proteção de células de camadas interiores podendo estar relacionado com predação. A ausência de compostos fenólicos livres, sugerem que a raiz de *A. arenaria* não foi um alvo de predação durante o período de coleta, uma vez que os fenóis são uma das principais defesas químicas encontradas em plantas (BOECKLER *et al.*, 2011).

A região da medula, assim como a exoderme, apresenta células com parede espessa, possivelmente lignificadas (Figura 7), conferindo maior robustez e resistência mecânica para o órgão.

A reserva de amido encontrada em células do córtex em raízes (Figura 8), pode indicar grande capacidade de regeneração da espécie (BOWEN *et al.*, 1992), sendo uma fonte energética para reabastecer o maquinário enzimático e o transporte de substâncias entre membranas (MARSHALL & WARING, 1985). Os resultados morfoanatomicos demonstram características únicas, tais como o tamanho das raízes, a formação de aerênquima e reserva de amido ao longo das raízes. Entender quais são e como funcionam as características adaptativas do guriri podem ajudar a entender como plantas conseguem sobreviver no ambiente de restinga. Mesmo com

tamanha importância, a quantidade de trabalhos sobre essa espécie ainda é pequena, salvo os trabalhos de SEUBERT (1998a, 1998b), não existem trabalhos sobre a anatomia radicular do gênero *Allagoptera*, e da espécie *A. arenaria*. A maioria dos trabalhos anatômicos dessa espécie são baseados em sua anatomia foliar (MORAES R.M, 1996; DEFAVERI *et al.*, 2015; PINEDO, 2015; PINEDO *et al.*, 2016).

As plantas respondem ao ambiente baseando-se em uma gama de processos, os quais podem provocar mudanças morfológicas, fisiológicas e moleculares. A análise do perfil de proteínas pode ser relacionada às respostas do organismo a um determinado tipo de estresse, onde cada estágio de resposta da planta geraria um perfil proteico diferente, tornando a proteômica uma ótima ferramenta para o entendimento de determinadas respostas das plantas a esses ambientes (KOSOVÁ *et al.*, 2011). Neste trabalho, a análise proteômica foi aplicada com o objetivo de identificar e quantificar as proteínas que são expressas nos tecidos de raiz de plantas crescidas no ambiente natural de restinga. Esse estudo permitiu conhecer um pouco da resposta molecular de plantas aos estresses abióticos e bióticos, sendo um dos primeiros trabalhos a ter como modelo a espécie *Allagoptera arenaria*, popularmente conhecida como guriri, presente no PARNA da Restinga de Jurubatiba.

Dos 22 grupos encontrados e agrupados utilizando o 'Cytoscape', 5 estão diretamente ligados a algum tipo de estresse, sendo proteínas referentes ao grupo 1 que correspondem a proteína PIP-1 ('Plasma Membrane Intrinsic Protein'), o grupo 3 que corresponde a proteína PR5K ('PR5-LIKE Receptor Kinase'), o grupo 6 que corresponde a proteína 'Copper/Zinc Superoxide Dismutase 1', o grupo 14 que corresponde a proteína 'TGN-Localized SYP41 Interacting' e o grupo 17 que corresponde a proteína ADH 1 ('Alcohol Dehydrogenase 1') (Figura 9). Dentre esses grupos, somente o grupo 14 não apresentou interações com os outros grupos, tendo um mecanismo de resposta individual. Os outros grupos apresentam a possibilidade de interação entre si, possibilitando a estes a capacidade de resposta a diversos estresses em conjunto. Procurar identificar as interações é um processo fundamental para entender os processos fisiológicos e celulares (BELLATI *et al.*, 2016).

Além dos grupos apontados acima, há outros grupos relevantes, tais como o **grupo 2** da proteína SMK 2 ('Sterility-Regulating Kinase Member 2'), que em conjunto com os demais, possibilita que *A. arenaria* responda a estresses enquanto regula o desenvolvimento de meristemas radiculares, aumentando assim a sua área radicular.



Já o **grupo 5**, da proteína CHC 1 (*Clathrin Heavy Chain 1*), regula a abertura dos estômatos nos momentos em que a planta necessita.

Durante a análise proteômica foram encontradas proteínas da família das aquaporinas, proteínas chave do **grupo 1**, sendo visualizada na análise de 'networks' com diversas possíveis interações, mostrando a sua importância na sobrevivência de *A. arenaria* no ambiente de restinga. A fosforilação de aquaporinas é um importante componente que representa a resposta de plantas a estresse hídrico (BELLATI *et al.*, 2016), salino e de baixas temperaturas (AFZAL *et al.*, 2016), como em *Arabidopsis* quando submetida a estresses abióticos (DI PIETRO *et al.*, 2013; PRAK *et al.*, 2008). A fosforilação de aquaporinas pode ser feita por RLKs (*Receptor-Like-serine/threonine-Kinases*) (MORILLO & TAX, 2006), e por LRRs (*Leucine-Rich-Repeat*) (WU *et al.*, 2013), ambas proteínas foram encontradas no trabalho.

Em sua maioria, o estresse abiótico afeta todos os mecanismos da planta relacionados à água, levando a planta a responder de maneira celular e fisiológica para evitar qualquer perda (AFZAL *et al.*, 2016). As aquaporinas são reguladores vitais de transporte de água dentro da planta, sendo elas de grande importância para a sobrevivência da planta (AFZAL *et al.*, 2016) em ambientes como o de restinga. Essa grande importância das aquaporinas para *A. arenaria* pode ser visualizada na análise proteômica, a qual mostrou que cerca de 45% do conteúdo proteico na forma de proteínas da família das aquaporinas (Figura 12).

Em uvas (*Vitis vinifera*), por exemplo, a expressão de aquaporinas nas raízes foi maior diante de um estresse hídrico em cultivares anisohídricos (VANDELEUR *et al.*, 2009). Em *Arabidopsis thaliana*, a superexpressão do gene transgênico GoPIP1 proveniente de *Galega orientalis*, indicou vulnerabilidade ao estresse hídrico porém demonstrou resistência ao estresse salino (LI *et al.*, 2015). Em seu estudo AROCA *et al.* (2007) concluiu que a resposta da planta ao estresse hídrico por meio da expressão de PIPs (*Plasma Membrane Intrinsic Protein*) podem variar com a sua interação com fungos micorrízicos arbusculares.

A principal proteína do **grupo 3**, PR5K (*PR5-LIKE Receptor Kinase*), atua como um homólogo da proteína SRK, responsável pela fosforilação de outras proteínas em resposta ao reconhecimento de corpos estranhos ou patógenos (WANG *et al.*, 1996). Esta proteína está relacionada com a família de proteínas PR (*pathogenesis-related*), sendo uma das responsáveis pelo reconhecimento de sinais bióticos, tais como patógenos (WANG *et al.*, 1996). Em *A. thaliana*, esta é encontrada

em maiores concentrações em tecidos de inflorescência e raízes. Sua resposta a sinais patogênicos foi testada em algumas espécies, sendo a introdução deste gene referente a proteína PR5K, testado em cana-de-açúcar por SACILOTO (2003).

A proteína chave do **grupo 6** Cu/ZnSOD (*'Copper/Zinc Superoxide Dismutase 1'*), junto com MnSOD (*'Manganese SOD'*) e FeSOD (*'Iron SOD'*), são os três tipos proteicos da família de *'Superoxide Dismutase'*. Sendo umas das primeiras enzimas da via de sinalização antioxidante (PRASHANTH *et al.*, 2008), sua função é catalisar a dismutação de radicais de superóxido, modificando os níveis de oxigênio e peróxido de hidrogênio celular, atuando como um mecanismo de resposta a estresses (BOWLER *et al.*, 1992). Diferentes respostas podem acontecer de acordo com o tipo de estresse que a espécie é submetida. Um trabalho realizado por TSANG (1991), mostrou que folhas de *Nicotiana plumbaginifolia* quando submetidas a calor, tinha aumentada a expressão do mRNA para enzima Cu/ZnSOD no citoplasma. Já quando estas eram submetidas ao frio, o aumento da expressão foi para enzima FeSOD em cloroplastos. Em tomateiros, foi observado o aumento da expressão da Cu/ZnSOD, quando a planta foi exposta ao herbicida paraquat, assim como ao déficit hídrico (TSANG, 1991). Resposta semelhante foi vista por MALAN *et al.* (1990), em espécies milho quando também submetidos ao déficit hídrico.

Em plantas transgênicas de *Medicago sativa*, a maior presença de MnSOD foi responsável pela melhor recuperação após um estresse de baixa temperatura (MCKERSIE *et al.*, 1993). Já em plantas transgênicas de arroz transformadas com SOD, foi observada uma maior tolerância ao estresse oxidativo, salino e hídrico (PRASHANTH *et al.*, 2008).

A proteína chave do **grupo 14** TGN-SYP41 (*'Trans-Golgi Network-Localized SYP41 Interacting'*), é uma proteína localizada no túbulo-vesicular derivado do Complexo de Golgi (STAEHELIN & KANG, 2008). Membro da família SNARE *'TGN-Localized SYP4 (41/42/43) Interacting'*, faz parte de diversas vias de transporte vesicular, regula auxina e dá resistência a planta contra estresses bióticos e abióticos (UEMURA *et al.*, 2012<sup>a</sup>; UEMURA *et al.*, 2012<sup>b</sup>).

Em *A. thaliana* o grupo de proteínas SYP4 e sua interação com TGN está ligada a respostas de planta a doenças, estresse salino e osmótico (UEMURA *et al.*, 2012<sup>a</sup>; UEMURA *et al.*, 2012<sup>b</sup>). Em 2017, ROY & BASSHAM, após analisar o alongamento e movimento de rotação da raiz crescendo em um meio de cultura "impenetrável",

concluíram que proteínas do tipo 'TGN-Localized' quando expressas em maior quantidade, refletem um auxílio no crescimento a raiz.

A principal proteína do **grupo 17** é a enzima ADH 1 ('*Alcohol Dehydrogenase 1*'), esta é expressa em maior quantidade quando a planta enfrenta algum tipo de estresse abiótico (CHRISTIE *et al.*, 1991; BUCHER *et al.*, 1995), mas um aumento da sua expressão pode estar relacionada também a altas taxas de atividade do metabolismo de sacarose, como ocorre em uvas (TESNIERE *et al.*, 2006). Também foi observada o aumento da sua atividade em espécies de milho e arroz quando se encontram em condições anaeróbicas (HAGEMAN, 1960) e frio (CHRISTIE *et al.*, 1991). Esta enzima está ainda incluída num grupo chamado de elementos de resposta a anoxia (ARE) (BHATNAGAR-MATHUR *et al.*, 2008). Estudos realizados por HOEREN *et al.* (1998) já mostravam que as raízes de plantas respondem a condições de baixo oxigênio, modificando seu metabolismo de carboidrato, saindo do padrão oxidativo para o fermentativo.

Quando uma planta é exposta a um estresse abiótico, seus genes são ativados, produzindo diversas moléculas, dentre estas estão as proteínas que vão proporcionar a resposta a estes estresses (BHATNAGAR-MATHUR *et al.*, 2008). Estudos como o de HAKE *et al.* (1985) e KELLEY (1989) concluíram que a expressão de mRNA de ADH1 era maior em plantas expostas a estresses abióticos, o que torna a produção da proteína ADH1 uma resposta a um estresse abiótico, nesse caso a falta de oxigênio.

A análise proteômica revelou, de maneira geral, proteínas relacionadas diretamente e indiretamente a diversos tipos de estresse e a resposta do organismo para a sobrevivência na restinga. Apesar dos resultados encontrados, mais estudos proteômicos de caráter comparativo precisam ser realizados para auxiliar no entendimento da resposta do guriri (*Allagoptera arenaria*) e/ou de outras espécies diante das quatro estações do ano, ou durante o regime de chuva e de seca. Particularmente, a análise proteômica associada aos estudos anatômicos podem ajudar a entender como a mesma espécie responde a diferentes condições do ambiente de restinga. Devido a poucos trabalhos voltados para o sistema radicular de plantas de restinga, esse trabalho teve em sua abordagem um meio para o início do entendimento de algumas respostas da planta ao seu ambiente, fornecendo dados que possam indicar possíveis adaptações que permitem essa espécie habitar no ambiente de restinga.

## 6. CONCLUSÃO

De acordo com os resultados obtidos, podemos concluir que:

- *Allagoptera arenaria*, popularmente conhecida como guriri, consegue sobreviver e se desenvolver bem no ambiente estressante do PARNA da Restinga de Jurubatiba. Essa espécie suporta altas variações de temperatura, luminosidade e umidade relativa do ar, todos os dias e ao longo do dia e noite (24h). Consegue sobreviver diante de um solo nutricionalmente pobre, tanto de micro quanto de macro nutrientes, além de enfrentar períodos de seca e de muita chuva, sendo encontrado tanto em ambientes secos quanto em ambientes alagados.
- A análise morfoanatômica demonstrou grande plasticidade dos indivíduos de *A. arenaria*, que podem ser encontrados dentro de moitas e em meio a areia nua, com caule e raízes completamente enterrados, tendo unicamente sua coroa foliar para fora da areia.
- A análise anatômica demonstrou características adaptativas dessa espécie como uma camada de epiderme proeminente, a qual pode ser substituída por diversas camadas de exoderme proporcionando maior proteção para a raiz. A formação de aerênquima na região do córtex para o armazenamento de gases e à difusão longitudinal do oxigênio e gás carbônico. A presença de células esclerificadas tanto na endoderme quanto na exoderme, indicando uma proteção mecânica adicional para as raízes. Além da grande quantidade de amido encontrada nas células do córtex que dão a essa espécie a capacidade de regeneração e suprimento energético.
- A análise proteômica permitiu a identificação de 307 proteínas, com 45,3% desse total voltadas para a resposta ao déficit hídrico e 22,1% desse total voltadas para o estresse oxidativo, dentre outras em menores quantidades, mas também voltadas para estresses em geral.
- A produção de redes de interação de proteína/proteína permitiu visualizar e entender a grande complexidade de interação de resposta de *A. arenaria* ao ambiente de restinga por meio de 22 grupos, onde 5 estão diretamente ligados a algum tipo de estresse, sendo proteínas referentes ao grupo 1 que correspondem

a proteína PIP-1 (*Plasma Membrane Intrinsic Protein*), o grupo 3 que corresponde a proteína PR5K (*PR5-LIKE Receptor Kinase*), o grupo 6 que corresponde a proteína (*Copper/Zinc Superoxide Dismutase 1*), o grupo 14 que corresponde a proteína (*TGN-Localized SYP41 Interacting*) e o grupo 17 que corresponde a proteína ADH 1 (*Alcohol Dehydrogenase 1*). Além dos grupos 2 e 5, proteína SMK 2 (*Sterility-Regulating Kinase Member 2*) e proteína CHC 1 (*Clathrin Heavy Chain 1*), que não estão diretamente ligados a nenhum tipo de estresse, mas com funções essenciais para a sobrevivência da espécie.

- Todas essas características adaptativas permitem que *A. arenaria* habite no ambiente de restinga, podendo ainda facilitar a entrada de outras espécies no ambiente. Com capacidade de fornecer nutrientes e manter por mais tempo umidade na superfície do solo com suas folhas senescentes. Sendo essa espécie pioneira essencial para a estrutura e funcionalidade de comunidades de plantas de restinga.

## 7. REFERÊNCIAS

AERTS, R.; CHAPIN, F. S. The mineral nutrition of wild plants revisited: a Re-evaluatin of processes and patterns. **Advances in Ecological Research**, v. 30, p. 1–67, 2000.

AFZAL, Z. et al. The Roles of Aquaporins in Plant Stress Responses. **Journal of Developmental Biology**, v. 4, n. 1, p. 9, 2016.

ALVES, A.; DELATORRE, C. A. Alterações na arquitetura de raiz em resposta à disponibilidade de fósforo e nitrogênio. **Changes**, p. 152–163, 2009.

ANDRADE, O. F. Identificação de fungos micorrizicos arbusculares (FMAs) em formação vegetal psamófila-reptante: ecologia e micorriorremediação. Dissertação de Mestrado. p. 83, 2012.

ANTUNES E DEFAVERI, A. C. et al. *Allagoptera arenaria* (Arecaceae): Leaf anatomy of a palm from the Brazilian shore. **Brittonia**, v. 67, n. 4, p. 336–349, 2015.

AOYAMA, E. M.; MAZZONI-VIVEIROS, S. C. Adaptações estruturais das plantas ao ambiente. p. 1–17, 2006.

AROCA, R.; PORCEL, R.; RUIZ-LOZANO, J. M. How does arbuscular mycorrhizal symbiosis regulate root hydraulic properties and plasma membrane aquaporins in *Phaseolus vulgaris* under drought, cold or salinity stresses? **New Phytologist**, v. 173, n. 4, p. 808–816, 2007.

ASSUMPÇÃO, J.; NASCIMENTO, M. T. Estrutura e composição florística de quatro formações vegetais de restinga no complexo lagunar Grussaí/Iquipari, São João da Barra, RJ, Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, v. 14, n. 3, p. 301–315, 2000.

BALBUENA, T. S. et al. Changes in the 2-DE protein profile during zygotic embryogenesis in the Brazilian Pine (*Araucaria angustifolia*). **Journal of Proteomics**, v. 72, n. 3, p. 337–352, 2009.

BARGEL, H. et al. Plant cuticles: multifunctional interfaces between plant and environment. **The Evolution of Plant Physiology**, p. 171–III, 2004.

BELLATI, J. et al. Novel Aquaporin Regulatory Mechanisms Revealed by Interactomics. **Molecular & Cellular Proteomics**, v. 15, n. 11, p. 3473–3487, 2016.

BHATNAGAR-MATHUR, P.; VADEZ, V.; SHARMA, K. K. Transgenic approaches for abiotic stress tolerance in plants: Retrospect and prospects. **Plant Cell Reports**, v. 27, n. 3, p. 411–424, 2008.

BOECKLER, G. A.; GERSHENZON, J.; UNSICKER, S. B. Phenolic glycosides of the Salicaceae and their role as anti-herbivore defenses. **Phytochemistry**, v. 72, n. 13, p. 1497–1509, 2011.

BONADIMAN, G. S. L. Decomposição e liberação de nutrientes de folhas de *Clusia hilariana* Schlth (Clusiaceae) em moitas da formação Arbustiva Aberta de *Clusia* no Parque Nacional da Restinga de Jurubatiba, RJ. Dissertação de Mestrado. p. 109, 2007.

BOWEN, BARBARA J. PATE, J. S. **The significance of root starch in post-fire shoot recovery of the resprouter *Stirlingia latifolia* R. Br. (Proteaceae).**pdfAnnals of Botany, 1992.

BOWLER, C.; MONTAGU, M. VAN; INZE, D. Superoxide dismutase and stress tolerance. **Annual review of plant biology**, v. 34, p. 83–116, 1992.

BRAGA, T. V. S. ASSOCIAÇÕES COM FUNGOS MICORRÍZICOS E BACTÉRIAS FIXADORAS DE NITROGÊNIO EM *Allagoptera arenaria* (GOMES) O. KUNTZE NA RESTINGA DE MARAMBAIA. Monografia de Conclusão de Curso. p. 23, 2008.

BREAZEALE, E.; MCGEORGE, W.; BREAZEALE, J. Moisture absorption by plants from an atmosphere of high humidity. **Plant Physiology**, p. 413–419, 1950.

BUCHER, M. et al. Aerobic fermentation in tobacco pollen. **Plant Molecular Biology**, v. 28, n. 4, p. 739–750, 1995.

BUDAK, H. et al. Proteome changes in wild and modern wheat leaves upon drought stress by two-dimensional electrophoresis and nanoLC-ESI-MS/MS. **Plant Molecular**

**Biology**, v. 83, n. 1–2, p. 89–103, 2013.

BUSCHHAUS, C.; JETTER, R. Composition differences between epicuticular and intracuticular wax substructures: How do plants seal their epidermal surfaces?

**Journal of Experimental Botany**, v. 62, n. 3, p. 841–853, 2011.

CALLAWAY, R. M. Positive interactions among plants. **Botanical Review**, v. 61, n. 4, p. 306–349, 1995.

CARVALHO, D. C.; PEREIRA, M. G.; DE MENEZES, L. F. T. Aporte de biomassa e nutrientes por *Allagoptera arenaria* na restinga da Marambaia, Rio de Janeiro, RJ. **Floresta**, v. 44, n. 3, p. 349–358, 2014.

CARVALHO, J. M. DE et al. Água-de-coco: Propriedades nutricionais, funcionais e processamento. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 27, n. 3, p. 437, 2006.

CHASE, M. W. Monocot relationships: An overview. **American Journal of Botany**, v. 91, n. 10, p. 1645–1655, 2004.

CHAVES, L. H. G. et al. **Propriedades químicas do solo aluvial da ilha de Assunção - Cabrobó (pernambuco)** *Revista Brasileira de Ciencia do Solo*, 2004.

CHEN, S.; HARMON, A. C. Advances in plant proteomics. **Proteomics**, v. 6, n. 20, p. 5504–5516, 2006.

CHRISTIE, P. J.; HAHN, M.; WALBOT, V. Low-Temperature Accumulation of Alcohol Dehydrogenase-1 mRNA and Protein Activity in Maize and Rice Seedlings. **Plant Physiol**, v. 95, n. 3, p. 699–706, 1991.

CHRISTMAS, ROWAN; AVILA-CAMPILLO, ILIANA; BOLOURI, HAMID; SCHWIKOWSKI, BENNO; ANDERSON, MARK; KELLEY, RYAN; LANDYS, NERIUS; WORKMAN, CHRIS; IDEKER, TREY; CERAMI, ETHAN; SHERIDAN, ROB; BADER, GARY D.; SANDER, C. Cytoscape: a software environment for integrated models of biomolecular interaction networks. **American Association for Cancer Research Education Book**, n. Karp 2001, p. 12–16, 2005.

COLMER, T. D. Aerenchyma and an inducible barrier to radial oxygen loss facilitate root aeration in upland, paddy and deep-water rice (*Oryza sativa* L.). **Annals of**



**Botany**, v. 91, n. SPEC. ISS. JAN., p. 301–309, 2003a.

COLMER, T. D. Long-distance transport of gases in plants: A perspective on internal aeration and radial oxygen loss from roots. **Plant, Cell and Environment**, v. 26, n. 1, p. 17–36, 2003b.

CONSTABLE, J. V. H.; GRACE, J. B.; LONGSTRETH, D. J. High carbon dioxide concentrations in aerenchyma of *Typha latifolia*. **American Journal of Botany**, v. 79, n. 4, p. 415–418, 1992.

COVER, V. C. et al. Fitossociologia do estrato herbáceo de um trecho de restinga arbustiva aberta no litoral norte do Espírito Santo. **Bol. Mus. Biol. Mello Leitão**, v. 37, n. 4, p. 345–360, 2015.

DAMERVAL, C. et al. Technical improvements in two-dimensional electrophoresis increase the level of genetic variation detected in wheat-seedling proteins.

**Electrophoresis**, v. 7, n. 1, p. 52–54, 1986.

DI PIETRO, M. et al. Coordinated Post-translational Responses of Aquaporins to Abiotic and Nutritional Stimuli in *Arabidopsis* Roots. **Molecular & Cellular Proteomics**, v. 12, n. 12, p. 3886–3897, 2013.

DIAS, H. Estrutura do estrato lenhoso de uma comunidade arbustiva fechada sobre cordão arenoso na Restinga da Marambaia, RJ. Dissertação de Mestrado. p. 42, 2005.

DÍAZ-PÉREZ, J. C. Root zone temperature, plant growth and yield of broccoli [*Brassica oleracea* (Plenck) var. *italica*] as affected by plastic film mulches. **Scientia Horticulturae**, v. 123, n. 2, p. 156–163, 2009.

DODD, I. C. et al. The influence of supra-optimal root-zone temperatures on growth and stomatal conductance in *Capsicum annum* L. **Journal of experimental botany**, v. 51, n. 343, p. 239–48, 2000.

DRANSFIELD, J. et al. A new phylogenetic classification of the palm family , *Arecaceae*. **Kew Bulletin**, v. 60, n. September, p. 559–569, 2005.

DREW, M. C.; HE, C. J.; MORGAN, P. W. Decreased Ethylene Biosynthesis, and

Induction of Aerenchyma, by Nitrogen- or Phosphate-Starvation in Adventitious Roots of *Zea mays* L. **Plant physiology**, v. 91, n. 1, p. 266–271, 1989.

ENSTONE, D. E.; PETERSON, C. A.; MA, F. Root endodermis and exodermis: Structure, function, and responses to the environment. **Journal of Plant Growth Regulation**, v. 21, n. 4, p. 335–351, 2002.

ESTEVES, F. A. Do Índio Goitacá à Economia do Petróleo: uma viagem pela história e ecologia da maior restinga protegida do Brasil. p. 1–230, 2011.

FAQUIN, V. NUTRIÇÃO MINERAL DE PLANTAS. **Universidade Federal de Lavras-UFLA**, v. III, n. FAEPE, p. 186, 2005.

FILHO, S. C. D. N. Caracterização funcional das tipologias vegetacionais da Barra da Tijuca e suas implicações no estabelecimento das compensações ambientais . p. 56, 2009.

FRANGI, J. L. et al. Biomass and Nutrient Accumulation in Ten Year Old Bryophyte Communities Inside a Flood Plain in the Luquillo Experimental Forest , Puerto Rico. **Biotropica**, v. 24, n. 2, p. 106–112, 1992.

FREIRE, M. G. M. et al. Bioprospecção da flora fúngica endofítica da reserva de jurubatiba. **Perspectivas online: Ciências Biológicas e da Saúde**, v. 21, n. 6, p. 6–13, 2016.

GEISLER-LEE, J. et al. A Predicted Interactome for Arabidopsis. **Plant Physiology**, v. 145, n. 2, p. 317–329, 2007.

GENOVESE-MARCOMINI, P. R.; SÍLVIA DE MENDONÇA, M.; CARMELLO-GUERREIRO, S. M. Embryonic development of *Syagrus inajai* (Spruce) Becc. (Arecaceae, Arecoideae), an Amazonian palm. **Australian Journal of Botany**, v. 61, n. 8, p. 611–621, 2013.

GOMES, F. H. Caracterização de solos de manguezais e de restinga no município de Ilhéus-Bahia. p. 96, 2002.

GOMES, F. H. Gênese e classificação de solos sob vegetação de restinga na Ilha do Cardoso-SP. Tese de Doutorado. 2005.

GOMES, J. B. V. et al. Solos de três áreas de restinga. II. Dinâmica de substâncias húmicas, ferro e alumínio. **Pesquisa Agropecuaria Brasileira**, v. 33, n. 11, p. 1921–1932, 1998.

GÖTZ, S. et al. High-throughput functional annotation and data mining with the Blast2GO suite. **Nucleic Acids Research**, v. 36, n. 10, p. 3420–3435, 2008.

GRAMMATIKOPOULOS, G.; MANETAS, Y. Direct absorption of water by hairy leaves of *Phlomis fruticosa* and its contribution to Drought Avoidance. **Plant Physiology**, 1994.

GRATANI, L.; COVONE, F.; LARCHER, W. Leaf plasticity in response to light of three evergreen species of the Mediterranean maquis. **Trees - Structure and Function**, v. 20, n. 5, p. 549–558, 2006.

GURNEY, W. S. C.; LAWTON, J. H. The population dynamics of ecosystem engineer. **Source: Oikos**, v. 76, n. 2, p. 273–283, 1996.

HAGEMAN, R. H.; FLESHER, D. The effect of an anaerobic environment on the activity of alcohol dehydrogenase and other enzymes of corn seedlings. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 87, n. 2, p. 203–209, 1960.

HAKE, S. et al. Coordinate induction of alcohol dehydrogenase 1, aldolase, and other anaerobic RNAs in maize. **Journal of Biological Chemistry**, v. 260, n. 8, p. 5050–5054, 1985.

HEADY, H. F. . Changes in a California Annual Plant Community Induced By Manipulation of Natural Mulch. v. 37, n. 4, p. 798–812, 1956.

HENDERSON, A. **Arecaceae. Part I. Introduction and the Iriarteinae.** [s.l: s.n.]. v. 53

HENRIQUES, R. P. B.; ARAUJO, D. S. D.; HAY, J. D. Descrição e classificação dos tipos de vegetação da restinga de Carapebus, Rio de Janeiro. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 9, p. 173–189, 1986.

HEREDIA, A. Biophysical and biochemical characteristics of cutin, a plant barrier biopolymer. **Biochimica et Biophysica Acta - General Subjects**, v. 1620, n. 1–3, p.

1–7, 2003.

HERINGER, A. S. et al. Comparative proteomics analysis of the effect of combined red and blue lights on sugarcane somatic embryogenesis. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 39, n. 2, 2017.

HOEREN, F. U. et al. Evidence for a role for AtMYB2 in the induction of the arabidopsis alcohol dehydrogenase gene (ADH1) by low oxygen. **Genetics**, v. 149, n. 2, p. 479–490, 1998.

JOFFRE, R.; RAMBAL, S. How Tree Cover Influences the Water Balance of Mediterranean Rangelands. **Ecological Society of America**, v. 74, n. 2, p. 570–582, 1993.

KELLEY, P. M. Maize pyruvate decarboxylase mRNA is induced anaerobically. **Plant Molecular Biology**, v. 13, n. 2, p. 213–222, 1989.

KOSOVÁ, K. et al. Plant proteome changes under abiotic stress - Contribution of proteomics studies to understanding plant stress response. **Journal of Proteomics**, v. 74, n. 8, p. 1301–1322, 2011.

KRISHNAMURTHY, P. et al. The role of root apoplastic transport barriers in salt tolerance of rice (*Oryza sativa* L.). **Planta**, v. 230, n. 1, p. 119–134, 2009.

LI, J. et al. An aquaporin protein is associated with drought stress tolerance. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 459, n. 2, p. 208–213, 2015.

LUZ, J. L. et al. Morcegos (Chiroptera) capturados em lagoas do Parque Nacional da Restinga de Jurubatiba, Rio de Janeiro, Brasil. **Biota Neotropica**, v. 11, n. 4, p. 161–168, 2011.

MACÍA, M. J. Multiplicity in palm uses by the Huaorani of Amazonian Ecuador. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 144, n. 2, p. 149–159, 2004.

MANTUANO, D. G. Crescimento clonal em *Neoregelia cruenta* na Restinga de Jurubatiba: estrutura populacional, plasticidade morfo-anatômica e integração fisiológica. **Tese de Doutorado**, p. 104, 2008.

MARDEGAN, S. F. Variação na dinâmica do nitrogênio e nos atributos foliares em fisionomias de restinga da região Sudeste do Brasil. Tese de Doutorado. p. 1–162, 2013.

MARSHALL, J. D.; WARING, R. H. Predicting fine root production and turnover by monitoring root starch and soil temperature. **Canadian Journal of Forest Research**, v. 15, n. 5, p. 791–800, 1985.

MARTIN, L.; SUGUIO, K.; FLEXOR, J. M. As Flutuações de Nível do Mar Durante o Quaternário Superior e a Evolução Geológica de “Deltas” Brasileiros. **Boletim IG-USP. Publicação Especial**, p. 1–186, 1993.

MATTO, L. DEL et al. Investimento em sustentação e defesas físicas no mangue vermelho : uma demanda conflitante ? **Prática da pesquisa em Ecologia da Mata Atlântica, USP**, p. 1–5, 2015.

MAUREL, C. et al. Aquaporins in Plants. **Physiological Reviews**, v. 95, n. 4, p. 1321–1358, 2015.

MCKERSIE, B. D. et al. Superoxide Dismutase Enhances Tolerance of Freezing Stress in Transgenic Alfalfa (*Medicago sativa* L.). **Plant Physiology**, v. 103, n. 4, p. 1155–1163, 1993.

MELO JUNIOR, J. C. F. **Plasticidade fenotípica e diversidade funcional de comunidades florísticas em gradiente edáfico na restinga do Parque Estadual do Acaraí, São Francisco do Sul, SC. Tese de Doutorado.** [s.l: s.n.].

MILES, J. The pedogenic effects of different species and vegetation types and the implications of succession. **Journal of Soil Science**, v. 36, n. 4, p. 571–584, 1985.

MONTEZUMA, R. DE C. M.; ARAUJO, D. S. D. Estrutura da vegetação de uma restinga arbustiva inundável no Parque Nacional da Restinga de Jurubatiba, Rio de Janeiro. **Pesquisas, Botânica**, v. 58, p. 157–176, 2007.

MORAES R.M. Allagoptera (Palmae). **Flora Neotropica**, v. Vol. 73, n. 3, p. 34, 1996.

MORILLO, S. A.; TAX, F. E. Functional analysis of receptor-like kinases in monocots and dicots. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 9, n. 5, p. 460–469, 2006.

NITTA, Y. ET AL. Morphological and Anatomical Observations of Adventitious and Lateral Roots of Sago Palms. **Plant production science**, v. 5, n. n 2, p. 139–145, 2002.

PALACIOS, C.; SERRA, D.; TORRES, P. Papel ecológico dos metabólitos secundários frente ao estresse abiótico. **Botânica no Inverno 2013**, n. April 2018, p. 52–59, 2013.

PEREIRA, D. C.; BARROS, C. F.; SCARANO, F. R. In situ variation in leaf anatomy and morphology of *Andira legalis* (Leguminosae) in two neighbouring but contrasting light environments in a Brazilian sandy coastal plain. **Acta Botanica Brasilica**, v. 23, n. 1, p. 267–273, 2009.

PEREIRA, M. C. A.; CORDEIRO, S. Z.; ARAUJO, D. S. D. DE. Estrutura do estrato herbáceo na formação aberta de *Clusia* do Parque Nacional da Restinga de Jurubatiba, RJ, Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, v. 18, n. 3, p. 677–687, 2004.

PEREIRA, M. G. et al. Litter Devolution and Decomposition in a Periodically Flooded Forest in Restinga Da Marambaia, Rio De Janeiro. **Ciencia Florestal**, v. 22, n. 1, p. 59–67, 2012.

PINEDO, A. S. **Anatomia foliar de *Allagoptera* Nees ( *Arecaceae* ) como subsídio à taxonomia. Dissertação de Mestrado.** [s.l: s.n.].

PINEDO, A. S. et al. Leaf anatomy in *Allagoptera* (*Arecaceae*). **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 182, n. 2, p. 361–375, 2016.

PRAK, S. et al. Multiple Phosphorylations in the C-terminal Tail of Plant Plasma Membrane Aquaporins. **Molecular & Cellular Proteomics**, v. 7, n. 6, p. 1019–1030, 2008.

PRASHANTH, S. R.; SADHASIVAM, V.; PARIDA, A. Over expression of cytosolic copper/zinc superoxide dismutase from a mangrove plant *Avicennia marina* in indica Rice var Pusa Basmati-1 confers abiotic stress tolerance. **Transgenic Research**, v. 17, n. 2, p. 281–291, 2008.

REIS, R. C. D. C. Palmeiras (*Arecaceae*) das restingas do Estado do Rio de Janeiro,

Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, v. 20, n. 3, p. 501–512, 2006.

RHEE, S. Y. et al. The Arabidopsis Information Resource (TAIR): A model organism database providing a centralized, curated gateway to Arabidopsis biology, research materials and community. **Nucleic Acids Research**, v. 31, n. 1, p. 224–228, 2003.

RIBAS, L. A. ET AL. Moitas de restinga: ilhas ecológicas. . **Anais III Simpósio de Ecossistemas da Costa Brasileira. ACIESP, São Paulo**, 1993.

ROCHA, P. D. A. Características edáficas de cinco ambientes de restinga do parque estadual Paulo Cesar Vinha - ES, Brasil. Dissertação de Mestrado. **Ufv**, 2012.

RODOLFO MARTINS BONILHA. Caracterização da fertilidade do solo , distribuição do sistema radicular e índice de qualidade do solo no Ecossistema Restinga do Litoral Paulista. Dissertação de Mestrado. 2011.

ROLIM, S. G. et al. Composição Florística do estrato arbóreo da Floresta Estacional Semidecidual na Planície Aluvial do rio Doce, Linhares, ES, Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, v. 20, n. 3, p. 549–561, 2006.

ROY, R.; BASSHAM, D. C. TNO1, a TGN-localized SNARE-interacting protein, modulates root skewing in Arabidopsis thaliana. **BMC Plant Biology**, v. 17, n. 1, p. 1–12, 2017.

SACIOTO, R. D. F. Z. INSERÇÃO DO GENE PR5K EM CANA-DE-AÇÚCAR VISANDO INDUZIR RESISTÊNCIA AO FUNGO DA FERRUGEM *Puccinia melanocephala*. **Dissertação de mestrado**, 2003.

SAMPAIO, M. C.; PICÓ, F. X.; SCARANO, F. R. Ramet demography of a nurse bromeliad in Brazilian restingas. **American Journal of Botany**, v. 92, n. 4, p. 674–681, 2005.

SATO, C. A. Caracterização Da Fertilidade Do Solo E Da Composição Mineral De Espécies Arbóreas De Restinga Do Litoral Paulista. Dissertação de Mestrado. 2007.

SCARANO, F. R. Structure, function and floristic relationships of plant communities in stressful habitats marginal to the Brazilian Atlantic rainforest. **Annals of Botany**, v. 90, n. 4, p. 517–524, 2002.

SCARANO, F. R. et al. Physiological synecology of tree species in relation to geographic distribution and ecophysiological parameters at the Atlantic forest periphery in Brazil: An overview. **Trees - Structure and Function**, v. 19, n. 5, p. 493–496, 2005.

SCHLICHTING, C. D.; PROGRAM. THE EVOLUTION OF PHENOTYPIC PLASTICITY IN PLANTS. **annual review of ecology**, n. 143, 1986.

SCHULZE, E. D. et al. Stomatal responses to changes in humidity in plants growing in the desert. **Planta**, v. 108, n. 3, p. 259–270, 1972.

SEUBERT, E. Root anatomy of palms IV. Arecoideae, part 2 systematic implications. **Feddes Repertorium**, v. 109, n. 3–4, p. 231–247, 1998a.

SEUBERT, E. Root anatomy of palms IV . Arecoideae , part 1 , general remarks and descriptions on the roots. v. 109, p. 89–127, 1998b.

SHEPERD T.; D.W., G. The effects of stress on plant cuticular waxes. **New Phytologist**, v. 171, p. 469–499, 2006.

SILVA, K. R.; MELO-JUNIOR, J. C. F.; BOEGER, M. R. T. Variações fenotípicas em *Andira fraxinifolia* Benth ( Fabaceae ) em duas fitofisionomias de Restinga. **Hoehnea**, v. 43, n. 2, p. 237–245, 2016.

SOBRAL, L. F. et al. Guia Prático para Interpretação de Resultados de Análises de Solo. **Embrapa**, 2015.

SOSNOWSKA, J.; BALSLEV, H. American palms used for medicine, in the ethnobotanical and pharmacological publications. **Revista Peruana de Biologia**, v. 15, n. 3, p. 143–146, 2008.

STAEHELIN, L. A.; KANG, B.-H. Nanoscale Architecture of Endoplasmic Reticulum Export Sites and of Golgi Membranes as Determined by Electron Tomography. **Plant Physiology**, v. 147, n. 4, p. 1454–1468, 2008.

STASOVSKI, E.; PETERSON, C. A. The effects of drought and subsequent rehydration on the structure, vitality, and permeability of *Allium cepa* adventitious roots. **Canadian Journal of Botany**, v. 69, n. 6, p. 1170–1178, 1991.



SYLVESTRE, L. DA S.; LEITE, C. DE O.; TRIANI, L. Estudo do desenvolvimento do fruto de *Allagopter arenaria* (GOMES) O. KUNTZE - Palmae. **Acta Botanica Brasilica**, v. 2, n. 1, p. 183–192, 1989.

TESNIERE, C. et al. Effects of genetic manipulation of alcohol dehydrogenase levels on the response to stress and the synthesis of secondary metabolites in grapevine leaves. **Journal of Experimental Botany**, v. 57, n. 1, p. 91–99, 2006.

TOMCHINSKY, B. **Prospecção de plantas aromáticas e condimentares no Brasil. Tese de Doutorado.** [s.l: s.n.].

TSANG, E. Differential Regulation of Superoxide Dismutases in Plants Exposed to Environmental Stress. **the Plant Cell Online**, v. 3, n. 8, p. 783–792, 1991.

UEMURA, T. et al. Qa-SNAREs localized to the trans-Golgi network regulate multiple transport pathways and extracellular disease resistance in plants. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 109, n. 5, p. 1784–1789, 2012.

VALIENTE-BANUET, A.; EZCURRA, E. Shade as a Cause of the Association Between the Cactus *Neobuxbaumia Tetetzo* and the Nurse Plant *Mimosa Luisana* in the Tehuacan Valley, Mexico. v. 79, n. 4, p. 961–971, 1991.

VANDELEUR, R. K. et al. The Role of Plasma Membrane Intrinsic Protein Aquaporins in Water Transport through Roots: Diurnal and Drought Stress Responses Reveal Different Strategies between Isohydric and Anisohydric Cultivars of Grapevine. **Plant Physiology**, v. 149, n. 1, p. 445–460, 2009.

VITOUSEK, P. M. et al. Terrestrial phosphorus limitation : mechanisms , implications , and nitrogen – phosphorus interactions. **Ecological Applications**, v. 20, n. 1, p. 5–15, 2010.

WANG, W. X. et al. Biotechnology of plant osmotic stress tolerance: physiological and molecular considerations. **Acta Hort**, v. 560, p. 285–292, 2001.

WANG, X. et al. The PR5K receptor protein kinase from *Arabidopsis thaliana* is structurally related to a family of plant defense proteins. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 93, n. March,

p. 2598–2602, 1996.

WASMUTH, E. V; LIMA, C. D. UniProt: the universal protein knowledgebase.

**Nucleic Acids Research**, v. 45, n. D1, p. 1–12, 4 jan. 2016.

WATT, M.; EVANS, J. R. Proteoid Roots. Physiology and Development. **Plant physiology**, v. 121, n. 2, p. 317–323, 1999.

WATT, M.; MCCULLY, M. E.; CANNY, M. J. Formation and Stabilization of Rhizosheaths of *Zea mays* L. Effect of Soil Water Content. **Plant Physiology**, p. 179–186, 1994.

WU, C. L.; CHAU, K. W.; HUANG, J. S. Modelling coupled water and heat transport in a soil-mulch-plant-atmosphere continuum (SMPAC) system. **Applied Mathematical Modelling**, v. 31, n. 2, p. 152–169, 2007.

WU, X. N. et al. Sucrose-induced Receptor Kinase SIRK1 Regulates a Plasma Membrane Aquaporin in Arabidopsis. **Molecular & Cellular Proteomics**, v. 12, n. 10, p. 2856–2873, 2013.