

*MARIA ALICE VASCONCELOS DA SILVA*

**CARACTERIZAÇÃO FISIOANATÔMICA E BIOQUÍMICA DO JUAZEIRO  
(*Ziziphus joazeiro* MART.) SUBMETIDO AO DÉFICIT HÍDRICO**

**Recife, Pernambuco  
2011**

*MARIA ALICE VASCONCELOS DA SILVA*

**CARACTERIZAÇÃO FISIOANATÔMICA E BIOQUÍMICA DO  
JUAZEIRO (*ZIZIPHUS JOAZEIRO* MART.) SUBMETIDO AO DÉFICIT  
HÍDRICO**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Florestais da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como requisito para obtenção do título de Doutor em Ciências Florestais, área de Concentração em Silvicultura e linha de pesquisa Ecologia e Conservação de Ecossistemas Florestais.

Orientadora: Profa. Dra. Rejane Jurema Mansur Custódio Nogueira.

Co-orientador: Prof. Dr. Antônio Fernando Moraes de Oliveira

**Recife, Pernambuco  
2011**

Ficha catalográfica  
Setor de Processos Técnicos da Biblioteca Central – UFRPE

S586e Silva, Maria Alice Vasconcelos da  
Caracterização fisiológica e bioquímica do Juazeiro  
(*Ziziphus joazeiro* Mart.) submetido ao déficit hídrico / Maria  
Alice Vasconcelos da Silva. – 2011.  
159 f. : il.

Orientadora: Rejane Jurema Mansur Custódio Nogueira  
Tese (Doutorado em Ciências Florestais) – Universidade  
Federal Rural de Pernambuco. Departamento de Ciência  
Florestal, Recife, 2011.

Referências

1. Fotossíntese
  2. Eficiência do uso da água
  3. Relações hídricas
  4. Solutos compatíveis
  5. Estresse hídrico
  6. PEG 6000
  7. *n*-alcano
- I. Nogueira, Rejane Jurema Mansur Custódio, orientadora II. Título

CDD 634.95

*MARIA ALICE VASCONCELOS DA SILVA*

**CARACTERIZAÇÃO FISIOANATÔMICA E BIOQUÍMICA DO  
JUAZEIRO (*ZIZIPHUS JOAZEIRO* MART.) SUBMETIDO AO DÉFICIT  
HÍDRICO**

Tese apresentada à Universidade Federal Rural de Pernambuco como requisito à obtenção do título de Doutor em Ciências Florestais.

Aprovada em 25 de fevereiro de 2011

**BANCA EXAMINADORA**

Orientadora:

\_\_\_\_\_  
Profa. Dra. Rejane Jurema Mansur Custódio Nogueira (UFRPE)

Examinadores:

\_\_\_\_\_  
Prof. Dr. Manoel Bandeira de Albuquerque (UFPB)

\_\_\_\_\_  
Prof. Dr. Tercílio Calsa Júnior (UFPE)

\_\_\_\_\_  
Profa. Dra. Margareth Ferreira de Sales (UFRPE)

\_\_\_\_\_  
Profa. Dra. Suzene Izídio da Silva (UFRPE)

**Recife, Pernambuco  
2011**

*À minha bisavó Maria Alice Dantas do  
Rêgo Barros (in memorian).*

Ofereço.

*À minha madrinha e mestra,  
Rivanilde, que durante todo o  
período do Doutorado me apoiou,  
principalmente nos momentos mais  
difíceis que passei.*

Dedico.

## Agradecimentos

Ao meu Pai Eterno, Deus, meu melhor amigo, por ser o leme da minha vida, que me ilumina e me protege.

A minha Mãe, Nossa Senhora da Conceição, pela sua intercessão ao seu Filho Amado, Jesus Cristo, que me concedeu a graça da vida pela segunda vez.

Aos meus pais Walter José e Mariza Vasconcelos, que não só me acompanharam como também me ajudaram nos momentos mais difíceis durante o desenvolvimento da tese. Agradeço também aos meus irmãos Alessandro José Vasconcelos e André Luís Vasconcelos, que me acompanharam durante todo o curso.

A Professora Doutora Rejane Jurema Mansur Custódio Nogueira pela orientação.

Ao Prof. Dr. Antônio Fernando Morais de Oliveira pela co-orientação, disponibilidade e apoio na condução final do projeto.

À Universidade Federal Rural de Pernambuco, especialmente ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Florestais.

Aos Coordenadores do Curso de Pós-Graduação em Ciências Florestais (PPGCFL) e ao secretário da coordenação do referido curso de Pós-Graduação.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa durante a realização do curso.

Ao Dr. Ivan Ferraz, gerente da Estação Experimental José Nilson de Melo – IPA, antiga Estação de Caruaru, que permitiu que uma parte da tese (campo) fosse realizada na Estação, e também ao vigia do referido órgão, José Amaro, que muitas vezes, como forma de proteção, me acompanhou às 4 horas da manhã até ao local, no interior da mata para que as coletas de material vegetal fossem realizadas naquele horário.

Ao Dr. Rômulo dos Santos, gerente da Estação Experimental de São Bento do Una, do Instituto Agrônomo de Pernambuco (IPA), por ter autorizado a minha ida a referida Estação para coletar os frutos de juazeiro.

Ao pesquisador do IPA, Senhor Venézio Felipe dos Santos, pela orientação e elaboração de algumas análises estatísticas realizadas neste trabalho de tese.

A todos os colegas do Laboratório de Fisiologia Vegetal, Marcelle, Hugo Henrique, Hugo Bentzen, Fernanda, David, Cibele, Lais, Natália, Rafaela, Clarissa, Tássia e Raiana, pela convivência agradável, principalmente aos colegas Marcelle, Hugo Henrique e Cibele que utilizaram o IRGA no terceiro experimento para que eu pudesse obter os dados de trocas gasosas, bem como a Laís e a Clarissa, que no final do terceiro experimento utilizaram o fluorômetro e o SPAD para que eu pudesse também obter os dados de fluorescência e clorofila do *Ziziphus joazeiro*. Agradeço também a Hugo Bentzen por ter feito as análises de bioquímica dos experimentos tanto da casa de vegetação quanto às de campo. Agradeço ainda aos ex-estagiários Rodrigo César e Marquinhos, e as atuais estagiárias Rafaela Pereira e Laís dos Santos por terem me ajudado nas primeiras coletas de campo.

Aos motoristas da UFRPE (Ricardo, Demóstenes e Crisóstomo) pela realização das viagens ao IPA de Caruaru nos anos de 2008 e 2009.

A colega Josiene, do Laboratório de Ecofisiologia Vegetal (LEV), do Departamento de Biologia, da Universidade Federal Rural de Pernambuco, que em alguns meses de 2010, me assistiu dando carona, quando a turma do LEV ia ao IPA de Caruaru-PE.

As examinadoras da banca do seminário III (resultados parciais), Professoras Doutoras Margareth Ferreira de Sales e Suzene Izídio da Silva, ambas do Departamento de Biologia da UFRPE, pelas valiosas contribuições.

A Ana Katarina (COMUT) pelas obras primas pesquisadas e encontradas, as quais contribuíram para a minha tese.

A professora Doutora Ana Figueiredo Porto, coordenadora do Laboratório de Tecnologia de Bioativos (LABTECBIO), do Departamento de Biologia, da Universidade Federal Rural de Pernambuco, pela concessão de reagentes.

A Professora Dra. Suzene Izídio da Silva, coordenadora do Laboratório de Recursos Naturais Econômicos e Fitoquímicos, do Departamento de Biologia, da Universidade Federal Rural de Pernambuco, onde foi quantificada a substância *n*-alcano extraída da cera epicuticular de folhas de *Ziziphus joazeiro*.

Enfim, a todos os que direta e indiretamente contribuíram para a realização da minha tese, o meu muito obrigada.

## LISTA DE TABELAS

Páginas

**Experimento 1:** Estudo do déficit hídrico por supressão de água em mudas de *Ziziphus joazeiro* Mart. cultivadas em casa de vegetação

**Tabela 1** - Valores médios, máximos e mínimos da temperatura do ar (Tar), umidade relativa do ar (UR) e déficit de pressão de vapor (DPV) durante o período experimental de dezembro de 2007 a março de 2008, em casa de vegetação..... 55

**Tabela 2** – Teores de carboidratos solúveis, prolina livre, proteína livre e aminoácidos livres em folhas de plantas jovens de juazeiro (*Ziziphus joazeiro* Mart.) submetidas a diferentes regimes hídricos (controle) 80%, 40% e 20% da capacidade de pote (CP), aos 15 e 30 dias após a diferenciação dos tratamentos (DAD), em casa de vegetação ..... 58

**Tabela 3** – Teores de clorofila *a*, *b*, razão das clorofilas *a* e *b* e carotenóides em folhas de plantas jovens de *Ziziphus joazeiro* Mart. submetidas a diferentes regimes hídricos (controle) 80%, 40% e 20% da capacidade de pote (CP), aos 15 e 30 dias após a diferenciação dos tratamentos (DAD), em casa de vegetação..... 59

**Tabela 4** – Teor relativo de água (TRA) em folhas de plantas jovens de *Ziziphus joazeiro* Mart. submetidas a diferentes regimes hídricos (controle) 80%, 40% e 20% da capacidade de pote (CP), aos 15 e 30 dias após a diferenciação dos tratamentos (DAD), em casa de vegetação ..... 60

**Tabela 5** – Potencial hídrico foliar ( $\Psi_w$ ) em plantas jovens de *Ziziphus joazeiro* Mart. submetidas a diferentes regimes hídricos (controle) 80%, 40% e 20% da capacidade de pote (CP), aos 15 e 30 dias após a diferenciação dos tratamentos (DAD), em casa de vegetação ..... 61

**Tabela 6** – Área foliar total (AFT), área foliar específica (AFE) e razão de área foliar (RAF) em plantas jovens de *Ziziphus joazeiro* Mart. submetidas a diferentes regimes hídricos (controle) 80%, 40% e 20% da capacidade de pote (CP), aos 15 e 30 dias após a diferenciação dos tratamentos (DAD), em casa de vegetação ..... 62

**Experimento 2:** Déficit hídrico induzido pelo polietilenoglicol 6000 em mudas de *Ziziphus joazeiro* Mart. cultivadas em casa de vegetação

**Tabela 1** - Valores médios da temperatura do ar (Tar), umidade relativa do ar (UR), radiação fotossinteticamente ativa (PAR) e déficit hídrico de vapor (DPV) durante o período experimental em casa de vegetação. Médias e desvios padrão ..... 99

**Tabela 2** - Potencial hídrico foliar ( $\Psi_w$ ) em plantas jovens de juazeiro (*Ziziphus joazeiro* Mart.) sob deficiência hídrica induzida pelo PEG 6000..... 104

**Tabela 3** - Teor relativo de água (TRA) em folhas de plantas jovens de juazeiro (*Ziziphus joazeiro* Mart.) sob deficiência hídrica induzida pelo PEG 6000 ..... 104

<b>Tabela 4</b> - Concentração de carboidratos solúveis, prolina livre, proteína solúvel e aminoácidos livres em folhas e raízes de plantas jovens de juazeiro ( <i>Ziziphus joazeiro</i> Mart.) sob deficiência hídrica induzida pelo PEG 6000.....	106
<b>Experimento 3:</b> Respostas fisiológicas em mudas de <i>Ziziphus joazeiro</i> Mart. sob condições de seca em casa de vegetação	
<b>Tabela 1</b> - Concentração de carboidratos solúveis, prolina livre, proteína solúvel e aminoácidos livres em folhas e raízes de plantas jovens de juazeiro ( <i>Ziziphus joazeiro</i> Mart.) submetidas ao déficit hídrico em casa de vegetação .....	128
<b>Experimento 4:</b> Influência da sazonalidade nas relações hídricas, bioquímicas, composição de <i>n</i> -alcanos da cutícula e densidade estomática de folhas de <i>Ziziphus joazeiro</i> Mart. na região semiárida de Pernambuco	
<b>Tabela 1</b> - Concentração de carboidratos solúveis, prolina livre, proteína solúvel e aminoácidos livres em folhas de plantas adultas de juazeiro ( <i>Ziziphus joazeiro</i> Mart) expostas ao sol em ambiente natural da Estação Experimental José Nilson de Melo, do Instituto Agrônomo de Pernambuco (IPA), Caruaru - PE. Coletas realizadas às 12 horas, nos períodos secos e chuvosos dos anos 2008, 2009 e 2010.....	154
<b>Tabela 2</b> - Composição química de <i>n</i> -alcanos e teor de ceras de folhas de plantas adultas de <i>Ziziphus joazeiro</i> Mart. expostas ao sol em ambiente natural da Estação Experimental José Nilson de Melo, do Instituto Agrônomo de Pernambuco (IPA), Caruaru - PE. Coletas realizadas às 12 horas, nos períodos secos e chuvosos dos anos 2008, 2009 e 2010 .....	155
<b>Tabela 3</b> - Densidade estomática (mm <sup>2</sup> ) de folhas de plantas adultas de <i>Ziziphus joazeiro</i> Mart. expostas ao sol em ambiente natural da Estação Experimental José Nilson de Melo, do Instituto Agrônomo de Pernambuco (IPA), Caruaru - PE. Coletas realizadas às 12 horas, nos períodos secos e chuvosos dos anos 2008, 2009 e 2010.....	156

## LISTA DE FIGURAS

Páginas

- Experimento 1:** Estudo do déficit hídrico por supressão de água em mudas de *Ziziphus joazeiro* Mart. cultivadas em casa de vegetação
- Figura 1** – Matéria seca das folhas (MSF), dos caules (MSC), das raízes (MSR) e matéria seca total (MST) em plantas jovens de juazeiro (*Ziziphus joazeiro* Mart.) submetidas a diferentes regimes hídricos (controle) 80%, 40% e 20% da capacidade de pote (CP), aos 15 e 30 dias após a diferenciação dos tratamentos (DAD). Médias seguidas por letras iguais maiúsculas para as épocas de avaliação e minúsculas para tratamentos, não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey ( $P \leq 0,05$ )..... 64
- Figura 2** – Razão raiz parte aérea (R/Pa) em plantas jovens de juazeiro (*Ziziphus joazeiro* Mart.) submetidas a diferentes regimes hídricos (controle) 80%, 40% e 20% da capacidade de pote (CP), aos 15 e 30 dias após a diferenciação dos tratamentos (DAD). Médias seguidas por letras iguais maiúsculas para épocas de avaliação e minúsculas para tratamentos, não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey ( $P \leq 0,05$ )..... 65
- Figura 3** – Alocação de biomassa para folhas (ABF), para caules (ABC) e para as raízes (ABR) em plantas jovens de juazeiro (*Ziziphus joazeiro* Mart.) submetidas a diferentes regimes hídricos (controle) 80%, 40% e 20% da capacidade de pote (CP), aos 15 e 30 dias após a diferenciação dos tratamentos (DAD). Médias seguidas por letras iguais maiúsculas para as épocas de avaliação e minúsculas para os tratamentos, não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey ( $P \leq 0,05$ )..... 66
- Experimento 2:** Déficit hídrico induzido pelo polietilenoglicol 6000 em mudas de *Ziziphus joazeiro* Mart. cultivadas em casa de vegetação
- Figura 1** - Transpiração (E), resistência difusiva ( $R_s$ ) e temperatura foliar ( $T_f$ ) em plantas jovens de juazeiro (*Ziziphus joazeiro* Mart.) sob deficiência hídrica induzida pelo PEG 6000. Médias seguidas por letras iguais maiúsculas para os dias de avaliação e minúsculas para os tratamentos, não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey ( $P \leq 0,05$ ) .....103
- Figura 2** - Teores de clorofila *a*, *b* e razão das clorofilas *a* e *b* em folhas de plantas jovens de juazeiro (*Ziziphus joazeiro* Mart.) sob deficiência hídrica induzida pelo PEG 6000. Médias seguidas por letras iguais, não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey ( $P \leq 0,05$ ) .....107
- Figura 3** - Teores de carotenóides em folhas de plantas jovens de juazeiro (*Ziziphus joazeiro* Mart.) sob deficiência hídrica induzida pelo PEG 6000. Médias seguidas por letras iguais, não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey ( $P \leq 0,05$ ) .....108

**Experimento 3:** Respostas fisiológicas em mudas de *Ziziphus joazeiro* Mart. sob condições de seca em casa de vegetação

**Figura 1** - Curva de saturação luminosa de diferentes intensidades de fluxo de fótons fotossinteticamente ativos (FFFA) em folhas de plantas jovens de *Ziziphus joazeiro* Mart. em condições hídricas normais. Médias seguidas por letras iguais, não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey ( $P \leq 0,05$ ).....124

**Figura 2** - Percentual de umidade do solo contido no vaso em que as plantas jovens de juazeiro (*Ziziphus joazeiro* Mart.) foram submetidas ao déficit hídrico. Médias e desvios padrão.....125

**Figura 3** - Fotossíntese líquida (A), concentração interna de  $CO_2$  (Ci), condutância estomática (gs), transpiração (E), eficiência intrínseca do uso da água (A/gs), eficiência instantânea da transpiração (EIT), eficiência instantânea de carboxilação (A/Ci) e temperatura foliar (Tf) de plantas jovens de juazeiro (*Ziziphus joazeiro* Mart.) submetidas ao déficit hídrico. Valores médios de seis determinações e as barras o desvio-padrão. As setas indicam o dia que houve a reirrigação de cinco plantas selecionadas do tratamento sem rega .....127

**Figura 4** – Teores de clorofila *a*, *b* e razão das clorofilas *a* e *b* em folhas de plantas jovens de juazeiro (*Ziziphus joazeiro* Mart.) submetidas ao déficit hídrico. Médias seguidas por letras iguais, não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey ( $P \leq 0,05$ ).....129

**Figura 5** – Concentração de clorofila total determinada pelo medidor de clorofila (SPAD) em folhas de plantas jovens de juazeiro (*Ziziphus joazeiro* Mart.) submetidas ao déficit hídrico. Médias seguidas por letras iguais, não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey ( $P \leq 0,05$ ) .....130

**Figura 6** – Teores de carotenóides em folhas de plantas jovens de juazeiro (*Ziziphus joazeiro* Mart.) sob déficit hídrico. Médias seguidas por letras iguais, não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey ( $P \leq 0,05$ ) .....131

**Figura 7** – Teor relativo de água (TRA) em folhas de plantas jovens de juazeiro (*Ziziphus joazeiro* Mart.) submetidas ao déficit hídrico. Médias seguidas por letras iguais minúsculas para tratamentos e maiúsculas para os horários não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey ( $P \leq 0,05$ ) .....132

**Figura 8** – Potencial hídrico foliar ( $\Psi_w$ ) de plantas jovens de juazeiro (*Ziziphus joazeiro* Mart.) submetidas ao déficit hídrico. Médias seguidas por letras iguais minúsculas para tratamentos e maiúsculas para os horários não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey ( $P \leq 0,05$ ) .....133

**Experimento 4:** Influência da sazonalidade nas relações hídricas, bioquímicas, composição de *n*-alcanos da cutícula e densidade estomática de folhas de *Ziziphus joazeiro* Mart. na região semiárida de Pernambuco

**Figura 1** - Localização da área de estudo – Estação Experimental de José Nilson de Melo (IPA), Caruaru-PE. Fonte: Monteiro et al. (2006) .....145

**Figura 2** - Precipitação de três anos consecutivos (2008, 2009 e 2010), no campo da

Estação Experimental José Nilson de Melo, do Instituto Agrônomo de Pernambuco (IPA), Caruaru-PE .....146

**Figura 3** – Potencial hídrico foliar ( $\Psi_w$ ) de plantas adultas de juazeiro (*Ziziphus joazeiro* Mart.) em ambiente natural da Estação Experimental José Nilson de Melo, do Instituto Agrônomo de Pernambuco (IPA), Caruaru - PE. Avaliações realizadas nos períodos secos e chuvosos dos anos 2008, 2009 e 2010. Médias seguidas por letras iguais maiúsculas para períodos sazonais e minúsculas para os anos de avaliação, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ( $P \leq 0,05$ ).....150

**Figura 4** – Teor relativo de água (TRA) de folhas de plantas adultas de juazeiro (*Ziziphus joazeiro* Mart.) em ambiente natural da Estação Experimental José Nilson de Melo, do Instituto Agrônomo de Pernambuco (IPA), Caruaru - PE. Coletas realizadas às 12 horas, nos períodos secos e chuvosos dos anos de 2008, 2009 e 2010. Médias seguidas por letras iguais maiúsculas para períodos sazonais e minúsculas para os anos de avaliação, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ( $P \leq 0,05$ ) .....151

**Figura 5** – Variação sazonal quanto ao aspecto visual das copas das árvores de *Ziziphus joazeiro* Mart. no campo da Estação Experimental José Nilson de Melo (IPA), Caruaru-PE. Fotos tiradas nos períodos sazonais: seco (A1) e chuvoso (B1) do ano de 2008; período seco de 2009, e períodos seco (A2) e chuvoso (B2) do ano de 2010. Fotos tiradas pela autora.....157

**LISTA DE ABREVIATURAS**

A	Taxa fotossintética
AA	Aminoácidos
ABC	Alocação de biomassa para os caules
ABF	Alocação de biomassa para as folhas
ABR	Alocação de biomassa para as raízes
Carb	Carboidratos
CP	Capacidade de Pote
DPV	Déficit de Pressão de Vapor (kPa)
E	Transpiração
EIT	Eficiência instantânea da transpiração
EIUA	Eficiência intrínseca do uso da água
EIC	Eficiência instantânea de carboxilação
gs	Condutância estomática
MSC	Matéria seca dos caules
MSF	Matéria seca das folhas
MSR	Matéria seca das raízes
MST	Matéria seca total
PAR	Radiação fotossinteticamente ativa
Pro	Prolina
Prot	Proteínas
R/Pa	Razão raiz/parte aérea
Rs	Resistência difusiva
Tar	Temperatura do ar
Tfol	Temperatura foliar
UR	Umidade relativa
$\Psi_w$	Potencial hídrico foliar

## SUMÁRIO

Lista de tabelas .....	viii
Lista de figuras .....	x
Lista de abreviaturas .....	xiii
Resumo geral .....	17
General abstract .....	19
1. Introdução geral .....	21
2. Revisão geral da literatura .....	25
2.1. Considerações gerais sobre a espécie .....	25
2.1.1. Importâncias ecológica e econômica .....	25
2.2. Efeitos do déficit hídrico sobre a produção de biomassa .....	26
2.3. Efeitos do déficit hídrico sobre o comportamento estomático, o potencial hídrico foliar e ajustamento osmótico de plantas da caatinga .....	28
2.4. Efeitos da sazonalidade nas relações hídricas, densidade estomática e composição química da cera epicuticular em folhas de indivíduos adultos de <i>Ziziphus joazeiro</i> Mart. ....	33
3. Referências bibliográficas .....	37
4. Apresentação .....	48
4.1 Experimento 1: Estudo do déficit hídrico por supressão de água em mudas de <i>Ziziphus joazeiro</i> Mart. cultivadas em casa de vegetação .....	49
Resumo .....	50
Abstract .....	51

4.1.1 Introdução .....	52
4.1.2 Material e métodos .....	53
4.1.3 Resultados e discussão .....	56
4.1.4 Conclusão .....	67
4.1.5 Referências bibliográficas .....	68
4.2. Experimento 2: Déficit hídrico induzido pelo polietilenoglicol 6000 em mudas de <i>Ziziphus joazeiro</i> Mart. cultivadas em casa de vegetação .....	70
Resumo .....	93
Abstract .....	94
4.2.1 Introdução .....	95
4.2.2 Material e métodos .....	96
4.2.3 Resultados e discussão .....	101
4.2.4 Conclusão .....	108
4.2.5 Referências bibliográficas .....	109
4.3 Experimento 3: Respostas fisiológicas em mudas de <i>Ziziphus joazeiro</i> Mart. sob condições de seca em casa de vegetação.....	113
Resumo .....	114
Abstract .....	116
4.3.1 Introdução .....	118
4.3.2 Material e métodos .....	120
4.3.3 Resultados e discussão .....	125
4.3.4 Conclusão .....	134
4.3.5 Referências bibliográficas .....	134
5. Experimento 4: Influência da sazonalidade nas relações hídricas, bioquímicas, composição de <i>n</i> -alcanos da cutícula e densidade estomática de folhas de <i>Ziziphus joazeiro</i> Mart. na região semiárida de Pernambuco.....	139
Resumo .....	140
Abstract .....	141
5.1 Introdução .....	142
5.1.1 Material e métodos .....	143
5.1.2 Descrição da área de estudo .....	143
5.1.3. Demarcação da área de estudo, mensurações e períodos de coleta .....	143
5.2 Resultados e discussão .....	148
5.3 Conclusão .....	158

5.4 Referências bibliográficas .....	158
6. Conclusão geral .....	161
7. Considerações finais .....	162
8. Referências bibliográficas .....	164

## RESUMO GERAL

Dentre as espécies nativas da Caatinga que possuem valor econômico e ecológico, o *Ziziphus joazeiro* Mart. se destaca por servir de alimento para caprinos na seca e sombreamento para o rebanho bovino, além de ser fonte medicinal para a população circunvizinha. No entanto, recentemente, o *Z. joazeiro* foi incluído na lista de espécies de alta prioridade para a conservação e manejo da Caatinga pelo IBAMA, pois são encontrados poucos indivíduos nas áreas semiáridas devido ao desmatamento provocado pelo homem para uso madeireiro, pela predação por caprinos e também pela extração mal executada da sua casca para fins terapêuticos, que muitas vezes chega a comprometer a sobrevivência da planta. Além disso, é uma espécie pouco estudada quanto ao seu comportamento fisiológico frente ao déficit hídrico, uma vez que habita o bioma Caatinga, o qual é caracterizado climaticamente pela irregularidade de chuvas e elevada irradiância durante todo o ano. Diante disso, o presente trabalho teve como objetivo estudar a influência do déficit hídrico sobre as trocas gasosas, relações hídricas, acúmulo de solutos orgânicos, densidade estomática e a composição química de *n*-alcanos de plantas de *Z. joazeiro* em casa de vegetação e em campo. A pesquisa foi desenvolvida no período de novembro de 2007 a dezembro de 2010, envolvendo três experimentos realizados em casa de vegetação e um em campo. As observações em campo foram realizadas no período de 2008 a 2010, na Estação Experimental José Nilson de Melo, pertencente ao Instituto de Pesquisa Agropecuária - IPA, localizada no Município de Caruaru - PE. Foram determinados o potencial hídrico foliar e o teor relativo de água, acúmulo de solutos orgânicos, a densidade estomática e a composição de ceras epicuticulares das folhas de indivíduos adultos, nas estações secas e chuvosas de três anos consecutivos. Os experimentos de condições controladas foram realizados em casa de vegetação, no Laboratório de Fisiologia Vegetal, da Universidade Federal Rural de Pernambuco, utilizando plantas jovens originadas por meio de propagação sexuada, as quais foram submetidas ao déficit hídrico em solo por supressão hídrica ou indução do PEG 6000 em meio hidropônico. Nesses experimentos foram avaliados as relações hídricas, o crescimento, as trocas gasosas e os solutos orgânicos. Os resultados dos experimentos de casa de vegetação demonstraram que a área foliar total, área foliar específica e a razão da área foliar foram afetadas pela duração do estresse aplicado aos 30 dias após a diferenciação dos tratamentos (DAD), como também o teor relativo de água que permaneceu inferior a 90% de turgescência aos 30 DAD. Para alocação de biomassa e razão raiz parte aérea, a duração do déficit hídrico não influenciou na translocação de fotoassimilados, uma vez que os tratamentos hídricos não apresentaram diferenças significativas, todavia, para a matéria seca houve aumento significativo aos 30 DAD. Sob condições controladas, o cultivo em solução nutritiva contendo o PEG 6000 como indutor de déficit hídrico provocou o fechamento dos estômatos das plantas sob -0,4 MPa e -0,6 MPa de PEG, após 24 horas dos tratamentos terem sido aplicados. O potencial também foi afetado para os mesmos tratamentos às 12h (meio dia), apresentando redução de 32%. A área foliar não foi afetada, como também os aparatos fotossintéticos, as clorofilas *a* e *b*, razão *cloa/clob* e carotenóides. Os resultados do terceiro experimento de casa de vegetação (cultivo em solo), o déficit hídrico provocou diminuição do potencial hídrico nos tratamentos mais severos, o qual se manteve sempre negativo abaixo de -2 MPa às 12h (meio dia), já as 4h (ante manhã) apresentou certa recuperação o  $\Psi_w$ , mas não o bastante para se aproximar a potenciais mais positivos do que -1MPa. Nas plantas sem rega, o déficit hídrico provocou reduções significativas de 42% na transpiração, de 71% na condutância estomática e de 38% na fotossíntese líquida, a partir do 14º dia de estresse. Já a concentração interna de CO<sub>2</sub>

apresentou um déficit de 8% logo no 12º dia de estresse e a eficiência instantânea de carboxilação de 47% no 18º dia de tratamento. De forma oposta aos outros parâmetros, a eficiência instantânea do uso da água permaneceu sempre elevada durante todo o período de estresse, se superando em 33% no 26º dia de deficiência hídrica, porém para a eficiência instantânea da transpiração o déficit hídrico não provocou alterações significativas. O estresse também induziu maior acúmulo de solutos compatíveis (carboidratos, proteínas e aminoácidos) tanto nas folhas quanto nas raízes das plantas de juazeiro submetidas ao tratamento sem rega. A concentração de pigmentos fotossintéticos sofreu alteração com o estresse hídrico aplicado. Os resultados em campo demonstraram que tanto na estação seca como na chuvosa o potencial hídrico ( $\Psi_w$ ) manteve-se sempre abaixo de -2MPa, sendo o período seco do ano de 2010 o que apresentou valores mais negativos de  $\Psi_w$  (- 4,56MPa). O teor relativo de água também reduziu no período seco, com valores mais baixos no ano de 2008, com cerca de 70%. O período seco provocou redução nos teores de proteínas (2008 e 2010) e carboidratos nas folhas (2009) e aumento nos teores de aminoácidos (2008 e 2009) e carboidratos nas folhas em 2010. A prolina não diferiu nos dois primeiros anos, e diminuiu na época seca em 2010. Na seca, a quantidade de *n*-alcanos foi menor para todos os anos em relação ao período chuvoso. A densidade estomática também apresentou comportamento semelhante ao da cera com uma redução de 25% no período seco. Os resultados permitem inferir que *Z. joazeiro* tanto na sua fase inicial de desenvolvimento quanto na fase adulta utiliza mecanismos de tolerância a seca por alto potencial hídrico e também por baixo potencial hídrico, apresentando na maioria das vezes de forma anisotrópica, uma vez que mantém o potencial hídrico sempre muito negativo ao longo do período de estresse, como também usa mecanismos adaptativos de prevenção para assim, garantir a sua sobrevivência e crescimento durante a seca.

**Palavras-chave:** juazeiro, trocas gasosas, potencial hídrico, densidade estomática, composição química de *n*-alcano e solutos orgânicos

## GENERAL ABSTRACT

Among the native species from the Caatinga, which has economic and ecological value, the *Ziziphus joazeiro* Mart. stands for serve feed for goats in the drought and shade for cattle, besides being a source for medicinal surrounding population. However, recently, *Z. joazeiro* was included in the list of high priority species for conservation and management of the Caatinga IBAMA, because few individuals are found in semi-arid areas due to deforestation caused by man for timber use, by predation by goats and also by extraction of its poorly performed bark for therapeutic purposes, which often leads to compromise the survival of the plant. Furthermore, it is a little studied species regarding their physiological behavior against the drought, once inhabiting the Caatinga biome, which is climatically characterized by irregular rainfall and high irradiance throughout the year. Thus, the present work aimed to study the influence of water deficit on gas exchange, water relations and accumulation of organic solutes, stomatal density and chemical composition of *n*-alkanes from plant *Z. joazeiro* Mart. in greenhouse and field conditions. The research was carried out from November 2007 to December 2010, involving three experiments conducted in a greenhouse and in field. The experiments were conducted under controlled conditions in a greenhouse at the Plant Physiology Laboratory, Federal Rural University of Pernambuco, using young plants originated through sexual propagation, which were subjected to water deficit in the soil for water suppression or induction of PEG 6000 in hydroponic culture. In those experiments were evaluated water relations, growth, gas exchange and organic solutes. Field observations were conducted during 2008 to 2010 at the Experiment Station Nilson José de Melo, belonging to the Agricultural Research Institute - IPA located in the municipality of Caruaru - PE. Were determined on leaf water potential, relative water content and accumulation of organic solutes, stomatal density and chemical composition of *n*-alkanes from the leaves of adults in the dry and rainy seasons of three consecutive years. The experiments were conducted under controlled conditions in a greenhouse at the Plant Physiology Laboratory, Federal Rural University of Pernambuco, using young plants originated through sexual propagation, which were subjected to water deficit in the soil for water suppression or induction of PEG 6000 in hydroponic culture. In those experiments were evaluated water relations, growth, gas exchange and organic solutes. The experimental results show mutual greenhouse that the total leaf area, specific leaf area and leaf area ratio were affected by the duration of the applied stress at 30 days after the differentiation treatment (DAD), as well as the relative water content that remained below 90% of the turgor 30DAD. Biomass allocation and root shoot ratio, the duration of the drought did not affect the translocation of assimilates, since the water treatments were not significantly different, however, the dry matter increased significantly at 30 DAD. Under controlled conditions, growing in nutrient solution containing PEG 6000 as inducing water deficit caused the closing of the stomata of the plants at -0.4 MPa and -0.6 MPa PEG, after 24 hours of treatments have been applied. The water potential was also affected to the same treatments at 12 pm (noon), a reduction of 32%. Leaf area was not affected, as well as the photosynthetic apparatus, chlorophylls *a* and *b*, *chl**a*/*chl**b* ratio and carotenoids. The results of the third greenhouse experiment (cultivation in soil), water deficit caused decrease of water potential in the most severe treatments, which remained always negative below -2 MPa at 12 pm (noon), since the 4h ( before morning) showed some recovery the  $\Psi_w$ , but not enough to bring the potentials more positive than -1 MPa. In plants

without irrigation, water deficit caused significant reductions of 42% perspiration, 71% in stomatal conductance and net photosynthesis in 38%, from the 14th day of stress. Since the internal CO<sub>2</sub> concentration showed a deficit of 8% as early as the 12th day of stress and the instantaneous carboxylation efficiency of 47% on day 18 of treatment. As opposed to other parameters, the instantaneous efficiency of water use has always remained high throughout the period of stress, is surpassing 33% in 26 days of drought, but for the instantaneous efficiency of transpiration water deficit did not cause changes significant. Stress also induced greater accumulation of compatible solutes (carbohydrates, proteins and amino acids) in both roots and leaves of juazeiro plants subjected to treatment without irrigation. The concentration of photosynthetic pigments was altered with the water stress applied. The field results showed that both in the dry season and rainy season water potential ( $\Psi_w$ ) was always below -2MPa, being the dry season of 2010 which showed more negative values of  $\Psi_w$  (- 4,56 MPa). The relative water content also decreased during the dry season, with lower values in 2008, with about 70%. The dry period caused a reduction in protein (2008 and 2010) and carbohydrates in leaves (2009) and increased levels of amino acids (2008 and 2009) and carbohydrates in the leaves in 2010. Proline did not differ in the first two years, and decreased in the dry season in 2010. In drought, the amount of n-alkanes was lower for all years in relation to the rainy season. Stomatal density also showed similar wax with a 25% reduction in dry season. The results indicate that it *Z. joazeiro* both in their early development and in adulthood using mechanisms of drought tolerance by high water potential and also by low water potential, with most of the time so anisóidrica, since it keeps the water potential always negative along of the stress, but also uses adaptive mechanisms for prevening thus ensure their survival and growth during drought.

**Keywords:** Juazeiro, gas exchange, water potential, stomatal density, chemical composition of *n*- alkane and organic solutes.

## 1. INTRODUÇÃO GERAL

---

A vegetação existente em terras áridas e semi-áridas do mundo vem despertando, há décadas, o interesse dos pesquisadores com relação às interações ecológicas e as diferentes variações morfológicas e fisiológicas dos vegetais que ali habitam (SILVA, 2002). Com a consequência da exploração predatória (desmatamento e queimadas das florestas semi-áridas) provocada pela ação do homem, tende a intensificar ainda mais o aumento do aquecimento global (FEARNSIDE, 2006; GERGINO, 2007; KOOHAFKAN; STEWART, 2008), levando ao comprometimento da sobrevivência das espécies nativas adaptadas morfofisiologicamente à aridez dessas regiões.

Dentre essas vegetações de ambientes semiáridos que, vem sendo exploradas pela ação humana e que também são ameaçadas pelo aquecimento global, encontra-se a Caatinga, bioma exclusivamente brasileiro localizado na maior parte da Região Nordeste do Brasil (KIILL; CORREIA, 2005; CARDOSO; QUEIROZ, 2007). É composto de uma floresta tipicamente xerófila e espinhenta, do tipo estacional, pois no período seco suas espécies arbóreas perdem as folhas e as plantas herbáceas morrem (ALBUQUERQUE; ANDRADE, 2002).

O juazeiro (*Ziziphus joazeiro* Mart.) é uma das espécies nativas que habitam a Caatinga, o qual apresenta propriedades medicinais e por isso é muito utilizado pela população local na forma de infusão, no combate a micoses e na forma de expectorante combatendo bronquites. Além disso, é usado pelas indústrias farmacêuticas e de cosméticos, para a produção de creme dental, xampus, sabonetes e tônico capilar para combater seborréia e caspa, devido a saponina que pode ser extraída dos seus órgãos (ANDRADE LIMA, 1989, AGRA et al., 2007; LIMA ; GIULIETTI, 2010).

Diferente de outras plantas xerófitas, o juazeiro permanece com as suas folhas durante todo período seco, as quais servem de forragem para rebanhos de caprinos, ovinos e bovinos, que muitas vezes passam a comer todas as suas plântulas antes das mesmas estarem totalmente estabelecidas, o que compromete a regeneração dessa espécie em ambiente natural (CARVALHO, 2007). Outro agravante é quanto a sua ocorrência que embora abranja toda a vegetação da caatinga, não há uma mata de *Z. joazeiro*. Os indivíduos são sempre encontrados isoladamente, em capoeiras (CARVALHO, 2007) e próximos a lagos e rios, fazendo parte da

constituição da mata ciliar (LACERDA et al., 2007), o que pode prejudicar a variabilidade dessa espécie.

O uso indiscriminado de espécies nativas leva a perda da variabilidade genética, e muitas espécies desaparecem antes mesmo de serem conhecidas (SAMPAIO et al., 1998), e o *Z. joazeiro* não foge a essa possibilidade, pois em 2002, na primeira Reunião Técnica de Recursos Genéticos de Plantas Medicinais e Aromáticas, promovida pela EMBRAPA (Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária) e pelo IBAMA (Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis) foi divulgada uma lista de espécies da Caatinga que tem prioridade quanto à conservação e manejo sustentável para o bem desse bioma, onde o juazeiro encontra-se entre as espécies preferenciais (VIEIRA et al., 2002).

Diante disso deve-se dar uma maior importância para o *Z. joazeiro*, principalmente no que se refere a sua fisiologia, uma vez que trabalhos sobre relações hídricas e comportamento estomático desta espécie em fase adulta e de muda são raros. Todavia, a maioria dos resultados de pesquisas dessa natureza para a espécie são publicados em congressos científicos (SILVA et al., 2008a, 2009 e 2010). Porém, em nível de gênero isso muda, com registros de trabalhos científicos publicados a respeito do comportamento estomático e relações hídricas em mudas de *Ziziphus rotundifolia* Lamk submetidas a déficit hídrico (ARNDT et al., 2001); Ma et al. (2007) também estudaram o comportamento fisiológico de indivíduos adultos no campo de *Ziziphus jujuba* Mill (jujuba); Cui et al. (2008) observaram a eficiência do uso da água, bem como os estádios fenológicos de árvores submetidas a déficit hídrico e Kulkarni et al. (2010) que além de avaliarem as trocas gasosas, estudaram também a fotoquímica e determinaram a anatomia foliar de seis cultivares de *Z. mauritiana* (Lamk.), quando submetidas a déficit hídrico.

O juazeiro é uma espécie que sobrevive em condições adversas na Caatinga, a qual é um bioma caracterizado climatologicamente pela irregularidade das chuvas e elevada radiação durante todo o ano, tendo como fator principal a escassez de água (FERNANDES, 2002; SILVA et al., 2003).

Nessas áreas, a água é o fator abiótico de maior importância, pois é essencial a todas as reações metabólicas e ao alongamento celular dos seres vivos, onde a sua escassez causa a seca que, por conseguinte, prejudica o desenvolvimento e a produção dos vegetais (PIMENTEL et al., 2002).

O déficit hídrico, dependendo da intensidade, pode causar injúrias nas plantas diminuindo a turgescência celular, comprometendo assim o alongamento em extensão, causando redução ou interrupção do crescimento da planta como um todo. Em decorrência disso e como defesa, a área foliar é reduzida, diminuindo a perda de água pela transpiração (CAIRO, 1995).

Outra resposta da planta ao déficit hídrico é a redução da transpiração através do fechamento estomático, que pode ser considerado para algumas espécies como primeira linha de defesa contra a dessecação. No entanto, essa resposta tem como consequência o prejuízo na fotossíntese, pela diminuição da entrada de CO<sub>2</sub> nas folhas, (NOGUEIRA et al., 1998b, NOGUEIRA ; SILVA, 2002), comprometendo a produção de matéria seca e o crescimento da planta (LARCHER, 2004).

O potencial hídrico foliar é um parâmetro que descreve o estado energético da água no interior da planta, cujo gradiente vai depender do fluxo no sistema solo-planta-atmosfera, o qual varia ao longo do dia (BERGONCI et al., 2000). Quando a planta está submetida ao déficit hídrico, o potencial da água da folha diminui, acarretando a desidratação dos tecidos e consequentemente o fechamento dos estômatos, o que reduz a perda de água por transpiração (PIMENTEL, 2004; NOGUEIRA et al., 2005). A redução do potencial hídrico foliar também pode ocorrer devido ao acúmulo de solutos compatíveis que contribuem para o ajustamento osmótico da planta, uma vez que toleram a desidratação severa e mantêm ativos os processos metabólicos (LARCHER, 2004).

O ajustamento osmótico é um mecanismo fisiológico de grande importância para a manutenção da turgescência celular (LIMA FILHO et al., 1992), pois dá continuidade aos processos de crescimento, expansão, divisão celular e a fotossíntese (SANTOS; CARLESSO, 1998). Para a planta dispor desses benefícios em situação de seca, suas células terão que passar por mudanças fisiológicas e metabólicas para se ajustarem osmoticamente, acumulando ou degradando solutos compatíveis, como carboidratos, prolina, aminoácidos e proteínas para diminuir o potencial hídrico e, por conseguinte, manter a turgescência celular (NEPOMUCENO et al., 2001). Segundo Pimentel (2005), em situação de déficit hídrico severo, as plantas tendem a reduzir a fotossíntese, diminuindo assim o conteúdo de amido da célula e aumentando os açúcares solúveis que participam da ativação das respostas das plantas frente à indisponibilidade hídrica.

Além disso, a seca também provoca modificações estruturais, anatômicas e morfológicas para limitar a perda de água pela transpiração (KUDREV, 1994). Essas modificações anatômicas, como a alteração da densidade estomática e o aumento da espessura de ceras epicuticulares podem estar associados à desidratação pelo déficit hídrico (SAM et al., 2000; BURROWS, 2001; GRISAFI et al., 2004; LIU et al., 2007). A camada de cera epicuticular que recobre a cutícula pode estar relacionada com a diminuição da perda de água em demasia pela transpiração, ajudando assim as folhas a reterem mais água (SAMDUR et al., 2003; OLIVEIRA, 2005).

Dessa forma, os estudos fisiológicos de espécies nativas podem fornecer uma melhor compreensão dos mecanismos de defesa aplicados por essas plantas que sobrevivem a ambientes áridos, e alguns parâmetros bioquímicos, aspectos morfoanatômicos e fitoquímicos podem contribuir como ferramenta para o entendimento fisiológico dessas espécies, principalmente, nas relações hídricas e trocas gasosas.

Como importante componente da flora da Caatinga, há necessidade de intensificação sobre o conhecimento do juazeiro quanto aos seus aspectos fisiológicos e morfológicos, pois esses estudos podem possibilitar futuramente o planejamento de estratégias de restauração, conservação e manejo sustentável dessa espécie no ambiente natural, com a prática de reflorestamento, principalmente nas áreas degradadas.

Diante do exposto, o presente trabalho objetivou estudar o efeito do déficit hídrico sobre as trocas gasosas, crescimento, relações hídricas, acúmulo de solutos orgânicos nas folhas, densidade estomática e composição química das ceras epicuticulares em folhas de juazeiro (*Ziziphus joazeiro* Mart.), em condições de campo e casa de vegetação, identificando parâmetros que possam servir de indicadores de tolerância ao déficit hídrico, além de prover informações sobre o comportamento fisiológico dessa espécie para utilização em programas de reflorestamento de áreas degradadas da Caatinga.

## 2. REVISÃO GERAL DE LITERATURA

---

### 2.1 Considerações gerais sobre a espécie

A família Rhamnaceae, na vegetação da Caatinga, apresenta cinco espécies endêmicas: *Alvimiantha tricamerata* C. Grey-Wilson, *Crumenaria decumbens* Mart., *Rhamnidium* Molle Reiss., *Ziziphus cotinifolia* Reiss e *Ziziphus joazeiro* Mart (GIULIETTI et al., 2002). Dentre essas espécies, destaca-se o juazeiro (*Z. joazeiro*), espécie nativa desse bioma chamada popularmente de juá, juá-babão, juazeiro, juá-de-boi, juá-mirim, juá-bravo e joazeiro (KATO et al., 1998; CARVALHO, 2007), com a ocorrência desde o Piauí até o norte de Minas Gerais, sendo frequentemente encontrada em vales e margens de rios (LORENZI, 2008; LIMA et al., 2006).

#### 2.1.1 Importâncias ecológica e econômica

O juazeiro serve de alimento para o rebanho caprino, bovino e ovino, dos quais a população rural, principalmente as famílias de baixa renda retiram deles a proteína animal de forma barata para sobreviver (RIZZINI, 1997; KIILL; CORREIA, 2005). A vantagem nutricional que o *Z. joazeiro* Mart. oferece ao animal como forragem, é por conter um teor de proteína bruta considerável de 15,2%, constituindo uma fonte alternativa de alimento para caprinos e ovinos durante o período seco (BARROS et al., 1991).

A sua madeira de *Z. joazeiro* é muito utilizada para as construções rurais, mourões, sendo empregada na marcenaria, na produção de lenha e carvão. Isso se deve por ela apresentar tronco liso, madeira moderadamente pesada e resistente (LORENZI, 2008). Além disso, ela também é usada como elemento paisagístico, ornamentando praças e jardins das cidades (MATOS, 2009).

Outra atividade econômica que o *Z. joazeiro* pode favorecer ao homem rural é a prática da apicultura. A planta apresenta floração duas vezes ao ano (na metade do período seco e no início do período chuvoso). As suas flores atraem abelhas (*Apis mellifera*), que produzem o mel caracterizado pela cor variando entre âmbar a amarelo escuro, com aroma semelhante a caramelo queimado e de sabor marcante de caramelo (FERREIRA et al., 2008). As comunidades rurais vêm sendo treinadas para realizar a produção de geléias e doces a fim de

incrementar a renda familiar (LIMA; GIULIETTI, 2010). As cascas do juazeiro devido as propriedades medicinais que possuem, e por ser rica em saponina é muito utilizada nas indústrias cosméticas e farmacêuticas para produção de sabão, tônico capilar, anticaspa, anticárie e dentifrício (por exemplo: creme dental sorriso), e em *in natura*, a casca do caule, na forma de pó é vendido nos mercados públicos das cidades (ANDRADE LIMA, 1989; LIMA; GIULIETTI, 2010). Já as raspas do caule funcionam como xampu combatendo a seborréia e a caspa (AGRA et al., 2007). Segundo Kato et al. (1998), o juazeiro também apresenta atividade terapêutica, atuando como expectorante para tratamento de bronquites e úlceras gástricas. As suas raízes são empregadas contra a gripe e as folhas são usadas contra dispepsias. Há estudos farmacológicos que comprovam as ações anti-malária, anti-tumoral e anti-HIV do juazeiro (AGRA et al., 2005).

Segundo Cruz et al. (2007), pedaços de *Z. joazeiro* em infusão tem atividade antifúngica que combate a ação de fungos, tais como: *Trichophyton rubrum*, *Candida guilliermondii*, *Candida albicans*, *Cryptococcus neoformans* e *Fonsecaea pedrosoi*, o que confirma o que a tradição popular assegura e recomenda. Por outro lado, elevadas concentrações de extratos das cascas dos frutos de juazeiro apresenta ação alelopática em sementes de alface, inibindo a germinação das mesmas (Oliveira, A. K. et al., 2009).

## **2.2 Efeitos do déficit hídrico sobre a produção de biomassa**

A água é a substância mais importante na superfície da terra, que determina a existência de vida, pois é essencial a todas as reações metabólicas dos seres vivos, dando também forma as suas estruturas morfológicas (KRAMER; BOYER, 1995; PIMENTEL, 2004).

Em dia ensolarado a planta consome um grande volume de água, sendo que 98% desse volume são perdidos em forma de vapor para a atmosfera, através do processo de transpiração, restando apenas 2% de água, a qual é utilizada para todas as reações metabólicas, na manutenção da turgescência celular e também para a divisão e alongamento das células (BENINCASA, 2003; REICHARDT; TIMM, 2004).

A deficiência hídrica causa nas plantas diminuição da produção de folhas, redução da área foliar, aceleração da senescência e abscisão foliar, como também o prolongamento da

raiz para as zonas mais profundas do solo, aumentando a relação raiz/ parte aérea, e a redução da produção de matéria seca. Em muitos casos, quando a planta está submetida à supressão hídrica, tende a conservar a água do solo, ou seja, economizar água para períodos futuros de seca (SANTOS; CARLESSO, 1998; TAIZ; ZEIGER, 2009).

Diversos pesquisadores têm observado em situação de déficit hídrico, reduções no crescimento, bem como na matéria seca, na alocação de biomassa dos órgãos (folhas, caules e raízes) da planta e a relação raiz/parte aérea. Barbosa et al. (2000), estudando o crescimento de três espécies da caatinga com 20 dias de estresse, observaram aumento na alocação de biomassa das raízes de três espécies (*Senna martiana* (Benth.) H.S. Irwin e Barneby; *Parkinsonia aculeata* L., and *Senna occidentalis* (L.) Link)

Santiago et al. (2001), avaliando o crescimento de plantas jovens de *Mimosa caesalpinifolia* Benth. (sabiá), verificaram reduções tanto na matéria seca das folhas, quanto na matéria seca do caule à medida que o déficit hídrico prolongava.

Silva e Nogueira (2003) também observaram reduções da RAF que atingiu 22% nas plantas de *Prosopis juliflora* DC (algaroba) sob deficiência hídrica de 50% da CP. Rao et al. (2008) também observaram em seu estudo que à medida que prolongava o déficit hídrico diminuía a área foliar nas plantas de *Leucaena leucocephala* (Lam. de Wit) (leucena).

Trabalhando com quatro espécies lenhosas cultivadas sob déficit hídrico, Silva e Nogueira (2003) observaram que o estresse moderado aplicado não afetou a matéria seca, nem a alocação de biomassa das folhas, caules e raízes das plantas. Portanto, para espécies estudadas, esses parâmetros de crescimento não foram indicadores de tolerância à seca. De forma isolada, Silva e Nogueira (2003) verificaram ainda que as plantas *Enterolobium contortisiliquum* (Vell.) (tamboril) alocaram mais fotoassimilados no sistema radicular do que as plantas *Mimosa caesalpinifolia* Benth. (sabiá), *Tabebuia aurea* (Manso) Benth. e Hook. (craibeira) e *Prosopis juliflora* DC. (algaroba) que passam a acumular fotoassimilados na parte aérea. Essas observações das autoras revelam que cada planta se comporta de uma forma diferenciada quando sob estresse moderado.

Cabral et al. (2004) também observaram que as plantas sob 25% CP apresentavam um aumento tanto na matéria seca quanto na alocação de biomassa das raízes à medida que tempo de estresse se prolongava. Os autores verificaram que o acúmulo de matéria seca das raízes das plantas sob 25% CP com 120 dias de estresse foi 11% superior em relação aos 30 dias de tratamentos, o que ficou evidente na relação raiz parte aérea um aumento de 45% de matéria

seca aos 120 dias quando comparado com os 30 dias de estresse. De forma semelhante à matéria seca, a alocação de biomassa foi 35% maior nas raízes em 120 dias de estresse.

Figueirôa et al. (2004) estudando o crescimento em plantas de *Myracrodruon urundeuva* Allemão (aroeira do sertão) sob dois regimes hídricos, verificaram que o regime de 25%CP provocou um aumento tanto para a razão raiz/ parte aérea quanto para alocação de biomassa da raiz aos 30 dias de estresse. Os mesmos autores também observaram que não houve diferença significativa aos 30 de dias na matéria seca da raiz em plantas de *Myracrodruon urundeuva* Allemão (aroeira do sertão) sob 75%, 50% e 25% da capacidade de pote.

Silva et al. (2008b) também não observaram diferenças significativas para as MSR e MST de plantas de *Schinus terebinthifolius* Raddi (aroeira da praia) submetidas aos regimes hídricos (100% CP, 75% CP, 50% e 25% CP).

### **2.3. Efeitos do déficit hídrico sobre o comportamento estomático, o potencial hídrico foliar e ajustamento osmótico de plantas da caatinga**

Um dos estresses abióticos que limitam a capacidade das plantas absorverem água pelo solo é a seca. Essa baixa disponibilidade hídrica acarreta restrição do crescimento das plantas e, conseqüentemente da sua produtividade, principalmente em regiões semiáridas (FLEXAS et al., 2006; REGIER et al., 2009).

Nos ambientes semiáridos como a Caatinga que é caracterizada por possuir elevada temperatura, alta irradiância, umidade relativa do ar muito baixa e solos rasos (PRADO, 2003). Tudo isso desafia o crescimento e a sobrevivência das plantas, mas essas características podem se tornar ainda mais intensas devido às mudanças climáticas.

O efeito da falta d'água sobre os vegetais depende da intensidade, duração, estágio fenológico e da capacidade genética das plantas de se adaptarem às mudanças ambientais (HSIAO, 1973; NEPOMUCENO et al., 2001). Esse efeito é considerado um fator de seleção que evidencia elementos construtivos ou destrutivos para que os vegetais possam tolerar a seca (PIMENTEL, 2004).

A escassez de água prejudica o desenvolvimento dos vegetais provocando diversas alterações morfofisiológicas, tais como redução no tamanho das folhas, fechamento dos estômatos parcial ou completamente, os quais estão associados à transpiração, que por sua vez

diminui a assimilação de CO<sub>2</sub>, limita a taxa fotossintética e reduz eficiência do uso da água (LARCHER, 2004; PIMENTEL, 2004; NEUMANN, 2008).

Plantas que respondem o déficit hídrico imposto com uma alta eficiência do uso da água conseguem resistir à seca com melhor desempenho, mas isso pode variar quanto à espécie, nas suas fenofases, nos diferentes tipos de folha, como também em distintos ambientes em que o vegetal habita (MEDRANO et al., 2009). Evidências recentes sugerem que plantas que possuem mecanismos fisiológicos para melhorar a eficiência do uso da água são controladas geneticamente. Porque o diferencial são as propriedades de difusão da água e CO<sub>2</sub> pelos estômatos, o que torna possível melhora da eficiência do uso da água pelo decréscimo da transpiração sem uma redução na absorção de CO<sub>2</sub> (PARDO, 2010). Portanto, plantas que reduzem a abertura dos estômatos em situação de déficit hídrico são mais conservativas no uso da água (CHAVES et al., 2009).

Acontece que muitas plantas que respondem à seca com alta eficiência do uso da água são espécies que apresentam adaptações morfológicas e fisiológicas em resposta ao déficit hídrico, como as plantas C<sub>4</sub> e as CAM que toleram com mais habilidade as condições adversas das regiões áridas sem muitos danos ao metabolismo; ao passo que outras plantas, como as C<sub>3</sub> têm que usar como meio de artifício, mecanismos para se aclimatarem em resposta a indisponibilidade hídrica (GALMÉS et al., 2007; TAIZ; ZEIGER, 2009).

Ao responder o déficit hídrico, as plantas utilizam mecanismos que podem ser classificados de escape ou de tolerância à seca (ARAÚJO, 2005). O primeiro consiste em escapar à seca através de um ciclo de vida mais curto concentrado no único período chuvoso, apresentando a formação de um banco de sementes; o segundo pode ocorrer de duas maneiras: a primeira, a tolerância à seca com elevado potencial hídrico, compreende o fechamento dos estômatos nos horários de maior demanda evaporativa, no aumento da relação raiz/parte aérea para atingir as zonas mais profundas do solo, enrolamento e mudanças no ângulo das folhas e o aparecimento das características xeromórficas (diminuição da área foliar, epiderme múltipla, cutícula espessa e cerosidade); já a tolerância à seca com baixo potencial hídrico, inclui o ajustamento osmótico que favorece a absorção de água do solo e a manutenção do *status* hídrico da planta (TURNER, 1978; PIMENTEL, 2004; NOGUEIRA et al., 2005).

Para Blonquist Junior et al. (2009) quando há depleção hídrica no solo, os estômatos respondem com o seu fechamento para poder manter o status hídrico do vegetal. Esse fechamento estomático desencadeia uma série de limitações, como a redução da absorção

CO<sub>2</sub>, a queda da taxa fotossintética e aumento da temperatura foliar. Nesse caso, quando as plantas estão desidratadas recuperam a sua hidratação por meio de uma reirrigação, em que a recuperação total da fotossíntese vai depender da severidade da desidratação ocasionada pelo estresse (KRAMER; BOYER 1995).

A deficiência hídrica afeta primeiramente o aparato fotossintético, provocando o fechamento dos estômatos, porém quando as plantas passam por ciclos de seca, estas podem desenvolver certa resistência à falta de água, mantendo a transpiração por períodos mais longos (LARCHER, 2004). Esses tipos de resultados foram verificados por vários autores, como:

Nogueira et al. (1998a) que constataram reduções nas taxas de transpiração quando aferiram as trocas gasosas de três plantas originadas da caatinga (*Senna martiana* Benth. Irw. e Barn. (canafístula brava), *Parkinsonia aculeata* L. (espinheiro de Jerusalém) e *Senna occidentalis* L. (Link.) (fedegoso) em fase inicial de desenvolvimento sob 20 dias de déficit hídrico. Os mesmos autores verificaram restrições na transpiração cerca de 82% nas plantas estressadas (variando de 0,79 a 1,69 mmol.m<sup>-2</sup>.s<sup>-1</sup>). Esse fato foi constatado por Nogueira e Silva (2002) em que as reduções nas taxas de transpiração da *Schinopsis brasiliensis* Engl. (baraúna) foram devidas ao prolongamento do estresse em 20 dias de tratamento. As mesmas autoras observaram que os estômatos das plantas sob estresse severo fecharam aos 14 e 20 dias de tratamento, em que a transpiração era de 0,56 mmol.m<sup>-2</sup>.s<sup>-1</sup> e 0,50 mmol.m<sup>-2</sup>.s<sup>-1</sup>, respectivamente.

Silva et al. (2009a) ao estudar as trocas gasosas de genótipos de *Spondias tuberosa* Arruda (umbu) sob deficiência hídrica, constataram que houve redução da transpiração em todos os genótipos sob estresse, sendo mais pronunciado no genótipo BGU 68 que se mostrou mais sensível, fechando os estômatos apenas com 5 dias de ausência de água em relação aos demais que fecharam os estômatos a partir de 7 dias. De forma inversa a transpiração, Nogueira et al. (1998a) observaram que a resistência difusiva aumentou, promovendo uma elevação da temperatura da folha em torno de 26°C.

O efeito do prolongamento do déficit hídrico e a sua magnitude podem interferir no decréscimo ou até mesmo na inibição da síntese das clorofilas *a* e *b*, os quais fazem parte do sistema fotossintético. Sendo que essa inibição pode ocorrer ou não, pois vai depender da resposta de cada espécie (CHERNYAD'EV, 2005).

Como os carotenóides são pigmentos acessórios que apresentam funções de absorção

de energia luminosa em diferentes comprimentos de onda da clorofila *a*, os quais transformam e transferem-na para os centros de reações dos fotossistemas I e II. Além disso, eles também protegem os fótons sistemas I e II contra os danos causados pela luz excessiva e pela ação do oxigênio - fotooxidação (CHERNYAD'EV, 2005; CSEKE et al., 2006).

Esse uso de mecanismo por alto potencial hídrico acarreta o decréscimo da taxa fotossintética em plantas sob déficit hídrico que pode ser atribuído as limitações estomáticas e não estomáticas. A limitação fotossintética estomática pode ser considerada pela redução da eficiência de carboxilação, uma vez que diminui a regeneração da ribulose – 1,5 bifosfato (RUBP), ocasionando redução funcional da rubisco (ZLATEV; YORDANOV, 2004). E a limitação não estomática se dá pela diminuição do potencial hídrico foliar e do conteúdo relativo de água.

Outro parâmetro que ajuda a manter o status hídrico é o potencial hídrico foliar que descreve o estado energético da água no interior da planta, cujo gradiente vai depender do fluxo no sistema solo-planta-atmosfera, o qual varia ao longo do dia por ser muito sensível (SERGONCI et al., 2000). Segundo Boyer et al. (2008) o conteúdo relativo de água (CRA) está relacionado com o status hídricos da planta, principalmente com a condição de turgidez da célula.

Quando os tecidos vegetais estão bem hidratados o TRA varia de 85 a 95%. No entanto, quando a desidratação atinge os 50% é caracterizado como o ponto crítico, letal a planta, sendo que algumas plantas xerófitas podem chegar a esse ponto crítico, sem provocar a morte da mesma (PARDO, 2010). Quando a planta está submetida a déficit hídrico, o potencial da água da folha diminui, levando a desidratação dos tecidos e ao fechamento estomático para reduzir a perda de água pela transpiração (PIMENTEL, 2004; NOGUEIRA et al., 2005).

Diversos autores têm observado essa redução no potencial hídrico foliar em plantas submetidas a déficit hídrico (NOGUEIRA et al., 1998a; NOGUEIRA et al., 1998b; NOGUEIRA; BARBOSA, 2000; NOGUEIRA; SILVA JÚNIOR, 2001; NOGUEIRA et al., 2001; SILVA et al., 2003, GOMES et al., 2004; GINDABA et al., 2005; VILLAGRA; CAVAGNARO, 2006; TROVÃO, 2007; GALMÉS et al., 2007; KULKARNI et al., 2010).

A redução do potencial hídrico foliar também pode ocorrer devido ao acúmulo de solutos compatíveis que contribuem para o ajustamento osmótico da planta, uma vez que toleram a desidratação severa e mantêm ativos os processos metabólicos (LARCHER, 2004).

O ajustamento osmótico é um mecanismo fisiológico de grande importância para a manutenção da turgescência da célula (LIMA FILHO et al., 1992). Esta manutenção permite a continuidade dos processos de crescimento, expansão, divisão celular e fotossíntese (SANTOS; CARLESSO, 1998). Para a planta dispor desses benefícios em situação de seca, suas células terão que passar por mudanças metabólicas para se ajustarem osmoticamente, acumulando concentrações consideráveis de solutos, como açúcares, ácidos orgânicos, aminoácidos e íons no vacúolo para diminuir o potencial hídrico e, por conseguinte, manter a turgescência celular (NEPOMUCENO et al., 2001).

Segundo Pimentel (2005) em situação de déficit severo, as plantas tendem a reduzir a fotossíntese, diminuindo assim o conteúdo de amido da célula e aumentando os açúcares solúveis, que participam da ativação das respostas das plantas frente à indisponibilidade hídrica, participando do ajustamento osmótico. Esses açúcares solúveis, ou seja, os carboidratos sofrem hidrólise transformando-se em glicose, frutose e sacarose, que participam como osmorreguladores, proporcionando a diminuição do potencial hídrico foliar (CAIRO, 1995), participando também como agentes protetores contra a desidratação celular (NEPOMUCENO et al., 2001).

Outro composto que pode ser considerado como um indicador de tolerância à seca nas plantas é a prolina livre (JHARNA et al., 2001). O aumento desse osmossoluto frequentemente é correlacionado com a redução do potencial hídrico foliar e com a resistência à difusão de vapor de água (NOGUEIRA et al., 2001). Para Pérez-Pérez et al. (2009) muitas plantas respondem ao déficit hídrico com o acúmulo de prolina.

Muitos estudos têm constatado que a prolina desempenha um papel importante como agente osmorregulador (CAIRO, 1995; SILVA, 2002). A elevação no nível desse aminoácido tem sido sugerida como uma proteção da planta frente à seca, para diminuir o potencial hídrico foliar, proteger as estruturas, as enzimas e tecidos das células, uma vez que é um osmorregulador originado de compostos nitrogenados. A acumulação de prolina livre em folhas sob condições de falta d'água tem função osmoprotetora e como composto de estoque de carbono e nitrogênio durante o déficit hídrico (SARKER et al., 2005), além de atuar como anti-oxidante (SIRCELJ et al., 2005). A prolina tem sido mostrada para funcionar como uma molécula chaperona com habilidade para proteger a integridade das proteínas e de melhorar as atividades de diferentes enzimas (SZABADOS; SAVOURÉ, 2009).

O metabolismo das proteínas nas plantas em situação de déficit hídrico é rapidamente

limitado, podendo muitas vezes comprometer a síntese protéica, a qual vem prejudicar a divisão celular, mesmo se o estresse for moderado (LARCHER, 2004). Além disso, o déficit hídrico pode acarretar a degradação de proteínas, aumentando o teor de aminoácidos livres no tecido (PIMENTEL, 2004). Larcher (2004) afirma que quando a planta está sob déficit hídrico, a síntese de proteína é cessada, havendo degradação da mesma. Entretanto, Chernyad'ev (2005) relata que pode haver aumento no teor de proteínas em plantas submetidas a estresse hídrico.

#### **2.4. Efeitos da sazonalidade nas relações hídricas, densidade estomática e composição química da cera epicuticular em folhas de indivíduos adultos de *Ziziphus joazeiro* Mart.**

Em diversas partes da Terra, tanto a ocorrência quanto a distribuição de plantas que compõem a cobertura vegetal são controladas pela temperatura e pela água. A temperatura favorece o crescimento do vegetal, diante da distribuição e quantidade de chuvas, já a água mantém o balanço hidrológico e a temperatura amena da terra, além disso, ela atua dando estabilidade aos processos fisiológicos e do balanço hídrico da planta (KRAMER; BOYER, 1995; LARCHER, 2004).

As plantas que habitam ambientes áridos e semi-áridos estão constantemente sofrendo injúrias dos tipos bióticos e abióticos, sendo que estes são mais pronunciados por causa da periodicidade sazonal do clima (verão e inverno), pela variação da radiação, da duração do dia, pelas mudanças constantes de temperatura e da quantidade de precipitação que ocorrem ao longo do ano (LARCHER, 2004).

Plantas anisótricas que habitam regiões áridas são relativamente mais tolerantes a seca, embora seu sistema hidráulico de vasos seja um tanto frágil, pelo motivo dessas plantas optarem, durante o período seco, pelo estreitamento hidráulico dos vasos para que a alíquota d'água seja impulsionada pela tensão com facilidade até os estômatos, pois com isso faz perder menos água para o meio ambiente (McDOWELL et al., 2008).

Plantas que apresentam desidratação das suas folhas por causa do déficit hídrico enfrentam o estresse, mantendo as trocas gasosas e o crescimento por meio de mecanismos como o teor relativo de água e do potencial hídrico a níveis muito baixos evitando a perda excessiva de água (CALCERRADA et al., 2010)

Trovão et al. (2004) ao realizarem medidas de potencial hídrico foliar em cinco espécies da caatinga, no período seco, constataram também que o potencial hídrico tornou-se

mais negativo na planta *Bumelia sartorum* Mart. (quixabeira) seguida da *Schinopsis brasiliensis* Engl. (Baraúna) Além do mais, a espécie que se destacou dentre as dez espécies estudadas com o maior acúmulo de prolina nas folhas foi a *Caesalpinia pyramidalis* Tul. (catingueira).

Trovão et al. (2007) avaliando o potencial hídrico caulinar de onze plantas da caatinga nas estações chuvosa e seca, verificaram que na estação seca todas as plantas apresentam potenciais hídricos mais negativos do que na outra estação. E o que mais chamou a atenção dos autores foi que a *Myracrodruon urundeuva* Allemão (aroeira do sertão) se destacou das demais espécies por manter o seu potencial hídrico sempre menos negativo nas duas estações climáticas (em torno de -0,3 MPa) do que as *Bumelia sartorum* Mart. (quixabeira) e a *Maytenus rigida* Mart. (bom nome) que tiveram potenciais negativos, em média de -2,2 MPa, na estação chuvosa e seca, respectivamente.

A seca também provoca modificações estruturais, anatômicas e morfológicas para evitar a perda de água, as quais vão refletir na fisiologia das plantas, limitando a transpiração (KUDREV, 1994). Essas modificações anatômicas das folhas associadas à desidratação pelo déficit hídrico têm sido observadas por diversos pesquisadores (SAM et al., 2000; BURROWS, 2001; GRISAFI et al., 2004; LIU et al., 2007).

Para Angelocci (2002) a densidade estomática e o grau de abertura dos estômatos apresentam certa influência no controle da condutância estomática a difusão de vapor, assim como o déficit de pressão de vapor, a umidade relativa e a temperatura do ar estão também envolvidos no controle desses estômatos. A alta densidade estomática é usualmente relatada por uma elevada habilidade e mais eficiente responsáveis para alguma mudança ambiental, bem como pelo intenso controle das trocas gasosas (GHANNOUM, 2009).

Para Larcher (2004) plantas que crescem sob condições de indisponibilidade hídrica apresentam estômatos muito pequenos e numerosos, com alta densidade estomática, o que promove a redução da transpiração apresentando uma maior regulação dos estômatos.

Além disso, segundo Kudrev (1994) o aumento nas quantidades de pêlos, na espessura da cutícula e na camada de ceras nas folhas, também são estratégias que limitam a transpiração. Segundo Kramer e Boyer (1995) as folhas são gradualmente modificadas pelos fatores ambientais, diminuindo a sua área foliar e tornando a sua cutícula mais espessa. Prisco (1986) relata ainda que a presença de pêlos e ceras na superfície das folhas, em espécies xerófitas são adaptações para reduzir o diâmetro do poro estomático e controlar a passagem de

água com maior eficiência.

De acordo com Shepherd e Griffiths (2006) plantas adaptadas a ambientes áridos, normalmente encontram-se uma espessura maior de cera do que nas plantas que habitam em ambientes mais úmidos, mas isso é muito relativo, pois outros estresses, não só a seca podem interferir na espessura da cera epicuticular.

A cutícula é um biopolímero de cutina, cutano e lipídeos ou cíclicos de polaridade baixa presente na superfície aérea das plantas. A camada mais externa da cutícula que está em contato com o ambiente é representada pelas ceras epicuticulares. A função primordial das ceras epicuticulares é diminuir a perda de água em demasia pela transpiração (OLIVEIRA, 2005), ajudando assim as folhas a reterem mais água (SAMDUR et al., 2003).

Segundo Santillan et al. (2001), as altas concentrações de ceras aumentam a resistência das plantas ao déficit hídrico, por causa da redução na temperatura foliar e também da redução da perda d'água das folhas. Além disso, as ceras também protegem os vegetais contra a radiação direta, aclimatam as plantas em situações de resfriamento, são uma barreira protetora que dificulta a ação de microrganismos patogênicos e de insetos herbívoros; todavia, a sua morfologia ou composição vai variar entre as espécies ou culturas, podendo ainda, serem afetadas pela idade da planta ou pelos fatores ambientais, como a temperatura, a umidade e os períodos de irradiação (LIAKOPOULOS et al., 2001; OLIVEIRA, 2005).

As ceras são produtos resultantes do metabolismo primário das plantas que quimicamente são constituídas por substâncias lipofílicas de peso molecular de 200 a 700 unidades de massa atômica (CASTRO et al., 2005), alifáticas, de cadeias longas, como os hidrocarbonetos freqüentemente encontrados na forma de *n*-alcanos. Além de *n*-alcanos as ceras possuem uma mistura complexa de ésteres, ácidos graxos livres, álcoois primários e secundários de cadeia longa (de 10 a 30 átomos de carbono), cetonas,  $\beta$ -dicetonas, hidroxicetonas e os aldeídos. As substâncias de natureza cíclica são mais comuns nas ceras que contêm os triterpenóides e raramente flavonóides e hidrocarbonetos aromáticos (OLIVEIRA, 2005).

Os hidrocarbonetos (*n*-alcanos) são encontrados nas ceras cuticulares das folhas, exemplos típicos são os *n*-nanocosano e o hentriacontano que apresentam carbonos ímpares, pois são derivados dos ácidos graxos que possuem carbonos pares.

De acordo com Oliveira et al. (2003) quanto maior for a proporção de *n*-alcanos na cera, menor é a perda de água pela cutícula. Isso foi constatado pelos autores na cera

epicuticular das folhas de *Ziziphus joazeiro* Mart. que apresentou uma quantidade 78,6% de n-alcenos, a qual interferiu na diminuição da perda de água pela cera.

### 3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

---

AGRA, M. F. et al. **Medicinais e produtoras de princípios ativos**. In: Sampaio, E. V. S.B. et al. Espécies da flora nordestina de importância econômica potencial. Recife: APN, 2005, p. 135 -198.

AGRA, M.F. et al. Sinopse da flora medicinal do cariri paraibano. **Oecologia Brasiliensis**, v.11, n. 3, p.323-330, 2007.

ALBUQUERQUE, U. P.; ANDRADE, L. H. C. Uso de recursos vegetais da Caatinga: o caso do Agreste do Estado de Pernambuco (Nordeste do Brasil). **Interciencia**, Venezuela, Caracas, v. 27, n. 27, p. 336-346, 2002.

ANDRADE LIMA, D. **Plantas das caatingas**. Rio de Janeiro: Academia Brasileira de Ciências, 1989. 243 p.

ANGELOCCI, L.R. **Água na planta e trocas gasosas/energéticas com a atmosfera: introdução ao tratamento biofísico**. Edição do autor: Angelocci, L. R. 2002, 272p.

ARAÚJO, E. L. **Estresses abióticos e bióticos como forças, modeladoras da dinâmica de populações vegetais da caatinga**. In: Nogueira et al. Estresses ambientais: danos e benefícios em plantas. Recife: UFRPE, Imprensa universitária, 2005.500p.

ARNDT, S. K. et al. Physiological and morphological adaptations of the fruit tree *Ziziphus rotundifolia* in response to progressive drought stress. **Tree Physiology**, v. 21, p. 705–715, 2001.

BARBOSA, D. C. A.; NOGUEIRA, R. J. M. C.; MELO FILHO, P. A. Comparative studies of growth in three species of caatinga submitted to water stress. **Revista Internacional de Botânica Experimental - ΦYTON**, v. 69, p. 45-50, 2000.

BARBOSA, D.C.A.; BARBOSA, M.C.A.; LIMA, L.C.M. **Fenologia de espécies lenhosas da caatinga**. In: LEAL, I.R.; TABARELLI, M.; SILVA, J.M.C. (eds.). Ecologia e Conservação da Caatinga. Recife, UFPE, p. 657-693. 2003.

- BARROS, N.N. et al. Valor nutritivo do feno de juazeiro (*Ziziphus joazeiro*) para caprinos e ovinos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 26, n.8, p.1299-1304, 1991.
- BENINCASA, M.M.P. **Análise de crescimento de plantas**. Jaboticabal: FUNEP, 2003. 42p.
- BERGONCI, J.I. et al. Potencial da água na folhas como um indicador de déficit hídrico em milho. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 35, n.8, p.1531-1540, 2000.
- BLONQUIST JUNIOR, J. M.; NORMAN, J. M.; BUGBEE, B. Automated measurement of canopy stomatal conductance based on infrared temperature. *Agricultural and Forest Meteorology*, v.149, p.1931–1945, 2009.
- BOYER, J.S. et al. Osmotic adjustment leads to anomalously low estimates of water content in wheat and barley. Review. **Functional Plant Biology**, v. 35, n.11, p. 1172 – 1182, 2008.
- BURROWS, G. E. Comparative Anatomy of the Photosynthetic Organs of 39 Xeromorphic Species from Subhumid New South Wales, Australia. **International Journal of Plant Sciences**, v. 162, p. 411- 430, 2001.
- CABRAL, E. L.; BARBOSA, D.C.A.; SIMABUKURO, E.A. Crescimento de plantas jovens de *Tabebuia aurea* (Manso) Benth. e Hook. F. ex S. Moore submetidas a estresse hídrico. **Acta Botânica Brasília**, v18, n. 2, p. 241-251, 2004.
- CAIRO, P. A. R. **Curso básico de relações hídricas de plantas**. Vitória da Conquista-BA, UESB. 32p. 1995.
- CALCERRADA, J. R.; PARDOS, J. A.; ARANDA, I. Contrasting responses facing peak drought in seedlings of two co-occurring oak species. **Forestry**, v. 83, n.4, p. 369-378, 2010.
- CARDOSO, D.B.O.S.; QUEIROZ, L.P. Diversidade de leguminosae nas caatingas de tucano, Bahia: implicações para a fitogeografia do semi-árido do nordeste do Brasil. **Rodriguésia**, v. 58, n.2, p. 379-391, 2007.
- CARVALHO, P. E. R. **Juazeiro: *Ziziphus joazeiro***. Embrapa, 2007, p8 (Circular técnica n° 139).
- CASTRO, C. R. et al. **Óleos, ceras, taninos, látex e gomas**. In: Sampaio, E. V. S. B. et al.

- Espécies da flora nordestina de importância econômica potencial. Recife: APN, 2005. p. 199 -226.
- VILLAGRA, P. E.; CAVAGNARO, J. B. Water stress effects on the seedling growth of *Prosopis argentina* and *Prosopis alata*. **Journal of Arid Environments**. v.64. p. 390-400, 2006.
- CHAVES, M. M.; FLEXAS, J.; Pinheiro, C. Photosynthesis under drought and salt stress: regulation mechanisms from whole plant to cell. **Annals of Botany**, v, 103, p. 551–560, 2009.
- CHERNYAD'EV. Effect of Water Stress on the Photosynthetic Apparatus of Plants and the Protective Role of Cytokinins: A Review. **Applied Biochemistry and Microbiology**, v 41, p.115-128, 2005.
- CRUZ, M.C.S. et al. Antifungal activity of Brazilian medicinal plants involved in popular treatment of mycoses. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 111, p.409–412, 2007.
- CSEKE, L.J. et al. **Natural products from plants**. 2 Ed. Taylor e Francis, 2006, 611p.
- CUI, N. et al. Regulated deficit irrigation improved fruit quality and water use efficiency of pear-jujube trees. **Agricultural Water Managements**, v. 95, pl. 489 – 497, 2008.
- FEARNSIDE, P. M. Desmatamento na Amazônia: dinâmica, impactos e controle. **Acta Amazonica**, v. 36, n. 3, p. 395-400, 2006.
- FERNANDES, A. **Biodiversidade da caatinga**. In: Araújo et al. Biodiversidade, conservação e uso sustentável da flora do Brasil. Recife: UFRPE, imprensa universitária, 2002. 298p.
- FERREIRA, A. et al. Perfil sensorial de méis de *Apis mellifera* L. (Hymenoptera, APIDAE) produzidos na microrregião de Catolé do Rocha – PB. **Revista Verde** (Mossoró – RN – Brasil) v.3, n.4, p. 73-85, 2008.
- FIGUEIRÔA, J. M.; BARBOSA, D. C. A.; SIMABUKURO, E. A. Crescimento de plantas jovens de *Myracrodruon urundeuva* Allemão (Anacardiaceae) sob diferentes regimes hídricos. **Acta Botânica Brasileira**. v. 18, n. 3. p. 573-580, 2004.
- FLEXAS, J. et al. Keeping a positive carbon balance under adverse conditions: responses of

- photosynthesis and respiration to water stress. **Physiology Plantarum**, v.127, p. 343-352, 2006.
- GALMÉS, J. et al. Water relations and stomatal characteristics of Mediterranean plants with different growth forms and leaf habits: responses to water stress and recovery. **Plant Soil**, v. 290, p. 139-155, 2007.
- GEORGINO, M. Aquecimento global ações que o setor hortifrutícola deve realizar para se proteger das mudanças climáticas. **Hortifruti Brasil**, p.6-11, 2007.
- GHANNOUM, O. C4 photosynthesis and water stress. **Annals of Botanny**, v. 103, p. 635-644, 2009.
- GINDABA, J.; ROZANOV, A.; NEGASH, L. Photosynthetic gas exchange, growth and biomass allocation of two Eucalyptus and three indigenous tree species of Ethiopia under moisture deficit. **Forest Ecology and Management**, v. 205, p.127–138, 2005.
- GIULIETTI, A. M. et al. **Espécies endêmicas da caatinga**. In: SAMPAIO, E. V. S.; et al. *Vegetação & Flora da Caatinga*. Recife: Associação Plantas do Nordeste – APNE; Centro Nordestino de Informações sobre Plantas – CNIP, 2002, 176p.
- GOMES, M.M.A. et al. Interactions between leaf water potential, stomatal conductance and abscisic acid content of orange trees submitted to drought stress. **Brazilian Journal Plant Physiology**, v.16, p.155-161, 2004.
- GRISAFI, F. et al. Some morphological, anatomical, physiological responses of different olive cultivars to high temperatures and drought stress. **Acta Botanica Gallica**, v.151, n. 3, p. 241-253, 2004.
- HSIAO, T. C. Plant responses to water stress. **Annual Review Plant Physiology**. Stanford, v. 24, p. 519-570, 1973.
- JHARNA, D. E. et al. Biochemical screening of some groundnut (*Arachis hypogaea* L.) genotypes for drought tolerance. Online **Journal of Biological Sciences**. v.1, n 11, p. 1009-1011. 2001.

- KATO, E. T. M.; OHARA, M. T.; NISHITANI, M. Estudo da atividade antimicrobiana de *Ziziphus joazeiro* Martius. **LECTA**, Bragança Paulista, v. 16, n. 2, p. 75-84, 1998.
- KIILL, L. H. P.; CORREIA, R. C. **A região semi-árida brasileira**. In: Kiill, L. H. P.; Menezes, E. A. Espécies vegetais exóticas com potencialidades para o semi-árido brasileiro. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2005. 340p.
- KOOHAFKAN, P.; STEWART, B.A. **Water and Cereals in Drylands**. London: FAO, 2008, 113p.
- KRAMER, P. J.; BOYER, J. S. **Water relations of plants and soils**. Academic Press, 1995, 495p.
- KUDREV, T.G. **Água: vida das plantas**. São Paulo: Ícone, 1994.178p.
- KULKARNI, M. et al. Leaf anatomical characteristics and physiological responses to short-term drought in *Ziziphus mauritiana* (Lamk). **Scientia Horticulturae**, v. 124, p. 316 - 322, 2010.
- LACERDA, A.V.; BARBOSA, F.M.; BARBOSA, M.R.V. Estudo do componente arbustivo-arbóreo de mates ciliares na bacia do rio Taperobá, semiárido paraibano: uma perspectiva para a sustentabilidade dos recursos naturais. **Oecologia Brasiliensis**, v. 11, n. 3, p. 331-340, 2007.
- LARCHER, W. **Ecofisiologia vegetal**. Revisão técnica. São Carlos-SP: RIMA. 2004.531p.
- LIAKOPOULOS, G.; STAVRIANAKOU, S.; KARABOURNIOTIS, G. Analysis of epicuticular phenolics of *Prunus persica* and *Olea europaea* leaves: evidence for the chemical origin of the UV-induced blue fluorescence of stomata. **Annals of Botany Company**, v. 87, p. 641-648, 2001.
- LIMA FILHO, J. M. P.; DRUMOND, M. A.; MACENO, D.S. Comportamento fisiológico da leucena e albizia sob condições semi-áridas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. v. 27, n. 4, p. 537-542. 1992.
- LIMA, J. L. et al. **Plantas medicinais de uso comum no Nordeste do Brasil**. Campina Grande: PB, 2006. 81p.

LIMA, R. B.; GIULIETTI, A. M. **Rhamnaceae no semi-árido brasileiro**. In: ACCIOLY, L.J.O. et al. Rumo ao amplo conhecimento da biodiversidade do semi-árido brasileiro. Disponível em: <http://www.uefs.br/ppbio/cd/portugues/capitulo13.htm>, acessado no dia 27 de agosto de 2010.

LIU, J.; ZHU, J. K. Proline Accumulation and Salt-Stress-Induced Gene Expression in a Salt-Hypersensitive Mutant of Arabidopsis. **Plant Physiology**, v.114: p.591-596, 1997.

LIU, Y.B. et al. Anatomical, morphological and metabolic acclimation in the resurrection plant *Reaumuria soongorica* during dehydration and rehydration. **Journal of Arid Environments**, v.70, p. 183–194, 2007.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras: Manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**. 5. Ed. v.1. São Paulo: Plantarum, 2008. 384p.

MA, F. et al. Effect of water deficit in different growth stages on stem sap flux of greenhouse grown pear-jujube tree. **Agricultural Water Management**, v. 90, p. 190-196, 2007.

MATOS, E.; QUEIROZ, L.P.; **Árvores para cidades**. Salvador: Ministério Público da Bahia: Solisluna, 2009, 340p.

McDOWELL, N. et al. Mechanisms of plant survival and mortality during drought: why do some plants survive while succumb to drought? Review, **New Phytologist**, v. 178, p. 719-739, 2008.

MEDRANO, H.; FLEXAS, J. GALMÉS, J. Variability in water use efficiency at the leaf level among Mediterranean plants with different growth forms. **Plant Soil**, v.317, p. 17-19, 2009.

NEPOMUCENO, A. L. et al. Tolerância à seca em plantas: Mecanismos fisiológicos e moleculares. **Biotecnologia, Ciência & Desenvolvimento**, Editora KL3, n. 23, 2001. p. 12-18.

NEUMANN, P. Coping mechanisms for crop plants in drought-prone environments. **Annals of Botany**, v.101, p. 901-907, 2008.

NOGUEIRA, R. J. M. C.; BARBOSA, D. C.A. MORAES, J. A. P. V. Trocas gasosas e

relações hídricas em plantas jovens envasadas de três espécies da caatinga, submetidas a deficiência de água. **ΦYTON**, v. 62, n. 1/2, p. 37- 46,1998a.

NOGUEIRA, J. M. C. R. et al. Curso diário do potencial hídrico foliar em cinco espécies da caatinga. **Revista Ecosistema**. v. 23, p. 73-77. 1998b.

NOGUEIRA, R.J.M.C; BARBOSA, D. C. A. Comportamento fisiológico em plantas jovens de quatro espécies lenhosas da caatinga submetidas a dois ciclos de estresse hídrico. **ΦYTON**, v.68. p.97-106, 2000.

NOGUEIRA, R. J. M. C.; SILVA JÚNIOR, J.F. Resistência estomática, tensão de água no xilema e teor de clorofila em genótipos de gravioleira. **Scientia Agrícola**, v.58, p.491-495, 2001.

NOGUEIRA, R. J. M. C. et al. Alterações na resistência à difusão de vapor das folhas e relações hídricas em aceroleiras submetidas a déficit de água. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v.13, n. 1, p. 75-87, 2001.

NOGUEIRA, R. J. M. C. SILVA, E. C. da. Comportamento estomático em plantas jovens de *Schinopsis brasiliensis* Engl. cultivadas sob estresse hídrico. **IHERINGIA**, Sér. Bot. Porto Alegre, v. 57, n. 1, p. 31-38. 2002.

NOGUEIRA, R. J. M. C. et al. **Aspectos ecofisiológicos da tolerância à seca em plantas da caatinga**. In: Nogueira et al. Estresses ambientais: danos e benefícios em plantas. Recife: UFRPE, Imprensa universitária, 2005.500p.

OLIVEIRA, D. V. **Aspectos do crescimento da gravioleira (*Annona muricata* L.) sob estresse hídrico**. 2000. 60p. Dissertação (Mestrado em Botânica) - Universidade Federal Rural de Pernambuco. Recife.

OLIVEIRA, A. F. M.; MEIRELLES, S. T.; SALATINO, A. Epicuticular waxes from caatinga and cerrado species and their efficiency against water loss. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 75, n. 4, p. 431-439, 2003.

OLIVEIRA, A. F. M. de. **Ceras epicuticulares como fator antiestresse**. In: Nogueira et al. Estresses ambientais: danos e benefícios em plantas. Recife: UFRPE, Imprensa Universitária,

2005. p. 32-41.

OLIVEIRA, A. K. et al. Alelopatia em extratos de frutos de juazeiro (*Ziziphus joazeiro* Mart. – Rhamnaceae). **Acta Botânica Brasílica**, v. 23, n.4, p. 1186-1189, 2009.

PARDO, J.M. Biotechnology of water and salinity stress tolerance. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 21, p. 185-196, 2010.

PÉREZ-PÉREZ, J.G. et al. Responses to drought and salt stress of lemon “Fino 49” under field conditions: water relations, osmotic adjustment and gas exchange. **Scientia Horticulturae**, v.122, p. 83-90, 2009.

PIMENTEL, C. et al. Tolerância protoplasmática foliar à seca, em dois genótipos de caupi cultivados em campo. **Revista Universidade Rural: Série Ciências da Vida**. São Paulo, v.22, n. 01, p. 07-14. 2002.

PIMENTEL, C. **A relação da planta com a água**. Seropédica, Rio de Janeiro: Edur, 2004. 191p.

PIMENTEL, C. **Respostas fisiológicas à falta d’água: limitação difusiva ou metabólica?** In: Nogueira et al. Estresses ambientais: danos e benefícios em plantas. Recife: UFRPE, Imprensa Universitária, 2005.500 p.

PRADO, D. **As caatingas da América do Sul**. In: LEAL, I.R.; TABARELLI M. e SILVA J.M.C. (eds.). Ecologia e conservação da Caatinga. Editora Universitária, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Brasil. 2003, p. 3-73.

PRISCO, J. T. Possibilidades de exploração de lavouras xerófilas no semi-árido brasileiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 21, n. 4, p. 333-342, 1986.

RAO, P.B.; KAUR, A; TEWAR, A. Drought resistance in seedlings of five important tree species in Tarai region of Uttarakhand. **Tropical Ecology**, v.49, n.1, p. 43-52, 2008.

REGIER, N. et al. Drought tolerance of two black poplar (*Populus nigra* L.) clones: contribution of carbohydrates and oxidative stress defence. **Plant, Cell and Environment**, v. 32, p1724-1735, 2009.

- REICHARDT, K.; TIMM, L. C. **Solo, planta e atmosfera: conceitos, processos e aplicações**. Barueri, São Paulo: Manole, 2004. 478p.
- RIZZINI, C. T. **Botânica econômica brasileira**. 2 ed. Revista ampliada, Rio de Janeiro: Âmbito Cultural, 1995. 248p.
- SAM, O. et al. Water stress induced changes in anatomy of tomato leaf epidermis. **Biologia Plantarum**, v. 43, n. 2, p. 275-277, 2000.
- SAMDUR, M. Y. et al. Genotypic differences and water-deficit induced enhancement in epicuticular wax load in peanut. **Crop Science**, v. 43, p. 1294-1299, 2003.
- SAMPAIO, E. V. S. B. et al. Regeneração da vegetação de caatinga após corte e queima em Serra Talhada, PE. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.33, n.5, p.621-632, 1998.
- SANTIAGO, A.M.P.; NOGUEIRA, R. J.M. C; LOPES, E. C. Crescimento em plantas jovens de *Mimosa caesalpinifolia* Benth., cultivadas sob estresse. **Revista Ecosistema**, v. 26, n. 1, 2001.
- SANTILLAN, L., et al. Epicuticular leaf wax load on isogenic lines of sorghum (*Sorghum bicolor* L. Moench) and its contribution to water stress resistance. **Plant and People**, México, p. 12-16. 2001.
- SANTOS, R.F.; CARLESSO, R. Déficit hídrico e os processos morfológico e fisiológico das plantas. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Paraíba, v.2, n.3, p.287-294. 1998.
- SARKER, B. C.; HARAB, M.; UEMURAC, M. Proline synthesis, physiological responses and biomass yield of eggplants during and after repetitive soil moisture stress. **Scientia Horticulturae**, v. 103, p.387 - 402, 2005.
- SERGONCI, J. I. et al. Potencial da água na folha como um indicador de déficit hídrico em milho. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**.v. 35, n. 8, p. 1531-1540, 2000.
- SHEPHERD, T.; GRIFFITHS, D. W. The effects of stress on plant cuticular waxes. Review, *New Phytologist*, v. 171, p. 469-499, 2006.

SILVA, E.C. **Ecofisiologia de 4 espécies lenhosas ocorrentes no Nordeste submetidas a estresse hídrico**. 2002. 92f. Dissertação (Mestrado em Botânica) – Universidade Federal Rural de Pernambuco. Recife, 2002.

SILVA, E. C.; NOGUEIRA, R. J. M. C. Crescimento de quatro espécies lenhosas cultivadas sob estresse hídrico em casa de vegetação. **Revista Ceres**, v. 50 n.288, p. 203-217, 2003.

SILVA, E.C. et al. Comportamento estomático e potencial da água da folha em três espécies lenhosas cultivadas sob estresse hídrico. **Acta Botânica Brasílica**, São Paulo, v. 17, n. 2, p. 231-246, 2003.

SILVA, M.A.V et al. Matéria seca e alocação de biomassa em mudas de juazeiro (*Ziziphus joazeiro* Mart.) submetidas a déficit hídrico. In: VIII Jornada de Ensino, Pesquisa e Extensão, 2008, Recife. **Anais...** Recife: Universidade Federal Rural de Pernambuco, 2008a, v. único.

SILVA, M.A.V. et al. Trocas gasosas, potencial hídrico e incremento de matéria seca em mudas de juazeiro induzidas pelo PEG 6000. In:XII Congresso Brasileiro de Fisiologia Vegetal. Fortaleza. **Anais ...** Fortaleza: 2009, v. único.

SILVA, E. C. et al. Stomatal changes induced by intermittent drought in four umbu tree genotypes. **Brazilian Journal Plant Physiology**. v.21, n.1. p. 33-42, 2009a.

SILVA, M.A.V et al. Influência da sazonalidade nas relações hídricas de *Ziziphus joazeiro* Mart. no Agreste pernambucoano. In: X Jornada de Ensino, Pesquisa e Extensão, 2010, Recife. **Anais...** Recife: Universidade Federal Rural de Pernambuco, 2010, v. único.

SIRCELJ, H. et al. Biochemical responses in leaves of two apple tree cultivars subjected to progressing drought. **Journal of Plant Physiology**, v.162, p.1308-1318. 2005.

SZABADOS, L.; SAVOURÉ, A. Prolina: a multifunctional amino acid. Review. **Trends in Plants Science**, v. 15, n. 2, p 89-97, 2009.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 3ed. Porto Alegre: Artmed, 2009. 719p.

TROVÃO, D. M. B. M.; et al. Avaliação do potencial hídrico de espécies da Caatinga sob diferentes níveis de umidade no solo. **Revista de Biologia e Ciência da Terra**, v. 4, n. 2, p,

2004.

TROVÃO, D. M. B. M. et al. Variações sazonais de aspectos fisiológicos de espécies da Caatinga. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.11, n. 3, p. 307-311, 2007.

TURNER, N.C.; BEGG, J. E. **Responses of pasture plants to water deficits**. In: J. R. Wilson (org.) *plant Relations in Pastures*. Melbourne, C.S.I.O. 1978, p. 50-66.

VIEIRA, R.F. et al. **Estratégias para Conservação e Manejo de Recursos Genéticos de Plantas Medicinais e Aromáticas: Resultados da 1ª Reunião Técnica**. Brasília: **Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia/ Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (IBAMA) / Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq)**. 2002, xx p.

VILLAGRA, P. E.; CAVAGNARO, J. B. Water stress effects on the seedling growth of *Prosopis argentina* and *Prosopis alpataco*. **Journal of Arid Environments**. v.64. p. 390-400, 2006.

ZLATEV, Z.S.; YORDANOV, I.T. Effects of soil drought on photosynthesis and chlorophyll fluorescence in bean plants. **Journal Plant Physiology**, v. 30, n. 3-4, p.3-18, 2004.

#### 4. APRESENTAÇÃO

---

O título da presente pesquisa foi instituído com base na escassez de trabalhos da literatura que relacionam as repostas fisiologias e bioquímicas do *Ziziphus joazeiro* Mart sob deficiência hídrica. Além disso, o *Z. joazeiro* é uma espécie nativa da Caatinga, que sobrevive em ambiente árido e também apresenta importância medicinal e econômica para as regiões desse bioma, o qual é exclusivamente brasileiro e vem sendo degradado pela ação humana.

Com a formulação desse título a partir da problemática da referida espécie e os objetivos elaborados, que quatro importantes trabalhos com déficit hídrico foram originados. Os três primeiros trabalhos foram desenvolvidos em casa de vegetação com plantas jovens e o quarto trabalho estudado em campo com plantas adultas de *Z. joazeiro*. O primeiro experimento abordou a resposta das plantas no crescimento, pigmentos fotossintéticos e solutos compatíveis em que essas plantas foram submetidas a diferentes capacidades de água no pote (80%, 40% e 20% CP). No segundo trabalho, as plantas jovens de joazeiro foram submetidas a níveis decrescentes de potencial osmótico (0,0 MPa, -0,2 MPa, -0,4 MPa e -0,6 MPa) o que apresentaram respostas de mecanismos de tolerância a seca. Já no terceiro trabalho as plantas jovens foram submetidas à desidratação e reidratação surpreendendo os aspectos fotossintéticos, de relações hídricas e bioquímicas.

E por fim, a quarta e última pesquisa foi conduzida durante três anos consecutivos (2008, 2009 e 2010), nas estações secas e chuvosas que foram avaliadas as relações hídricas, a composição de *n*-alcanos da cutícula e a bioquímica de folhas de plantas adultas de *Z. joazeiro*.

#### 4.1. EXPERIMENTO I

---

**Estudo do déficit hídrico por supressão de água em mudas de *Ziziphus joazeiro* Mart. cultivadas em casa de vegetação**

---

### Resumo

O objetivo do presente trabalho foi avaliar a matéria seca, alocação de biomassa, área foliar, pigmentos fotossintéticos e solutos orgânicos em mudas de *Ziziphus joazeiro* Mart. sob déficit hídrico. O presente trabalho foi desenvolvido em casa de vegetação, do Laboratório de Fisiologia Vegetal, da Universidade Federal Rural de Pernambuco, no período de novembro de 2007 a março de 2008. As mudas propagadas sexuadamente foram transferidas para vasos de polietileno contendo 5 kg de terriço vegetal, onde passaram 20 dias para proceder a diferenciação dos tratamentos. O delineamento experimental foi em blocos ao acaso com arranjo fatorial duplo (3x2), correspondendo a três tratamentos hídricos [80% CP (capacidade de pote), 40% CP e 20% CP] com duas épocas de avaliação e quatro repetições. No final de cada época de avaliação foram determinados os solutos orgânicos (carboidratos solúveis, prolina livre, proteínas solúveis e aminoácidos livres), teores de clorofilas *a* e *b*, carotenóides e razão das clorofilas  $cl_{a}/cl_{b}$ , o potencial hídrico foliar, teor relativo de água, bem como a área foliar total, específica e razão da área foliar, a matéria seca, a alocação de biomassa e a razão raiz parte aérea. O déficit hídrico induziu maior acúmulo de carboidratos, proteínas e aminoácidos nas folhas de juazeiro. Em fase inicial do desenvolvimento em plantas de juazeiro, o déficit hídrico induz aumento na translocação de assimilados para o sistema radicular, acúmulo de açúcares, proteínas e aminoácidos solúveis nas folhas, para contribuir na manutenção do *status* hídrico da planta.

**Palavras-chave:** Juazeiro, potencial hídrico, teor relativo de água, solutos orgânicos, pigmentos fotossintéticos, matéria seca e alocação de biomassa.

**Study of drought for water suppression in seedlings of *Ziziphus joazeiro*  
Mart. grown in a greenhouse**

**Abstract**

The aim of this study was to evaluate the dry, biomass allocation, leaf area, photosynthetic pigments and organic solutes in seedlings of *Ziziphus joazeiro* Mart. under drought. This study was conducted in a greenhouse of the Laboratory of Plant Physiology, Federal Rural University of Pernambuco, in the period from November 2007 to March 2008. Seedlings propagated sexually were transferred to pots containing 5 polyethylene kg of soil, where they spent 20 days to make the distinction between the treatments. The experimental design was randomized blocks with double factorial (3x2), corresponding to three water treatments [80% CP (pot capacity), 40% CP and 20% CP] with two evaluation periods and four replications. After each evaluation time were determined organic solutes (soluble carbohydrates, free proline, soluble proteins and free amino acids), chlorophyll contents *a* and *b*, carotenoids, chlorophylls  $chl_{o_a}/chl_{o_b}$  ratio, leaf water potential, relative water content and the area total leaf, specific leaf area ratio, dry matter, biomass allocation and root shoot ratio. The water deficit induced a greater accumulation of carbohydrates, proteins and amino acids in leaves of jujube. In early development stage of jujube plants, water deficit induces an increase in translocation of assimilates to the root system, accumulation of sugars, proteins and soluble amino acids in leaves, contributing to the maintenance of plant water status.

**Keywords:** Jujube, water potential, relative water content, organic solutes, photosynthetic pigments, dry matter and biomass allocation

#### 4.1.1 Introdução

A seca não só prejudica gradualmente o crescimento, como também altera todas as reações fisiológicas e bioquímicas da planta. A deficiência hídrica reduz a área foliar e o acúmulo de biomassa na planta, devido à diminuição da assimilação de CO<sub>2</sub> por causa do fechamento dos estômatos para assim, manter os *status* hídricos da planta (SEKI et al., 2007; TARDIEU; TUBEROSA, 2010).

Plantas que utilizam mecanismos de tolerância à seca geralmente acumulam solutos orgânicos como carboidratos, prolina, aminoácidos e proteínas. O aumento da concentração de carboidratos, um dos solutos que atuam como osmoprotetor que normalmente é aumentado (SIRCELJ et al., 2005).

A prolina é um aminoácido que está correlacionado com a tolerância das plantas ao déficit hídrico. Esse soluto orgânico tem a função de proteger a integridade das proteínas, bem como atividade das enzimas para que as reações metabólicas ocorram mesmo durante o período em que as plantas estão sofrendo deficiência hídrica (SZABADOS; SAVOURÉ, 2009).

A região do Nordeste do Brasil é caracterizada climaticamente pelas irregularidades de chuvas, com baixa pluviosidade, altas temperaturas e elevada irradiância que resulta em simultâneas secas severas para a vegetação semiárida existente. O juazeiro é uma árvore xerófito que cresce naturalmente em toda vegetação da Caatinga, no semiárido do Nordeste do Brasil (*Ziziphus joazeiro* Mart.) (LORENZI, 2008). Pertencente à família Rhamnaceae é conhecida popularmente de juá e/ou juazeiro pela região onde habita. A população local a conhece como uma planta medicinal, pois é recomendada para tratamentos de doenças como bronquite e micose. Além disso, a sua casca, por apresentar-se rica em saponina, é muito usada pela comunidade local como dentifrício e também pela indústria farmacêutica na produção de xampus e creme dental. Outro aspecto dessa planta é que durante a estação seca permanece com suas folhas, as quais servem de alimento para o rebanho caprino e sombra para o gado (CARVALHO, 2007; LORENZI, 2008). Embora apresente importâncias econômicas e cológicas, essa espécie é pouco conhecida na literatura quanto ao seu comportamento fisiológico e bioquímico em situação de deficiência hídrica em fase de muda, principalmente, da sua habilidade em tolerar à seca, uma vez que permanece sempre com folhas durante o período seco. Devido a isso que o objetivo do trabalho foi de estudar o efeito do déficit hídrico nas relações hídricas, solutos orgânicos, pigmentos fotossintéticos, área

foliar, a matéria seca e na alocação de biomassa de plantas jovens de *Ziziphus joazeiro* Mart.

#### 4.1.2 Material e métodos

A pesquisa foi conduzida em casa de vegetação, do Laboratório de Fisiologia Vegetal, pertencente ao Departamento de Biologia, da Universidade Federal Rural de Pernambuco, no período de 20 de novembro de 2007 a 23 de março de 2008.

As mudas foram obtidas por meio de propagação sexuada. As unidades dispersoras (endocarpos) foram extraídas de frutos coletados de árvores matrizes na cidade de Garanhuns-PE. (Coordenadas 8° 53' 25" Sul e 36° 29' 34" Oeste), a 900 m de altura, com temperatura média anual de 20,7 °C, a uma distância de 230 km do Recife.

Os endocarpos passaram por uma quebra de dormência química com ácido sulfúrico puro por 30 e 60 minutos de acordo com a metodologia de Alves et al. (2006). Posteriormente os endocarpos foram lavados para retirar o excesso do ácido, secos a sombra e em seguida semeados em bandejas com capacidade de 17L, contendo areia lavada. Após a germinação, quando as plântulas atingiram em média três pares de folhas, foram transferidas para vasos de polietileno contendo 5kg de terriço vegetal.

A capacidade de pote do vaso foi realizada segundo a metodologia de Souza et al. (2000), com pequena modificação (água adicionada pela superfície do substrato no vaso). Para tanto, foram utilizados três vasos contendo 5 kg de substrato seco ao ar e o conteúdo de água foi adotado como a quantidade de água retida no solo após sofrer saturação e conseqüente ação da gravidade até o cessamento da drenagem.

As plantas ficaram aclimatadas por 20 dias e os recipientes foram mantidos na capacidade de pote (100% CP). As superfícies dos vasos foram cobertas com plástico branco opaco, no intuito de evitar a perda da água por evaporação do substrato, para que os níveis de água fossem mantidos. A água perdida por transpiração foi repostada diariamente através da pesagem dos vasos, de acordo com cada nível de água, utilizando uma balança de marca Filizola com capacidade para 10 kg. Após esse período procedeu-se a diferenciação dos tratamentos hídricos. O delineamento experimental foi em blocos ao acaso com arranjo fatorial duplo (3x2), correspondendo a três tratamentos hídricos [80% da CP (capacidade de pote), 40% da CP e 20% da CP] e duas épocas de avaliação com quatro repetições.

Durante o período experimental, a temperatura do ar (Tar), a umidade relativa do ar

(UR) e o déficit de pressão de vapor (DPV) no interior da casa de vegetação variaram em média de 30,4° C a 31,2 °C para o ano de 2007 e de 30,3 °C a 38 °C para o ano de 2008, de 37% a 53,4% para o anos de 2007 e de 35% a 61,5% para o ano de 2008 e de 2,0 kPa a 4,0 kPa para o ano de 2007 e de 1,66 a 4,27 kPa para o ano de 2008, respectivamente (Tabela 1).

A determinação dos teores de pigmentos fotossintéticos como as clorofilas *a* e *b* e carotenóides foi realizada a partir da maceração de 100 mg de matéria fresca de folhas em um almofariz, contendo 10 mL de álcool a 95% e, em seguida, a amostra foi centrifugada e as leituras dos teores de clorofilas *a* e *b*, bem como dos carotenóides foram realizadas nos respectivos comprimentos de onda de 664 nm, 649 nm e 470 nm, segundo o método de Lichtenthaler e Buschmann (2001). Os valores das leituras foram substituídos nas fórmulas descritas abaixo e a unidade foi expressa em miligrama por grama de folha fresca (mg.g<sup>-1</sup>MF).

$$\text{Clorofila a } (\mu\text{g/ml}) = 13,36 A_{664} - 5,19 A_{649}$$

$$\text{Clorofila b } (\mu\text{g/ml}) = 27,43 A_{649} - 8,12 A_{664}$$

$$\text{Carotenóides (x+c) } (\mu\text{g/ml}) = (1000 A_{470} - 2,13 \text{ Clo } a - 97,64 \text{ Clo } b) / 209$$

Para as análises bioquímicas foram utilizadas folhas completamente expandidas, localizadas no terço médio superior da planta. Pesou-se 1g de matéria fresca do limbo da folha, sem nervura, e macerou em almofariz com 5 mL de solução tampão fosfato de potássio 100 mM, pH 7,0 contendo EDTA a 0,1 mM. A amostra macerada foi filtrada com um tecido de musselina e centrifugada a 19975 x g por 20 min, em centrífuga refrigerada para eppendorf. O precipitado foi descartado e o sobrenadante foi utilizado como extrato para as análises dos teores de carboidratos solúveis, prolina livre, proteínas solúveis e aminoácidos livres totais.

Os carboidratos solúveis foram determinados a 490 nm, pelo método de fenol-ácido sulfúrico (DUBOIS et al., 1956) utilizando-se D-(+)-glucose como padrão. A concentração de prolina livre foi determinada a 520 nm, pelo método da ninhidrina e ácido fosfórico (BATES, 1973), utilizando-se a prolina como padrão. A determinação de proteína solúvel foi realizada a 595 nm, pelo método da ligação ao corante coomassie brilliant blue (BRADFORD, 1976), utilizando-se albumina sérica bovina como padrão. Os aminoácidos foram analisados a 570 nm, pelo método de ninhidrina (YEMM; COCKING, 1955), utilizando-se glicina como padrão.

**Tabela 1.** Valores médios, máximos e mínimos da temperatura do ar (Tar), umidade relativa do ar (UR) e déficit de pressão de vapor (DPV) durante o período experimental de dezembro de 2007 a março de 2008, em casa de vegetação.

O potencial hídrico foliar ( $\Psi_w$ ) foi avaliado ao meio dia, utilizando-se folhas

<b>Parâmetros matemáticos</b>	<b>Dezembro de 2007</b>		
	<b>Tar (°C)</b>	<b>UR (%)</b>	<b>DPV (kPa)</b>
Média	33,75	45,31	2,94
Máximo	37,20	53,43	4,02
Mínimo	30,36	37,0	2,02
	<b>Ano 2008</b>		
	<b>Janeiro</b>		
<b>Parâmetros matemáticos</b>	<b>Tar (°C)</b>	<b>UR (%)</b>	<b>DPV (kPa)</b>
Média	33,00	52,76	2,40
Máximo	35,96	61,50	3,37
Mínimo	30,3	43,12	1,66
	<b>Fevereiro</b>		
<b>Parâmetros matemáticos</b>	<b>Tar (°C)</b>	<b>UR (%)</b>	<b>DPV (kPa)</b>
Média	34,59	44,70	3,11
Máximo	37,92	52,70	4,21
Mínimo	31,30	36,1	2,16
	<b>Março</b>		
<b>Parâmetros matemáticos</b>	<b>Tar (°C)</b>	<b>UR (%)</b>	<b>DPV (kPa)</b>
Média	35,40	42,13	3,38
Máximo	38,00	51,00	4,27
Mínimo	32,16	35,00	2,36

completamente expandidas, localizadas no terço médio superior das plantas, as quais foram envolvidas em filme plástico (PVC), destacadas e colocadas em recipiente de isolante térmico devidamente refrigerado e este foi levado ao Laboratório de Fisiologia Vegetal para determinar o potencial hídrico foliar, utilizando-se a Câmara de Pressão de Scholander modelo 3035 da “Soil Moisture Equipment Corp”, Santa Bárbara, Califórnia-EUA (SCHOLANDER et al., 1965).

A determinação do teor relativo de água (TRA) foi realizada a partir da pesagem da massa fresca de folhas (MFF) coletadas às 12h (meio dia), as quais ficaram acondicionadas em placas de petri, sob imersão a 10 mL de água destilada e levadas para o refrigerador, onde passaram 24 horas no escuro a 4 °C. Após esse período, as folhas foram submetidas a uma nova pesagem para a obtenção do peso da massa túrgida (MTF) e foram acondicionadas em sacos de papel, e estes conduzidos à estufa de circulação de ar forçada a 70 °C. Por fim, quando atingiram peso constante, as folhas foram novamente pesadas para obtenção do peso

da massa seca (MSF) e os valores obtidos foram substituídos na fórmula  $TRA = [(MFF - MSF)/(MTF - MSF)] \times 100$  descrita pela metodologia de Weatherley (1950).

A área foliar foi determinada de acordo com a metodologia de Mielke et al. (1995), apresentando pequena modificação. Foram retirados de uma única planta três discos de 1 cm de folha, correspondentes as partes da plântula (apical, mediana e basal). Essas amostras frescas foram pesadas e colocadas na estufa circulação de ar forçada a 70 °C, até atingirem peso constante. Estando secas, elas foram novamente pesadas para obter os dados secos dos discos que foram calculados por uma regra de três juntamente com os dados da matéria seca das folhas para estimar a área foliar total, a área foliar específica e a razão da área foliar.

No final do experimento, as plantas foram separadas em folhas, caules e raízes, e estes órgãos acondicionados em sacos de papel foram levados à estufa de circulação de ar forçada a 70 °C, até atingirem peso constante. Os órgãos, estando já secos, foram pesados com auxílio uma balança analítica com duas casas decimais da marca Kratos – CAS, modelo ELB 300 para obter o peso da matéria seca das folhas (MSF), dos caules (MSC), das raízes (MSR) e a matéria seca total (MST). Os dados adquiridos da matéria seca dos órgãos das plantas foram utilizados para calcular a alocação de biomassa para as folhas (ABF), caules (ABC) e raízes (ABR) e a relação raiz parte aérea (R/Pa) segundo Benincasa (2003).

Os dados foram tratados pela análise de variância (ANOVA) e as médias comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade, com auxílio do programa Assisat versão 7.5.

#### **4.1.2 Resultados e discussão**

Os níveis de estresse aplicados induziram um maior acúmulo de carboidratos solúveis nas folhas, sendo mais pronunciado nas plantas sob 20% da CP, com aumentos de 87% em relação às plantas controle aos 15 DAD e de 34,4% aos 30 DAD. (Tabela 2).

O mesmo ocorreu com os teores de proteínas e aminoácidos. As plantas estressadas aumentaram significativamente os teores de proteínas, com um incremento na ordem de 205 e 150% aos 15 DAD e de 92% e 163,5% aos 30 DAD para as plantas sob 40% da CP e 20% da CP, respectivamente.

Para os aminoácidos solúveis, apenas após 30 DAD foi observado um aumento significativo nas plantas do tratamento 20% da CP em relação aos demais tratamentos (Tabela

2).

Com a redução da disponibilidade hídrica do solo, o processo de osmorregulação é logo ativado para promover a síntese de substâncias nitrogenadas e a conversão de amido a carboidratos solúveis, que são substâncias de baixo peso molecular, as quais vão se acumular nos compartimentos das células, ajudando a diminuir o potencial osmótico das células para facilitar o influxo de água pela planta (LARCHER, 2004).

O teor de carboidratos foi 47% e 26% maior nas plantas sob 20% da CP aos 15 e 30 DAD, respectivamente, quando comparadas com as de 80% da CP (Tabela 2).

Os teores de prolina livre reduziram significativamente com a redução da disponibilidade de água no solo (20% da CP) aos 15 DAD, aproximadamente 64% quando comparadas com as de 80% da CP (Tabela 2). No entanto, após 30 DAD, não houve diferença significativa entre os tratamentos.

A concentração de proteínas nas folhas foi superior em relação a todos os solutos orgânicos estudados e em todos os tratamentos. Não houve diferença significativa entre as épocas de avaliação, nem entre os tratamentos de estresse (40% da CP e 20% da CP), diferindo estas apenas das plantas controles (80% da CP) (Tabela 2).

Ao considerar cada época de avaliação, foi verificado que aos 15 DAD, as plantas do tratamento de 20% da CP diminuíram o teor de aminoácidos em 23,5% e 33,7% para as controles e 40% da CP, respectivamente. Em 30 dias de déficit hídrico houve acumulação de 56% e 12% de AA para os tratamentos de 20% da CP e 40% da CP, respectivamente, em relação às controles (Tabela 2).

Aos 30 DAD, as plantas submetidas de todos os tratamentos apresentaram um aumento considerável na concentração da clorofila *a* de 48%, 51% e 59%, em relação aos 15 DAD para os tratamentos 80, 40 e 20% da CP, respectivamente (Tabela 3). Porém, dentro de cada época os tratamentos não apresentaram diferenças entre si, cujas variações médias foram de 0,74 mg.g<sup>-1</sup> MF a 0,78 mg.g<sup>-1</sup> MF para os 15DAD e de 1,45 mg.g<sup>-1</sup> MF a 1,92 mg.g<sup>-1</sup> MF para os 30 DAD (Tabela 3).

Na clorofila *b*, as plantas sob 80%, 40% e 20% da CP apresentaram aumento de 39%, 43% e 57%, respectivamente, aos 30 DAD em relação aos 15 DAD (Tabela 3). Confrontando os tratamentos dentro de cada época, foi verificado que aos 15 DAD não houve diferença entre as plantas submetidas a 80%, 40% e 20% da CP. Sendo que para a época de 30 DAD houve diferenças com aumento significativo de 32% no teor da clorofila *b* das plantas de 20% da CP em relação ao teor das plantas de 80% da CP (Tabela 3).

Os teores de carotenóides das plantas sob 80%, 40% e 20% da CP aumentaram em 48%, 53% e 52%, respectivamente, de 15 DAD a 30 DAD (Tabela 3). No entanto, esse aumento não foi significativo entre os tratamentos de 80%, 40% e 20% da CP nas épocas de avaliação (Tabela 3).

**Tabela 2** – Teores de carboidratos solúveis, prolina livre, proteína livre e aminoácidos livres em folhas de plantas jovens de juazeiro (*Ziziphus joazeiro* Mart.) submetidas a diferentes regimes hídricos (controle) 80%, 40% e 20% da capacidade de pote (CP), aos 15 e 30 dias após a diferenciação dos tratamentos (DAD), em casa de vegetação.

Tratamentos hídricos (% da CP)	Carboidratos ( $\mu\text{mol.g}^{-1}$ MF)	Prolina ( $\mu\text{mol.g}^{-1}$ MF)	Proteínas ( $\mu\text{g.g}^{-1}$ MF)	Aminoácidos ( $\mu\text{mol.g}^{-1}$ MF)
<b>15 DAD</b>				
80%	57,62 bB	0,84 aA	1395,07 bA	12,19 aA
40%	86,32 abA	1,17 aA	4256,04 aA	14,07 aA
20%	108,16 aB	0,30 bA	3493,67 aA	9,32 aB
<b>30 DAD</b>				
80%	147,53 bA	0,80 aA	1583,81 bA	9,32 bA
40%	121,92 bA	0,73 aB	3041,05 aA	10,60 bA
20%	198,34 aA	0,47 aA	4174,45 aA	21,12 aA

Médias seguidas por letras iguais maiúsculas para as épocas de avaliação e minúsculas para os tratamentos, não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey ( $P \leq 0,05$ ).

O tempo experimental e a intensidade dos tratamentos aplicados sobre as plantas de *Z. joazeiro* não afetaram significativamente o teor relativo de água (TRA), exceto as plantas sob 40% da CP que aos 30 DAD apresentaram uma leve queda no TRA de 7,3% em relação aos 15 DAD (Tabela 4). Aos 15 DAD os tratamentos não apresentaram diferenças significativas, cujos valores médios variaram de 84,03% a 85,89%. Já aos 30 DAD, as plantas sob 40% da CP apresentaram uma redução mínima de 5,3% e 1,4% em relação às plantas de 80% e 20% da CP, respectivamente (Tabela 4).

Provavelmente, deva ter sido pelo acúmulo de solutos de carboidratos, proteínas e aminoácidos nas suas folhas ocorridos nas duas épocas (15 e 30 DAD) para que as suas células pudessem ficar mais hidratadas (Tabela 2).

Com relação aos 15 DAD foi observada uma recuperação de 66% do  $\Psi_w$  das plantas de todos os tratamentos às 4h (ante manhã) em relação às 12h (meio dia). No entanto, ao relacionar os tratamentos dentro dos horários, foi verificado que entre os horários (12h e 4h) a recuperação da hidratação nas plantas sob 80%, 40% e 20% da CP foi de 65%, 20% e 58%,

respectivamente (Tabela 5).

**Tabela 3.** Teores de clorofila *a*, *b*, razão das clorofilas *a* e *b* e carotenóides em folhas de plantas jovens de *Ziziphus joazeiro* Mart. submetidas a diferentes regimes hídricos (controle) 80%, 40% e 20% da capacidade de pote (CP), aos 15 e 30 dias após a diferenciação dos tratamentos (DAD), em casa de vegetação.

Tratamentos (% da CP)	Clorofila <i>a</i> (mg.g <sup>-1</sup> MF)	
	15 DAD	30 DAD
80%	0,75 aB	1,45 aA
40%	0,75 aB	1,53 aA
20%	0,78 aB	1,92 aA
	Clorofila <i>b</i> (mg.g <sup>-1</sup> MF)	
	15 DAD	30 DAD
80%	0,47 aB	0,77 bA
40%	0,48 aB	0,84 abA
20%	0,49 aB	1,13 aA
	Carotenóides (µg.g <sup>-1</sup> MF)	
	15 DAD	30 DAD
80%	65,62 aB	127,48 aA
40%	67,16 aB	142,64 aA
20%	73,63 aB	153,94 aA
	Razão das clorofilas <i>a/b</i>	
	15 DAD	30 DAD
80%	1,61 aB	1,90 aA
40%	1,60 aB	1,82 aA
20%	1,60 aA	1,71 aA

Médias seguidas por letras iguais maiúsculas para as épocas de avaliação e minúsculas para os tratamentos, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ( $P \leq 0,05$ ).

Com relação aos 15 DAD foi observada uma recuperação de 66% do  $\Psi_w$  das plantas de todos os tratamentos às 4h (ante manhã) em relação às 12h (meio dia). No entanto, ao relacionar os tratamentos dentro dos horários, foi verificado que entre os horários (12h e 4h) a recuperação da hidratação nas plantas sob 80%, 40% e 20% da CP foi de 65%, 20% e 58%, respectivamente (Tabela 5).

De forma semelhante aos 15 DAD, nos 30 DAD a recuperação foi a mesma apresentando 58% para as plantas de 20% da CP, já nas plantas sob 40% a hidratação ainda foi 53%, ou seja, um pouco maior quando comparada com a de 15 DAD (Tabela 5).

Nos 15 DAD, ao relacionar os tratamentos entre si diante de cada horário, foi verificado que às 12h (meio dia) as plantas sob 40% e 20% da CP apresentaram  $\Psi_w$

significativamente 19% e 20% mais negativos do que as plantas de 80% da CP. Todavia, ainda que essas plantas dos tratamentos de 40 e 20% da CP apresentassem certa hidratação às 4h (ante manhã), elas permaneciam em 33% e 34%, respectivamente, inferiores ao  $\Psi_w$  das plantas sob 80% da CP (Tabela 5). Nos 30 DAD, para o horário das 12 (meio dia) as plantas sob 40% e 20% da CP apresentaram resultados semelhantes aos  $\Psi_w$  das 12 h de 15 DAD (Tabela 5).

**Tabela 4.** Teor relativo de água (TRA) em folhas de plantas jovens de *Ziziphus joazeiro* Mart. submetidas a diferentes regimes hídricos (controle) 80%, 40% e 20% da capacidade de pote (CP), aos 15 e 30 dias após a diferenciação dos tratamentos (DAD), em casa de vegetação.

Tratamentos (% da CP)	TRA (%)	
	15 DAD	30 DAD
80%	84,03 aA	84,11 aA
40%	85,89 aA	79,60 aB
20%	84, 89 aA	80,75 aA

Médias seguidas por letras iguais maiúsculas para as épocas de avaliação e minúsculas para os tratamentos, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ( $P \leq 0,05$ ).

A redução nos valores do  $\Psi_w$  ao meio-dia (Tabela 5) pode estar relacionada ao acúmulo de solutos orgânicos, principalmente carboidratos nas folhas, como observado na tabela 2 que favorece o influxo de água nas suas células e assim manutenção da hidratação dos tecidos, uma vez que o TRA não foi reduzido neste horário (Tabela 5).

A área foliar é um fator da produção de matéria seca muito importante, pois está relacionada com o uso da água pelas plantas e do seu potencial hídrico frente à severidade do déficit hídrico (SANTOS; CARLESSO, 1998; SILVA; NOGUEIRA, 2003).

A área foliar foi reduzida significativamente em todos os tratamentos de déficit hídrico aos 15 dias, com maiores decréscimos nas plantas cultivadas sob 20% da CP e após 30 DAD apenas no tratamento mais severo (Tabela 6).

Segundo Xu e Zhou (2008) há plantas que diminuem a área foliar e o crescimento, logo que sentem o efeito do déficit hídrico.

Silva e Nogueira (2003) também constataram que o déficit hídrico reduziu em 13% a área foliar de quatro espécies lenhosas da Caatinga quando foram submetidas a 50% da CP.

Entre as épocas de avaliação foi observada aos 30 dias após a diferenciação dos tratamentos (DAD) uma redução significativa da AFT nas plantas de 80% da CP. Mas as

plantas de 40% e 20% da CP não apresentaram diferença entre as épocas de avaliação (Tabela 6).

**Tabela 5.** Potencial hídrico foliar ( $\Psi_w$ ) de plantas jovens de *Ziziphus joazeiro* Mart. submetidas a diferentes regimes hídricos (controle) 80%, 40% e 20% da capacidade de pote (CP), aos 15 e 30 dias após a diferenciação dos tratamentos (DAD), em casa de vegetação.

Tratamentos (% da CP)	$\Psi_w$ (MPa)			
	15 DAD		30 DAD	
	12 h	4h	12 h	4h
80%	- 2,01 aB	- 0,69 aA	- 1,91 aB	- 0,78 aA
40%	- 2,48 bB	- 1,03 aA	- 2,29 bB	- 1,06 aA
20%	- 2,52 bB	- 1,05 aA	- 3,18 bB	- 1,32 aA

Médias seguidas por letras iguais maiúsculas para as épocas de avaliação e minúsculas para os tratamentos, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ( $P \leq 0,05$ ).

Ao relacionar os tratamentos dentro de cada época, observa-se que aos 15 DAD, a AFT das plantas de 40% da CP e 20% da CP foi 2,4 vezes e 8 vezes, respectivamente, menor do que a AFT das plantas de 80% da CP (Tabela 6). Já na época de 30 DAD, apesar de não haver diferença estatística entre os tratamentos de 40% e 20% da CP, e nem entre os tratamentos de 40 e 80% da CP, porém, as plantas de 20% da CP apresentaram 3 vezes menor a AFT quando comparadas com a das plantas de 80% da CP (Tabela 6).

Rao et al. (2008) também observaram em seu estudo que à medida que prolongava o déficit hídrico diminuía a área foliar nas plantas de *Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit (leucena).

Plantas que se desenvolvem sob condições de deficiência hídrica geralmente apresentam folhas pequenas e também uma menor área foliar específica (LARCHER, 2004).

A duração do déficit hídrico por um tempo maior fez com que as plantas submetidas a 80%, 40% e 20% da CP reduzissem a AFE em 66%, 62% e 34%, respectivamente (Tabela 6). Dentro de cada época, observou-se que aos 15 DAD não apresentou diferença estatística entre os tratamentos de 40% e 20% da CP, porém estes, quando comparados com as plantas de 80% da CP houve diferença apresentando uma diminuição de 32% e 50%, respectivamente (Tabela 6). Mas aos 30 DAD a AFE não diferenciou estatisticamente entre os tratamentos (Tabela 6). A RAF também foi afetada pela duração do déficit hídrico, e ao relacionar as duas épocas (15

e 30 DAD), verificou-se que as plantas sob 80%, 40% e 20% da CP apresentaram reduções significativas de 78%, 67% e 39%, respectivamente (Tabela 6).

Plantas que utilizam menor área foliar para produzir uma mesma quantidade de matéria seca sob déficit hídrico apresentam maior eficiência foliar (NOGUEIRA, 1997). Todavia, no presente trabalho, comparando os tratamentos dentro da época de 15 DAD, verificaram-se nas plantas de 40% e 20% da CP reduções de 45% e 61%, respectivamente. Já na época de 30 DAD não houve diferença significativa entre os tratamentos (Tabela 2). Silva e Nogueira (2003) também observaram reduções da RAF que atingiu 22% nas plantas de *Prosopis juliflora* (Swartz) DC (algaroba) sob deficiência hídrica de 50% da CP.

**Tabela 6.** Área foliar total (AFT), área foliar específica (AFE) e razão de área foliar (RAF) em plantas jovens de *Ziziphus joazeiro* Mart. submetidas a diferentes regimes hídricos (controle) 80%, 40% e 20% da capacidade de pote (CP), aos 15 e 30 dias após a diferenciação dos tratamentos (DAD), em casa de vegetação.

Tratamentos (% da CP)	AFT (cm <sup>2</sup> )	
	15 DAD	30 DAD
80%	1667,58 aA	891,09 aB
40%	589,49 bA	322,34 abA
20%	207,11 bA	299,98 bA
	AFE (cm <sup>2</sup> .g <sup>-1</sup> MSF)	
	15 DAD	30 DAD
80%	257,50 aA	86,22 aB
40%	173,98 bA	66,14 aB
20%	129,81 bA	85,73 aA
	RAF (cm <sup>2</sup> .g <sup>-1</sup> MST)	
	15 DAD	30 DAD
80%	110,77 aA	23,72 aB
40%	60,25 bA	19,63 aB
20%	42,78 bA	26,20 aA

Médias seguidas por letras iguais maiúsculas para as épocas de avaliação e minúsculas para os tratamentos, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ( $P \leq 0,05$ ).

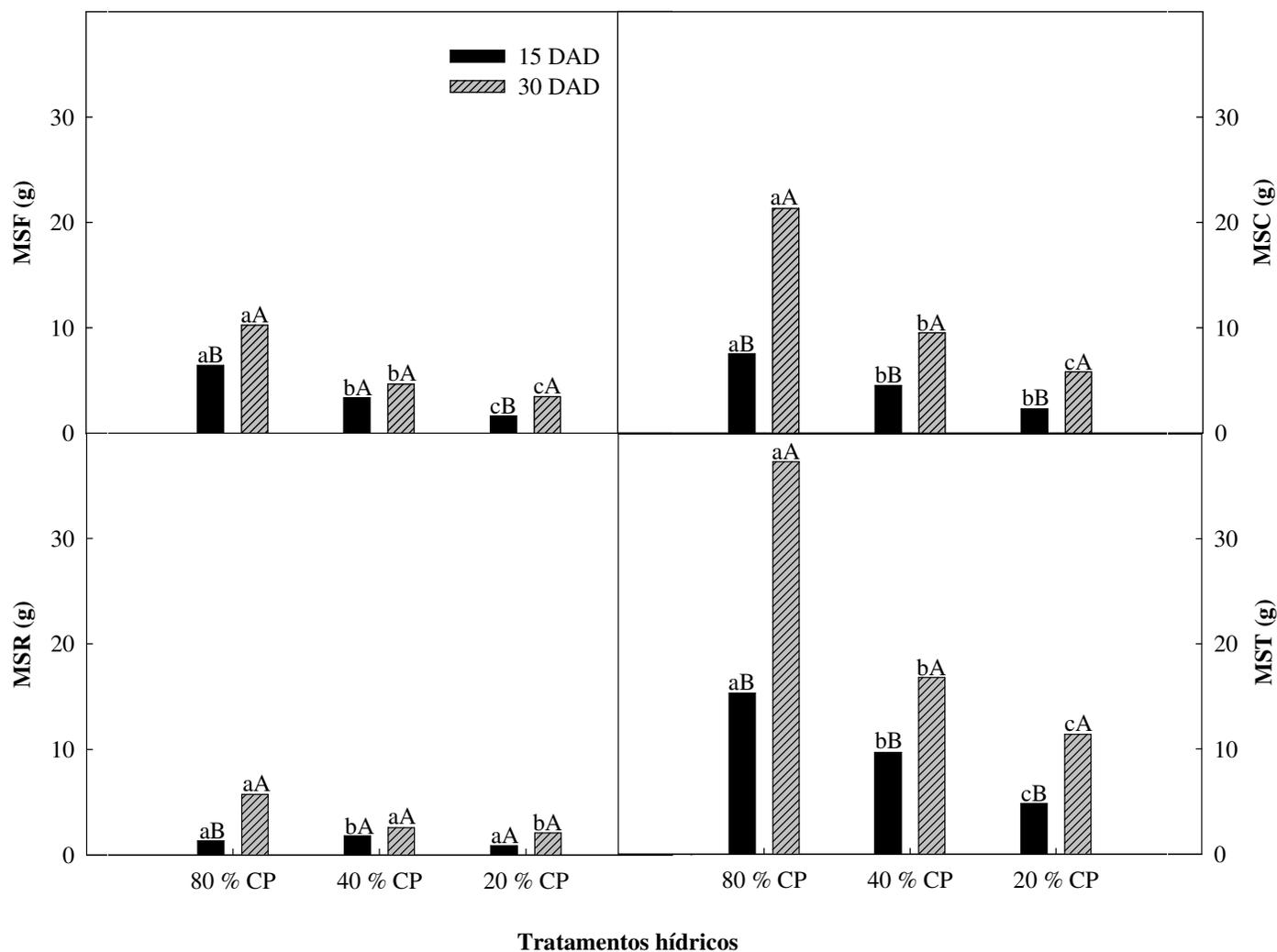
Nas duas épocas de avaliação houve diferença significativa na MSF, MSC e MST, tanto nas plantas sob 40% da CP quanto nas de 20% da CP, as quais reduziram cerca de 48% e 54% (40% da CP) e 71% e 68% (20% da CP) para a MSF, 40% e 55% (40% da CP) e 68% e 74% (20% da CP) para a MSC e de 37% e 55% (40% da CP) e 66% e 71% (20% da CP) para a MST, em relação às plantas de 80% da CP, respectivamente aos 15 e 30 DAD (Figura 1).

Na matéria seca da raiz (MSR), as plantas sob 40% e 20% da CP apresentaram aumento significativo de aproximadamente 26% aos 15 dias. No entanto, aos 30 dias reduziram cerca de 55% e 66%, respectivamente, em relação às plantas sob 80% da CP (Figura 1). Para a matéria seca da raiz (MSR), embora não tenha havido diferença significativa entre as épocas de avaliação, houve entre o tratamento mais severo e o controle. Semelhante ao presente trabalho, Figueirôa et al. (2004) observaram que não houve diferença significativa na matéria seca da raiz em plantas de *Myracrodruon urundeuva* Allemão sob 75%, 50% e 25% da capacidade de pote, após 30 dias de estresse.

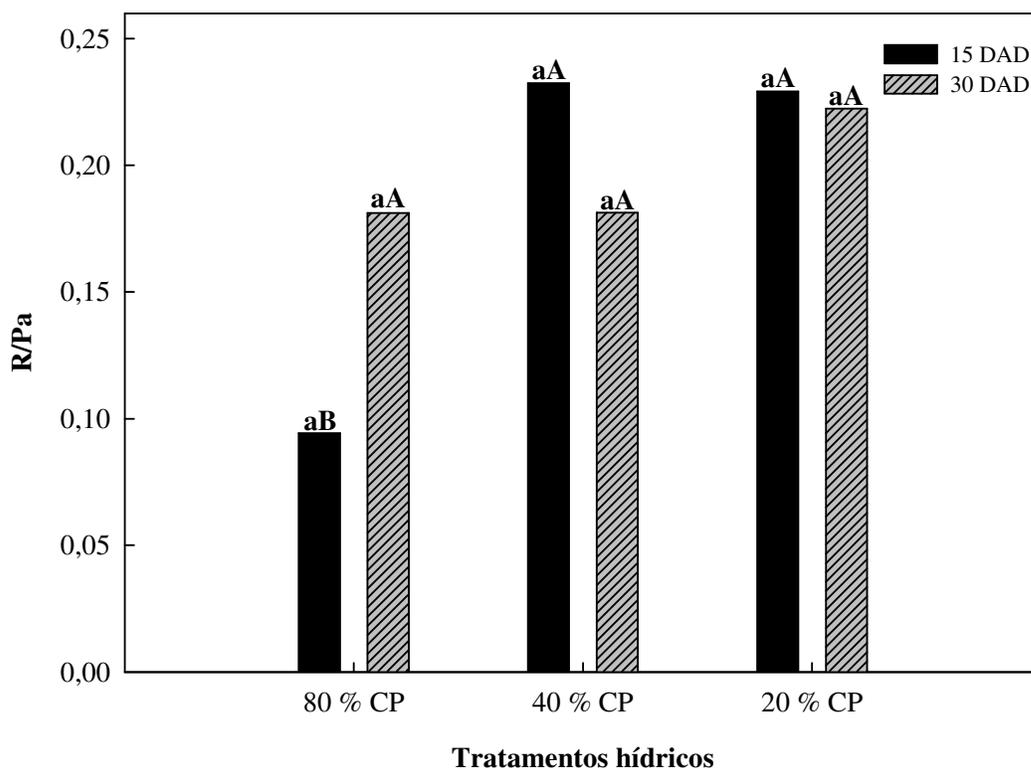
Silva et al. (2008) também não observaram diferenças significativas para as MSR e MST de plantas de *Schinus terebinthifolius* Raddi submetidas aos regimes hídricos de 100%, 75%, 50% e 25% da CP.

Com relação à razão raiz parte aérea (R/Pa), as plantas submetidas ao déficit hídrico apresentaram uma maior R/Pa aos 15 dias em relação ao controle (80% da CP). Com o prolongamento do período experimental, essa razão aumentou também nas plantas sob 80% da CP, não diferindo dos demais tratamentos aos 30 DAD (Figura 2).

Semelhantemente ao observado no presente trabalho, Figueirôa et al. (2004) também verificaram que R/PA não diferiu estatisticamente para todos os tratamentos hídricos (25, 50 e 75% da CP) aplicados em plantas de *Myracrodruon urundeuva* Allemão nas épocas de avaliação aos 30 e 60 dias.



**Figura 1** - Matéria seca das folhas (MSF), dos caules (MSC), das raízes (MSR) e matéria seca total (MST) em plantas jovens de juazeiro (*Ziziphus joazeiro* Mart.) submetidas a diferentes regimes hídricos (controle) 80%, 40% e 20% da capacidade de pote (CP), aos 15 e 30 dias após a diferenciação dos tratamentos (DAD). Médias seguidas por letras iguais maiúsculas para as épocas de avaliação e minúsculas para tratamentos, não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey ( $P \leq 0,05$ ).



**Figura 2** - Razão raiz parte aérea (R/Pa) em plantas jovens de juazeiro (*Ziziphus joazeiro* Mart.) submetidas a diferentes regimes hídricos (controle) 80%, 40% e 20% da capacidade de pote (CP), aos 15 e 30 dias após a diferenciação dos tratamentos (DAD). Médias seguidas por letras iguais maiúsculas para épocas de avaliação e minúsculas para tratamentos, não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey ( $P \leq 0,05$ ).

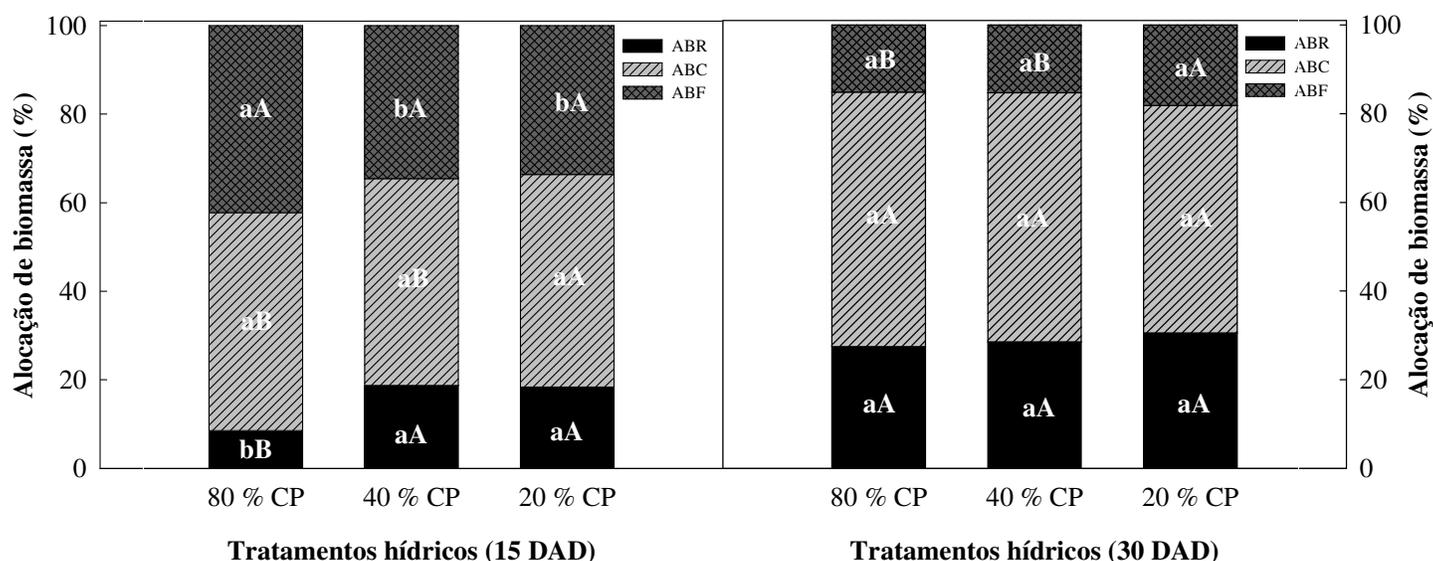
De uma forma geral, *Z. joazeiro* alocou mais fotoassimilados para a parte aérea do que para a raiz na fase inicial do crescimento. No entanto, a diferença entre a ABF e ABC entre os tratamentos não foi significativa. Já para ABR, aos 15 dias houve diferença significativa, com maiores valores observados nos tratamentos 40% e 20% da CP, com aumento de 54% e a 55%, respectivamente, em relação às plantas cultivadas com 80% da CP (Figura 3). Esse resultado demonstra uma mudança no padrão de partição de fotoassimilados na fase inicial do estresse, denotando um ajustamento inicial da planta às condições de déficit hídrico impostas. Segundo Taiz e Zeiger (2009) à medida que a superfície do solo vai dessecando, onde se encontra o sistema radicular das plantas, estas têm que prolongar as suas raízes para absorver água nas zonas mais profundas do solo. Portanto, para que isso ocorra é necessário haver translocação

de fotoassimilados para os ápices das raízes em crescimento.

Com o prolongamento do período experimental, verifica-se que aos 30 DAD não houve diferença significativa nas alocações de biomassa para todos os órgãos das plantas de todos os regimes hídricos, cujas variações médias foram de 62,60% a 73,06% (ABF), de 51,36% a 57,34% (ABC) e de 15,16% a 18,06% (ABR) (Figura 3).

Provavelmente, após 30 dias sob déficit hídrico, as plantas de *Ziziphus joazeiro* Mart. conseguiram se ajustar a restrição de água, demonstrando plasticidade fisiológica

Silva et al. (2008) também não verificaram diferença significativa entre os tratamentos para alocação de biomassa para as folhas (ABF), para os caules (ABC) e para as raízes (ABR).



**Figura 3** - Alocação de biomassa para folhas (ABF), para caules (ABC) e para as raízes (ABR) em plantas jovens de juazeiro (*Ziziphus joazeiro* Mart.) submetidas a diferentes regimes hídricos (controle) 80%, 40% e 20% da capacidade de pote (CP), aos 15 e 30 dias após a diferenciação dos tratamentos (DAD). Médias seguidas por letras iguais maiúsculas para as épocas de avaliação e minúsculas para os tratamentos, não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey ( $P \leq 0,05$ ).

#### 4.1.4 Conclusão

O déficit hídrico na fase inicial do desenvolvimento do juazeiro induz a um aumento na translocação de assimilados para o sistema radicular, acúmulo de açúcares, proteínas e

aminoácidos solúveis nas folhas, o que contribui para a manutenção do estatus hídrico na planta. Provavelmente a prolina deve agir na osmoproteção dessa espécie, no entanto não deve ser considerado um soluto que participe da osmorregulação em resposta a seca.

#### 4.1.5 Referências bibliográficas

ALVES, E.U. et al. Ácido Sulfúrico na superação da dormência de unidades de dispersão de juazeiro (*Ziziphus joazeiro* Mart.). **Revista Árvore**, v.30, n.2, p.187-195, 2006.

BATES, L.S. Rapid determination of free proline for water-stress studies. Short communication. **Plant and Soil** 39: 205-207. 1973.

BENINCASA, M.M.P. **Análise de crescimento de plantas**. 1. ed. Jaboticabal: FUNEP, 2003.42 p.

BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, v.72, p. 248-254, 1976.

CARVALHO, P. E. R. **Juazeiro: *Ziziphus joazeiro***. Novembro, Embrapa, 2007. 8p. (Circular técnica, 139).

DUBOIS, M. et al. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. **Analytical Chemistry**, v. 28, p. 350-356, 1956.

FIGUEIRÔA, J. M.; BARBOSA, D. C. A.; SIMABUKURO, E. A. Crescimento de plantas jovens de *Myracrodruon urundeuva* Allemão (Anacardiaceae) sob diferentes regimes hídricos. **Acta botânica brasílica**, v. 18, n. 3, p. 573-580, 2004.

LARCHER, W. **Ecofisiologia vegetal**. São Carlos – SP: Rima, 2004. 531p.

LICHTENTHALER, H.K.; BUSCHMANN, C. **Current Protocols in Food Analytical Chemistry**, F4.3.1-F4.3.8, 2001.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras: Manual de identificação e cultivo de plantas**

**arbóreas nativas do Brasil**. 5. Ed. v.1. São Paulo: Plantarum, 384p. 2008

MIELKE, M. S. et al. Comparação de métodos de laboratório e de campo para a estimativa da área foliar em fruteiras silvestres. **Scientia agricola**, Piracicaba, v. 52, n. 1, p. 82-88, 1995.

NOGUEIRA, R.J.M.C. **Expressões Fisiológicas da Acerola (*Malpighia emarginata* d.C.) sob Condições Adversas**. 1997. 205f. Tese (Doutorado em Ecologia e Recursos Naturais) - Universidade Federal de São Carlos, São Paulo.

RAO, P.B.; KAUR, A; TEWAR, A. Drought resistance in seedlings of five important tree species in Tarai region of Uttarakhand. **Tropical Ecology**, v.49, n.1, p. 43-52, 2008.

SANTOS, R.F.; CARLESSO, R. Déficit hídrico e os processos morfológico e fisiológico das plantas. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Paraíba, v.2, n.3, p.287-294. 1998.

SCHOLANDER, P.F. et al. Hydrostatic pressure and osmotic potentials in leaves of mangroves and some other plants. **Proceedings of National Academy Science**, v. 51, p. 119-125, 1965.

SEKI, M. et al. Regulatory metabolic networks in drought stress responses. **Current Opinion in Plant biology**, v. 10, p. 296-302, 2007.

SILVA, E. C.; NOGUEIRA, R. J. M. C. Crescimento de quatro espécies lenhosas cultivadas sob estresse hídrico em casa de vegetação. **Revista Ceres**, v. 50 n.288, p. 203-217, 2003.

SILVA, M. A. et al. Resposta estomática e produção de matéria seca em plantas jovens de aroeira submetidas a diferentes regimes hídricos. **Revista Árvore**, v.32, n. 2, p. 335-344, 2008.

SIRCELJA, H. et al. Biochemical responses in leaves of two apple tree cultivars subjected to progressing drought. **Journal of Plant Physiology**, v. 162, p.1308-1318. 2005.

SOUZA, C. C. et al. Avaliação de métodos de determinação de água disponível e manejo da irrigação em terra roxa sob cultivo de algodoeiro herbáceo. **Revista Brasileira de Engenharia Agrária e Ambiental**, v.4, n. 3, p.338-342. 2000.

SZABADOS, L.; SAVOURÉ, A. Prolina: a multifunctional amino acid. Review. **Trends in Plants Science**, v. 15, n. 2, p 89-97, 2009.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. 4 ed. Porto Alegre: Artmed, 2009. 848p.

TARDIEU, F.; TUBEROSA, R. Dissection and modellinh of abiotic stress tolerance in plants. **Current Opinion in Plant biology**, v. 13, p. 206-212, 2010.

WEATHERLEY, P. E. Studies in the water relations of the cotton plant. I. The field measurement of water deficits in leaves. **New Phytologist**, n. 49, p. 81-97. 1950.

XU, Z.; ZHOU, G. Responses of leaf stomatal density to water status and its relationship with photosynthesis in a grass. **Journal of Experimental Botany**, v. 59, n. 12, p. 3317-3325, 2008.

YEMM E. W.; COCKING, E. C. Determination of amino acids with ninhydrin. **Analyst**, v. 80, p. 209 – 213, 1955.

#### **4.2 EXPERIMENTO II**

---

**Déficit hídrico induzido pelo polietilenoglicol 6000 em mudas de *Ziziphus joazeiro* Mart. cultivadas em casa de vegetação**

---

### Resumo

O trabalho teve o objetivo de avaliar trocas gasosas, potencial hídrico foliar, teor relativo de água, área foliar, pigmentos fotossintéticos e solutos orgânicos de mudas de juazeiro sob déficit hídrico induzido pelo PEG 6000. A pesquisa foi desenvolvida em casa de vegetação, utilizando mudas que foram mantidas em recipientes aerados contendo solução nutritiva de Arnon e Haugland a ½ força. O delineamento foi inteiramente casualizado apresentando quatro potenciais osmóticos: 0,0 (controle); -0,2; -0,4 e -0,6 MPa, com quatro repetições. Foram avaliadas a transpiração (E) e a resistência difusiva (Rs), determinados o potencial hídrico foliar ( $\Psi_w$ ) e o teor relativo de água (TRA) às 12h, bem como a área foliar, os teores de clorofila *a*, *b* e coratenóides, a razão das clorofilas *a/b*, carboidratos solúveis, prolina livres, proteínas solúveis e aminoácidos livres. A E e a Rs apresentaram diferenças significativas tanto nos tratamentos quanto nas épocas de avaliação. Com apenas 24 horas após aplicação dos tratamentos, plantas sob -0,4 MPa e -0,6 MPa fecharam os estômatos, o que fez aumentar Rs nas de -0,4 MPa e -0,6 MPa em 10 e 5 vezes em relação as controles. O déficit afetou de forma significativa as reduções do potencial hídrico e do teor relativo de água nas plantas submetidas a -0,4 MPa de PEG 6000. O estresse também afetou as reações do metabolismo das plantas -0,4MPa e -0,6MPa induzindo uma síntese maior de carboidratos, prolina, proteínas e aminoácidos em suas células. Os resultados sugerem que plantas submetidas à níveis de potenciais osmóticos inferiores a - 0,2 MPa respondem ao estresse com o uso de mecanismos de alto potencial hídrico e de baixo potencial hídrico.

**Palavras-chave:** PEG 6000, trocas gasosas, potencial hídrico, teor relativos de água e solutos orgânicos

**Water deficit induced by polyethylene glycol 6000 on seedlings of  
*Ziziphus joazeiro* Mart. grown in a greenhouse**

**Abstract**

The study aimed to evaluate gas exchange, leaf water potential, relative water content, leaf area, photosynthetic pigments and organic solutes in *juazeiro* seedlings under water deficit induced by PEG 6000. The research was conducted in a greenhouse, using seedlings that were kept in containers containing aerated nutrient solution and Arnon Haugland to ½ strength. The completely randomized design featuring four osmotic potential: 0.0 (control), -0.2, -0.4 and -0.6 MPa, with four replications. The transpiration (E), diffusive resistance (Rs) and specific leaf water potential ( $\Psi_w$ ) and relative water content (RWC) at 12 and the leaf area, chlorophyll content, a, b carotenoids the ratio of chlorophyll a/b, soluble carbohydrates, free proline, soluble proteins and free amino acids. AE Rs and showed significant differences both in treatment and in the evaluation times. With just 24 hours after treatment, plants at -0.4 MPa and -0.6 MPa closed their stomata, which increased from Rs at -0.4 MPa and -0.6 MPa at 10 and 5 times in for the controls. The deficit significantly affected the reductions water potential and relative water content in plants exposed to -0.4 MPa PEG 6000. Stress also affected the responses of plant metabolism -0.4 MPa and -0.6 MPa induced a greater synthesis of carbohydrates, proline, proteins and amino acids in their cells. The results suggest that plants exposed to levels of osmotic potential below - 0.2 MPa respond to stress with the use of mechanisms of high water potential and low water potential.

**Key words:** PEG 6000, gas exchange, water potential, relative water content and organic solutes.

#### 4.2.1 Introdução

A seca é um dos fatores climáticos de maior importância, pois chega a limitar o crescimento, o desenvolvimento e conseqüentemente a produtividade de espécies vegetais no mundo (REGIER et al., 2009).

Os efeitos da seca sobre o desenvolvimento dos vegetais dependem da intensidade, da duração do estresse, da fenologia e genética da planta, podendo provocar diversas alterações morfofisiológicas, tais como a diminuição da turgescência e redução no tamanho das folhas e o fechamento dos estômatos nos horários mais quentes do dia (LARCHER, 2004; PIMENTEL, 2004).

As plantas que habitam regiões de clima predominantemente semi-árido, respondem ao déficit hídrico de diversas formas para se ajustarem às condições de estresse, com o desenvolvimento de estratégias classificadas como mecanismos de escape ou de tolerância à seca (ARAÚJO, 2005). O primeiro consiste em escapar à seca através de um ciclo de vida mais curto concentrado no único período chuvoso e a formação de um banco de sementes; o segundo pode ocorrer de duas maneiras: as plantas podem tolerar a seca reduzindo o potencial hídrico interno das suas células, através do acúmulo de solutos compatíveis que favorecem a absorção de água do solo, ou fechar os estômatos nos horários de maior demanda evaporativa para manter o status hídrico (TURNER, 1978; NOGUEIRA et al., 2005).

A primeira linha de defesa ao déficit hídrico é o fechamento estomático, uma vez que a resistência difusiva ao vapor de água reduz a transpiração. No entanto, se essa situação se estende, acarretará prejuízo na capacidade fotossintética, limitando assim a entrada de CO<sub>2</sub> na planta (NOGUEIRA et al., 1998b, NOGUEIRA e SILVA, 2002). A segunda linha de defesa é a redução do potencial hídrico foliar que pode ocorrer devido ao acúmulo de solutos compatíveis que contribuem para o ajustamento osmótico da planta favorecendo a hidratação dos tecidos e a manutenção do metabolismo da mesma (LARCHER, 2004).

O ajustamento osmótico é um mecanismo fisiológico de grande importância para a manutenção da turgescência celular (LIMA FILHO et al., 1992). Ele ocorre devido ao acúmulo de íons inorgânicos e solutos orgânicos de baixa massa molecular, como carboidratos solúveis, prolínas livres, proteínas e aminoácidos livres totais que a planta

pode sintetizar ou degradar quando em situação de déficit hídrico (NEPOMUCENO, 2001).

O uso do Polietileno glicol (PEG) 6000 como indutor do déficit hídrico é atribuído pela sua simples manipulação que permite o estudo de populações maiores de plantas em um espaço limitado por um período curto de tempo. Como simulador de déficit hídrico, o PEG é uma substância não iônica, de cadeia longa, de alto peso molecular e que por ser um polímero inerte também é um agente não penetrante no vegetal que diminui o potencial hídrico a valores semelhantes ao potencial hídrico do solo seco (NEPOMUCENO et al., 1998; SAKTHIVELU et al., 2008).

O *Z. joazeiro* é uma planta medicinal, rica em saponina, muito usada pela população local como expectorante no combate a bronquite e pela indústria farmacêutica na fabricação de xampus e dentifrício. Além disso, o juazeiro serve de alimento para o rebanho caprino durante a estação seca por apresentar-se sempre com folhas. (CARVALHO, 2007; LORENZI, 2008). Embora apresente uma grande importância econômica, pouco se conhece sobre o seu comportamento fisiológico e bioquímico em situação de deficiência hídrica, principalmente, da sua habilidade em tolerar à seca, uma vez que na literatura dispõe de escassos trabalhos de déficit hídrico dessa espécie em fase de muda. Diante do exposto, o objetivo da pesquisa foi de avaliar as trocas gasosas, as relações hídricas, acúmulo de solutos orgânicos, a área foliar e pigmentos fotossintéticos de plantas jovens de *Ziziphus joazeiro* Mart. sob déficit hídrico.

#### **4.2.2 Material e métodos**

O presente trabalho foi desenvolvido em casa de vegetação, do Laboratório de Fisiologia Vegetal, pertencente ao Departamento de Biologia, da Universidade Federal Rural de Pernambuco, no período de 16 de novembro de 2008 a 23 de abril de 2009.

As mudas foram obtidas por meio de propagação sexuada. As sementes foram retiradas das unidades dispersoras (endocarpos), extraídas de frutos coletados de árvores matrizes da Estação Experimental São Bento do Una, base física do Instituto Agrônomo de Pernambuco (IPA) – PE. Com coordenadas 08° 31'S e 36° 36' W, a 650 m de altura, a referida estação encontra-se no Agreste Meridional pernambucano a 196 km do Recife (NASCIMENTO et al., 2003).

No sentido de facilitar a germinação, os endocarpos foram quebrados e, deles foram retiradas as sementes, das quais, 500 sementes foram selecionadas quanto à sanidade. Posteriormente, essas sementes foram hidratadas com água por uma hora e semeadas em bandejas com capacidade de seis quilos de uma mistura de terriço vegetal e vermiculita grossa com base na metodologia de Muniz-Brito e Ayala-Osuna (2005). Do total de sementes semeadas, 19 germinaram e se estabeleceram na forma de muda. Quando essas plântulas atingiram em média nove centímetros de altura e cinco folhas foram transferidas para recipientes recicláveis (garrafas pet) com capacidade 1700 mL, devidamente envolvidos com papel alumínio, o qual impede a entrada de radiação luminosa na solução, evitando assim, a proliferação de algas e, por conseguinte, a competição por nutrientes presentes e a rápida acidificação do meio líquido (solução).

As plântulas mantiveram-se naqueles recipientes aerados com auxílio de compressores de ar, contendo solução nutritiva de Hoagland e Arnon (HOAGLAND; ARNON, 1950) a ½ força, ou seja, 850 mL de Hoagland e Arnon mais o adição de 850 ml de água destilada, o que fez o total de 1700 mL, correspondente a capacidade do recipiente. A condutividade elétrica da solução de Hoagland e Arnon a uma força foi de 1384  $\mu\text{S}/\text{cm}$  e o pH foi de 4,38; já para a solução de Hoagland e Arnon a ½ força, a condutividade elétrica apresentou 1267 $\mu\text{S}/\text{cm}$  de condutividade elétrica e pH de 4,58.

Essa solução de Hoagland e Arnon a ½ força era renovada a cada sete dias mediante os procedimentos descritos anteriormente. Sendo que essa renovação se repetiu quatro vezes, equivalendo-se a 30 dias, período em que as mudas de *Z. joazeiro* passaram a se aclimatar.

Para calcular a quantidade exata de PEG 6000, correspondente aos diferentes potenciais osmóticos, com base na metodologia de Villela et al. (1991) foi necessário, previamente, realizar um curso diário de hora em hora da temperatura da água por um termômetro inserido no interior do recipiente (garrafa pet) de 1700 mL, hermeticamente fechado com isopor, contendo água destilada. O resultado da temperatura média da água dentro do recipiente em casa de vegetação foi de 32,4 °C.

Ao adicionar às soluções de Hoagland e Arnon de ½ força a quantidade de PEG 6000 correspondente a cada tratamento, contidas nos recipientes, precisou ser fracionada a 1/5, para não provocar choque osmótico nas plantas e estas não virem a morrer. Para

tanto, durante cinco dias foi adicionada e totalmente dissolvida 1/5 da quantidade total de PEG 6000 correspondente a cada tratamento osmótico a solução de cada recipiente. Depois de 24 horas, quando os potenciais osmóticos atingiram os correspondentes níveis osmóticos, iniciaram as avaliações de trocas gasosas diariamente até os estômatos fecharem.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com quatro potenciais osmóticos: 0,0 MPa (controle); -0,2; -0,4 e -0,6 MPa, e quatro repetições. As avaliações de trocas gasosas, como a transpiração (E), a resistência difusiva (Rs) e a temperatura foliar (Tf) foram mensuradas diariamente, às 11 horas, no horário de maior demanda evaporativa, verificada previamente por meio de um curso diário, em folhas completamente expandidas, localizadas no terço médio das plantas, utilizando o Porômetro de Equilíbrio Dinâmico da LICOR (modelo LI – 1600). De forma simultânea, também foram registradas a umidade relativa do ar (UR), a temperatura do ar (Tar) e a radiação fotossinteticamente ativa (PAR) por meio de um sensor quântico acoplado ao mesmo Porômetro. O DPV também foi calculado a partir dos dados de Tar e da UR para obter o déficit de pressão de vapor do ar (DPV), segundo o método de Vianello e Alves (1991).

Durante o período experimental, a radiação fotossinteticamente ativa (PAR), a umidade relativa do ar (UR), a temperatura do ar (Tar) e o déficit de pressão de vapor (DPV) variaram em média de 249  $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$  a 842  $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ , de 46,5% a 71,6%, de 30°C a 36,5°C e de 1,3 kPa a 8,5 kPa, respectivamente (Tabela 1).

**Tabela 1.** Valores médios da temperatura do ar (Tar), umidade relativa do ar (UR), radiação fotossinteticamente ativa (PAR) e déficit hídrico de vapor (DPV) durante o período experimental em casa de vegetação. Médias e desvios padrão.

Dias após tratamento	Tar (°C)	UR (%)	PAR ( $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ )	DPV (kPa)
1	36,3 ± 0,5	51,7 ± 3,8	757 ± 297	3,2 ± 0,6
2	36,5 ± 0,8	46,5 ± 4,0	842 ± 209	3,5 ± 0,8
3	35,9 ± 1,0	53,0 ± 5,0	587 ± 416	2,9 ± 0,2
4	33,2 ± 1,2	63,2 ± 6,5	396 ± 209	1,9 ± 0,4
5	30,0 ± 1,5	71,6 ± 5,1	253 ± 155	1,3 ± 0,3
6	31,3 ± 0,8	66,7 ± 4,0	249 ± 130	1,8 ± 0,6
7	35,0 ± 1,0	52,9 ± 4,4	682 ± 256	2,9 ± 0,5
8	36,3 ± 1,5	49,2 ± 7,4	834 ± 302	2,9 ± 0,5
9	35,8 ± 1,1	53,5 ± 5,0	726 ± 367	2,2 ± 0,3
10	33,1 ± 1,7	61,3 ± 6,4	578 ± 363	8,5 ± 4,8

O potencial hídrico foliar ( $\Psi_w$ ) foi avaliado ao meio dia, utilizando-se folhas completamente expandidas, localizadas no terço médio superior das plantas, as quais foram envolvidas em filme plástico (PVC), destacadas e colocadas em recipiente de isolante térmico devidamente refrigerado e este foi levado ao Laboratório de Fisiologia Vegetal para determinar o potencial hídrico foliar, utilizando-se a Câmara de Pressão de Scholander modelo 3035 da “Soil Moisture Equipment Corp”, Santa Bárbara, Califórnia-EUA (SCHOLANDER et al., 1965).

A determinação do teor relativo de água (TRA) foi realizada a partir da pesagem da massa fresca de folhas (MFF) coletadas às 12h (meio dia), as quais ficaram acondicionadas em placas de petri, sob imersão a 10 mL de água destilada e levadas para

o refrigerador, onde passaram 24 horas no escuro a 4 °C. Após esse período, as folhas foram submetidas a uma nova pesagem para a obtenção do peso da massa túrgida (MTF) e foram acondicionadas em sacos de papel, e estes conduzidos à estufa de circulação de ar forçada a 70 °C. Por fim, quando atingiram peso constante, as folhas foram novamente pesadas para obtenção do peso da massa seca (MSF) e os valores obtidos foram substituídos na fórmula  $TRA = [(MFF - MSF)/(MTF - MSF)] \times 100$  descrita pela metodologia de Weatherley (1950).

A determinação dos teores de pigmentos fotossintéticos como as clorofilas *a* e *b* e carotenóides foi realizada a partir da maceração de 100 mg de matéria fresca de folha em um almofariz, contendo 10 mL de álcool a 95% e, em seguida, a amostra foi centrifugada e as leituras dos teores de clorofilas *a* e *b*, bem como dos carotenóides foram realizadas nos respectivos comprimentos de onda de 664 nm, 649 nm e 470 nm, segundo o método de Lichtenthaler e Buschmann (2001). Os valores das leituras foram substituídos nas fórmulas descritas abaixo e a unidade foi expressa em miligrama por grama de folha fresca ( $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1} \text{MF}$ ).

$$\text{Clorofila a } (\mu\text{g/ml}) = 13,36 A_{664} - 5,19 A_{649}$$

$$\text{Clorofila b } (\mu\text{g/ml}) = 27,43 A_{649} - 8,12 A_{664}$$

$$\text{Carotenóides (x+c) } (\mu\text{g/ml}) = (1000 A_{470} - 2,13 \text{ Clo } a - 97,64 \text{ Clo } b) / 209$$

Para as análises bioquímicas foram utilizadas folhas completamente expandidas, localizadas no terço médio superior da planta. Pesou-se 1g de matéria fresca do limbo da folha, sem nervura, e macerou em almofariz com 5 mL de solução tampão fosfato de potássio 100 mM, pH 7,0 contendo EDTA a 0,1 mM. A amostra macerada foi filtrada com um tecido de musselina e centrifugada a 19975 x g por 20 min, em centrífuga refrigerada para eppendorf. O precipitado foi descartado e o sobrenadante foi utilizado como extrato para as análises dos teores de carboidratos solúveis, prolina livre, proteínas solúveis e aminoácidos livres totais.

Os carboidratos solúveis foram determinados a 490 nm, pelo método de fenol-ácido sulfúrico (DUBOIS et al., 1956) utilizando-se D-(+)-glucose como padrão. A concentração de prolina livre foi determinada a 520 nm, pelo método da ninhidrina e ácido fosfórico (BATES, 1973), utilizando-se a prolina como padrão. A determinação de

proteína foi realizada a 595 nm, pelo método da ligação ao corante coomassie brilliant blue (BRADFORD, 1976), utilizando-se albumina sérica bovina como padrão. Os aminoácidos foram analisados a 570 nm, pelo método de ninhidrina (YEMM; COCKING, 1955), utilizando-se glicina como padrão.

Os dados foram tratados pela análise de variância (ANOVA) e as médias comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade, com auxílio do programa Assistat versão 7.5.

#### 4.2.3 Resultados e discussão

O déficit hídrico afetou significativamente a transpiração (E) e a resistência difusiva ( $R_s$ ) das plantas submetidas aos tratamentos mais severos (Figura 1).

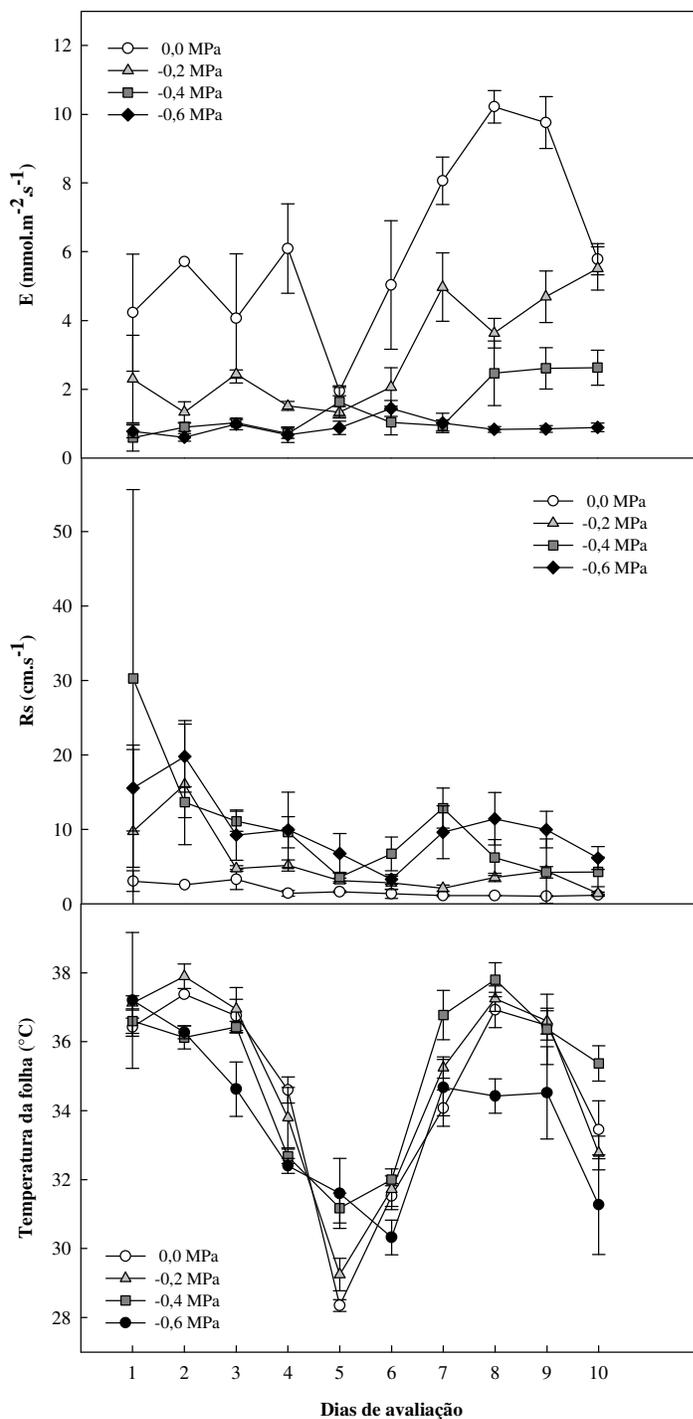
Com apenas 24 horas após aplicação dos tratamentos, as plantas sob -0,4 MPa ( $0,59 \text{ mmol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ ) e -0,6 MPa ( $0,76 \text{ mmol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ ) fecharam os estômatos, o que fez aumentar a  $R_s$  nos tratamentos de -0,4 MPa ( $30,3 \text{ s.cm}^{-1}$ ) e de -0,6 MPa ( $15,58 \text{ s.cm}^{-1}$ ) em 10 e 5 vezes, respectivamente, em relação as controles (Figura 1).

Nogueira et al. (1998) estudando três espécies lenhosas da Caatinga, observaram que a transpiração foi reduzida após 20 dias de suspensão de rega. O mesmo foi observado em plantas jovens de *Tabebuia aurea* (Manso) Benth. e Hook (craibeira), *Enterolobium contortisiliquum* (Vell.) (tamboril) e *Mimosa caesalpiniiifolia* Benth. (sabiá) cultivadas sob 50% CP (SILVA et al., 2003) e em laranjeiras sob suspensão da irrigação (GOMES et al., 2004).

O déficit hídrico reduziu o potencial hídrico das plantas sob -0,4 MPa e -0,6 MPa, as quais diferiram estatisticamente em relação às de 0,0 MPa e -0,2 MPa (Tabela 2). Essa diminuição do potencial hídrico foi mais pronunciada nas plantas sob -0,4 MPa e -0,6 MPa no horário de maior demanda evaporativa, às 12 horas (meio dia) que apresentaram reduções de 32%, quando comparado com as controles. Já no horário das 4h (pré-dawn) as mesmas plantas submetidas aos tratamentos mais severos (-0,4 e -0,6 MPa) apresentaram pequenas recuperações de 52% e 35%, porém, não significativamente o bastante para atingirem valores próximos ao potencial hídrico das plantas submetidas ao tratamento de 0,0 MPa (Tabela 2).

De acordo com Taiz e Zeiger (2009) as plantas com habilidades de se ajustarem

osmoticamente, promovem a manutenção da turgescência celular por baixos potenciais hídricos, beneficiando assim, o alongamento celular e a transpiração.



**Figura 1** - Transpiração (E), resistência difusiva (Rs) e temperatura foliar (Tf) em plantas jovens de juazeiro (*Ziziphus joazeiro* Mart.) sob deficiência hídrica induzida pelo PEG 6000. Médias seguidas por letras iguais maiúsculas para os dias de avaliação e minúsculas para os tratamentos, não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey (P

$\leq 0,05$ ).

**Tabela 2** – Potencial hídrico foliar ( $\Psi_w$ ) em plantas jovens de juazeiro (*Ziziphus joazeiro* Mart.) sob deficiência hídrica induzida pelo PEG 6000 por dez dias.

Potenciais osmóticos PEG 6000 (MPa)	$\Psi_w$ (MPa)	
	4h	12h
0,0	1,10 aA	2,60 aB
-0,2	1,08 aA	2,94 aB
-0,4	3,31 bB	3,88 bB
-0,6	1,46 aA	3,76 baB

Médias seguidas por letras iguais maiúsculas para os horários e minúsculas para os tratamentos, não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey ( $P \leq 0,05$ ).

Semelhantemente ao potencial, as plantas sob -0,4 MPa apresentaram no TRA uma redução significativa de 36% quando comparadas com as controles, nos dois horários (12 e 4 horas) (Tabela 3). Provavelmente, as plantas de juá sob - 4,0 MPa estavam se ajustando osmoticamente para tolerar o déficit hídrico aplicado.

Segundo Pardo (2010) quando os tecidos vegetais estão bem hidratados o TRA varia de 85 a 95%. No entanto, quando a desidratação atinge os 50% é caracterizado como o ponto crítico, letal a planta, porém, em algumas plantas xerófitas pode chegar a esse ponto crítico sem provocar a morte da mesma.

**Tabela 3** - Teor relativo de água (TRA) em folhas de plantas jovens de juazeiro (*Ziziphus joazeiro* Mart.) sob deficiência hídrica induzida pelo PEG 6000.

Potenciais osmóticos PEG 6000 (MPa)	TRA (%)	
	4h	12h
0,0	72,93 aA	50,62 bB
-0,2	85,12 aA	52,46 bB
-0,4	73,67 aA	60,61 aAB
-0,6	82,39 aA	78,48 aA

Médias seguidas por letras iguais maiúsculas para os horários e minúsculas para os tratamentos, não diferem

estatisticamente entre si pelo teste Tukey ( $P \leq 0,05$ ).

O déficit hídrico também induziu acúmulo de solutos nas plantas mais estressadas em apenas dez dias (Tabela 2). As plantas do tratamento -0,4 MPa apresentaram em suas folhas um incremento significativo em todos os compostos solúveis (Tabela 4). Esse aumento significativo em relação às controles foi de 61%, 29%, 69% e 49% para os carboidratos, prolinas, proteínas e aminoácidos, respectivamente (Tabela 4). As plantas sob -0,6 MPa diferiram significativamente tanto na concentração de prolinas solúveis quanto nos aminoácidos livres, havendo um aumento de 37% e 33% em relação aos tratamentos de -0,2 MPa e controle (Tabela 4).

Silva et al. (2009) verificaram, de modo geral, que à medida que o déficit hídrico se prolongava diminuía a concentração de solutos em folhas de genótipos de *Spondias tuberosa* Arruda (umbu), exceto no genótipo BGU 68.

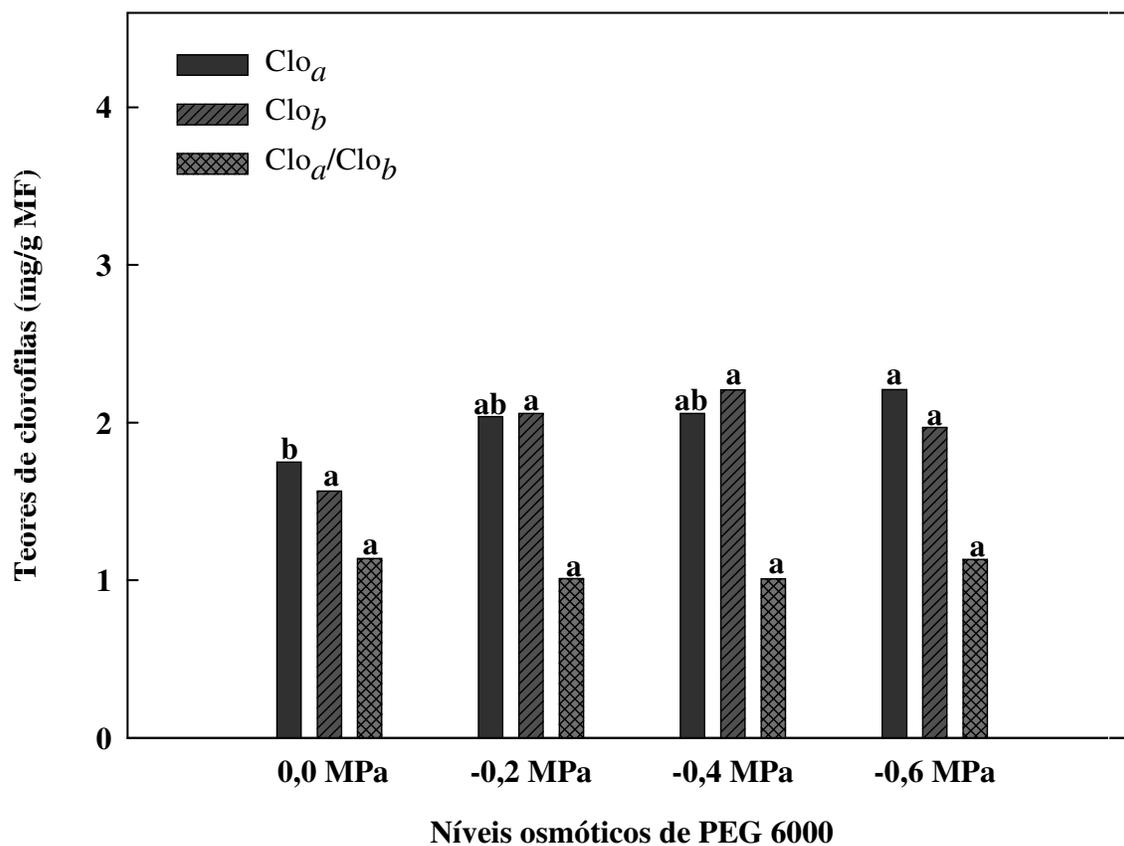
As plantas submetidas a -0,2 MPa aumentaram significativamente cerca de 32% na concentração de proteínas solúveis nas suas raízes quando comparadas com as controles (Tabela 4). Nas raízes de plantas sob -0,6 MPa houve um aumento de 32% em relação as controles (Tabela 4). Na concentração de prolina, não houve diferença significativa para todos os níveis osmóticos (Tabela 4).

**Tabela 4.** Concentração de carboidratos solúveis, prolina livre, proteína solúvel e aminoácidos livres em folhas e raízes de plantas jovens de juazeiro (*Ziziphus joazeiro* Mart.) sob deficiência hídrica induzida pelo PEG 6000.

Potenciais osmóticos PEG 6000 (MPa)	Carboidratos ( $\mu\text{mol.g}^{-1}$ MF)	Prolina ( $\mu\text{mol.g}^{-1}$ MF)	Proteínas ( $\mu\text{g.g}^{-1}$ MF)	Aminoácidos ( $\mu\text{mol.g}^{-1}$ MF)
<b>Folhas</b>				
<b>0,0</b>	249,34 c	2,16 c	10153,18 ab	74,57 b
<b>- 0,2</b>	161,67 d	1,53 c	8453,33 b	61,63 b
<b>- 0,4</b>	414,72 b	11,14 a	15734,28 a	142,21 a
<b>- 0,6</b>	524,44 a	5,84 b	10373,44 ab	88,75 b
<b>Raízes</b>				
<b>0,0</b>	9,97 a	0,40 a	496,36 b	15,80 b
<b>- 0,2</b>	13,81 a	0,43 a	770,49 a	13,99 b
<b>- 0,4</b>	7,96 a	0,31 a	501,35 b	12,08 b
<b>- 0,6</b>	9,54 a	0,34 a	655,35 ab	27,25 a

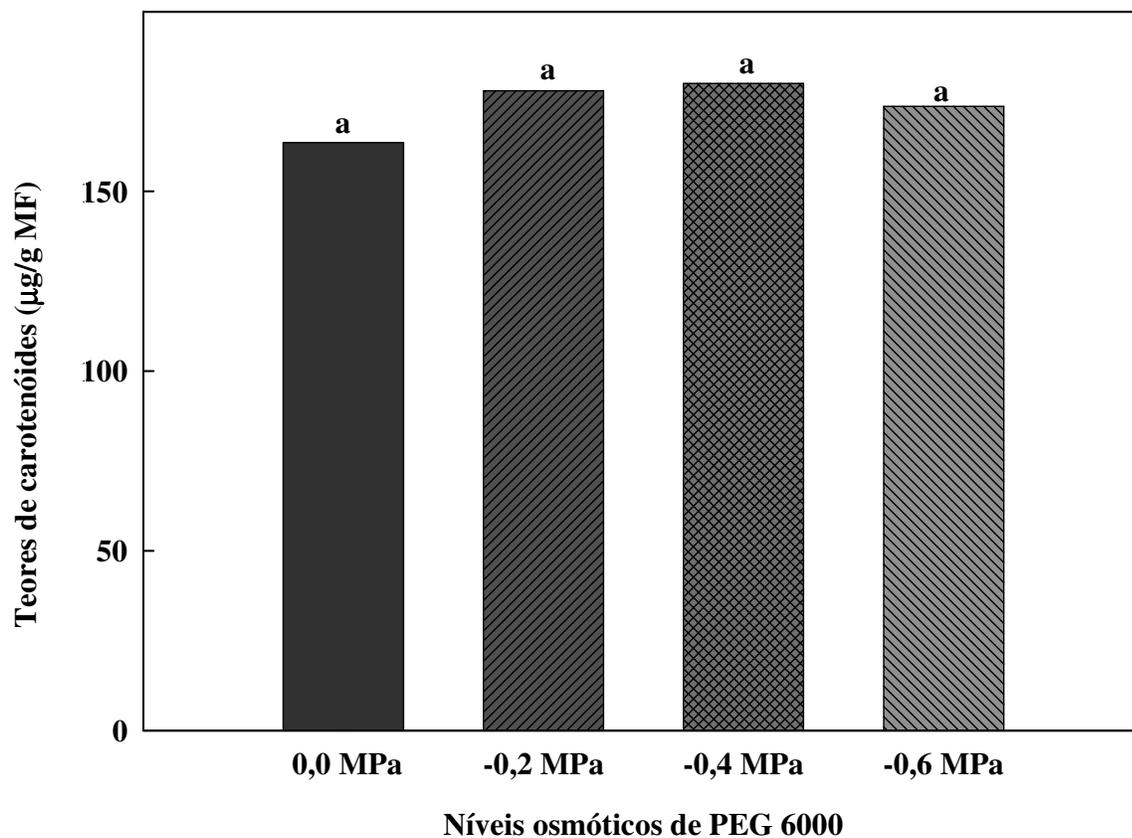
Médias seguidas por letras iguais, não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey ( $P \leq 0,05$ ).

O déficit hídrico não alterou as concentrações dos pigmentos fotossintéticos das plantas submetidas a todos os tratamentos. Na concentração de clorofila *a*, as plantas sob -0,6 MPa de PEG 6000 apresentaram um incremento de forma significativa em 79% em relação as plantas controles (Figura 2). Com relação aos teores de clorofila *b* e a razão  $cl_{a}/cl_{b}$ , não houve diferença significativa em todos os níveis osmóticos, cujas variações médias foram de 1,566 a 2,208  $\text{mg.g}^{-1}\text{MF}$  para clorofila *a* e de 3,315 a 4,265  $\text{mg.g}^{-1}\text{MF}$  para clorofila *b* (Figura 2). Com relação à clorofila, o estresse não foi suficiente para oxidar as clorofilas *a* e *b*.



**Figura 2** - Teores de clorofila *a*, *b* e a razão das clorofilas *a/b* em folhas de plantas jovens de juazeiro (*Ziziphus joazeiro* Mart.) sob deficiência hídrica induzida pelo PEG 6000. Médias seguidas por letras iguais, não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey ( $P \leq 0,05$ ).

De forma semelhante às clorofilas *a* e a razão cloa/clob, os carotenóides também não foram afetados pelo déficit hídrico em todos os níveis osmóticos, cujas variações médias foram de 163,58 a 179,98  $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\text{MF}$  (Figura 3).



**Figura 3** - Teores de carotenóides em folhas de plantas jovens de juazeiro (*Ziziphus joazeiro* Mart.) sob deficiência hídrica induzida pelo PEG 6000. Médias seguidas por letras iguais, não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey ( $P \leq 0,05$ ).

#### 4.2.4 Conclusão

Plantas submetidas à níveis de potenciais osmóticos inferiores a  $-0,2$  MPa respondem ao estresse com o uso de mecanismos de alto potencial hídrico e de baixo potencial hídrico.

#### 4.2.5 Referências bibliográficas

ARAÚJO, E. L. **Estresses abióticos e bióticos como forças, modeladoras da dinâmica de populações vegetais da caatinga.** In: Nogueira RJMC et al. (Eds.). *Estresses ambientais: danos e benefícios em plantas.* Recife: UFRPE. 500p. 2005.

BATES, L.S. Rapid determination of free proline for water-stress studies. Short communication. **Plant and Soil** 39: 205-207. 1973.

BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, v.72, p. 248-254, 1976.

CARVALHO, P. E. R. **Juazeiro: *Ziziphus joazeiro*.** Embrapa, 2007, p8 (Circular técnica n° 139).

DUBOIS, M. et al. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. **Analytical Chemistry**, v. 28, p. 350-356, 1956.

GOMES, M.M.A. et al. Interactions between leaf water potential, stomatal conductance and abscisic acid content of orange tress submitted to drought stress. **Brazilian Journal Plant Physiology**, v.16, p.155-161, 2004.

HOAGLAND, D.R.; ARNON.; D.I. **The water culture method for growing plants without soil.** Calif. Agric. Expt. Station, 1950. (Circular n° 347).

LARCHER, W. **Ecofisiologia vegetal.** Revisão técnica. São Carlos-SP: RIMA. 2004.531p.

LICHTENTHALER, H.K.; BUSCHMANN, C. **Current Protocols in Food Analytical Chemistry**, F4.3.1-F4.3.8, 2001.

LIMA FILHO, J.M.P.; DRUMOND, M.A.; MACENO, D.S. Comportamento fisiológico da leucena e albizia sob condições semi-áridas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 27, p. 537-542, 1992.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras: Manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**. 5. Ed. v.1. São Paulo: Plantarum, 2008. 384p.

MUNIZ-BRITO, K. L.; AYALA-OSUNA, J.T. Influência de diferentes substratos na germinação de sementes de *Ziziphus joazeiro* Mart., Rhamnaceae. **Sitientibus Série Ciências Biológicas**, v. 5, n. 2, p. 63-67, 2005.

NASCIMENTO, M. M. A.; TABOSA, J. N.; TAVARES FILHO, J. J. Avaliação de cultivares de milho no agreste semi-árido de Pernambuco. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.7, n.1, p. 53-56, 2003.

NEPOMUCENO, A. L.; OOSTERHUIS, D.M.; STERWART, J. M. Physiological responses of cotton leaves and roots to water deficit induced by polyethylene glycol. **Environment and Experimental Botany**, v. 40, p. 29-41, 1998.

NEPOMUCENO, A.L. et al. Tolerância à seca em plantas: Mecanismos fisiológicos e moleculares. **Biotecnologia, Ciência e Desenvolvimento**, p. 12-18, 2001.

NOGUEIRA, J. M. C. R. et al. Curso diário do potencial hídrico foliar em cinco espécies da caatinga. **Revista Ecosistema**. v. 23, p. 73-77. 1998b.

NOGUEIRA, R. J. M. C. et al. **Aspectos ecofisiológicos da tolerância à seca em plantas da caatinga**. In: Nogueira et al. Estresses ambientais: danos e benefícios em plantas. Recife: UFRPE, Imprensa universitária, 2005.500p.

NOGUEIRA, R. J. M. C.; BARBOSA, D. C.A. MORAES, J. A. P. V. Trocas gasosas e relações hídricas em plantas jovens envasadas de três espécies da caatinga, submetidas a deficiência de água. **Φ YTON**, v. 62, n. 1/2, p. 37-46, 1998a.

NOGUEIRA, R. J. M. C.; SILVA, E. C. Comportamento estomático em plantas jovens de *Schinopsis brasiliensis* Engl. cultivadas sob estresse hídrico. **IHERINGIA, Série Botânica, Porta Alegre**, v. 57, n. 1, p. 31-38, 2002.

PARDO, J.M. Biotechnology of water and salinity stress tolerance. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 21, p. 185-196, 2010.

PIMENTEL, C. **A relação da planta com a água**. Seropédica, Rio de Janeiro: Edur,

2004. 191p.

REGIER, N. et al. Drought tolerance of two black poplar (*Populus nigra* L.) clones: contribution of carbohydrates and oxidative stress defence. **Plant, Cell and Environment**, v. 32, p.1724-1735, 2009.

SAKTHIVELU G. et al. Drought-induced alterations in growth, osmotic potential and in vitro regeneration of soybean cultivars. **General Applied Plant Physiology**. v. 34, n 1 e 2, p.103-112, 2008.

SCHOLANDER, P.F. et al. Hydrostatic pressure and osmotic potentials in leaves of mangroves and some other plants. **Proceedings of National Academy Science**, v. 51, p. 119-125, 1965.

SILVA, E. C. et al. Comportamento estomático e potencial da água da folha em três espécies lenhosas cultivadas sob estresse hídrico. **Acta botânica Brasílica**, v. 17, n. 2, p. 231-246, 2003.

SILVA, E. C. et al. Water relations and organic solutes production in four umbu tree (*Spondias tuberosa* Arruda) genotypes under intermittent drought. **Brazilian Journal Plant Physiology**, v. 21, n. 1, p.43-53, 2009.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. 4 ed. Porto Alegre: Artmed, 2009. 848p.

TURNER, N.C.; BEGG, J. E. **Responses of pasture plants to water deficits**. In: J. R. Wilson (org.) *plant Relations in Pastures*. Melbourne, CSIRO p. 50-66. 1978.

VIANELLO, R. L.; ALVES, A. R. *Meteorologia básica e aplicações*. Viçosa: UFV, Imprensa Universitária, 1991. 449p.

VILLELA, F. A.; DINI FILHO, L.; SEQUEIRA, E. L. Tabela de potencial osmótico em função da concentração de polietileno glicol 6000 e da temperatura. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 26, n. 11/12, p. 1957-1968, 1991.

WEATHERLEY, P. E. Studies in the water relations of the cotton plant. I. The field measurement of water deficits in leaves. **New Phytologist**, n. 49, p. 81-97. 1950.

YEMM E. W.; COCKING, E. C. Determination of amino acids with ninhydrin.

**Analyst**, v. 80, p. 209 – 213, 1955.

#### **4.3 EXPERIMENTO III**

---

**Respostas fisiológicas em mudas de *Ziziphus joazeiro* Mart. sob condições de seca em casa de vegetação**

---

### Resumo

O objetivo da pesquisa foi avaliar as trocas gasosas, as relações hídricas, acúmulo de solutos orgânicos e pigmentos fotossintéticos de plantas jovens de *Ziziphus joazeiro* Mart. sob déficit hídrico. A presente pesquisa foi realizada em casa de vegetação, do Laboratório de Fisiologia Vegetal, pertencente ao Departamento de Biologia, da Universidade Federal Rural de Pernambuco, no período de julho a outubro de 2010. As mudas obtidas por propagação sexuada foram transferidas para vasos de polietileno, contendo 5 kg de terriço vegetal seco ao ar. O delineamento experimental foi inteiramente ao acaso com três tratamentos (irrigadas, sem rega e reirrigadas) com dez repetições. Foram avaliadas durante 31 dias, das 10 às 12 horas da manhã, a condutância estomática (gs), a transpiração (E), a fotossíntese líquida (A), a temperatura foliar (Tf) e a concentração interna de CO<sub>2</sub> (Ci) em folhas jovens de *Ziziphus joazeiro* completamente expandidas, com um Fluxo de Fóton Fotossinteticamente Ativo (FFFA) de 2000  $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$  fixado. Foram calculadas também as relações de A/E, A/gs e a A/Ci. No final do experimento foram determinados o potencial hídrico foliar ( $\Psi_w$ ) e o teor relativo de água (TRA) em três horários (antemãhã - 4h, meio-dia - 12h e às 18h), os teores de clorofilas *a* e *b* e carotenóides, as concentrações de carboidratos solúveis, prolinas livres, proteínas solúveis e aminoácidos livres e o percentual de umidade do solo. A estiagem afetou praticamente todos os parâmetros estudados, a redução A, E, gs, Ci, A / Ci de conteúdo,  $\Psi_w$ , CRA e clorofila. O conteúdo de carotenóides não foi afetado. No entanto, houve aumento de A / E, indicando eficiência do uso da água nas plantas estressadas. Acúmulo de solutos orgânicos também foi observado nas folhas e nas raízes em resposta à seca, que representam compostos ativos para colaborar com a osmorregulação e manutenção do estado das águas. As mudas mantiveram uma baixa abertura estomática durante o período de estresse, permitindo baixas taxas de fotossíntese para poder administrar o conteúdo hídrico do solo. Três dias após a reidratação, as trocas gasosas, relações hídricas, clorofila e solutos orgânicos recuperaram seus valores próximos às plantas-controle, o que foi demonstrado nas mudas de juá a capacidade para enfrentar limitações na disponibilidade de água no solo durante a fase inicial de desenvolvimento. Os mecanismos fisiológicos utilizados para esta espécie são discutidos.

**Palavras-chave:** Fotossíntese líquida, eficiência intrínseca do uso da água, potencial hídrico, teor relativo de água, pigmentos fotossintéticos e solutos compatíveis

## Physiological responses in seedlings of *Ziziphus joazeiro* Mart. under drought conditions in the greenhouse

### Abstract

The research objective was to evaluate gas exchange, water relations and accumulation of organic solutes and photosynthetic pigments of seedlings of *Ziziphus joazeiro* Mart. under drought. This survey was conducted in a greenhouse of the Laboratory of Plant Physiology from the Department of Biology, Federal Rural University of Pernambuco, in the period from July to October 2010. The seedlings produced by sexual propagation were transferred to polyethylene pots containing 5 kg of soil dry air. The experimental design was randomized into three treatments (irrigated, without watering and rewatering) with ten replications. Were measured for 31 days, from 10 to 12 hours of the morning, stomatal conductance (gs), transpiration (E), net photosynthesis (A), leaf temperature (Tf) and internal CO<sub>2</sub> concentration (Ci) in leaves *Ziziphus joazeiro* young fully expanded, with a Photosynthetic Photon Flux Activity (PPFA) of 2000  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  set. Were also calculated the ratios A/E, A/gs and A/Ci. At the end of the experiment, were determined on leaf water potential ( $\Psi_w$ ) and relative water content (RWC) in three hours (predawn leaf - 4 am, noon - 12h and 18h), the contents of chlorophylls *a,b* and carotenoids, soluble carbohydrates, free proline, soluble proteins and free amino acids contents. Drought affected almost all parameters studied, reducing A, E, gs, Ci, A/Ci,  $\Psi_w$ , RWC and chlorophyll content. Carotenoids content was not affected. However, there was increase in A/E indicating water use efficiency in stressed plants. Organic solutes accumulation was observed also in leaves and roots in response to drought, representing active compounds to collaborate with the

osmoregulation and maintenance of the water status. The seedlings kept a low stomatal aperture during the stress period allowing the photosynthesis in low rates and managing the limiting soil water content. Three days after rewatering, gas exchange, water relations, chlorophyll and organic solutes recovered their values close to the control plants, demonstrating the capacity of *Z. joazeiro* seedlings to face limiting soil water availability during the initial phase of development. The physiological mechanisms used for this species are discussed.

**Key words:** Net photosynthesis, intrinsic efficiency of water use, water potential, relative water content, photosynthetic pigments and compatible solutes

### 4.3.1 Introdução

A seca é um dos fatores climáticos que mais causa problemas no mundo, pois chega a limitar o crescimento, o desenvolvimento e conseqüentemente a produtividade de espécies vegetais (REGIER et al., 2009; GHANNOUM, 2009).

Plantas que habitam regiões semiáridas, como a Caatinga, caracterizada climaticamente pelas irregularidades de chuvas e elevada irradiação, estão adaptadas morfológica e fisiologicamente a enfrentar longos períodos de seca (CHARTZOULAKIS et al., 1999; PRADO, 2003). Porém, com o aquecimento global esse período de seca pode ser ampliado e até intensificado, comprometendo os processos fisiológicos adaptativos daqueles vegetais (GALMÉS et al., 2007; McDOWELL et al., 2008). A adaptação desses vegetais as mudanças ambientais vai depender da intensidade e duração do déficit hídrico que é imposto, como também o estado fenológico e a capacidade genética dessas plantas em suportarem ou tolerarem o efeito da seca (HSIAO, 1973; NEPOMUCENO et al., 2001).

Os estômatos são os primeiros a sentirem os efeitos da deficiência hídrica, uma vez que diminuem a sua condutância, reduzindo assim a transpiração e, conseqüentemente, o suprimento de CO<sub>2</sub>, o que acarreta em prejuízo a capacidade fotossintética das plantas (NOGUEIRA et al., 1998; NOGUEIRA; SILVA, 2002). No entanto, em situação de déficit hídrico, plantas adaptadas ou aclimatadas a seca geralmente se comportam mantendo a abertura estomática mínima, com a transpiração baixa, para assim poder assimilar uma quantidade suficiente de CO<sub>2</sub> que possa dar continuidade aos processos fotossintéticos mesmo que reduzidos, o que ocasiona em uma maior e melhor eficiência do uso da água (EUA) (MEDRANO et al., 2009). Essa elevada eficiência do uso da água propicia a planta a permanecer por um longo período sob deficiência hídrica.

Os aparatos estomáticos também dependem dos fatores hidráulicos, como o conteúdo relativo de água e o potencial hídrico foliar que indicam os *status* hídricos da planta, os quais também são afetados pela diminuição da umidade do solo e pelas variações atmosféricas (LAWLOR; TEZARA, 2009; ZHANG et al., 2010). Em situação de indisponibilidade hídrica, o potencial pode decrescer, devido à diminuição da quantidade de água na folha ou pelo acúmulo de solutos compatíveis que contribuem

para o ajustamento osmótico, o qual permite a continuidade dos processos de crescimento, expansão, divisão celular e a fotossíntese da planta mesma estando sob estresse (LIMA FILHO et al., 1992; SANTOS; CARLESSO, 1998, NOGUEIRA et al., 2000; MANSUR; BARBOSA, 2000).

Esse ajustamento osmótico ocorre com o acúmulo de íons inorgânicos e solutos orgânicos de baixa massa molecular, como carboidratos solúveis, prolinas livres, proteínas e aminoácidos livres totais, que contribuem para a manutenção da turgescência celular (NEPOMUCENO, 2001). Os carboidratos agem nas células como um antioxidante, além disso, o aumento da sua concentração está relacionado com o déficit hídrico (SIRCELJ et al., 2005; KNIPP; HONERMEIER, 2006).

Outro composto que funciona como ajustamento osmótico é o aminoácido e o seu aumento ocorre em condições de déficit hídrico severo com degradação de proteínas (SIRCELJ et al., 2005).

A prolina é um dos aminoácidos mais estudados, age como osmoprotetor e antioxidante protegendo as estruturas das membranas, enzimas e tecidos celulares e ainda é indicadora de tolerância à seca em plantas sob estresse hídrico (JHARNA et al., 2001, SARKER, 2005; SIRCELJ, 2005).

O juazeiro (*Ziziphus joazeiro* Mart.) é uma espécie xerófita pertencente à família Rhamnaceae, nativa da Caatinga, que em 2002, na primeira Reunião Técnica de Recursos Genéticos de Plantas Medicinais e Aromáticas, promovida pela EMBRAPA (Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária) e pelo IBAMA (Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis) foi citada como uma das espécies prioritárias a conservação e manejo sustentável desse bioma (Caatinga) exclusivamente brasileiro, degradado em virtude da utilização inadequada das espécies lá existentes pela população local (LORENZI, 2008; VIEIRA et al., 2002).

O *Z. joazeiro* é uma planta medicinal, rica em saponina, muito usada pela população local como expectorante no combate a bronquite e pela indústria farmacêutica na fabricação de xampus e dentifrício. Além disso, o juazeiro serve de alimento para o rebanho caprino durante a estação seca por apresentar-se sempre com folhas. (CARVALHO, 2007; LORENZI, 2008). Embora apresente uma grande importância econômica, pouco se conhece sobre o seu comportamento fisiológico e bioquímico em situação de deficiência hídrica, principalmente, da sua habilidade em tolerar à seca, uma

vez que na literatura dispõe de escassos trabalhos de déficit hídrico dessa espécie em fase de muda. Diante do exposto, o objetivo da pesquisa foi de avaliar as trocas gasosas, as relações hídricas, acúmulo de solutos orgânicos e pigmentos fotossintéticos de plantas jovens de *Ziziphus joazeiro* Mart. sob déficit hídrico.

#### 4.3.2 Material e métodos

A presente pesquisa foi realizada em casa de vegetação, do Laboratório de Fisiologia Vegetal, pertencente ao Departamento de Biologia, da Universidade Federal Rural de Pernambuco, no período de julho a outubro de 2010.

As mudas foram obtidas por propagação sexuada. As sementes foram retiradas das unidades dispersoras (endocarpos), extraídas de frutos coletados de árvores matrizes da Estação de São Bento do Una, base física do Instituto Agrônomo de Pernambuco (IPA)-PE. Com coordenadas de 08° 31'S e 36° 36' W, a 650 m de altura, a referida encontra-se no Agreste Meridional pernambucano a 165 km do Recife (NASCIMENTO et al., 2003).

No sentido de facilitar a germinação, os endocarpos foram quebrados e, deles foram retiradas as sementes, das quais, 500 foram selecionadas quanto à sanidade. Posteriormente, essas sementes foram hidratadas com água por uma hora e semeadas em bandejas com capacidade de seis quilos de uma mistura de terriço vegetal e vermiculita grossa com base na metodologia de Muniz-Brito e Ayala-Osuna (2005).

Quando as mudas apresentaram em média 8,31 cm de altura e sete folhas foram transferidas para vasos de polietileno (40 x 20 cm), contendo como substrato 5 kg de terriço vegetal seco ao ar, o qual foi coletado no interior do campus da UFRPE, nas proximidades da Biblioteca Central.

A capacidade de pote do vaso foi realizada segundo a metodologia de Souza et al. (2000), com pequena modificação (água adicionada pela superfície do substrato no vaso). O conteúdo de água adotado foi a quantidade de água retida no substrato após a sua saturação e conseqüente ação gravitacional, até haver o cessamento da drenagem. Esse procedimento foi realizado com 3 vasos para obter a capacidade de pote do substrato no vaso que foi de 6,010kg.

Antes da diferenciação dos tratamentos, durante 10 dias de aclimação, todos os

vasos permaneceram com a mesma capacidade de pote, uma vez que foram pesados diariamente sempre às 8h da manhã e as superfícies dos vasos foram cobertas por um plástico opaco para evitar a perda de água pela evaporação do solo. Quando houve a diferenciação dos tratamentos, apenas as plantas irrigadas receberam água por meio da capacidade de pote, e somente os plásticos que cobriam as superfícies dos vasos das plantas do tratamento sem rega foram retirados no 7º dia da diferenciação hídrica.

O delineamento experimental foi inteiramente ao acaso com três tratamentos [irrigadas e sem rega (quando a fotossíntese das plantas atingiram  $0 \text{ mmol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ , cinco plantas do tratamento sem rega foram reidratadas para saber o tempo de recuperação total da fotossíntese equivalente a das plantas irrigadas). Este procedimento perdurou 24 h, 48h e 72h para que a fotossíntese fosse totalmente reestabilizada nas plantas reidratadas. O experimento totalizou em 20 plantas, apresentando 10 repetições.

Antes da diferenciação dos tratamentos, a mensuração da curva de saturação luminosa correspondendo aos valores de densidade de Fluxo de Fótons Fotossintéticos Ativos (DFFFA): 0, 500, 1000, 1500 e 2000  $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$  foi realizada em folhas completamente expandidas, localizadas no terço médio superior das plantas de *Ziziphus joazeiro*, utilizando o IRGA (analisador de gás infravermelho) (Figura 1). Na curva de saturação luminosa, foi verificado que plantas de *Z. joazeiro* em condições hídricas normais sob DFFFA 1500 e 2000  $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$  não apresentaram reduções na fotossíntese e nem na transpiração. Por essa razão que foi estabelecido e fixado o DFFFA de 2000  $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$  para todas as análises de trocas gasosas durante o período experimental (Figura 1).

Foram avaliadas durante 31 dias, das 10 às 12 horas da manhã, a condutância estomática (gs), a transpiração (E), a fotossíntese líquida (A), a temperatura foliar ( $T_f$ ) e a concentração interna de  $\text{CO}_2$  ( $C_i$ ) em folhas jovens de *Ziziphus joazeiro* completamente expandidas, localizadas no terço médio das plantas, com auxílio do analisador de gás infravermelho (IRGA), modelo LCpro+, fabricado pela ADC BioScientific. Foi acoplada ao IRGA a câmara foliar de fonte de luz LED para determinar o Fluxo de Fóton Fotossinteticamente Ativo (FFFA) que foi de 2000  $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ , previamente estabelecido após a realização a curva de saturação luminosa em mudas de *Ziziphus joazeiro* sob condições hídricas normais (Figura 1). Foram calculadas também as relações de A/E (eficiência instantânea da transpiração), A/gs (eficiência

intrínseca do uso da água) e a  $A/C_i$  (eficiência instantânea de carboxilação). Durante as avaliações de trocas gasosas também foram registradas a temperatura do ar ( $T_{ar}$ ) e a umidade relativa do ar (UR) por meio de um termo higrômetro e esses dados climáticos foram calculados para obter o Déficit de Pressão de Vapor (DPV).

O potencial hídrico foliar ( $\Psi_w$ ) foi avaliado em três horários (antemanhã - 4h, meio-dia - 12h e às 18h) utilizando-se folhas completamente expandidas, localizadas no terço médio superior das plantas em que foram avaliadas pelo IRGA. As mesmas foram envolvidas em filme plástico (PVC), destacadas e colocadas em recipiente de isolante térmico devidamente refrigerado e este foi levado ao Laboratório de Fisiologia Vegetal para determinar o potencial hídrico foliar, utilizando-se a Câmara de Pressão de Scholander, modelo 3035 da “Soil Moisture Equipment Corp”, Santa Bárbara, Califórnia-EUA (SCHOLANDER et al., 1965).

As mesmas folhas usadas no potencial hídrico foliar foram utilizadas para determinar os teores de pigmentos fotossintéticos como as clorofilas *a*, *b* e carotenóides, a partir da maceração de 100 mg de matéria fresca de folhas em um almofariz, contendo 10 mL de álcool a 95% e, em seguida, a amostra foi centrifugada e as leituras dos teores de clorofilas *a* e *b*, bem como dos carotenóides foram realizadas nos respectivos comprimentos de onda de 664 nm, 649 nm e 470 nm, segundo o método de Lichtenthaler e Buschmann (2001). Os valores das leituras foram substituídos nas fórmulas descritas abaixo e a unidade foi expressa em miligrama por grama de folha fresca ( $\text{mg.g}^{-1}\text{MF}$ ).

$$\text{Clorofila a } (\mu\text{g/ml}) = 13,36 A_{664} - 5,19 A_{649}$$

$$\text{Clorofila b } (\mu\text{g/ml}) = 27,43 A_{649} - 8,12 A_{664}$$

$$\text{Carotenóides (x+c) } (\mu\text{g/ml}) = (1000 A_{470} - 2,13 \text{ Clo } a - 97,64 \text{ Clo } b) / 209$$

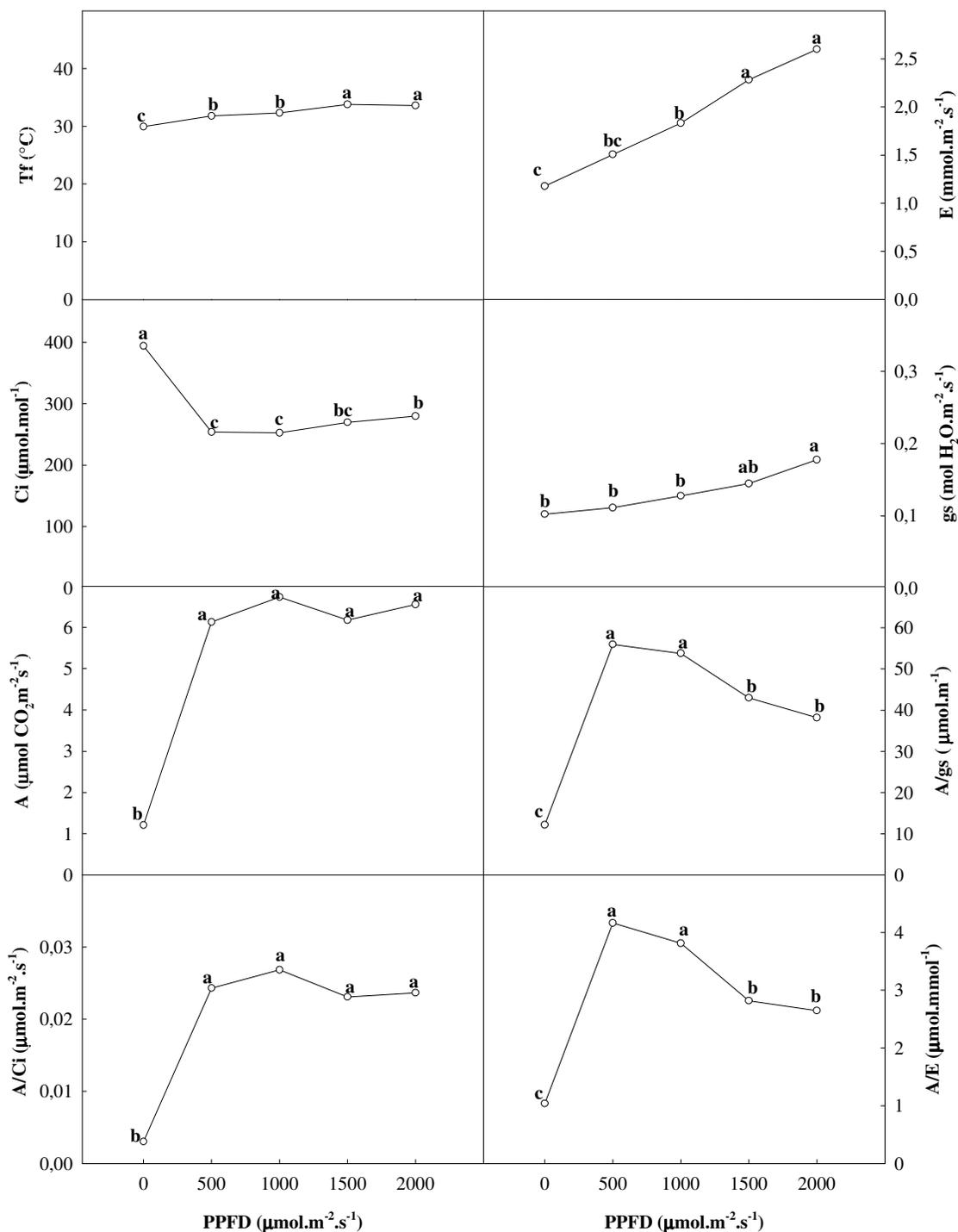
Ao longo das avaliações de trocas gasosas, a umidade relativa do ar (UR), a temperatura do ar ( $T_{ar}$ ) e o déficit de pressão de vapor (DPV) variaram em média de 48% a 72%, de 29,4°C a 39,9°C e de 1,18 kPa a 3,23 kPa, respectivamente.

Para determinar o percentual de umidade do substrato contido nos vasos, foram coletadas três amostras do substrato de cada tratamento. A umidade do substrato teve por base no método de Buckman e Brady (1974), que foi estimada pela equação:  $\theta = (\text{PSU} -$

$\theta = \text{PSS}/\text{PSU} \times 100$ , onde  $\theta$  = umidade do solo; PSU = peso do solo úmido; PSS = peso do solo seco.

A determinação do teor relativo de água (TRA) foi realizada a partir da pesagem da massa fresca de folhas (MFF) coletadas em três horários (antemãhã - 4h, meio-dia - 12h e às 18h) as quais ficaram acondicionadas em placas de petri, sob imersão a 10 mL de água destilada e levadas para o refrigerador, onde passaram 24 horas no escuro a 4 °C. Após esse período, as folhas foram submetidas a uma nova pesagem para a obtenção do peso da massa túrgida (MTF) e foram acondicionadas em sacos de papel, e estes conduzidos à estufa de circulação de ar forçada a 70 °C. Por fim, quando atingiram peso constante, as folhas foram novamente pesadas para obtenção do peso da massa seca (MSF) e os valores obtidos foram substituídos na fórmula  $\text{TRA} = [(MFF - MSF)/(MTF - MSF)] \times 100$  descrita pela metodologia de Weatherley (1950).

Para as análises bioquímicas foram utilizadas folhas completamente expandidas, localizadas no terço médio superior da planta. Pesou-se 1g de matéria fresca do limbo da folha, sem nervura, e macerou em almofariz com 5 mL de solução tampão fosfato de potássio 100 mM, pH 7,0 contendo EDTA a 0,1 mM. A amostra macerada foi filtrada com um tecido de musselina e centrifugada a 19975 x g por 20 min, em centrífuga refrigerada para eppendorf. O precipitado foi descartado e o sobrenadante foi utilizado como extrato para as análises dos teores de carboidratos solúveis, prolina livre, proteínas solúveis e aminoácidos livres totais. Os carboidratos solúveis foram determinados a 490 nm, pelo método de fenol-ácido sulfúrico (DUBOIS et al., 1956) utilizando-se D-(+)-glucose como padrão. A concentração de prolina livre foi determinada a 520 nm, pelo método da ninhidrina e ácido fosfórico (BATES, 1973), utilizando-se a prolina como padrão. A determinação de proteína foi realizada a 595 nm, pelo método da ligação ao corante coomassie brilliant blue (BRADFORD, 1976), utilizando-se albumina sérica bovina como padrão. Os aminoácidos (AA) foram analisados a 570 nm, pelo método de ninhidrina (YEMM; COCKING, 1955), utilizando-se glicina como padrão.

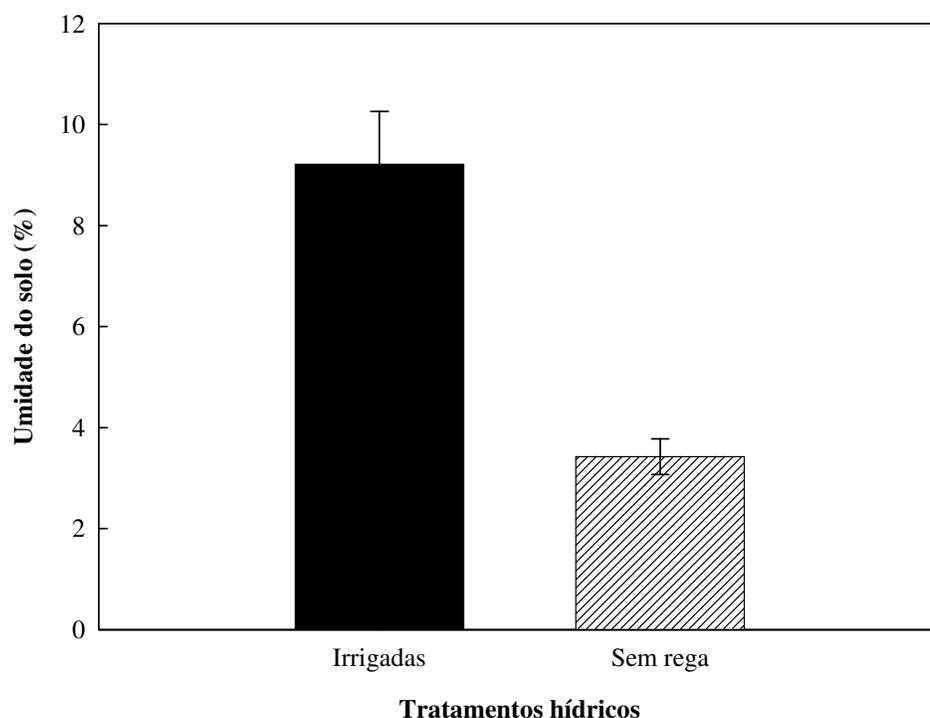


**Figura 1.** Curva de saturação luminosa de diferentes intensidades de fluxo de fótons fotossinteticamente ativos (FFFA) em folhas de plantas jovens de *Ziziphus joazeiro* Mart. em condições hídricas normais. Médias seguidas por letras iguais, não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey ( $P \leq 0,05$ ).

Os dados foram tratados pela análise de variância (ANOVA) e as médias comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade, com auxílio do programa Assistat versão 7.5.

#### 4.3.3 Resultados e discussão

A quantidade de água disponível no solo, no 28º dia de estresse, para plantas de *Ziziphus joazeiro* sem rega (7,35%) apresentou 70% inferior em relação às plantas irrigadas (22,60%) (Figura 2).



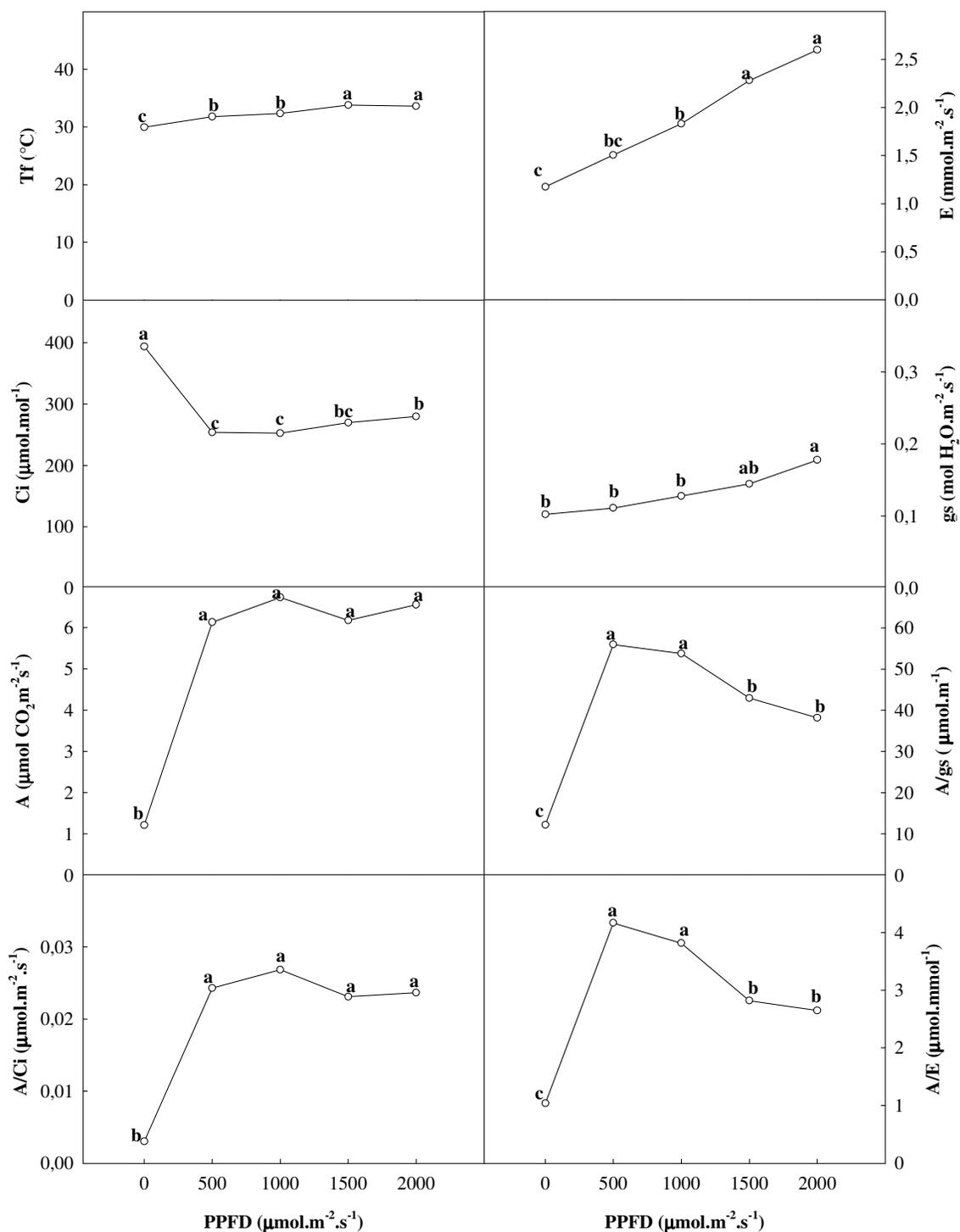
**Figura 2.** Percentual de umidade do solo contido no vaso em que as plantas jovens de juazeiro (*Ziziphus joazeiro* Mart.) foram submetidas ao déficit hídrico. Médias e desvios padrão.

O déficit hídrico afetou quase todos os parâmetros fisiológicos nas plântulas de *Z. joazeiro*. A transpiração (E), a condutância estomática (gs) e a fotossíntese líquida (A) após 14 dias de retenção de água também foram reduzidas significativamente pelo

déficit hídrico. Estas reduções foram cerca de 42%, 71% e 38%, respectivamente (Figura 3). Com o passar do tempo esses valores foram diminuindo gradualmente até os 28 dias de tratamento, quando as plantas foram reidratadas novamente. No entanto, para a concentração interna de  $\text{CO}_2$  ( $\text{Ci}$ ), esse esgotamento ocorreu mais cedo, após 12 dias de retenção de água. Três dias após a reidratação,  $A$ ,  $g_s$ ,  $E$  e  $\text{Ci}$  foram recuperados em níveis semelhantes as plantas controles (Figura 3). Embora essas plantas tenham restringido absorção de água mínima por meio dos processos fisiológicos. Para Medrano et al. (2009) o controle estomático permite uma manutenção de baixas taxas das trocas gasosas em plantas adaptadas à seca ou aclimatadas são geralmente mais eficiente no uso da água mantendo uma abertura estomática mínimo para então poder assimilar quantidade suficiente uma  $\text{CO}_2$  para que ocorra os processos fotossintéticos.

Esse fato ocorrido no presente trabalho também foi constatado por Nogueira e Silva (2002) em que as reduções nas taxas de transpiração da baráúna (*Schinopsis brasiliensis* Engl.) foram devidas ao prolongamento do estresse em 20 dias de tratamento.

Diferenças significativas ( $P < 0,05$ ) entre os tratamentos da água foram observados após 12 dias de estresse para  $A/g_s$  e depois de 18 dias para  $A/\text{Ci}$  (Figura 3). As plantas estressadas apresentaram maior eficiência intrínseca do uso da água ( $A / g_s$ ) das plantas de controle, aumentando cerca de 40%. Inversamente, a eficiência instantânea de carboxilação ( $A/\text{Ci}$ ) reduzida em plantas submetidas a estresse hídrico e as diferenças significativas não foram observadas para a eficiência do uso da água ( $A / E$ ) e na temperatura foliar ( $T_f$ ) (Figura 3).



**Figura 3.** Fotossíntese líquida (A), concentração interna de  $\text{CO}_2$  (Ci), condutância estomática (gs), transpiração (E), eficiência intrínseca do uso da água (A/gs), eficiência instantânea da transpiração (EIT), eficiência instantânea de carboxilação (A/Ci) e

temperatura foliar (Tf) de plantas jovens de juazeiro (*Ziziphus joazeiro* Mart.) submetidas ao déficit hídrico. Valores médios de seis determinações e as barras o desvio-padrão. As setas indicam o dia que houve a reirrigação de cinco plantas selecionadas do tratamento sem rega.

Alterações bioquímicas foram observadas nas folhas das plantas sob estresse hídrico, aumentando a prolina, proteínas solúveis e aminoácidos livres cerca de 50%, 60% e 21%, respectivamente, quando comparadas às plantas controle. No entanto, aumentos significativos no teor de carboidratos não foram observados em plantas sob déficit hídrico (Tabela 1). Após a reidratação, proteína, prolina e conteúdo de aminoácidos reduziram para níveis próximos às plantas-controle. (Tabela 1).

Ao contrário das folhas, houve um grande aumento no conteúdo de carboidratos nas raízes, cerca de 233% em comparação com as plantas controle (Tabela 1). Junto com os carboidratos, houve aumento significativo nos teores de prolina (110%) e proteína (42,6%) nas raízes, mas os aminoácidos não diferiram significativamente para as plantas controle (Tabela 2). Após a reidratação, carboidratos, prolina e proteína reduzida para valores próximos aos das plantas controle, tanto como ocorreu com as folhas (Tabela 2).

Para Kramer e Boyer (1995) o acúmulo de aminoácidos e carboidratos nas células dos órgãos da planta (folha e raiz) é normalmente observado durante a desidratação. A concentração desses solutos compatíveis contribui para aclimação da fotossíntese, uma vez que evita a inibição do metabolismo da mesma.

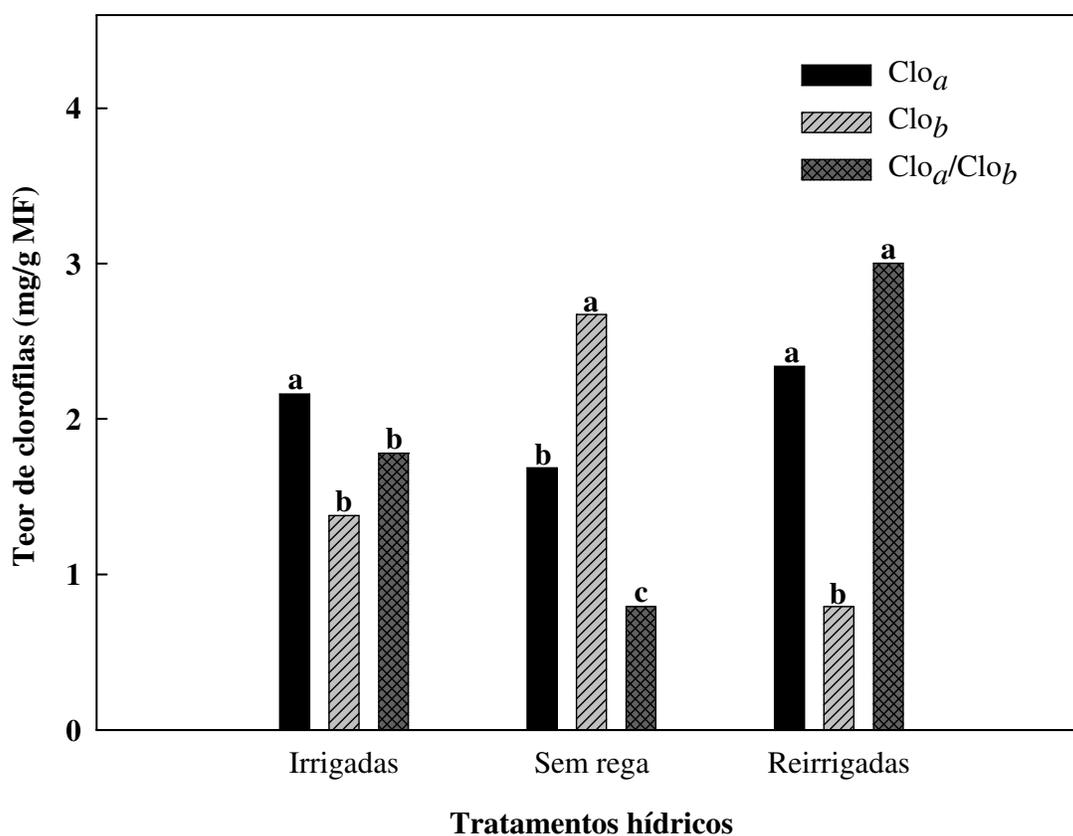
**Tabela 1.** Concentração de carboidratos solúveis, prolina livre, proteína solúvel e aminoácidos livres em folhas e raízes de plantas jovens de juazeiro (*Ziziphus joazeiro* Mart.) submetidas ao déficit hídrico em casa de vegetação.

Tratamentos hídricos	Carboidratos	Prolina	Proteínas	Aminoácidos
	( $\mu\text{mol.g}^{-1}$ MF)	( $\mu\text{mol.g}^{-1}$ MF)	( $\mu\text{g.g}^{-1}$ MF)	( $\mu\text{mol.g}^{-1}$ MF)
<b>Folhas</b>				
<b>Irigadas</b>	139,53 ab	1,74 b	6317,80 c	22,57 b
<b>Sem rega</b>	147,43 a	3,50 a	15816,43 a	28,61 a
<b>Reirrigadas</b>	106,46 b	1,11 b	7834,51 b	24,03 b
<b>Raízes</b>				
<b>Irigadas</b>	28,93 c	0,39 b	1612,42 b	24,05 a
<b>Sem rega</b>	96,47 a	0,82 a	2299,50 a	24,60 a
<b>Reirrigadas</b>	49,70 b	0,46 b	1582,68 b	22,65 a

Médias seguidas por letras iguais, não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey ( $P \leq 0,05$ ).

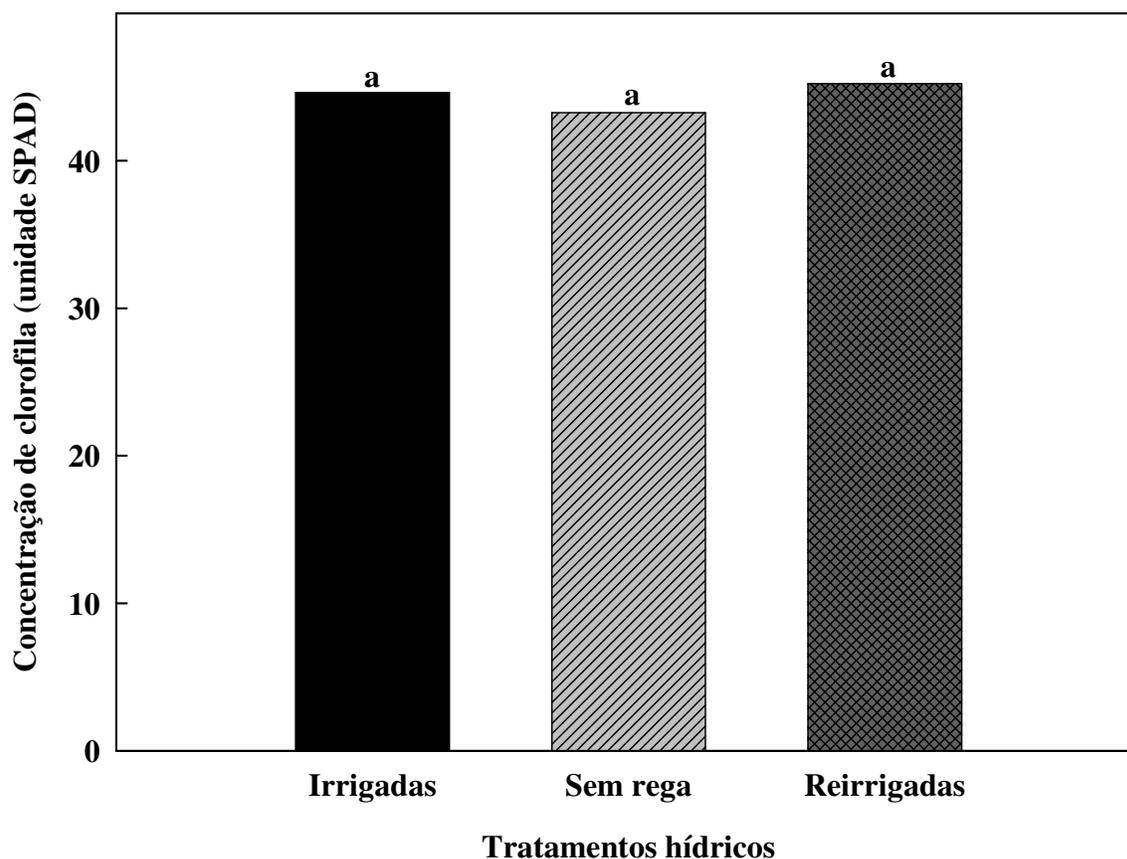
De forma inversa a clorofila *a*, na clorofila *b* as plantas sem rega ( $2,67 \text{ mg.g}^{-1} \text{ MF}$ ) aumentaram 2 vezes em relação às plantas irrigadas ( $1,38 \text{ mg.g}^{-1} \text{ MF}$ ). Já nas plantas reirrigadas esse pigmento fotossintético reduziu em 29,7% quando comparado com as sem rega (Figura 4).

Clorofila *a* e clorofila *a/b* foram significativamente afetadas pelo estresse hídrico (Figura 4). As reduções foram de cerca de 22% e 44,5%, respectivamente. Por outro lado, houve um aumento no teor de clorofila *b* em plantas sob estresse hídrico, quando comparado com o controle (Figura 4). Três dias após a reidratação das plantas, houve uma recuperação da clorofila *a* e reduções no teor de clorofila *b* nas plantas reidratadas, o que fez aumentar a razão das clorofilas  $\text{Clo}_a/\text{Clo}_b$  (Figura 4).



**Figura 4** - Teores de clorofila *a*, *b* e razão das clorofilas *a/b* em folhas de plantas jovens de juazeiro (*Ziziphus joazeiro* Mart.) submetidas ao déficit hídrico. Médias seguidas por letras iguais, não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey ( $P \leq 0,05$ ).

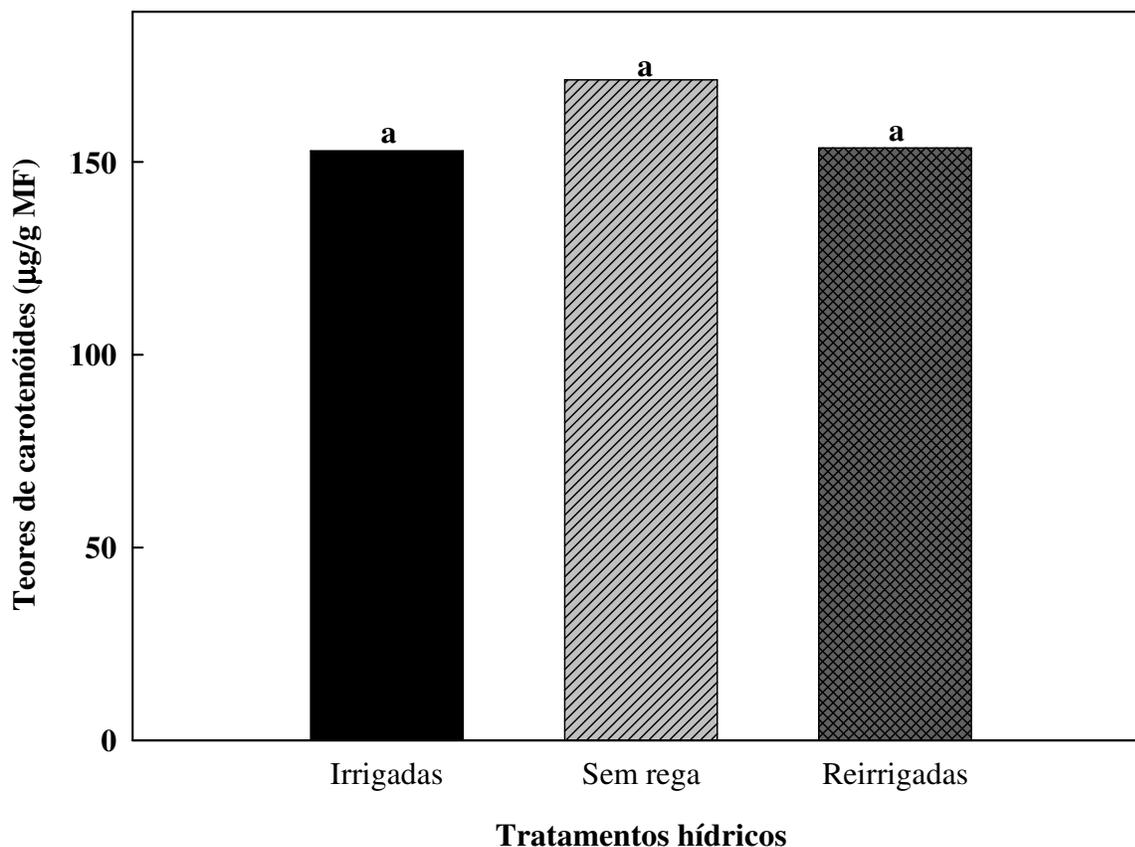
A clorofila total das folhas determinada pelo medidor de clorofila (SPAD) não apresentou diferenças significativas entre os tratamentos hídricos, cuja variação média foi de 38,2 a 50,5 por unidade de SPAD (Figura 5).



**Figura 5** – Concentração de clorofila total determinada pelo medidor de clorofila (SPAD) em folhas de plantas jovens de juazeiro (*Ziziphus joazeiro* Mart.) submetidas ao déficit hídrico. Médias seguidas por letras iguais, não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey ( $P \leq 0,05$ ).

O teor de carotenóides também não apresentou diferença significativa entre os tratamentos hídricos, uma vez que os valores médios variaram de  $152,85 \mu\text{g.g}^{-1}$  MF a  $171,24 \mu\text{g.g}^{-1}$  de MF (Figura 6). Apesar não haver diferença entre os tratamentos, nota-se que a concentração de carotenóides teve certa tendência a aumentar nas plantas sem rega ( $171,24 \mu\text{g.g}^{-1}$  de MF) (Figura 6). Essa observação pode estar relacionada com a

diminuição da clorofila *a* verificada na Figura 4, pois os carotenóides têm a função de proteger as clorofilas contra a oxidação. Essa oxidação pode ocorrer pela radiação intensa ou até mesmo pela intensidade do déficit hídrico.

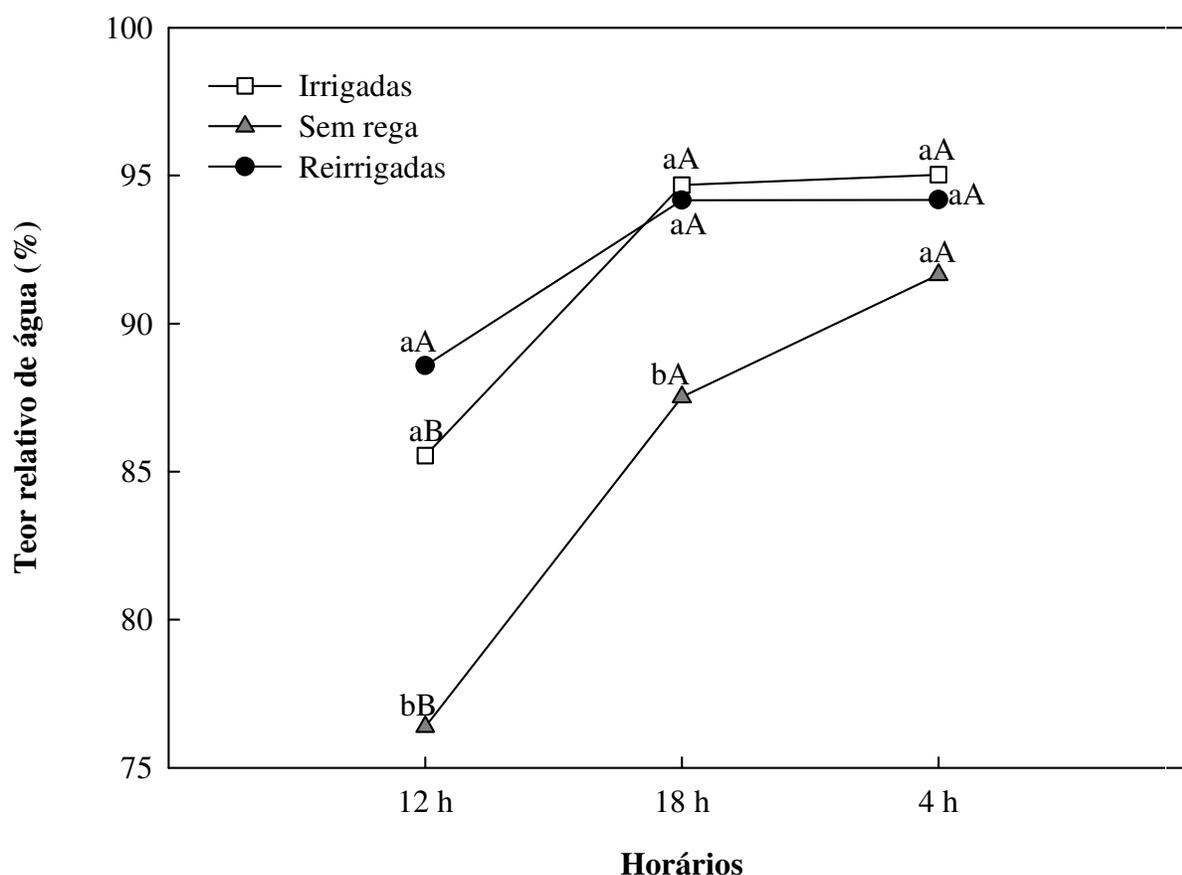


**Figura 6** - Teores de carotenóides em folhas de plantas jovens de juazeiro (*Ziziphus joazeiro* Mart.) submetidas ao déficit hídrico. Médias seguidas por letras iguais, não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey ( $P \leq 0,05$ ).

Teor relativo de água (TRA) nas folhas foi significativamente reduzido pelo déficit hídrico após 28 dias de tratamento ao meio-dia (TRA = 76%), no horário de maior demanda atmosférica por evaporação, quando comparadas às plantas controle (Figura 7). No entanto, em seis horas uma pequena recuperação foi observada (cerca de 13%), seguido de uma noite cheia de recuperação mais como observado no TRA madrugada (Figura 7). Houve uma recuperação nas plantas estressadas 3 dias após a

reidratação (90% do TRA). Este valor foi observado em quatro horas e cerca de 88% ao meio-dia, devido à alta temperatura e DPV.

No horário das 18h, as plantas sem rega apresentaram certo aumento no TRA de suas folhas, porém não foi o bastante, visto que apresentavam 7,6% de desidratação quando comparadas com as plantas sob irrigação.

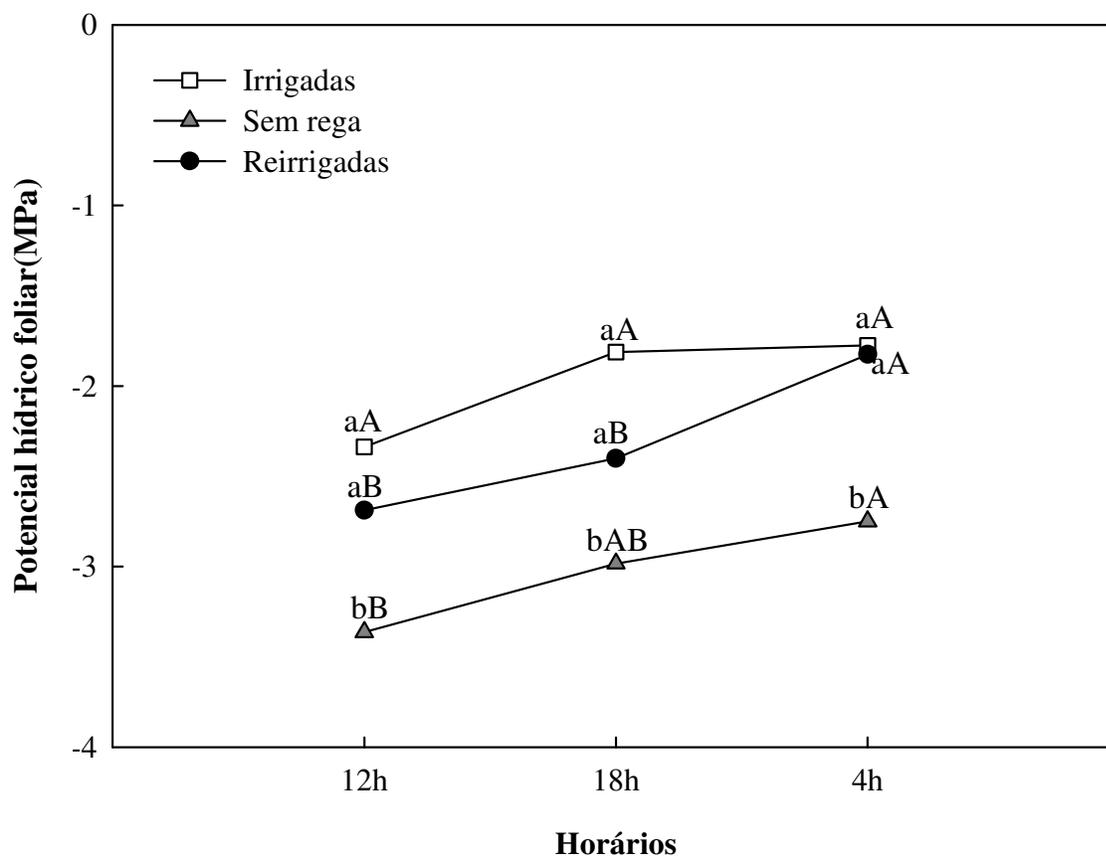


**Figura 7** – Teor relativo de água (TRA) em folhas de plantas jovens de juazeiro (*Ziziphus joazeiro* Mart.) submetidas ao déficit hídrico. Médias seguidas por letras iguais minúsculas para tratamentos e maiúsculas para os horários não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey ( $P \leq 0,05$ ).

A deficiência hídrica induziu reduções no potencial hídrico foliar ( $\Psi_w$ ) em plantas estressadas em todas as horas de avaliação quando comparadas às plantas

controle (Figura 8). Após a reidratação  $\Psi_w$  recuperou seus valores próximos aos das plantas controle (Figura 8).

De forma inversa aos resultados do presente trabalho, Silva et al. (2009b) verificaram que o potencial hídrico da folha dos genótipos de *Spondias tuberosa* Arruda (umbu) permaneceu sempre próximo de zero, em torno de -0,5 MPa.



**Figura 8** – Potencial hídrico foliar ( $\Psi_w$ ) de plantas jovens de juazeiro (*Ziziphus joazeiro* Mart.) submetidas ao déficit hídrico. Médias seguidas por letras iguais minúsculas para tratamentos e maiúsculas para os horários não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey ( $P \leq 0,05$ ).

#### 4.3.4 Conclusão

Plantas de *Z. joazeiro* apresentaram durante o período de deficiência hídrica comportamentos estomático e não estomático, respondendo também como espécies anisohydrics. Apresentando reduções nas taxas transpiratórias, condutância estomática e concentração interna de CO<sub>2</sub> para manter a fotossíntese baixa e a eficiência do uso da água elevada. Os baixos valores de turgescência celular e do potencial hídrico foliar foram viabilizados pelo acúmulo de solutos orgânicos nas folhas e raízes favorecendo assim, a absorção de água pelas plantas. Portanto, essa espécie demonstrou uma elevada plasticidade em tolerar o déficit hídrico mesmo apresentando mudanças bioquímicas e permanecendo com as suas funções fisiológicas limitadas por um período maior de tempo.

#### 4.3.5 Referências bibliográficas

BATES, L.S. Rapid determination of free proline for water-stress studies. Short communication. **Plant and Soil**, v. 39, p. 205-207, 1973.

BRADFORD, M.M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, v.72, p. 248-254, 1976.

BUCKMAN, H.O.; BRADY, N.C. **Natureza e propriedades dos solos**. 3 ed. Rio de Janeiro: F B, 1974. 549p.

CARVALHO, P.E.R. **Juazeiro: *Ziziphus joazeiro***. Embrapa, 8p, 2007 (Circular técnica n° 139).

CHARTZOULAKIS, K.; PATAKAS, A.; BOSABALIDIS, A.M. Changes in water relations, photosynthesis and leaf anatomy induced by intermittent drought in two olive cultivars. **Environmental and Experimental Botany**, v.42, p. 113-120, 1999.

DUBOIS, M. et al. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. **Analytical Chemistry**, v. 28, p. 350-356, 1956.

GALMÉS, J. et al. Response of leaf respiration to water stress in Mediterranean species with different growth forms. **Journal of Arid Environments**, v. 68, p. 206-222, 2007.

GHANNOUM, O. C4 photosynthesis and water stress. **Annals of Botany**, 103, 635-644, 2009.

HSIAO, T.C. Plant responses to water stress. **Annual review plant physiology**. Stanford, v. 24, p. 519-570, 1973.

JHARNA, D.E. et al. Biochemical screening of some groundnut (*Arachis hypogaea* L.) genotypes for drought tolerance. **Online Journal of Biological sciences**, v.1, n. 11, p. 1009-1011, 2001.

KRAMER, P.J.; BOYER, J. S. **Water relations of plants and soils**. Academic Press, 1995, 495p.

LAWLOR, D.W.; TEZARA, W. Causes of decreased photosynthetic rate and metabolic capacity in water-deficient leaf cells: a critical evaluation of mechanisms and integration of processes. Review. **Annals of Botany**, v. 103, p. 561-579, 2009.

LICHTENTHALER, H.K.; BUSCHMANN, C. **Current Protocols in Food Analytical Chemistry**, F4.3.1-F4.3.8, 2001.

LIMA FILHO, J.M.P.; DRUMOND, M.A.; MACENO, D.S. Comportamento fisiológico da leucena e albizia sob condições semi-áridas. **Pesquisa agropecuária brasileira**, v. 27, n. 4, p. 537-542, 1992.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras: Manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**. 5. Ed. v.1. São Paulo: Plantarum, 384p. 2008

LORENZI, H. **Árvores brasileiras: Manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**. 5. Ed. v.1. São Paulo: Plantarum, 2008. 384p.

MANSUR, R. J. C. N.; BARBOSA, D. C. A. Comportamento fisiológico em plantas jovens de quatro espécies lenhosas da caatinga submetidas a dois ciclos de estresse hídrico. **PHYTON**, v. 68, 2000. p. 97-106.

McDOWELL, N. et al. Mechanisms of plant survival and mortality during drought: why do some plants survive while succumb to drought? Review, **New Phytologist**, v. 178, p.719-739, 2008

MEDRANO, H.; FLEXAS, J.; GALMÉS, J. Variability in water use efficiency at the leaf level among Mediterranean plants with different growth forms. **Plant Soil**, v.317, p. 17-19, 2009.

MUNIZ-BRITO, K. L.; AYALA-OSUNA, J.T. Influência de diferentes substratos na germinação de sementes de *Ziziphus joazeiro* Mart., Rhamnaceae. **Sitientibus Série Ciências Biológicas**, v. 5, n. 2, p. 63-67, 2005.

NASCIMENTO, M.M.A.; TABOSA, J.N.; TAVARES FILHO, J.J. Avaliação de cultivares de milho no agreste semi-árido de Pernambuco. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.7, n.1, p. 53-56, 2003.

NEPOMUCENO, A.L. et al. Tolerância à seca em plantas: Mecanismos fisiológicos e moleculares. **Biotecnologia, Ciência & Desenvolvimento**, v. 23, p. 12-18, 2001.

NOGUEIRA, J.M.C.R. et al. Curso diário do potencial hídrico foliar em cinco espécies da caatinga. **Revista Ecosistema**. v. 23, p. 73-77. 1998.

NOGUEIRA, R.J.M.C.; SILVA, E.C. Comportamento estomático em plantas jovens de *Schinopsis brasiliensis* Engl. cultivadas sob estresse hídrico. **IHERINGIA, Série Botânica**, Porta Alegre, v. 57, n. 1, p. 31-38, 2002.

PRADO, D. **As caatingas da América do Sul**. In: LEAL, I.R.; TABARELLI M. e SILVA J.M.C. (eds.). *Ecologia e conservação da Caatinga*. Editora Universitária, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Brasil., 2003, p73.

REGIER, N. et al. Drought tolerance of two black poplar (*Populus nigra* L.) clones:

contribution of carbohydrates and oxidative stress defence. **Plant, Cell and Environment**, v. 32, p.1724-1735, 2009.

SANTOS, R.F.; CARLESSO, R. Déficit hídrico e os processos morfológicos e fisiológicos das plantas. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Paraíba, v.2, n.3, p.287-294, 1998.

SARKER, B.C.; HARAB, M.; UEMURAC, M. Proline synthesis, physiological responses and biomass yield of eggplants during and after repetitive soil moisture stress. **Scientia Horticulturae**, v. 103, p.387 – 402, 2005.

SCHOLANDER, P.F. et al. Hydrostatic pressure and osmotic potentials in leaves of mangroves and some other plants. **Proceedings of National Academy Science**, v. 51, p. 119-125, 1965.

SIRCELJ, H. et al. Biochemical response in leaves of two apple tress cultivars subjected to progressing drought. **Journal of plant physiology**, v. 162, p. 1308-1318, 2005.

SOUZA, C.C. et al. Avaliação de métodos de determinação de água disponível e manejo da irrigação em terra roxa sob cultivo de algodoeiro herbáceo. **Revista Brasileira de Engenharia Agrária e Ambiental**, v.4, n. 3, p.338-342. 2000.

VIEIRA, R.F. et al. **Estratégias para Conservação e Manejo de Recursos Genéticos de Plantas Medicinais e Aromáticas: Resultados da 1ª Reunião Técnica. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia/ Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (IBAMA) / Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq). 2002.**

WEATHERLEY, P.E. Studies in the water relations of the cotton plant. I. The field measurement of water deficits in leaves. **New Phytologist**, n. 49, p. 81-97. 1950.

YEMM E. W.; COCKING, E. C. Determination of amino acids with ninhydrin.

**Analyst**, v. 80, p. 209 – 213, 1955.

ZHANG, P. et al. Scheduling irrigation for jujube (*Ziziphus jujube* Mill). **African Journal of Biotechnology**, v.9, n. 35, p. 5694-5703, 2010.

#### **5. EXPERIMENTO IV**

---

**Influência da sazonalidade nas relações hídricas, bioquímicas,  
composição de *n*-alcanos da cutícula e densidade estomática de folhas  
de *Ziziphus joazeiro* Mart. na região semiárida de Pernambuco**

---

### Resumo

O trabalho teve o objetivo de avaliar o potencial hídrico, teor relativo de água, a densidade estomática, solutos orgânicos e *n*-alcanos da cutícula de folhas de plantas adultas de *Ziziphus joazeiro* Mart sob o efeito da sazonalidade. A pesquisa de campo foi realizada na Estação Experimental José Nilson de Melo (coordenadas de 8° 14' 18" S e 35° 54' 57" W), base física do Instituto Agrônomo de Pernambuco (IPA), no Município de Caruaru-PE, durante o período de 2008 a 2010. Inicialmente, a área de estudo foi identificada e os 20 indivíduos foram demarcados e avaliados quanto à biometria. O delineamento foi inteiramente casualizado apresentando dois tratamentos (estações secas e chuvosas), três épocas de avaliação (2008, 2009 e 2010) e as repetições foram os 20 indivíduos amostrados. As avaliações do potencial hídrico foliar e do teor relativo de água foram realizadas às 12h (meio dia), como também foram coletadas às 12 h (meio dia) folhas e ramos para as análises de bioquímica, densidade estomática e de *n*-alcano. Nas estações secas o potencial hídrico permaneceu sempre abaixo de -2 MPa. No período seco do ano de 2010 o  $\Psi_w$  atingiu -4MPa. O teor relativo de água também reduziu nos três anos, sendo que no ano de 2008 a redução da turgescência da folha foi mais intensa.

**Palavras-chave:** Potencial hídrico foliar, teor relativo de água, densidade estomática, solutos orgânicos e *n*-alcanos.

**Influence of season on water relations, biochemical composition of n-alkanes of the cuticle and stomatal density of leaves of *Ziziphus joazeiro* Mart. in the semiarid region of Pernambuco**

**Abstract**

The study aimed to evaluate the water potential, relative water content, stomatal density, organic solutes and n-alkanes from the cuticle of leaves of mature plants of *Ziziphus joazeiro* Mart under the effect of seasonality. The field research was conducted at the Experimental Station Nilson José de Melo (coordinates 8 ° 14 '18 "S and 35 ° 54' 57" W), physical basis of the Agronomic Institute of Pernambuco (IPA) in the municipality of Caruaru-PE During the period 2008 to 2010. Initially, the study area was identified and 20 individuals were marked and evaluated for biometrics. The completely randomized design featuring two treatments (dry and rainy seasons), three times (2008, 2009 and 2010) and the repetitions the 20 individuals sampled. The assessments of leaf water potential and relative water content were performed at 12 (noon), as also were collected at 12 h (noon) leaves and twigs to the analysis of biochemical and stomatal density of *n*-alkane. In the dry seasons when water potential remained below -2 MPa. In the dry period of 2010 reached the  $\Psi_w$  - 4MPa. The relative water content also decreased in the three years, and in 2008 the reduction of leaf turgor was more intense.

**Key words:** Leaf water potential, relative water content, stomatal density, organic solutes and *n*-alkanes.

## 5.1 Introdução

A seca é um dos fatores climáticos de maior importância, pois chega a limitar o crescimento, o desenvolvimento e conseqüentemente a produtividade de espécies vegetais no mundo (REGIER et al., 2009). No presente momento, com o aumento do aquecimento global causado pela consequência da ação humana, poderá intensificar ainda mais o período de seca nas regiões áridas e semiáridas da Terra (GERGINO, 2007; FEARNSSIDE, 2006; KOOHAFKAN; STEWART, 2008), o que pode levar ao comprometimento da sobrevivência de algumas espécies nativas adaptadas morfofisiologicamente aquelas áreas quase inóspitas.

Plantas que habitam ambientes áridos e semiáridos estão constantemente sofrendo injúrias dos tipos bióticos e abióticos, sendo que estes são mais pronunciados por causa da periodicidade sazonal do clima (verão e inverno), pela variação da radiação, da duração do dia, pelas mudanças constantes de temperatura e da quantidade de precipitação que ocorrem ao longo do ano (LARCHER, 2004). Sujeitas a essas alterações climáticas, as plantas toleram na forma de mecanismos por alto potencial hídrico e/ou por baixo potencial hídrico (NOGUEIRA et al., 2005).

O juazeiro (*Ziziphus joazeiro* Mart.) é uma árvore xerófita pertencente à família Rhamnaceae, que cresce naturalmente em toda vegetação da Caatinga, no semiárido do Nordeste do Brasil (LORENZI, 2008). Conhecida como planta medicinal é muito utilizada pela população local para fins terapêuticos no combate a bronquite e micoses. A indústria farmacêutica também extrai o seu princípio ativo que é a saponina para produzir xampus e dentifrícios. Além disso, serve de alimento para o rebanho caprino e sombra para o gado durante a estação seca, por apresentar sempre com folhas (CARVALHO, 2007; LORENZI, 2008). Apesar da importância econômica que o juazeiro apresenta, há poucos trabalhos envolvendo o seu comportamento fisiológico, bioquímico e morfoquímico de plantas adultas de juazeiro sob o efeito da sazonalidade. Diante disso, o trabalho objetivou em avaliar o potencial hídrico, o teor relativo de água, a densidade estomática, compostos solúveis e a composição química de *n*-alcanos da cutícula de folhas de indivíduos adultos de *Ziziphus joazeiro* Mart.

### 5.1.1 Material e métodos

#### 5.1.2 Descrição da área de estudo

A pesquisa de campo foi realizada na Estação Experimental José Nilson de Melo, base física pertencente ao Instituto Agrônomo de Pernambuco (IPA), que teve início em maio de 2008 e finalizou em dezembro de 2010.

A referida estação (coordenadas de 8° 14' 18" S e 35° 54' 57" W), a 537 m de altura e abrangendo uma área de 190 ha está localizada no Município de Caruaru-PE, a 138 km do Recife (Figura 1). O clima é classificado como estacional, com temperatura média anual de 22,7 °C e precipitação média anual de 694 mm cuja seca ocorre por seis meses (agosto a fevereiro). O solo é caracterizado como Podzólico Amarelo tb eutrófico, abrupto, A moderado, de textura franco arenosa (ALCOFORADO FILHO et al., 2003; PEREIRA et al., 2008).

#### 5.1.3 Demarcação da área de estudo, mensurações e períodos de coleta.

Inicialmente, a área de estudo foi identificada e demarcada com auxílio de um GPS de marca Garmin, onde os 20 indivíduos adultos de juazeiro que se encontravam situados próximos entre si foram selecionados e, posteriormente estudada a biometria, com mensurações da circunferência do caule a 30 centímetros do solo, a projeção da copa e a altura estimada cujas médias foram de 39,44 cm, 8,64 m e 4,18 m, respectivamente.

Em todos os anos de avaliação (2008, 2009 e 2010) em que houve as coletadas de matéria vegetal também foram coletados os dados pluviométricos da área em que se encontravam os indivíduos de *Ziziphus joazeiro* Mart selecionados (Figura 1).

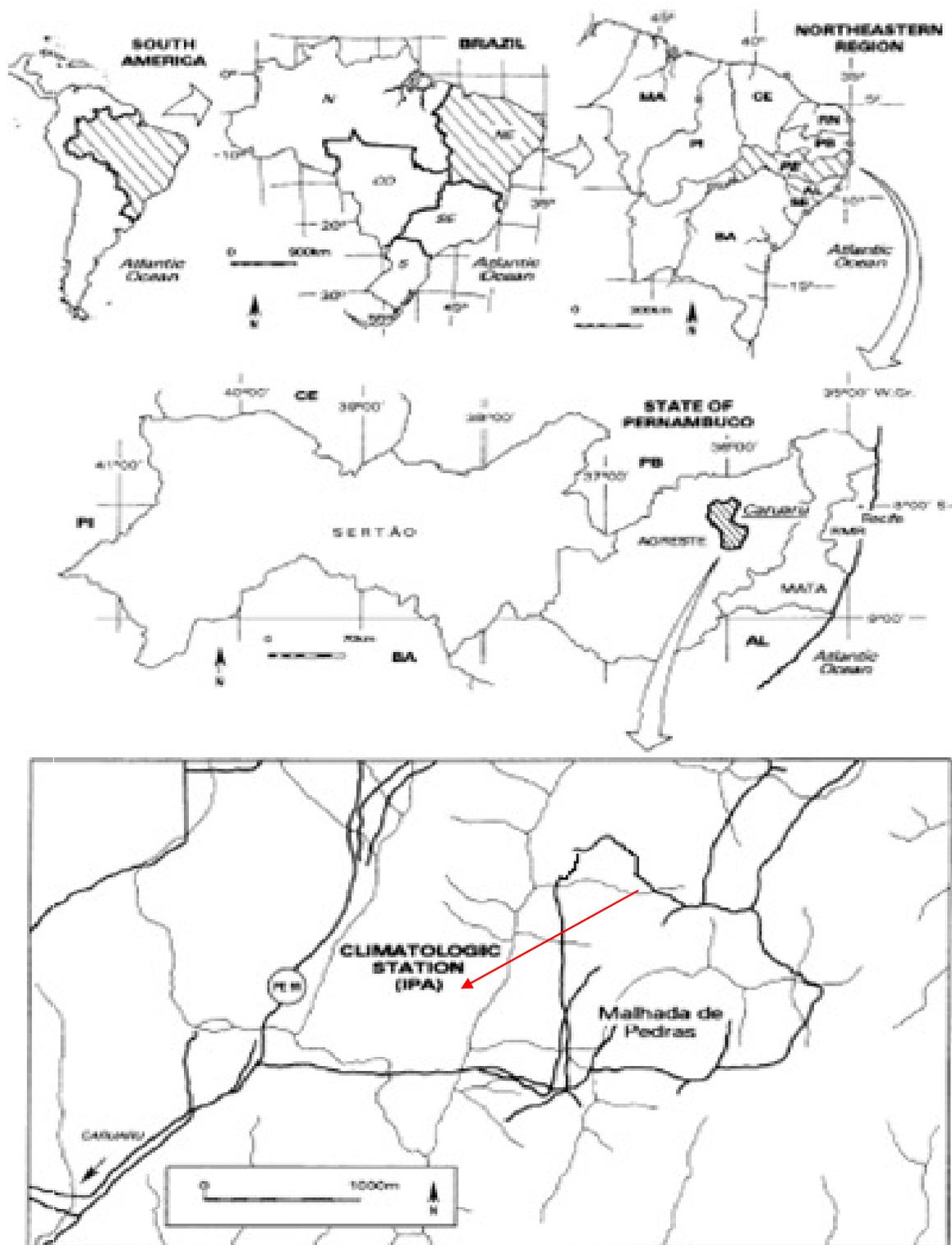
As coletas de material vegetal destinadas para as avaliações de TRA, potencial hídrico foliar, bioquímica, densidade estomática e composição química de cera epicuticular foram realizadas nas estações secas e chuvosas dos anos 2008, 2009 e 2010. Durante o período chuvoso as coletas foram feitas em dias ensolarados e /ou parcialmente nublados, uma vez que para determinar as referidas avaliações de relações hídricas é necessário que as folhas estejam secas.

O potencial hídrico foliar ( $\Psi_w$ ) foi avaliado às 12 horas (meio dia), utilizando-se ramos localizados nas direções dos pontos cardeais norte, sul, leste e oeste da copa de cada indivíduo adulto no campo, que continham de 2 a 3 pares de folhas jovens completamente expandidas, os quais foram envolvidos em filme plástico (PVC), destacados e colocados em recipiente de isolante térmico devidamente refrigerado e este foi levado ao Laboratório de Fisiologia Vegetal para determinar o potencial hídrico dos ramos, utilizando-se a Câmara de Pressão de Scholander, modelo 3035 da “Soil Moisture Equipment Corp”, Santa Bárbara, Califórnia-EUA (SCHOLANDER et al., 1965).

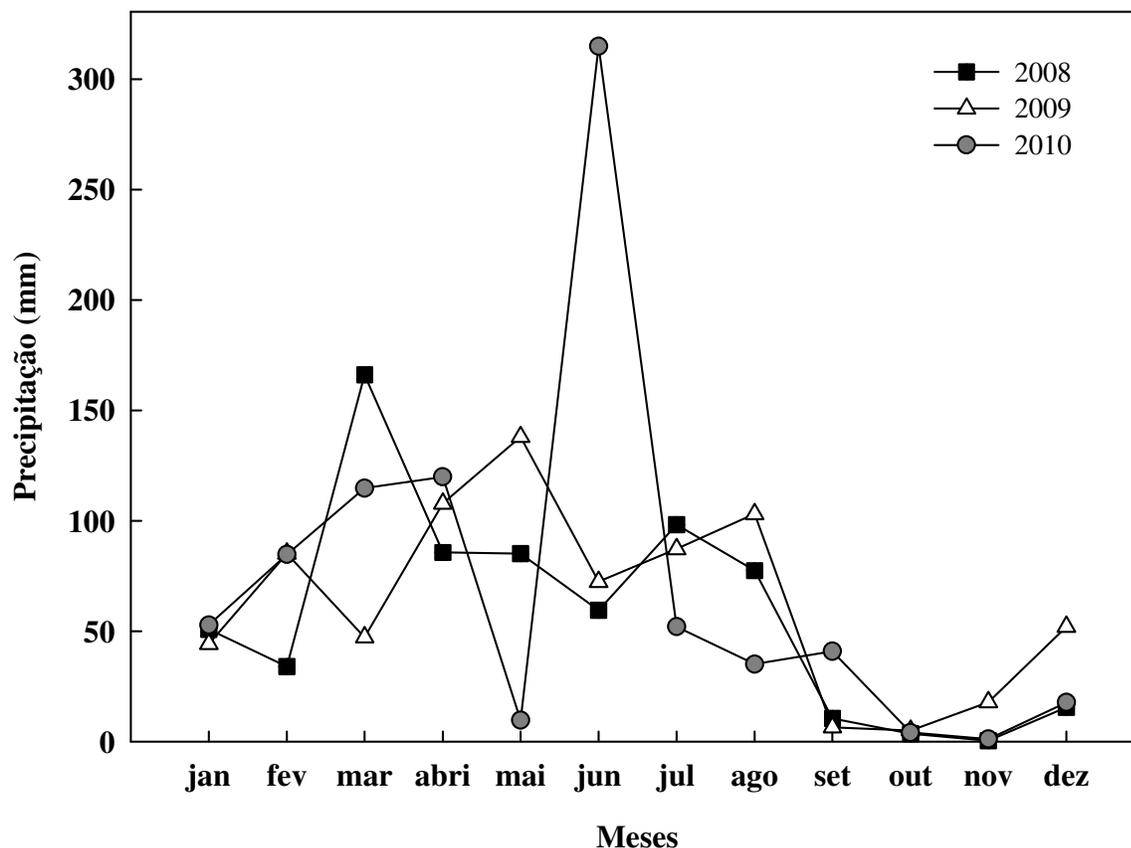
Para a determinação do teor relativo de água (TRA), foram utilizadas quatro folhas de cada ramo coletado às 12h (meio-dia), localizado na direção de cada ponto cardinal (norte, sul, leste oeste) da copa da árvore. As folhas foram pesadas para obtenção da massa fresca (MF), posteriormente foram acondicionadas em placas de petri, sob imersão a 20 mL de água destilada e levadas para o refrigerador, onde passaram 24 horas no escuro a 4 °C. Após esse período, as folhas foram submetidas a uma nova pesagem para obtenção do peso da massa túrgida (MT) e foram acondicionadas em sacos de papel, e estes conduzidos à estufa de circulação de ar forçada a 70 °C. Por fim, quando atingiram peso constante, as folhas foram novamente pesadas para obtenção do peso da massa seca (MS) e os valores obtidos foram substituídos na fórmula de TRA descrita abaixo, pela metodologia de Weatherley (1950).  $TRA = [(MF - MS) / (MT - MS) \times 100]$

As folhas completamente expandidas, expostas a radiação e posicionadas nas direções dos pontos cardeais: norte, sul, leste e oeste da copa de cada árvore, foram coletadas, envolvidas com papel alumínio e colocadas em recipiente de isolante térmico devidamente refrigerado para se proceder as análises bioquímicas no Laboratório.

Para proceder as análises bioquímicas, pesou-se 1g de matéria fresca do limbo da folha, sem nervura, e macerou-se em almofariz com 5 mL de solução tampão fosfato de potássio 100 mM, pH 7,0 contendo EDTA a 0,1 mM. A amostra macerada foi filtrada com tecido de musselina e centrifugada a 19975 x g por 20 min, em centrífuga refrigerada para eppendorf. O precipitado foi descartado e o sobrenadante foi utilizado como extrato para as análises dos teores de carboidratos solúveis, prolina livre, proteínas solúveis e aminoácidos livres totais.



**Figura 1.** Localização da área de estudo – Estação Experimental de José Nilson de Melo (IPA), Caruaru-PE. Fonte: Monteiro et al. (2006).



**Figura 2.** Precipitação de três anos consecutivos (2008, 2009 e 2010), no campo da Estação Experimental José Nilson de Melo, do Instituto Agrônomo de Pernambuco (IPA), Caruaru-PE.

Os carboidratos solúveis foram determinados a 490 nm, pelo método de fenol-ácido sulfúrico (DUBOIS et al., 1956) utilizando D-(+)-glucose como padrão. A concentração de prolina livre foi determinada a 520 nm, pelo método da ninhidrina e ácido fosfórico (BATES, 1973), utilizando-se a prolina como padrão. A determinação de proteína foi realizada a 595 nm, pelo método da ligação ao corante coomassie brilliant blue (BRADFORD, 1976), utilizando-se albumina sérica bovina como padrão. Os aminoácidos foram analisados a 570 nm, pelo método de ninhidrina (YEMM; COCKING, 1955), utilizando-se glicina como padrão.

A densidade estomática foi analisada a partir de moldes extraídos da epiderme inferior de folhas expostas ao sol, aplicando-se duas camadas de esmalte incolor sobre a superfície

inferior da folha. Depois de secos, os moldes foram retirados cuidadosamente com uma pinça e colocados em lâminas histológicas devidamente identificadas, e sobre cada molde foi posta uma lamínula. A lâmina foi analisada no microscópio modelo 10 -1B de marca Olerman, realizando-se a contagem dos estômatos com a objetiva de 40/0,65 e uma ocular de marca Bach WF de tela graduada micrométrica. Após a contagem, a densidade estomática foi calculada pelo número de estômatos/mm<sup>2</sup> de superfície.

A extração de cera epicuticular foi realizada no Laboratório de Ecofisiologia Aplicada e Fitoquímica (LEAF), do Centro de Ciências Biológicas, da Universidade Federal de Pernambuco. O material foliar para todos os experimentos foi coletado obedecendo as direções dos pontos cardeais: norte, sul, leste e oeste da copa de cada indivíduo adulto de *Ziziphus joazeiro*, o qual foi acondicionado em sacos de papel perfurados, para ser seco em ambiente sombreado e ao ar livre. As folhas secas foram destacadas dos ramos, pesadas e colocadas, por meio de uma pinça em porções pequenas num becker contendo 200 mL do solvente diclorometano para serem lavadas, ficando submersas por 30 segundos para que a cera fosse totalmente removida pelo solvente. Esse procedimento foi realizado duas vezes. Após a remoção da cera das folhas o solvente foi filtrado para retirar as impurezas e em seguida evaporado em evaporador rotativo para obtenção da cera. A cera foi transferida para frascos de vidro para secar. Para identificação dos constituintes das ceras, a mesma foi fracionada por cromatografia em camada delgada utilizando como adsorvente gel de sílica G 60 impregnada com fluoresceína sódica a 0,4%. Os constituintes foram separados por cromatografia em camada delgada tendo como solvente de arraste o diclorometano e em seguida visualizados sob luz UV de ondas longas, para identificação e demarcação do composto *n*-alcano. A camada de *n*-alcano foi devidamente retirada da placa e pesada, para depois ser isolada por meio de filtragem utilizando o diclorometano como solvente. O teor médio de cera epicuticular foi calculado pela razão entre a quantidade de cera extraída das folhas pelo peso seco de folhas em mg. Esse procedimento de extração da cera foi realizado de acordo com a metodologia de Oliveira et al. (2003), com ligeira modificação.

A identificação dos *n*-alcanos foi realizada por cromatografia gasosa, no Laboratório de Recursos Econômicos e Fitoquímicos, do Departamento de Biologia, da Universidade Federal Rural de Pernambuco. Para tanto, o *n*-alcano foi quantificado por meio de cromatografia em fase gasosa (cromatógrafo de marca Shimadzu 17A ver 3.0) tendo hélio como gás de arraste com fluxo constante de 1 cm<sup>3</sup>/min. Foi utilizada uma coluna capilar de sílica fundida DB-5 (30 m x 0,25 mm) e temperatura inicial de 150 °C/ 2 min, elevando-se 4

°C/min até 300 °C. A temperatura do injetor e do detector foi 300 °C. A identificação do *n*-alcano foi realizada através de comparação com amostras autênticas com os dados da literatura.

Os dados foram tratados pela análise estatística, a qual foi adotada como delineamento experimental inteiramente casualizado com números de repetições iguais. Foram consideradas como tratamento as estações secas e chuvosas e como épocas de avaliação os anos consecutivos (2008, 2009 e 2010), e as repetições os 20 indivíduos amostrados, os quais passaram por uma análise de variância (ANOVA), e as médias comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade, com auxílio do programa Assistat versão 7.5.

## 5.2 Resultados e discussão

As árvores de juazeiro sob o efeito sazonal apresentaram em suas folhas potenciais sempre negativos, inferiores a -2 MPa, tanto nas duas estações, seca e chuvosa, quanto nos três anos de avaliação (2008, 2009 e 2010) (Figura 3). De forma contrária ao presente estudo, Trovão et al. (2007) verificaram que na estação seca de uma região semi-árida da Paraíba, o juazeiro manteve-se o sempre com potencial hídrico a - 0,70 MPa.

No primeiro ano de avaliação (2008) as plantas apresentaram nos dois períodos sazonais, chuvoso (-3,8 MPa) e seco (-3,9 MPa) potenciais hídricos bastante negativos, próximos a -4 MPa diferindo entre si (Figura 3), porém, no ano de 2009, os potenciais hídricos referentes aos períodos chuvoso (18,8%) e seco (27%) foram significativamente superiores em relação aos mesmos períodos do ano de 2008. Já no ano de 2010, o potencial hídrico tornou-se ainda mais negativo nos dois períodos sazonais, seco (-4,56 MPa) e chuvoso (-3,69 MPa), reduzindo de forma significativa em 31% e 24%, respectivamente, em relação aos mesmos períodos do ano de 2009 (Figura 3).

Essas observações podem ser fundamentadas pelas precipitações ocorrentes nos anos de 2009 e 2010, que apresentaram no período seco uma precipitação média de 44,83 mm e 33,74 mm, e para o período chuvoso de 90,54 mm e 122,24 mm, respectivamente (Figura 2). Isso pode ser uma justificativa do potencial hídrico ter sido muito negativo, no período seco, do ano de 2010, apesar de que a precipitação durante o período chuvoso desse ano tenha ocorrido em maior intensidade do que no ano de 2009.

Zhang et al. (2010) estudando o efeito da seca em plantas de três anos de idade de *Ziziphus jujuba* Mill. em campo, verificaram que o prolongamento do estresse fez decrescer

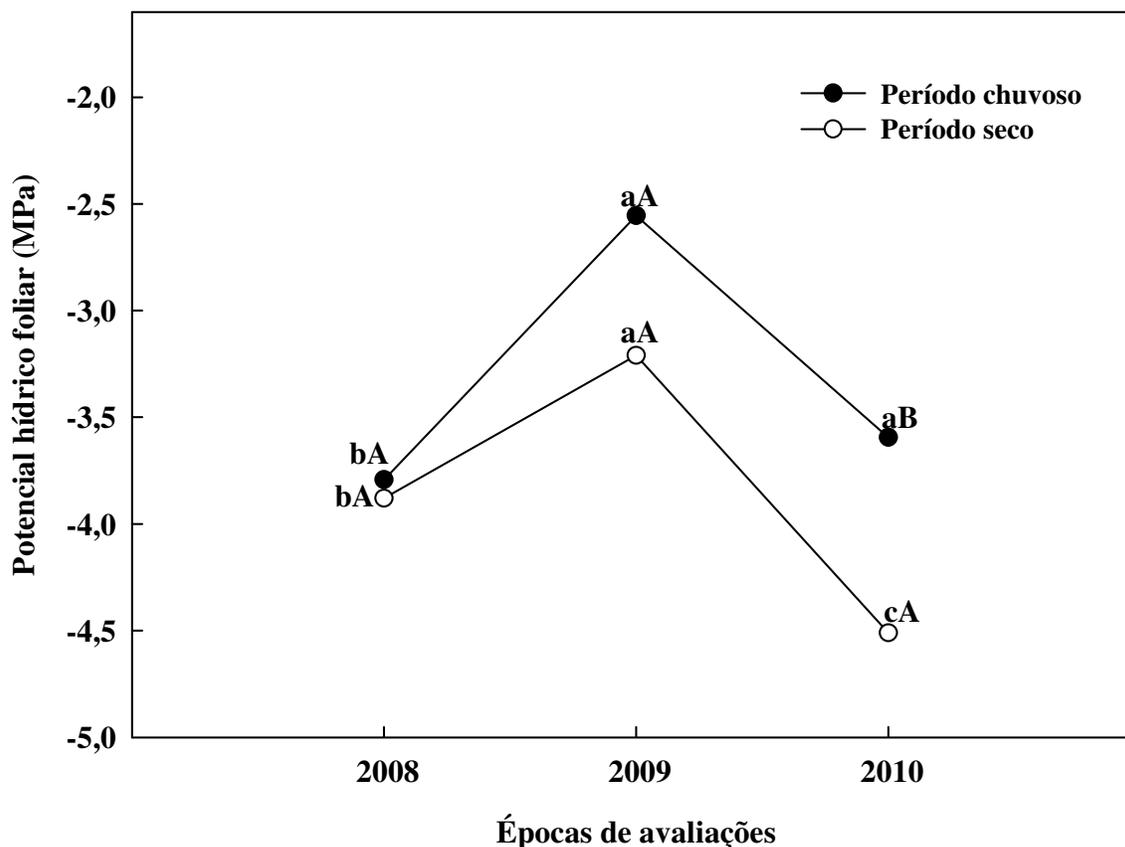
gradativamente o potencial hídrico foliar, o qual alcançou aproximadamente -2,6 MPa.

Ao estabelecer uma comparação dos dois períodos sazonais referentes aos anos 2008 e 2010, verificou-se que no período chuvoso do ano de 2008 houve uma diminuição significativa de 4,6% do potencial das folhas quando comparado com o ano de 2010. Enquanto que neste ano, para o período seco apresentou-se 15% inferior o seu potencial em relação ao do mesmo período do ano de 2008 (Figura 3). Embora a precipitação do ano de 2008 para o período seco tenha sido 27,44 mm, bem inferior a precipitação do ano de 2010 que foi de 33,74 mm (Figura 2), o potencial hídrico de 2010 foi menor que -4 MPa (Figura 3).

Quanto ao aspecto visual, observou-se também em campo, no período seco dos anos de 2008, 2009 e 2010, que a maioria das plantas de *Z. joazeiro* estavam perdendo as suas folhas e as árvores estavam ficando quase que totalmente desfolhadas (Figura 5). Essa evidência foi mais pronunciada no ano de 2010, observado em todas as plantas e, as mesmas estavam emitindo novas folhas, havendo também aparecimento de inflorescência (relatos das observações visuais da autora).

A perda de folhas pelo *Z. joazeiro* foi constatada também por Barbosa et al. (2003), que observaram no mês de dezembro substituição das suas folhas velhas por folhas jovens. Esse aspecto também foi enfatizado por Carvalho (2007) que quando o solo fica com escassez de água, há desfolhagem por completo das árvores de juazeiro; sendo que é raro apresentar esses sintomas de estresse.

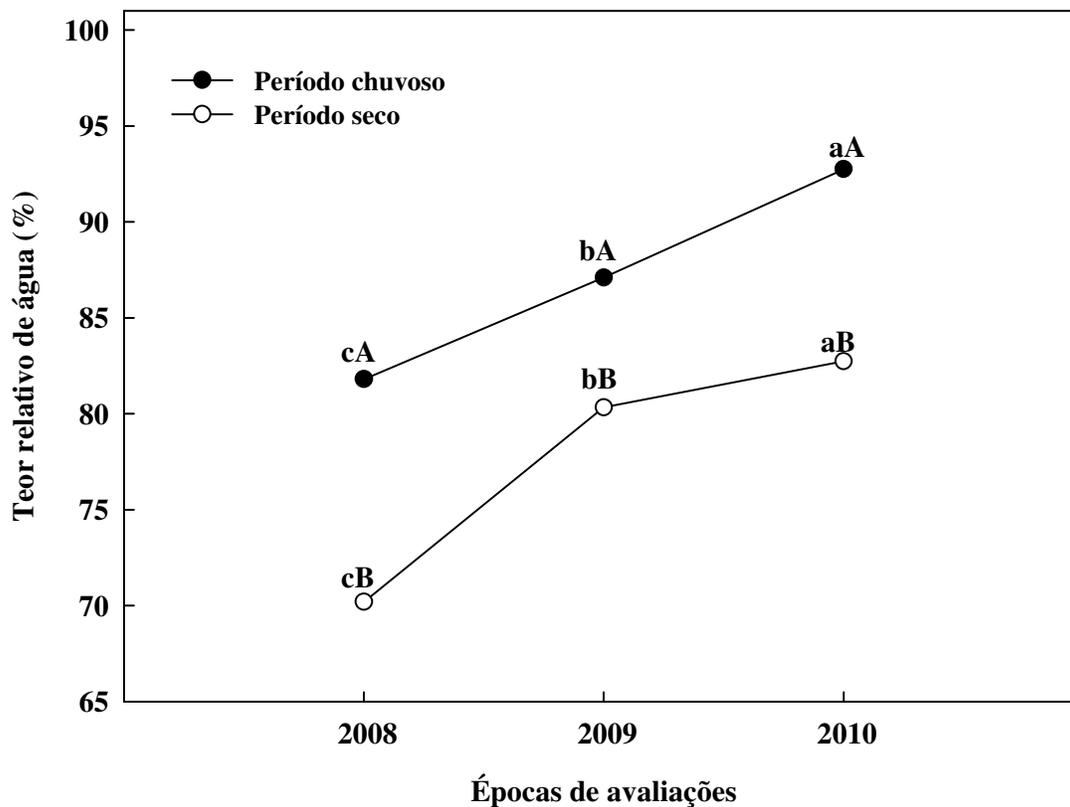
A seca reduziu significativamente o teor relativo de água (TRA) nas folhas de *Z. joazeiro* em 10,61% quando comparado com o período chuvoso (Figura 4). Confrontando os períodos sazonais em relação a cada época de avaliação, notou-se que na fase seca do ano de 2008 (70,19%) houve uma maior perda da turgescência nas folhas, cerca de 14% seguida dos anos de 2009 (80,72%) e 2010 (82,73%) que apresentaram diminuição de 7,3% e 10%, respectivamente, quando comparadas com a fase chuvosa para os mesmos anos (Figura 4). Ao examinar cada período entre as épocas de avaliação, houve diferença significativa nos dois períodos seco e chuvoso entre os anos de avaliação (Figura 4). Durante o período seco, a perda da turgescência das folhas de *Z. joazeiro* para o ano de 2008 foi de 13% e 15% quando comparado com os anos de 2009 e 2010, respectivamente (Figura 4). Essa perda da turgescência pode ser explicada pela a precipitação média ocorrida no período seco do ano de 2008 (27,44 mm) que foi aproximadamente 39% e 19% inferior aos anos de 2009 (44,83 mm) e 2010 (33,74 mm), respectivamente (Figura 2).



**Figura 3** – Potencial hídrico foliar ( $\Psi_w$ ) de plantas adultas de juazeiro (*Ziziphus joazeiro* Mart.) em ambiente natural da Estação Experimental José Nilson de Melo, do Instituto Agrônomo de Pernambuco (IPA), Caruaru - PE. Avaliações realizadas nos períodos secos e chuvosos dos anos 2008, 2009 e 2010. Médias seguidas por letras iguais maiúsculas para períodos sazonais e minúsculas para os anos de avaliação, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ( $P \leq 0,05$ ).

Embora no período chuvoso tenha apresentado certo aumento significativo em relação ao período seco entre as épocas de avaliação, no ano de 2008 (81,80%) o TRA ainda manteve-se em 6% e 11%, menor do que nos anos de 2009 (87,09%) e 2010 (92,51%), respectivamente (Figura 4). Essa perda da turgescência pode ser explicada pela precipitação média ocorrida no período chuvoso do ano de 2008 que foi de 98,9 mm, bem menor em relação ao ano de 2010 que apresentou uma precipitação de 122,24 mm (Figura 2). No entanto, quando comparado com o ano de 2009 (90,54 mm), a precipitação de 2008 foi um pouco maior cerca de 8%, mas

mesmo assim, não foi o suficiente para que o TRA das folhas, durante o período chuvoso de 2008 fosse capaz de elevar-se (Figura 2).



**Figura 4** – Teor relativo de água (TRA) de folhas de plantas adultas de juazeiro (*Ziziphus joazeiro* Mart.) em ambiente natural da Estação Experimental José Nilson de Melo, do Instituto Agrônomo de Pernambuco (IPA), Caruaru - PE. Coletas realizadas às 12 horas, nos períodos secos e chuvosos dos anos de 2008, 2009 e 2010. Médias seguidas por letras iguais maiúsculas para períodos sazonais e minúsculas para os anos de avaliação, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ( $P \leq 0,05$ ).

De maneira geral, a seca não induziu aumento de solutos orgânicos nas folhas, exceto para os aminoácidos que apresentaram 22% de acréscimo na sua concentração (Tabela 1). O acúmulo de carboidratos entre os períodos sazonais foi mínimo não atingindo 1% de diferença (Tabela 1). Mas, ao comparar as estações secas e chuvosas em cada época de avaliação, constatou-se que para os anos de 2008 e 2010, apresentou aumento de 4,4% e 22%, respectivamente, de forma significativa, para o período seco em relação ao chuvoso.

No entanto, só no ano de 2009, houve uma diminuição significativa de 21% na fase seca em relação à fase chuvosa (Tabela 1).

Ao examinar as épocas de avaliação em cada período sazonal, verificou-se que no período seco do ano de 2009, a concentração de carboidratos foi 9% e 8,5%, menor quando comparada com os anos de 2008 e 2010, respectivamente (Tabela 1). Já para o período chuvoso, no ano de 2010, houve reduções de 18,5% e 33% em relação aos anos de 2008 e 2009, respectivamente (Tabela 1).

A concentração de proteínas foi aproximadamente 19,6% menor para a fase seca do que para a fase chuvosa (Tabela 1). Esse acúmulo, possivelmente tenha ocorrido pela síntese de proteínas, é tanto que, a concentração de aminoácido diminuiu um pouco no período chuvoso (Tabela 1). Esse tipo de comportamento metabólico da planta é confirmado por Larcher (2004) uma vez que o metabolismo das proteínas é bastante acelerado por causa da sua relação direta com o crescimento dos órgãos vegetais.

Quando se relaciona os períodos sazonais dentro de cada ano, verificaram-se 32%, 64,4% e 92% menores concentrações de proteínas no período seco dos anos de 2008, 2009 e 2010, respectivamente, quando comparados com os mesmos anos para o período chuvoso (Tabela 1). Mas, correlacionando entre as épocas de avaliação dentro de cada fase sazonal, foi constatada na fase seca diferença significativa no ano de 2009, que aumentou a quantidade de proteínas em 47% nas suas folhas do que nos demais anos para a mesma fase sazonal (Tabela 1). Já na estação chuvosa foi diferente, uma vez que houve diferença estatística entre as épocas de avaliação e, o ano de 2010 sobressaiu com um aumento de 89% e 61% em relação aos anos de 2008 e 2009, respectivamente (Tabela 1).

Nas folhas de *Z. joazeiro* foi verificada menor concentração de prolina tanto na estação seca quanto na estação chuvosa para todas as épocas de avaliação em relação aos demais solutos (Tabela 1). Ao comparar as duas estações, verificou-se uma pequena redução de aproximadamente 1% na concentração de prolina no período seco em relação ao período chuvoso (Tabela 1). E ainda mais, se comparar a fase seca e chuvosa de cada época de avaliação, nota-se que só houve diferença significativa no período seco para o ano de 2010 que reduziu em 29,6% quando comparado com a fase chuvosa (Tabela 1).

Em relação às épocas de avaliação de cada estação sazonal, foi verificado que na fase seca para a época de 2010, houve uma diminuição de 40% e 42% da concentração de prolina em relação às épocas 2008 e 2009, respectivamente (Tabela 1). Porém, na fase chuvosa não houve diferença significativa entre as épocas de avaliação (Tabela 1).

Silva et al. (2004) estudando as concentrações de prolina em dez espécies de ocorrência na Caatinga, no período seco, verificaram que dentre essas espécies estudadas o *Ziziphus joazeiro* foi um dos que apresentaram menor concentração de prolina nas folhas.

Diferentemente dos resultados dos outros solutos orgânicos analisados, observou-se nas folhas um maior acúmulo de aminoácido (AA) cerca de 22% no período seco em relação ao período chuvoso (Tabela 1). Esse aumento de AA nas folhas durante o período seco se deve pelo fato desse soluto orgânico estar relacionado com a desidratação do tecido foliar provocado pelo déficit hídrico (URANO et al., 2010).

Nas épocas de 2008 e 2009, observou-se aumento significativo de AA em 11% e 45% no período seco em relação ao período chuvoso, mas em 2010 não houve diferença estatística para as duas estações sazonais (Tabela 1). Equiparando as épocas de avaliação, na fase seca a concentração de AA diminuiu cerca de 45% e 49% quando comparado com os anos de 2008 e 2009, respectivamente. Da mesma forma ocorreu para a fase chuvosa, para o ano de 2010 que apresentou uma diminuição de 37% e 6% em relação às épocas de 2008 e 2009, respectivamente (Tabela 1).

Com relação aos períodos sazonais das épocas de avaliação do presente trabalho, constatou-se que as concentrações totais de *n*-alcanos foram 15%, 29% e 33% maiores nos períodos chuvosos dos anos 2008, 2009 e 2010, respectivamente, quando comparados com os períodos secos das mesmas épocas de avaliação (Tabela 2). Essa observação do presente trabalho corrobora com Shepherd e Griffiths (2006) que o aumento da quantidade de ceras está atribuído com a expansão da folha e até mesmo com mudanças das estações do ano. Com relação às estações sazonais, observa-se menor quantidade de ceras entre as estações de primavera a verão e maior quantidade de ceras quando sai do verão para o outono. Esse comportamento pode estar relacionado, provavelmente, ao desgaste causado pela chuva, pelo vento e até pelo calor.

O *n*-alcano que predominou nas folhas de *Ziziphus joazeiro* em todos os períodos sazonais nos três anos de avaliação foi o hentriacontano ( $C_{31}$ ) seguido dos tritriacontano ( $C_{33}$ ) e nanodecano ( $C_{29}$ ) que tiveram reduções de 63% e 79%, respectivamente, em relação ao átomo de carbono  $C_{31}$  (Tabela 2). Oliveira e Salatino (2000) também verificaram na cera das folhas de indivíduos adultos de *Ziziphus joazeiro*, localizados em Alagoinha, área de Caatinga, esse mesmo hentriacontano ( $C_{31}$ ) com maior intensidade, o qual atingiu os 42% de concentração. O aumento da concentração dessa classe, a qual faz parte de um dos componentes da cera epicuticular de folhas de *Ziziphus joazeiro* está relacionada com menores

taxas de evaporação cuticular (OLIVEIRA et al., 2003).

**Tabela 1.** Concentração de carboidratos solúveis, prolina livre, proteína solúvel e aminoácidos livres em folhas de plantas adultas de juazeiro (*Ziziphus joazeiro* Mart) em ambiente natural da Estação Experimental José Nilson de Melo, do Instituto Agrônomo de Pernambuco (IPA), Caruaru - PE. Coletas realizadas às 12 horas, nos períodos secos e chuvosos dos anos 2008, 2009 e 2010.

Épocas de avaliação	Carboidratos ( $\mu\text{mol.g}^{-1}$ MF)		Prolina ( $\mu\text{mol.g}^{-1}$ MF)		Aminoácidos ( $\mu\text{mol.g}^{-1}$ MF)		Proteínas ( $\mu\text{g.g}^{-1}$ MF)	
	Períodos sazonais							
	Seco	Chuvoso	Seco	Chuvoso	Seco	Chuvoso	Seco	Chuvoso
<b>2008</b>	86,36 aA	82,53 bA	0,87 aA	0,83 aA	31,78 aA	28,24 aB	183,35 bA	268,81 cA
<b>2009</b>	78,72 bB	99,85 aA	0,90 aA	0,74 aA	34,31 aA	18,87 bB	345,73 aB	971,70 bA
<b>2010</b>	86,04 aA	67,21 cB	0,53 bB	0,75 aA	17,53 bA	17,79 bA	183,43 bB	2478,74 aA

Médias seguidas por letras iguais maiúsculas para períodos sazonais e minúsculas para épocas de avaliação, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ( $P \leq 0,05$ ).

No presente trabalho, também foi observado em todos os períodos secos e chuvosos dos três anos de avaliação, a presença de *n*-alcanos ímpares, a níveis decrescentes de concentração total de  $C_{31}$  (340,31),  $C_{33}$  (125,68) e  $C_{29}$  (69,6) que obtiveram maiores quantidades em relação aos *n*-alcanos pares  $C_{32}$  (29,68) e  $C_{30}$  (13,64) (Tabela 2). Essa observação também foi constatada por Oliveira e Salatino (2000) a partir de estudo já realizado por eles, que na maioria das angiospermas a distribuição de *n*-alcanos se destaca mais nos carbonos ímpares, como:  $C_{27}$ ,  $C_{29}$ ,  $C_{31}$  e  $C_{33}$ .

A seca também influenciou no presente trabalho a densidade estomática das folhas de *Z. joazeiro* em todas as épocas de avaliação (Tabela 3). Observa-se na tabela 3, que a densidade estomática apresentou 25% menor na fase seca em relação à fase chuvosa. Essa observação também foi percebida na fase seca para os *n*-alcanos da cera epicuticular de folhas (Tabela 2).

**Tabela 2.** Composição química de *n*-alcanos e teor de ceras de folhas de plantas adultas de *Ziziphus joazeiro* Mart. expostas ao sol em ambiente natural da Estação Experimental José Nilson de Melo, do Instituto Agronômico de Pernambuco (IPA), Caruaru - PE. Coletas realizadas às 12 horas, nos períodos secos e chuvosos dos anos 2008, 2009 e 2010.

<i>n</i> -alcanos	Períodos sazonais/Ano					
	2008		2009		2010	
	Seco	Chuvoso	Seco	Chuvoso	Seco	Chuvoso
C <sub>21</sub>	-	-	-	-	-	3,74 ± 0,0
C <sub>24</sub>	-	-	-	-	-	-
C <sub>25</sub>	0,33 ± 0,1	0,99 ± 0,4	-	-	0,52 ± 0,0	-
C <sub>26</sub>	0,31 ± 0,1	-	-	-	-	-
C <sub>27</sub>	0,99 ± 0,3	1,24 ± 0,9	0,51 ± 1,1	-	1,12 ± 0,35	-
C <sub>28</sub>	0,38 ± 0,1	0,84 ± 0,6	0,43 ± 0,1	-	-	-
C <sub>29</sub>	16,82 ± 4,9	10,13 ± 3,0	17,41 ± 4,9	4,45 ± 2,2	13,49 ± 1,4	7,30 ± 2,2
C <sub>30</sub>	2,41 ± 0,7	3,07 ± 0,9	2,38 ± 0,2	2,51 ± 0,0	1,74 ± 0,3	1,53 ± 0,1
C <sub>31</sub>	53,87 ± 0,3	57,31 ± 3,8	56,89 ± 1,7	52,12 ± 5,6	57,58 ± 2,4	62,54 ± 5,6
C <sub>32</sub>	4,39 ± 0,3	5,42 ± 0,5	4,10 ± 0,1	6,42 ± 0,7	3,94 ± 0,9	5,41 ± 1,1
C <sub>33</sub>	9,27 ± 7,8	21,00 ± 3,8	17,35 ± 2,9	32,79 ± 0,7	20,98 ± 4,6	24,29 ± 4,7
C <sub>34</sub>	-	-	1,37 ± 0,0	8,89 ± 0,0	0,71 ± 0,0	-
<i>n</i> -alcanos totais (*)	17,05	20,14	20,83	29,52	19,70	29,59
Teor de cera (mg*)	1,28	1,24	1,21	1,20	1,26	1,17

(-): Não detectado; (\*) porcentagem

De acordo com Woodward (1987) a elevada densidade estomática está relacionada com a capacidade da planta enfrentar a mudança ambiental para poder controlar as trocas gasosas foliar. Mas Galmés et al. (2007) verificaram em algumas espécies que a elevada densidade estomática não esteve relacionada com a deficiência hídrica. De forma semelhante ao resultado da pesquisa de Galmés, no presente trabalho também não foi verificado que a seca tenha induzido maior densidade estomática nas folhas de *Ziziphus joazeiro*.

Comparando os dois períodos em cada época de avaliação, verificou-se que na época de 2008, praticamente, não houve diferença significativa entre os períodos sazonais, embora na fase seca tenha apresentado uma pequena redução de (1223,59 mm<sup>2</sup>) em relação à fase chuvosa (1251,3 mm<sup>2</sup>) (Tabela 3).

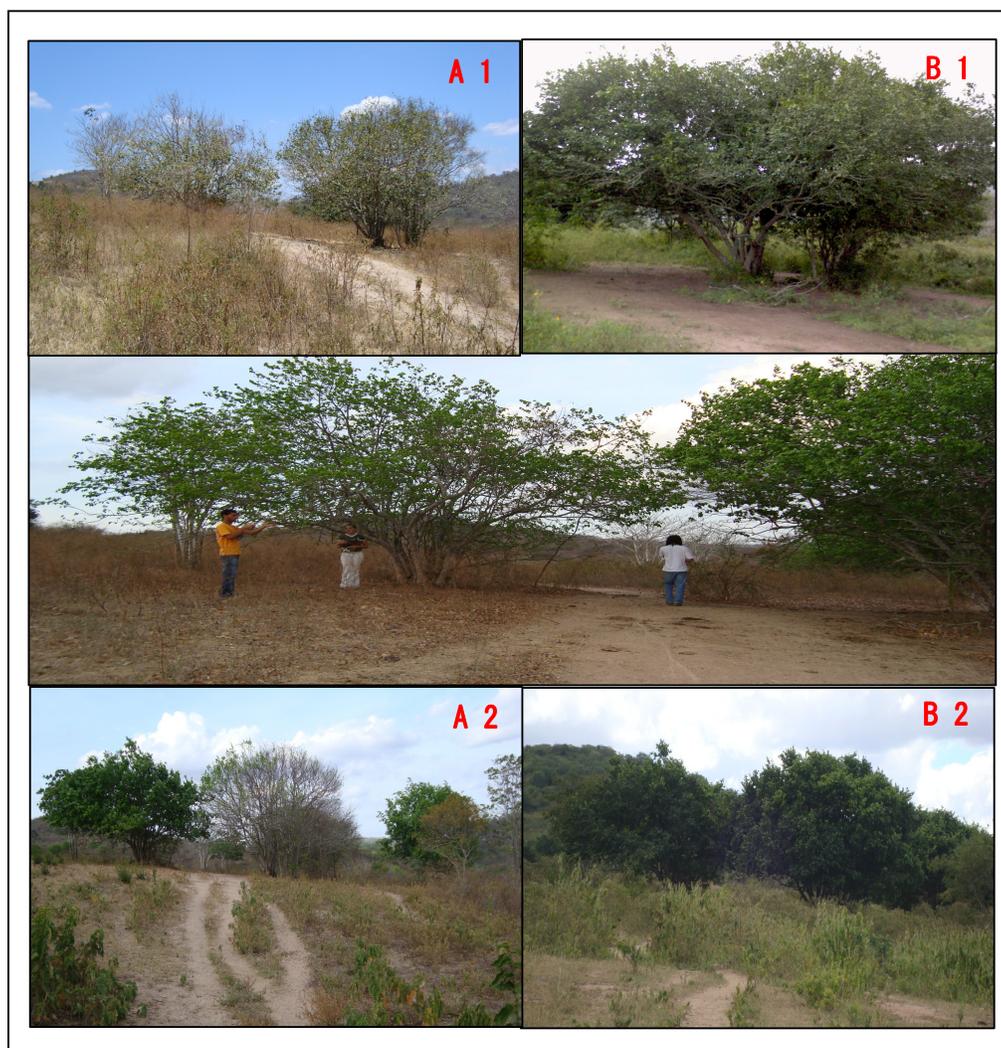
Da mesma forma também se sucedeu no ano de 2009, apesar de não haver diferença estatística entre as duas fases sazonais (seca e chuvosa), a densidade estomática foi visivelmente menor na fase seca (989,91 mm<sup>2</sup>) em relação à fase chuvosa (1358,02 mm<sup>2</sup>)

(Tabela 4). Todavia, no ano de 2010 obteve diferença entre as duas fases sazonais, com reduções de 49% da densidade estomática nas folhas para a fase seca quando comparada com a fase chuvosa (Tabela 3). O período chuvoso não apresentou diferença significativa entre as épocas de avaliação (Tabela 3).

**Tabela 3.** Densidade estomática (mm<sup>2</sup>) de folhas de indivíduos adultos de *Ziziphus joazeiro* Mart. expostas ao sol em diferentes períodos sazonais de três épocas de avaliação, na Estação Experimental José Nilson de Melo, do Instituto Agronômico de Pernambuco (IPA), Caruaru – PE. Coletas realizadas às 12 horas, nos períodos secos e chuvosos dos anos 2008, 2009 e 2010

Anos de avaliação	Períodos sazonais	
	Seco	Chuvoso
2008	1223,59 aA	1251,03 aA
2009	984,91 abA	1358,02 aA
2010	595,33 bB	1163,24 aA

Médias seguidas por letras iguais maiúsculas para os períodos sazonais e minúsculas para épocas de avaliação, não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey ( $P \leq 0,05$ ).



**Figura 5.** Variação sazonal quanto ao aspecto visual das copas das árvores de *Ziziphus joazeiro* Mart. no campo da Estação Experimental José Nilson de Melo (IPA), Caruaru-PE. Fotos tiradas nos períodos sazonais: seco (A1) e chuvoso (B1) do ano de 2008; período seco de 2009, e períodos seco (A2) e chuvoso (B2) do ano de 2010. Fotos tiradas pela autora.

### 5.3 Conclusão

Plantas adultas de *Ziziphus joazeiro* Mart., sob condições sazonais se comportam como plantas anisoiátricas, utilizando o mecanismo de baixo potencial hídrico. Sob condições seca a quantidade de *n*-alcanos presente na cutícula das folhas diminui, bem como a densidade estomática.

### 5.4 Referências bibliográficas

ALCOFORADO FILHO, E. G.; SAMPAIO, E. V. S. B.; RODAL, M. J. N. Florística e fitossociologia de um remanescente de vegetação caducifolia espinhosa arborea em Caruaru, Pernambuco. **Acta Botânica Brasílica**, v. 17, n. 2, p. 287-303, 2003.

BARBOSA, D.C.A.; BARBOSA, M.C.A.; LIMA, L.C.M. **Fenologia de espécies lenhosas da caatinga**. In: I.R. Leal; M. Tabarelli; J.M.C. Silva (eds.). Ecologia e Conservação da Caatinga. Recife, UFPE, 2003, 693 p.

BATES, L.S. Rapid determination of free proline for water-stress studies. Short communication. **Plant and Soil**, v.39, p. 205-207, 1973.

BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, v.72, p. 248-254, 1976.

CARVALHO, P. E. R. **Juazeiro: *Ziziphus joazeiro***. Novembro, Embrapa, 2007. 8p. (Circular técnica, 139).

DUBOIS, M. et al. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. **Analytical Chemistry**, v. 28, p. 350-356, 1956.

FEARNSIDE, P. M. Desmatamento na Amazônia: dinâmica, impactos e controle. **Acta Amazonica**, v. 36, n. 3, p. 395-400, 2006.

GALMÉS, J. et al. Water relations and stomatal characteristics of Mediterranean plants with different growth forms and leaf habits: responses to water stress and recovery. **Plant Soil**, v. 290, p. 139-155, 2007.

GEORGINO, M. Aquecimento global ações que o setor hortifrutícola deve realizar para se proteger das mudanças climáticas. **Hortifruti Brasil**, p.6-11, 2007.

LARCHER, W. **Ecofisiologia vegetal**. São Carlos – SP: Rima, 2004. 531p.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras: Manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**. 5. Ed. v.1. São Paulo: Plantarum, 2008. 384p.

MONTEIRO, J.M. et al. Use patterns and knowledge of medicinal species among two rural communities in Brazil's semi-arid northeastern region. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 105, p. 173–186, 2006.

NOGUEIRA, R. J. M. C. et al. **Aspectos ecofisiológicos da tolerância à seca em plantas da caatinga**. In: Nogueira et al. Estresses ambientais: danos e benefícios em plantas. Recife: UFRPE, Imprensa universitária, 2005.500p.

OLIVEIRA, A. F. M.; MEIRELLES, S. T.; SALATINO, A. Epicuticular waxes from caatinga and cerrado species and their efficiency against water loss. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 75, n. 4, p. 431-439, 2003.

OLIVEIRA, A. F. M.; SALATINO, A. Major constituents of the foliar epicuticular waxes of species. **Zeitschrift für Naturforschung**, v.55c, p. 688-692, 2000.

PEREIRA, V. F. et al. PIMENTEL, R. M. M. Associação entre espécies herbáceas em uma área de caatinga de Pernambuco. **Revista de Geografia**, v. 25, n. 2, p. 6 – 23, 2008.

REGIER, N. et al. Drought tolerance of two black poplar (*Populus nigra* L.) clones: contribution of carbohydrates and oxidative stress defence. **Plant, Cell and Environment**, v. 32, p.1724-1735, 2009.

SCHOLANDER, P.F. et al. Hydrostatic pressure and osmotic potentials in leaves of mangroves and some other plants. **Proceedings of National Academy Science**, v. 51, p. 119-125, 1965.

SHEPHERD, T.; GRIFFITHS, D. W. The effects of stress on plant cuticular waxes. Review, **New Phytologist**, v. 171, p. 469-499, 2006.

SILVA, E. C. et al. Aspectos ecofisiológicos de dez espécies em uma área de caatinga no município de cabaceiras, Paraíba, Brasil. **IHERINGIA**, Ser. Bot, Porto Alegre, v. 59, n. 2, p.201-205, 2004.

TROVÃO, D. M. B. M. et al. Variações sazonais de aspectos fisiológicos de espécies da Caatinga. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.11, n. 3, p. 307-311, 2007.

URANO, K. et al. “Omics analyses of regulatory networks in plant abiotic stress responses. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 13, p. 132-138, 2010.

WEATHERLEY, P. E. Studies in the water relations of the cotton plant. I. The field measurement of water deficits in leaves. **New Phytologist**, n. 49, p. 81-97. 1950.

WOODWARD, F. I. Stomatal numbers are sensitive to increases in CO<sub>2</sub> concentration from pre-industrial levels. **Nature**, v. 327, p. 617-618, 1987.

YEMM E. W.; COCKING, E. C. Determination of amino acids with ninhydrin. **Analyst**, v. 80, p. 209 – 213, 1955.

ZHANG, P. et al. Scheduling irrigation for jujube (*Ziziphus jujube* Mill.). **African Journal of Biothenology**, v. 9, n. 35, p. 5694-5703, 2010.

## **6. Conclusão geral**

Plantas de *Ziziphus joazeiro* tanto sob condições de déficit hídrico em casa de vegetação quanto em ambiente natural de ocorrência sob o efeito do período sazonal apresentam comportamento anisoídrico, utilizando mecanismo de tolerância à seca por alto potencial e por baixo potencial hídrico.

## 7. Considerações finais

No semi-árido nordestino vem se intensificando, ultimamente, o desmatamento da vegetação da caatinga, sem um devido uso racional e organizado da exploração das espécies arbóreas nativas para fins lucrativos e também para o próprio consumo local, uma vez que não são levados em consideração a sua importância ecológica e o conhecimento fisiológico das mesmas (JUVENAL; MATTOS, 2002).

Pesquisas que envolvam respostas fisiológicas do juazeiro (*Ziziphus joazeiro* Mart.) com deficiência hídrica são escassas, principalmente em se tratando de uma planta nativa da Caatinga, a qual foi indicada pelos IBAMA e Embrapa, para ser uma das espécies prioritárias à conservação e manejo desse bioma; além de ser grande interesse das indústrias farmacológicas e cosméticas em explorar mais as suas propriedades medicinais.

Na presente pesquisa foi comprovado que o juazeiro (*Ziziphus joazeiro*) respondeu o déficit hídrico, a princípio, com reduções do potencial hídrico foliar e do teor relativo de água, que acarretaram uma maior concentração de solutos compatíveis nas folhas e em menor proporção nas raízes. Essa observação foi mostrada para o primeiro e também para o segundo experimento com a indução do PEG 6000. Assim esse tipo de comportamento pode ser estipulado pelo primeiro experimento, que houve maior translocação de fotoassimilados para as raízes, como também da matéria seca para o mesmo órgão que apresentou uma maior relação raiz/ parte aérea. Esse fato é confirmado pela literatura que um dos órgãos a sentirem o déficit hídrico é a raiz, pois está fica em contato diretamente com a solução do solo. Devido a isso, a planta direciona os assimilados para o ápice do sistema radicular que está em crescimento e os solutos orgânicos sintetizados, como os carboidratos, aminoácidos e, principalmente as proteínas que atuam no alongamento celular, para serem usados tanto no crescimento quanto na diminuição do potencial osmótico.

Um osmossoluto que a literatura enfatiza como indicador de tolerância à seca é a prolina que sempre sobressai perante os carboidratos, aminoácidos e proteínas, mas para o juazeiro a prolina não demonstrou ser um soluto em destaque que tenha sido afetado pelo déficit hídrico. Nesse caso, para esta espécie não é um bom parâmetro que possa inferir os efeitos do estresse.

Outro comportamento que se espera quando a planta está submetida à deficiência hídrica é a diminuição da produtividade, a qual aconteceu nas plantas de juazeiro com a paralisação da produção de matéria seca da parte aérea e redução da área foliar para evitar a

perda de água pelo processo de transpiração.

Supreendentemente, as plantas jovens de *Ziziphus joazeiro* sob déficit hídrico mantiveram a eficiência do uso da água elevada por um período de 26 dias, mesmo apresentando menores taxas de transpiração, de fotossíntese líquida e da condutância estomática, para favorecer a taxa de assimilação de carbono. Essa maneira das plantas de *Ziziphus joazeiro* se comportarem, segundo Medrano et al. (2009) pode ser uma forma de aclimação e adaptação da planta a seca.

Em campo, o *Ziziphus joazeiro* respondeu o efeito sazonal (seco e chuvoso) de três anos subsequentes (2008, 2009 e 2010), como também sob a interferência da precipitação, apresentando potencial hídrico foliar sempre negativo a - 2,0 MPa, teor relativo de água inferior a 80% para o período seco com déficit de saturação de água elevado e apresentando concentrações elevadas de carboidratos, aminoácidos e proteínas nas duas estações para todos os anos.

As plantas de juazeiro responderam o efeito da seca com a diminuição de *n*-alcano na cera das folhas, mas esse comportamento das plantas de *Z. joazeiro* condiz com o que Shepherd e Griffiths (2006) afirmam que entre as estações sazonais observa-se menor quantidade de ceras, como por exemplo entre a primavera e o verão; e maior quantidade de ceras quando sai do verão para o outono o que pode ser um desgaste causado pela chuva, pelo vento e até mesmo pelo calor. As plantas de juazeiro não só responderam o efeito das estações com a diminuição de *n*-alcanos como também com a densidade estomática que apresentaram reduções na fase seca.

Diante tudo de isso, o *Ziziphus joazeiro* responde o déficit hídrico usando os dois mecanismos de tolerância à seca tanto por alto potencial hídrico quanto por baixo potencial hídrico para poder se aclimatar ao estresse, tendo como característica de planta anisódrica.

Dessa forma, o conhecimento obtido pela presente pesquisa possa contribuir para os trabalhos fisiológicos com deficiência hídrica tanto na fase inicial de desenvolvimento do juazeiro (*Ziziphus joazeiro* Mart.) quanto também na fase adulta para suprir a literatura, a qual se encontra escassa nessa área, além de despertar estudos futuros com essa espécie em áreas semi-áridas, no intuito dela poder recuperar esses ambientes degradados pelo homem.

## 8. Referências bibliográficas

JUVENAL, T. L.; MATTOS, R. L.G. **O setor florestal no Brasil e a importância do reflorestamento**. BNDES Setorial, Rio de Janeiro, n. 16, p. 3-30, 2002.

LARCHER, W. **Ecofisiologia vegetal**. São Carlos – SP: Rima, 2004. 531p.

MEDRANO, H.; FLEXAS, J. GALMÉS, J. Variability in water use efficiency at the leaf level among Mediterranean plants with different growth forms. **Plant Soil**, v.317, p. 17-19, 2009.

PIMENTEL, C. **A relação da planta com a água**. Seropédica, Rio de Janeiro: Edur, 2004. 191p.

SHEPHERD, T.; GRIFFITHS, D. W. The effects of stress on plant cuticular waxes. Review, **New Phytologist**, v. 171, p. 469-499, 2006.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 4Ed. Porto Alegre: Artmed, 2009. 848p.