



**Universidade Federal Rural de Pernambuco**  
**Pró Reitoria de Pesquisa e Pós Graduação**  
**Programa de Pós Graduação em Botânica**

**ASPECTOS MORFOFISIOLÓGICOS DE QUATRO ESPÉCIES DE  
IMPORTÂNCIA ECONÔMICA E BIOLÓGICA PARA ÁREAS DE  
RESTINGA**

**Maria Claudjane Jerônimo Leite Alves**

Recife, 2015

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO  
PRÓ REITORIA DE PESQUISA E PÓS GRADUAÇÃO  
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM BOTÂNICA**

**ASPECTOS MORFOFISIOLÓGICOS DE QUATRO ESPÉCIES DE IMPORTÂNCIA  
ECONÔMICA E BIOLÓGICA PARA ÁREAS DE RESTINGA**

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Botânica (PPGB) da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), pela aluna **Maria Claudjane Jerônimo Leite Alves**, como parte dos pré-requisitos para a obtenção do título de Doutor em Botânica.

**Orientadora:** Profa. Dra. Carmen Silvia Zickel  
**Coorientadora:** Prof. Dr<sup>a</sup>. Renata Maria Strozi Alves Meira  
**Coorientador:** Prof. Dr. Marcelo Francisco Pompelli

**Recife  
2015**

Ficha catalográfica

A474a Alves, Maria Claudjane Jerônimo Leite  
Aspectos morfofisiológicos de quatro espécies de  
importância econômica e biológica para áreas de restinga /  
Maria Claudjane Jerônimo Leite Alves. – Recife, 2015.  
107 f.: il.

Orientadora: Carmen Sílvia Zickel.  
Tese (Doutorado em Botânica) – Universidade  
Federal Rural de Pernambuco, Departamento de Biologia,  
Recife, 2015.

Inclui referências, anexo(s) e apêndice(s).

1. Atributos anatômicos 2. Folhas de sol e sombra  
3. Sazonalidade 4. Trocas gasosas I. Zickel, Carmen Sílvia,  
orientadora II. Título

CDD 581

**MARIA CLAUDJANE JERÔNIMO LEITE ALVES**

**ASPECTOS MORFOFISIOLÓGICOS DE QUATRO ESPÉCIES DE IMPORTÂNCIA  
ECONÔMICA E BIOLÓGICA PARA ÁREAS DE RESTINGA**

**Banca examinadora**

Presidente da Banca / Orientadora: \_\_\_\_\_

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Carmen Sílvia Zickel (UFRPE)

1º) Examinador: \_\_\_\_\_

Dr<sup>a</sup>. Margareth Ferreira Sales - UFRPE

2º) Examinador: \_\_\_\_\_

Dr. André Luiz Alves de Lima – UFRPE/UAST

3º) Examinador: \_\_\_\_\_

Dr<sup>a</sup>. Maria Izabel Gallão - UFC

4º) Examinador: \_\_\_\_\_

Dr. Angelo Luiz Cortelazzo - UNIVESP

Suplente 1: \_\_\_\_\_

Dr<sup>a</sup>. Elcida de Lima Araújo – UFRPE

Suplente 2: \_\_\_\_\_

Dr<sup>a</sup>. Ana Lúcia Figueiredo Porto – UFRPE

*“O sucesso é ir de fracasso em fracasso sem perder entusiasmo”.*

Winston Churchill

*“Para conhecermos os amigos é necessário passar pelo sucesso e pela desgraça. No sucesso, verificamos a quantidade e, na desgraça, a qualidade.*

Confúcio

*DEDICO*

*In Memoriam aos meus pais Moacir Leite  
da Silva e Rosa Jerônimo Leite.*

*Saudades...*

*OFEREÇO*

*Ao meu esposo Edilson Alves da Silva, por  
todo amor, paciência e incentivo a mim  
ofertados. Seu apoio foi fundamental para esta  
nossa conquista.*

## AGRADECIMENTOS

---

Agradeço a **DEUS** pela saúde, força e capacidade a mim ofertadas para enfrentar todos os obstáculos durante a minha vida acadêmica.

Com muito carinho a minha orientadora Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Carmen Sílvia Zickel pela paciência e dedicação que foram, e continuam sendo, de fundamental importância para minha formação acadêmica. Muito obrigada Carmen.

Aos coorientadores: Dr.<sup>a</sup> Renata Meira por toda receptividade e ensinamentos, e ao Dr. Marcelo Pompelli.

A Professora Dr<sup>a</sup>. Cláudia Ulisses pelas críticas construtivas nos seminários A e B, que foram fundamentais para a conclusão deste trabalho e aos membros da banca examinadora por toda contribuição para finalização da tese.

Aos funcionários Kênia Azevedo e Manassés Araújo, pela disposição a ajudar-me sempre quando solicitados.

Aos colegas do LEV: Marciel Oliveira, João Antônio, Bety Shiue, Danilo Souza, Rebeca Rivas, Karla Viviane, Ana Carolina, Naylis, Gabriela Frosi e Hiran Falcão pela valiosa ajuda fundamental para execução deste trabalho.

Aos companheiros “restingólogos” Angélica Ferreira, Liliane Lima e Patrícia Lima, a família LAFLEC.

Ao meu esposo Edilson Alves pelo amor, companheirismo e principalmente pela força e paciência a mim dedicados nos momentos mais difíceis.

*In memoriam* aos meus pais Moacir Leite da Silva e Rosa Jerônimo Leite, por todo amor e ensinamentos destinados a minha pessoa.

A toda minha família e amigos pela força e incentivo.

A autora expressa os seus mais sinceros agradecimentos a todos que de alguma forma auxiliaram, direta ou indiretamente, para conclusão do seu curso de Doutorado.

MUITO OBRIGADA!!!!

## SUMÁRIO

Lista de Abreviaturas e Siglas.....	08
Lista de Tabelas.....	10
Lista de Figuras.....	11
Resumo.....	13
Abstract.....	15
1. Introdução.....	16
2. Revisão da literatura.....	19
2.1. Aspectos morfoanatômicos.....	19
2.2. Folhas de sol e sombra.....	22
2.3. Estratégias de tolerância a seca: relações hídricas.....	23
2.4. Estratégias de tolerância a seca: Fluorescência.....	25
2.5. Estratégias de tolerância a seca: Metabolismo antioxidante.....	27
2.6. Estratégias de tolerância a seca: defesas não enzimáticas.....	28
3.0 Referências Bibliográficas.....	31
<b>Manuscrito 1. Respostas ecofisiológicas e anatômicas de quatro espécies lenhosas a diferentes condições de luminosidade e precipitação</b>	40
Resumo.....	43
Introdução.....	44
Materiais e Métodos.....	46
Resultados.....	50
Discussão.....	56
Conclusão.....	59
Agradecimentos.....	61
Anexos: Tabelas e figuras.....	62
Referências Bibliográficas.....	72
<b>Manuscrito 2. Sob diferentes regimes de déficit hídrico <i>Manilkara salzmannii</i> (Sapotaceae) apresenta capacidade de resiliência?</b>	79
Resumo.....	81
Introdução.....	82
Materiais e Métodos.....	83
Resultados.....	88
Discussão.....	90
Conclusão.....	95
Agradecimentos.....	96
Considerações finais.....	97
Anexos: Tabelas e figuras.....	98
Referências.....	104



## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

A.....	Taxa de Assimilação Líquida de CO <sub>2</sub>
AF.....	Área foliar
ATP.....	Adenosina trifosfato
Car.....	Carotenóides
CE.....	Código de nomenclatura da enzima
Chl a.....	Clorofila a
Chl b.....	Clorofila b
Chl a+b.....	Clorofilas totais
Chl a/b.....	Relação clorofila a e b
Chl a+b/car.....	Relação clorofilas totais e carotenóides
Cl <sup>-</sup> .....	Cloreto
CO <sub>2</sub> .....	Dióxido de Carbono
CC.....	Capacidade de campo
DE.....	Densidade estomática
DFFF ou PPFD.....	Densidade de fluxo de fótons fotossintéticos
DPV.....	Déficit de Pressão de Vapor
E.....	Transpiração
ERO ou ROS.....	Espécies Reativas de Oxigênio
EC.....	Código da enzima
ETR.....	Taxa de transporte de elétrons
EP.....	Erro padrão
F <sub>V</sub> /F <sub>M</sub> .....	Rendimento quântico máximo do PSII
EPAd.....	Epiderme da face adaxial
EPAb.....	Epiderme da face abaxial
g <sub>s</sub> .....	Condutância estomática
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> .....	Peróxido de Hidrogênio
IE.....	Índice estomático
IRGA.....	Analisador de Gases a Infravermelho
MDA.....	Aldeído Malônico ou malondialdeído
K <sup>+</sup> .....	íon Potássio
MS ou DW.....	Matéria Seca
NADPH.....	Nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato

NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> .....	Nitrato
NPQ.....	<i>quenching</i> não fotoquímico
O <sub>2</sub> <sup>-</sup> .....	Superóxido
OH <sup>+</sup> .....	Radical Hidroxila
PAR.....	Radiação Fotossinteticamente Ativa
PFDa.....	Densidade de fluxo de fótons
PSI.....	Fotossistema 1
PSII.....	Fotossistema 2
φPSII.....	Eficiência do fotossistema 2
PPE.....	Parede periclinal externa
PP.....	Parênquima paliçádico
PL.....	Parênquima lacunoso
qp.....	<i>quenching</i> fotoquímico
RWC.....	Conteúdo relativo de água
RPPN.....	Reserva Particular do Patrimônio Natural
SO <sub>4</sub> <sup>-</sup> .....	Sulfato
T <sub>f</sub> .....	Temperatura foliar
WUE ou EUA.....	Eficiência do Uso da Água

## LISTA DE TABELAS

### MANUSCRITO 1

**TABELA 1** – Parâmetros anatômicos de *Andira fraxinifolia*, *Hancornia speciosa*, *Manilkara salzmannii* e *Protium heptaphyllum* em diferentes condições de luminosidade e disponibilidade hídrica na restinga da RPPN do Outeiro de Maracaípe (Pernambuco, Brasil): AF (área foliar), EM (espessura do mesofilo), PP (parênquima paliçádico), PL (parênquima lacunoso), PPE (parede periclinal externa), EPad (epiderme da face adaxial), EPab (epiderme da face abaxial), DE (densidade estomática) e IE (índice estomático). Valores representam as médias das repetições ( $n=5 \pm EP$ ).....62

### MANUSCRITO 2

**TABELA 1** – Pigmentos cloroplastídicos de plantas jovens de *Manilkara salzmannii* submetidas a quatro diferentes tratamentos de restrição hídrica (100%, 50%, 25% e 0% CC). Clorofilas totais (chl a + b), carotenóides (Car), relação clorofila a/b (chl a/b) e relação carotenóides / clorofilas totais (Car/chl a+b).....98

## LISTA DE FIGURAS

## Manuscrito 1

**Figura 1:** (A) Densidade de Fluxo de Fótons Fotossintéticos (DFFF) das folhas de sol e sombra de *Andira fraxinifolia*, *Hancornia speciosa*, *Manilkara salzmannii* e *Protium heptaphyllum*; (B) déficit de pressão de vapor (DPV) do ar, na restinga da RPPN do Outeiro de Maracaípe (Pernambuco, Brasil). Os valores representam a média das repetições ( $n= 5 \pm EP$ ). Diferentes letras maiúsculas indicam diferenças significativas pelo teste de Student Newman-Keuls com nível de significância de 5% entre as variáveis avaliadas (luminosidade x precipitação).....65

**Figura 2:** Fotossíntese líquida (A), condutância estomática ( $g_s$ ), Transpiração (E), Eficiência do uso da água (EUA), Temperatura foliar ( $T_f$ ) nas espécies *Andira fraxinifolia* (A, E, I, M e Q), *Hancornia speciosa* (B, F, J, N e R), *Manilkara salzmannii* (C, G, K, O e S) e *Protium heptaphyllum* (D, H, L, P e T) em diferentes condições de luminosidade e disponibilidade hídrica na restinga da RPPN do Outeiro de Maracaípe (Pernambuco, Brasil). Os valores representam a média das repetições ( $n= 5 \pm EP$ ). Diferentes letras maiúsculas indicam diferenças significativas pelo teste de Student Newman-Keuls com nível de significância de 5% entre as variáveis avaliadas (luminosidade x precipitação).....66

**Figura 3:** Concentração de carboidratos solúveis totais (CST), aminoácidos livres totais (AA) e Proteínas solúveis totais (PST) nas espécies *Andira fraxinifolia* (A, E, I e M), *Hancornia speciosa* (B, F, e N), *Manilkara salzmannii* (C, G, K e O) e *Protium heptaphyllum* (D, H, L e P) em diferentes condições de luminosidade e disponibilidade hídrica na restinga da RPPN do Outeiro de Maracaípe (Pernambuco, Brasil). Os valores representam a média das repetições ( $n= 5 \pm EP$ ). Diferentes letras maiúsculas indicam diferenças significativas pelo teste de Student Newman-Keuls com nível de significância de 5% entre as variáveis avaliadas (luminosidade x precipitação).....67

**Figura 4:** Concentração de Clorofilas totais (Chl a+b), carotenóides (car), relação clorofila a/b (Chl a/b) nas espécies *Andira fraxinifolia* (A, E e I), *Hancornia speciosa* (B, F e J), *Manilkara salzmannii* (C, G e K) e *Protium heptaphyllum* (D, H e L) em diferentes condições de luminosidade e disponibilidade hídrica na restinga da RPPN do Outeiro de Maracaípe (Pernambuco, Brasil). Os valores representam a média das repetições ( $n= 5 \pm EP$ ). Diferentes letras maiúsculas indicam diferenças significativas pelo teste de Student Newman-Keuls com nível de significância de 5% entre as variáveis avaliadas (luminosidade x precipitação).....68

**Figura 5:** Concentração de malondialdeído (MDA), peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ), superóxido dismutase (SOD) e prolina nas espécies *Andira fraxinifolia* (A, E, I, M), *Hancornia speciosa* (B, F, J e N), *Manilkara salzmannii* (C, G, K e O) e *Protium heptaphyllum* (D, H, L e P) em diferentes condições de luminosidade e disponibilidade hídrica na restinga da RPPN do Outeiro de Maracaípe (Pernambuco, Brasil). Os valores representam a média das repetições ( $n= 5 \pm EP$ ). Diferentes letras maiúsculas indicam diferenças significativas pelo teste de Student Newman-Keuls com nível de significância de 5% entre as variáveis avaliadas (luminosidade x precipitação).....69

**Figura 6:** Dissociação da epiderme em *Andira fraxinifolia* (A-D), *Hancornia speciosa* (E-H), *Manilkara salzmannii* (I-L) e *Protium heptaphyllum* (M-P) na face abaxial (A-B, E-F, I-J e M-N) e da face adaxial (C-D, G-H, K-L e O-P), sob condições de sol (A, C, E, G, I, K, M e O) e sombra (B,

D, F, H, J, L, N e P) na restinga da RPPN do Outeiro de Maracaípe (Pernambuco, Brasil). EST (estômatos), setas apontam cicatrizes de tricomas tectores. Barras = 200  $\mu\text{m}$ .....70

**Figura 7:** Corte transversal da região mediana da folha de *Andira fraxinifolia* (A-D), *Hancornia speciosa* (E-H), *Manilkara salzmannii* (I-L) e *Protium heptaphyllum* (M-P) sob condições de sol (A, C, E, G, I, K, M e O) e sombra (B, D, F, H, J, L, N e P) obtidas em período seco (A-B, E-F, I-J e M-N) e chuvoso (C-D, G-H, K-L e O-P) na restinga da RPPN do Outeiro de Maracaípe (Pernambuco, Brasil): EPAb (epiderme da face abaxial), EPAd (epiderme da face adaxial), PPE (parede periclinal externa), PP (parênquima paliçádico), PL (parênquima lacunoso), Lc (laticíferos), Es (esclerênquima), Hp (hipoderme). Notar parede periclinal externa espessa (seta preta) e extensão de bainha (seta branca). Barras = 200  $\mu\text{m}$ .....71

## Manuscrito 2

**Figura 1:** (A) déficit de pressão de vapor (DPV) do ar na casa de vegetação da Universidade Federal Rural de Pernambuco; (B) umidade do solo (%) e (C) conteúdo relativo de água (RWC) nas folhas de plantas jovens de *Manilkara salzmannii* submetidas a diferentes regimes de restrição hídrica com posterior reidratação. Seta indica o dia da reidratação do substrato (36°). (\*) indicam diferenças significativas ( $p < 0.0001$ ) no mesmo período. Letras maiúsculas representam tratamentos do máximo estresse e letras minúsculas tratamentos da reidratação. Médias ( $n=6 \pm \text{EP}$ ) seguidas pela mesma letra não são significativamente diferentes pelo teste de Student Newman Keuls a 5% de significância.....100

**Figura 2:** Mensurações de trocas gasosas e fluorescência da clorofila *a*: (A) Assimilação líquida de  $\text{CO}_2$  (A), (B) Condutância estomática ( $g_s$ ), (C) transpiração (E), (D) eficiência do uso da água (WUE), (E) temperatura foliar ( $T_f$ ), (F) relação  $F_v/F_m$ , (G) eficiência do fotossistema II ( $\phi\text{PSII}$ ), (H) *quenching* fotoquímico (qP), (I) *quenching* não fotoquímico (NPQ) e (J) taxa de transporte de elétrons (ETR) em plantas jovens de *Manilkara salzmannii* submetidas a diferentes regimes de restrição hídrica com posterior reidratação. Seta indica o dia da reidratação do substrato (36°). Letras maiúsculas representam tratamentos do máximo estresse e letras minúsculas tratamentos da reidratação. Médias ( $n=6 \pm \text{EP}$ ) seguidas pela mesma letra não são significativamente diferentes pelo teste de Student Newman Keuls a 5% de significância.....101

**Figura 3:** Variações na concentração dos solutos orgânicos: (A) carboidratos solúveis totais da folha de (CST), (B) amido, (C) aminoácidos livres totais (AA) e (D) proteínas solúveis totais (PST) nas folhas de plantas jovens de *Manilkara salzmannii* submetidas a diferentes regimes de restrição hídrica com posterior reidratação. Barras verticais escuras representam o máximo estresse (36° dia) e barras verticais claras representam a reidratação (42° dia). Letras maiúsculas representam tratamentos do máximo estresse e letras minúsculas tratamentos da reidratação. Médias ( $n=6 \pm \text{EP}$ ) seguidas pela mesma letra não são significativamente diferentes pelo teste de Student Newman Keuls a 5% de significância.....102

**Figura 4:** Variação na concentração de (A) malondialdeído (MDA), (B) peróxido de hidrogênio ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ), (C) superóxido dismutase (SOD), (D) prolina, (E) catalase (CAT) e (F) ascorbato peroxidase (APX) nas folhas de plantas jovens de *Manilkara salzmannii* submetidas a diferentes regimes de restrição hídrica com posterior reidratação. Barras verticais escuras representam o máximo estresse (36° dia) e barras verticais claras representam a reidratação (42° dia). Letras maiúsculas representam tratamentos do máximo estresse e letras minúsculas tratamentos da reidratação. Médias ( $n=6 \pm \text{EP}$ ) seguidas pela mesma letra não são significativamente diferentes pelo teste de Student Newman Keuls a 5% de significância.....103

## Aspectos morfofisiológicos de quatro espécies de importância econômica e biológica para áreas de restinga

### RESUMO

Parâmetros como precipitação anual e variação de luminosidade influenciam nas características morfofisiológicas de espécies arbóreas tropicais. Em florestas de restinga estes parâmetros são intensificados já que além da alta incidência luminosa, o solo é arenoso com baixa retenção hídrica e pobre em nutrientes. Assim diante de um ambiente com tantas limitações como as plantas respondem aos diferentes níveis de precipitação e luminosidade? Para responder esta questão foram selecionadas quatro espécies lenhosas de importância econômica e biológica para as restingas, onde os objetivos do estudo foram (a) analisar em ambiente natural as alterações morfofisiológicas destas quatro espécies em dois níveis de precipitação (seco e chuvoso) e luminosidade (sol e sombra); e (b) analisar em casa de vegetação a capacidade de resiliência de *Manilkara salzmannii* (A. DC.) H. J. Lam. (Sapotaceae) submetida a diferentes regimes de déficit hídrico. Foram avaliadas medidas de trocas gasosas, determinações bioquímicas do tecido vegetal, fluorescência da clorofila *a* e atributos anatômicos (índice (IE) e densidade estomática (DE) e espessura do mesofilo (parênquimas paliçádico e lacunoso). Em ambiente natural, os atributos fisiológicos e bioquímicos responderam significativamente a variação de precipitação, enquanto a luminosidade pouco influenciou nas respostas das plantas nestes parâmetros, já em relação aos atributos anatômicos a luminosidade foi o fator que mais influenciou nas respostas das plantas. Durante a estação seca as folhas de sol e sombra, das quatro espécies, apresentaram redução nas taxas de fotossíntese, transpiração e condutância estomática, além de aumento na temperatura foliar. Na estação seca independente da luminosidade *Andira fraxinifolia* pouco alterou seus parâmetros bioquímicos, entretanto nas folhas de sol ajustou praticamente todos os atributos anatômicos avaliados; *Hancornia speciosa* e *M. salzmannii* reduziram clorofilas totais e aumentaram a prolina, parede periclinal externa e DE, além disso *M. salzmannii* também acumulou mais carboidratos solúveis totais e sob alta incidência luminosa reduziu sua área foliar (AF). Já *Protium heptaphyllum* para tolerar as condições hídricas limitantes da restinga precisou ajustar 10 atributos fisiológicos além de reduzir nas folhas de sol a AF, no entanto apesar de todos os ajustes realizados foi a única espécie a apresentar danos as membranas. Nossos resultados demonstram a importância da avaliação de múltiplos atributos biológicos, quando se estuda em seu habitat natural a resposta das plantas ao estresse ambiental. Em casa de vegetação as plantas jovens de *M. salzmannii* desenvolveram diferentes ajustes metabólicos para proteger seu aparato fotossintético, sob estresse moderado (25% de hidratação) as plantas investiram na proteção das organelas envolvidas na fotossíntese; já as plantas sob estresse severo

(0% de hidratação) buscaram proteger suas paredes celulares, dissipando o excesso de energia luminosa de forma térmica. Após 48 h de reidratação do substrato todos os parâmetros avaliados foram restabelecidos, sugerindo a capacidade de resiliência da espécie. Estes resultados são importantes, pois demonstram que os indivíduos jovens *M. salzmanni* conseguem se aclimatar em ambientes passíveis de seca, característica comum em ecossistemas de restinga, e por ser uma espécie nativa e de ampla distribuição na costa brasileira pode inclusive ser utilizada em programas voltados a recuperação e manejo dessas áreas.

## **Morphophysiological aspects of species of economic and biological importance to coast vegetation (restinga)**

### **ABSTRACT**

Parameters such as annual rainfall and variation in brightness influence the morphological and physiological characteristics of tropical tree species. In coast vegetation forests (restinga forest) these parameters are already intensified that in addition to high light incidence, the soil is sandy with low water retention and poor in nutrients. So before an environment with so many limitations as plants respond to different levels of precipitation and light? To answer this question have been selected four woody species of economic and biological importance to the restinga, where the objectives of the study were (a) to analyze natural environment in the physical and physiological changes of these four species in two levels of precipitation (dry and wet) and brightness (sun and shade); and (b) to analyze in the greenhouse at of resilience *Manilkara salzmannii* (A. DC.) HJ Lam. (Sapotaceae) under different water stress regimes. Gas exchange measurements were evaluated biochemical studies of plant tissue, fluorescence of chlorophyll a and anatomical attributes (index (SI) and stomatal density (SD) and thickness of the mesophyll (palisade and spongy parenchyma). In natural environment the physiological and biochemical attributes answered significantly the variation of precipitation, while the light had little influence in plant responses to these parameters, as compared to anatomical attributes to light was the factor that most influenced the responses of plants. During the dry season the leaves of sun and shade, the four species, decreased the rates of photosynthesis, transpiration and stomatal conductance, and increase in leaf temperature. In the independent brightness dry season *Andira fraxinifolia* little changed their biochemical parameters, however the sun leaves set almost all evaluated anatomical attributes; *Hancornia speciosa* and *M. salzmannii* reduced total chlorophyll and increased proline, paraclinal external wall and SD, also *M. salzmannii* also accumulated more total soluble carbohydrates and under high light incidence reduced its leaf area (LA). Have *Protium heptaphyllum* to tolerate the limiting water conditions of the restinga needed adjust 10 physiological attributes and reduce the sun leaves the LA, however despite all adjustments made was the only species to submit membranes damage. Our results demonstrate the importance of evaluating multiple biological attributes, when studying in their natural habitat the plant response to environmental stress. In the greenhouse, the seedlings of *M. salzmannii* developed different metabolic adjustments to protect its photosynthetic apparatus under moderate stress (25% moisture) plants invested in protecting the organelles involved in photosynthesis; The plants under severe stress (0% moisture) sought to protect their cell walls, dissipating excess light energy thermal shape. After 48 h of rehydration of the substrate all parameters were restored, suggesting the kind of resilience. These results are important because they show that young individuals *M. salzmannii* can acclimate likely in dry environments, a common characteristic in spits ecosystems, and for being a native and widely distributed in the Brazilian coast can even be used in programs directed recovery and management of these areas.



## 1. INTRODUÇÃO

Em florestas tropicais, a luminosidade é um importante parâmetro no processo de aclimatação, uma vez que está envolvida em ajustes fisiológicos e morfológicos no sentido de maximizar o ganho total de carbono (OSUNKOYA *et al.* 1994, LEE *et al.* 1997). Sob alta intensidade luminosa as principais características desenvolvidas pelas plantas são: aumento na espessura foliar e densidade estomática, maior alocação de biomassa para as raízes, variação na altura do caule e orientação das folhas (DUZ *et al.* 2004). A luminosidade pode inclusive explicar padrões de distribuição ecológica e geográfica das espécies, visto que as plantas apresentam respostas distintas a variação de luz em ambientes heterogêneos como o das florestas tropicais (PETIT *et al.* 1996, DUZ *et al.* 2004). Vários autores destacam que a maioria das plantas tem a capacidade de desenvolver folhas distintas, quando crescem sob variação de luminosidade (NÚÑEZ- OLIVEIRA *et al.* 1996, LEE *et al.* 2000), logo uma ampla variação foliar tem sido descrita para várias espécies do complexo floresta Atlântica brasileira submetidas a diferentes níveis de luminosidade (SCARANO *et al.* 1999; 2002).

Além da luz, o déficit hídrico é o fator ambiental que mais limita o crescimento e a produtividade de uma espécie vegetal (BOYER 1982). A redução no crescimento do vegetal induzido pelo déficit hídrico é fortemente relacionada com o fechamento estomático em resposta à baixa disponibilidade hídrica do solo, com efeitos negativos diretos sobre a captação de dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) atmosférico e, como resultado, queda na fotossíntese líquida (OSMOND *et al.* 1997). Uma consequência da diminuição da fotossíntese induzida pelo fechamento estomático é a exposição da planta ao excesso de energia luminosa, a qual se não for efetivamente dissipada, pode ser danosa ao complexo fotossistema II (PSII) (POMPELLI *et al.* 2010b, TAIZ & ZEIGER 2013) podendo levar à morte do vegetal. A fotossíntese é particularmente sensível as variações de potencial hídrico da planta (POMPELLI *et al.* 2010a), uma vez que à medida que os estômatos se

fecham para economizar água, priva a planta da captação de CO<sub>2</sub> atmosférico e o balanço de carbono na planta passa a ser negativo, aumentando a produção de radicais livres (OSMOND *et al.* 1997, NOCTOR *et al.* 2002). Assim a presença de peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) nos tecidos do vegetal é um indicativo de quedas nas taxas fotossintéticas em decorrência do estresse ambiental, sendo o déficit hídrico um dos mais importantes nas regiões tropicais no mundo. Em geral, as plantas respondem à seca através de alterações na morfologia, na fisiologia, em processos bioquímicos e metabólicos que coletivamente podem auxiliá-las a tolerar à seca (LONG & HUMPHRIES 1994, BRAY *et al.* 2000). Apesar da importância de estudos que tratam de potencial hídrico e adaptações ao estresse ambiental, a maioria dos estudos ecofisiológicos, contudo, estão centrados em culturas de importância econômica como o café, cana-de-açúcar, milho, etc (DA MATTA 2003, SILVA *et al.* 2003, CHAVES *et al.* 2004) e ainda faltam informações sobre muitas espécies nativas que possam ou não apresentar importância econômica, especialmente em áreas de restinga.

Na região nordeste do Brasil, as restingas apresentam alta riqueza e diversidade de espécies, entretanto o aspecto geral da vegetação está relacionado a fatores abióticos, tais como solos pobres em nutrientes, com baixa retenção hídrica e elevadas concentrações salinas, além de elevadas temperaturas e exposição luminosa (KLEIN *et al.* 2007). Estes fatores ambientais podem auxiliar na manifestação da plasticidade fenotípica das plantas (CHAGAS *et al.* 2008). Nos últimos anos, porém, a fragmentação da vegetação de restinga causada, principalmente, pela intensa exploração antrópica (ZICKEL *et al.* 2004) tem provocado várias alterações biológicas nas espécies que compõem estas áreas. Somado a isso o aumento da população humana no entorno dos poucos remanescentes de restinga tem agravado a situação desse ecossistema. Assim, para a recuperação e manejo de áreas degradadas se faz necessário a reintrodução de plantas que possam proporcionar além de certo grau de diversidade as florestas, respostas de sustentabilidade às atividades econômicas da população humana do entorno dos fragmentos. Todavia, as espécies lenhosas da restinga ainda não estão bem caracterizadas, faltam informações ecológicas, fisiológicas e

morfoanatômicas, principalmente, aquelas relativas à identificação das estruturas funcionais e ambientais que auxiliem na conservação desse ecossistema (ARAÚJO & HENRIQUES 1984). Assim, a proposta deste estudo foi responder as seguintes questões: (a) Quais são os mecanismos fisiológicos utilizados pelas plantas da restinga para tolerar a baixa disponibilidade hídrica do solo comum nesse ecossistema? (b) Nas espécies arbóreas da restinga as características morfoanatômicas das folhas estão associadas a diferentes intensidades luminosas? Para responder estas perguntas foram selecionadas as espécies: *Andira fraxinifolia* Benth., *Hancornia speciosa* Gomes, *Manilkara salzmannii* (A. DC.) H. J. Lam e *Protium heptaphyllum* (Aubl.) Marchand, que além de representativas de áreas de restinga, demonstram um potencial econômico interessante, ainda a ser explorado, contudo, com poucos dados científicos comprovados.

## 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 – Aspectos Morfoanatômicos

A anatomia foliar vem sendo estudada com diversos objetivos, no entanto, poucos estudos utilizam estas características sob o ponto de vista fisiológico (AOYAMA & SAJO 2003). A necessidade de trabalhos incluindo aspectos morfoanatômicos e fisiológicos vem crescendo, uma vez que a fragmentação da vegetação causada, principalmente, pela intensa exploração das florestas tropicais nos últimos anos tem provocado várias alterações físicas e biológicas nestas áreas, como resultado da redução dos ambientes naturais e do aumento da incidência luminosa (CORRÊA 2007). Para Nascimento *et al.* (1999) as modificações microclimáticas, ocasionadas pelo surgimento de bordas florestais, têm acarretado mudanças na composição das espécies e na estrutura dos ambientes, com conseqüentes alterações do micro-habitat interferindo na riqueza e composição das espécies.

Durante o processo de aclimação das espécies, a folha é o órgão da planta que responde mais facilmente às condições do ambiente e apresentam geneticamente, uma amplitude de tolerância a essas variações que são capazes de promover respostas às mudanças no microambiente, em maior ou menor grau (CHAGAS *et al.* 2008). Vários estudos indicam que os principais mecanismos desenvolvidos pelos vegetais na tentativa de mitigar os efeitos danosos do meio ambiente são principalmente mudanças na sua anatomia como presença de cutícula, tricomas e ceras e em sua área foliar (TAIZ & ZEIGER 2013).

Para a maioria das espécies vegetais, a superfície das folhas constitui a principal defesa física contra estresses ambientais bióticos e abióticos (CORRÊA *et al.* 2008). Nas folhas das plantas pode-se observar uma estrutura multiestratificada de ceras e hidrocarbonos denominada de cutícula (DICKSON 2000). A cutícula ocupa toda a área superficial das folhas atuando como uma barreira mecânica de proteção contra o excesso de energia luminosa (ao refletir a luz), além de agir na restrição da difusão de água e gases, e na penetração de patógenos como os fungos e insetos

herbívoros (CORRÊA *et al.* 2008, TAIZ & ZEIGER 2013). Além da cutícula, a epiderme também confere fundamental proteção à área foliar das plantas, principalmente pela barreira de proteção que proporciona, constituindo uma maior rigidez às folhas (TURNER *et al.* 1995). Essa rigidez conferida às folhas é constituída por algumas propriedades da epiderme juntamente com células de parede espessada, como a hipoderme ou feixes de fibras (TURNER *et al.* 1995).

Muitas espécies vegetais são revestidas por apêndices epidérmicos chamados tricomas, que são projeções das células da epiderme e apresentam formas bastante variadas, podendo inclusive acumular substâncias como terpenos, gomas e/ou taninos (MEDEIROS & MORRETES 1995, TURNER *et al.* 1995). Os tricomas são estruturas adaptativas vantajosas para espécies vegetais de ambientes secos ou com incidência luminosa intensa, ou ainda em ambientes onde os indivíduos estão expostos ao efeito direto dos ventos, já que uma densa camada de tricomas controla a perda de água pela transpiração (MEDEIROS & MORRETES 1995, KARABOURNIOTIS *et al.* 1999). As plantas que apresentam tricomas dispostos densamente na sua superfície foliar são capazes de preservar sua maquinaria fotossintética, uma vez que os tricomas têm a função de reduzir a temperatura foliar além de refletir a radiação solar incidente (FAHN & CUTLER 1992, TAIZ & ZEIGER 2013). Nesse contexto, algumas características tais como folhas espessas, textura coriácea, presença de cutícula, tricomas e hipoderme, além de um mesofilo mais espesso (células mais alongadas do parênquima paliçádico ou com um maior número de camadas) são consideradas vantajosas para a adaptação das plantas ao estresse, pois reduzem a perda de água e o excesso de luz nas células dos tecidos foliares, além da ação dos herbívoros (CORRÊA 2007, TAIZ & ZEIGER 2013).

A área foliar é um importante parâmetro utilizado para determinar o uso da água pelas plantas, sendo frequentemente considerada como uma resposta fisiológica aos estresses ambientais, especialmente o déficit hídrico (CIRILO & ANDRADE 1996, BRITO *et al.* 2013). Sob condições de limitação hídrica, o equilíbrio entre a produção de assimilados e a demanda para o desenvolvimento dos órgãos reprodutivos é intensamente afetado pela redução na área foliar

fotossinteticamente ativa, assim quando um vegetal é exposto ao déficit hídrico o seu potencial de produtividade é severamente inibido (FERNÁNDEZ *et al.* 1996). No entanto, a limitação da área foliar pode ser considerada como uma das respostas fenotípicas das plantas em relação ao déficit hídrico, visto que a água exerce papel fundamental na manutenção da turgescência das células (SANTOS & CARLESSO 1998). Alterações na forma foliar implica em uma área reduzida diminuindo, portanto, a perda de água e mantendo o turgor das células por períodos mais longos (BRITO *et al.* 2013). Ao manter o turgor em suas células as plantas conseguem dar continuidade aos processos de crescimento vegetal, mantendo a expansão e divisão celular, conseqüentemente a fotossíntese (SANTOS & CARLESSO 1998). Mudanças na orientação da área foliar, estando perpendiculares aos raios solares pela manhã e paralela a estes à tarde, reduzem a exposição à radiação (PASTENES *et al.* 2005, LIZANA *et al.* 2006). Outra estratégia para evitar a perda de água é o enrolamento foliar que ocorre em virtude da presença de células buliformes, muito comuns em gramíneas (INMAN-BAMBER & SMITH 2005). Sob déficit hídrico, a presença de células buliformes na epiderme das gramíneas pode ser interpretada como uma estratégia de tolerância à seca, visto que ao enrolar a folha vai ocorrer uma diminuição da superfície de transpiração, diminuindo assim as perdas de água, além do excesso de energia luminosa (TAIZ & ZEIGER 2013).

Algumas características xeromórficas são consideradas um mecanismo de tolerância à seca, como folhas apresentando uma elevada relação volume-superfície, ou seja, pequenas e compactas, com mesofilo espesso, parênquima paliçádico mais desenvolvido que o lacunoso, cujas células têm grandes vacúolos para armazenar água, pequeno volume de espaço intercelular, rede vascular compacta e, algumas vezes, com células pequenas, além disso, a localização dos estômatos em depressões e na face abaxial pode auxiliar na redução da perda de água pelas plantas (VALLADARES & NIINEMETS 2008).

## 2.2 – Folhas de sol e sombra

A luz é um fator fundamental no estabelecimento e no desenvolvimento das plantas em florestas tropicais (SOUZA *et al.* 2009, ROSSATTO *et al.* 2010). Sob diferentes condições de luminosidade, as plantas apresentam a capacidade de se adaptarem, crescendo como plantas de sol ou como plantas de sombra (TAIZ & ZEIGER 2013). Além disso, no dossel das árvores ocorre à troca de energia e matéria através da superfície foliar, logo a intensidade luminosa induz a alterações na estrutura das folhas resultando em folhas de sol e de sombra no mesmo indivíduo (HOLBROOK & LUND 1995). Este órgão tem vasta variedade de formas e tamanho, além de ampla capacidade adaptativa aos diferentes ambientes, sendo geneticamente determinada para o crescimento em baixa ou alta intensidade luminosa (SOUZA *et al.* 2009).

Em florestas tropicais, as folhas estão diretamente expostas às variações do ambiente, tais como: luz, temperatura, precipitação e nutrientes do solo. Estas características são responsáveis pelas variações morfoanatômicas e fisiológicas nestas plantas (TAIZ & ZEIGER 2013). Em estudos de anatomia ecológica, as alterações na estrutura foliar decorrente da variação ambiental é de fundamental importância na determinação das principais estratégias envolvidas no processo de aclimação e tolerância das plantas ao estresse ambiental (SOUZA *et al.* 2009, TAIZ & ZEIGER 2013).

A folha é altamente especializada para a absorção da luz, apresentando propriedades morfo-estruturais contrastantes entre os parênquimas paliádico e lacunoso, resultando em uma absorção de luz mais uniforme (TAIZ & ZEIGER 2013). No geral, folhas expostas a maior intensidade luminosa apresentam características xeromórficas, tais como: redução da área foliar, aumento na quantidade e no comprimento das células do parênquima paliádico, conferindo a essas folhas maiores taxas fotossintéticas, aumento na espessura do mesofilo e na concentração de cloroplastos (VALLADARES & NIINEMETS 2008, SOUZA *et al.* 2009, ROSSATTO *et al.* 2010). Já as folhas de sombra, apresentam uma área foliar maior, redução na espessura do mesofilo e diminuição na

concentração de cloroplastos, granas mais largos além de uma maior quantidade de clorofila b, auxiliando assim numa melhor captação de luz difusa do ambiente (CARELLI *et al.* 2006).

Sendo assim, compreender a capacidade de resposta das plantas às variações locais quanto à disponibilidade de recursos é fundamental para o entendimento do equilíbrio e dinâmica das comunidades florestais, especialmente para projetos de recuperação e manejo de áreas degradadas. Estes projetos devem ser embasados a partir de dados obtidos em estudos sistematizados de características das espécies vegetais que poderão colonizar as áreas a serem recuperadas (DIAS 2005).

### 2.3 – Estratégias de tolerância ao déficit hídrico: relações hídricas

Desde o início do século passado vários pesquisadores têm investigado as diferentes estratégias de tolerância e adaptação das plantas à seca (KUDOYAROVA *et al.* 2013), uma vez que o déficit hídrico é uma condição periódica em diversos ecossistemas apresentando um impacto negativo substancial no crescimento e desenvolvimento das plantas (LECOEUR & SINCLAIR 1996). A limitação hídrica do solo promove um conflito entre a conservação da água na planta e a taxa de assimilação de CO<sub>2</sub> para produção de carboidratos (TAIZ & ZEIGER 2013). Assim, as plantas desenvolveram diversos mecanismos morfofisiológicos auxiliando as mesmas a sobreviverem em períodos de menor disponibilidade hídrica no solo.

Para a compreensão das respostas das plantas ao déficit hídrico, é de fundamental importância avaliar a capacidade de armazenamento da água no solo e analisar a influência dos mecanismos de aclimação das plantas à redução da disponibilidade hídrica. Uma vez que a quantidade de água disponível às plantas varia com a textura e as características físicas do solo e, em face desta variação, as plantas apresentam diferentes respostas em seus mecanismos morfofisiológicos de tolerância à seca (KIEHL 1979).



Solos argilosos com textura mais fina retêm água em maior quantidade que os solos de textura arenosa, devido à maior área superficial e a poros menores entre partículas (TAIZ & ZEIGER 2013). À medida que a disponibilidade de água no solo é reduzida, aumenta a sua força de retenção pelas partículas do solo, conseqüentemente a dificuldade de absorção de água pelas plantas é intensificada (PIMENTEL 2004).

O déficit hídrico pode causar na vegetação perturbações primárias como a redução do potencial hídrico, desidratação celular e resistência hidráulica; e perturbações secundárias como redução da condutância estomática e das atividades metabólicas, inibição fotossintética, diminuição da expansão foliar, abscisão foliar, desestabilização de proteínas e membranas, produção de espécies reativas de oxigênio (ERO) e morte celular (DOLEY 1967, ÇAKMAK & HORST 1991, GARAU *et al.* 2008, PEREIRA *et al.* 2009).

Quando o potencial hídrico do solo está muito baixo, em geral as plantas respondem reduzindo ou inibindo o seu crescimento (BHARGAVA & SAWANT 2013). A redução do crescimento da parte aérea da planta, não impede que o meristema das raízes continue funcional durante o período mais limitante, e logo que as condições hídricas do solo sejam restabelecidas, a planta possa retomar seu processo de crescimento (BHARGAVA & SAWANT 2013). Assim, a inibição ou retardo no crescimento vegetal, pode ser visto como uma resposta adaptativa do vegetal às condições do ambiente (XIONG *et al.* 2006).

Além disso, a baixa disponibilidade hídrica do solo resulta na perda de turgescência das células, assim para evitar danos ao aparato fotossintético, uma das primeiras respostas fisiológicas das plantas à seca é a redução de sua condutividade estomática (FLEXAS *et al.* 2004, MAFAKHERI *et al.* 2010). No entanto, o fechamento dos estômatos pode implicar tanto em respostas positivas quanto negativas para as plantas (KUDOYAROVA *et al.* 2013). A diminuição da condutividade estomática traz como benefícios, a redução na perda de água por transpiração (E) e um aumento na eficiência do uso da água (EUA) (GALLE *et al.* 2011, POMPELLI *et al.* 2010a, RIVAS *et al.* 2013, SOUZA *et al.* 2010). Em geral, quando os estômatos se fecham, a transpiração

declina mais rapidamente e em maior grau do que a fotossíntese (KUDOYAROVA *et al.* 2013). No processo de transporte de água do sistema solo-planta-atmosfera, a transpiração desempenha um importante papel, pois é a responsável pela trajetória final do movimento de vapor de água e de íons através da folha até a atmosfera, além de contribuir para reduzir a temperatura foliar durante o dia (PIMENTEL 2004). Assim, quanto mais baixas as taxas de transpiração na planta, menos água será absorvida pelas raízes e transportada para as folhas (PIMENTEL 2004).

Se por um lado o fechamento dos estômatos evita a desidratação das plantas submetidas à limitação hídrica, por outro lado pode ocasionar a má condutividade hidráulica das raízes até as folhas (XIONG *et al.* 2006), além da redução na captação de dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) essencial para o processo fotossintético (MAFAKHERI *et al.* 2010). A má condutividade hidráulica pode implicar na formação de embolia nos vasos de xilema. Embolia consiste na formação de bolhas de ar ao longo dos vasos xilemáticos, com consequente interrupção da passagem da água para as partes superiores do vegetal (PIMENTEL 2004). Já a limitação de CO<sub>2</sub>, devido ao prolongamento do fechamento dos estômatos, implica na formação de radicais livres como as espécies reativas de oxigênio (ERO), extremamente danosas ao aparato fotoquímico (GILL & TUTEJA 2010).

#### *2.4 – Estratégias de tolerância ao déficit hídrico: fluorescência*

Apesar da importância das medidas de trocas gasosas (CO<sub>2</sub> e O<sub>2</sub>) na determinação das taxas fotossintéticas, no entanto, para avaliar os efeitos deletérios nos cloroplastos, ocasionados pelas diversas formas de estresse abiótico, especialmente o luminoso associado ao hídrico, apenas essas medidas não são eficientes (TAGIBA & PEZZOPANE 2007). Para contornar essa problemática, uma alternativa seria a avaliação da eficiência fotoquímica da fotossíntese, obtida por meio das diversas variáveis da fluorescência da clorofila *a* (SILVA-JR. *et al.* 2012). Este método é aceito dentre as análises uma vez que não destrói o tecido vegetal. Além disso, o rendimento da fluorescência da clorofila revela o nível de excitação da energia no sistema de pigmentos que dirige a fotossíntese e fornece subsídios para avaliar a inibição ou o dano no processo de transferência de

elétrons do fotossistema II (PSII) (TAGIBA & PEZZOPANE 2007, YANG *et al.* 2007). Sob condições ambientais extremas, eventos nos tilacóides podem ser seriamente afetados, inativando o PSII e a cadeia transportadora de elétrons que dará origem ao ATP e NADPH interferindo, assim, na eficiência da fotossíntese (COSTA *et al.* 2003, YANG *et al.* 2007).

Os principais parâmetros de fluorescência da clorofila *a* avaliados nas plantas sob estresse são: fluorescência inicial ( $F_0$ ), fluorescência máxima ( $F_m$ ), fluorescência variável ( $F_v$ ) e rendimento quântico máximo do PSII ( $F_v/F_m$ ), além dos *quenchings* fotoquímico (qP) e não fotoquímico (NPQ) (SCHREIBER *et al.* 1986). A fluorescência com todos os centros de reação "abertos" é representada por  $F_0$  referindo-se à emissão de fluorescência pelas moléculas de clorofila *a* do complexo coletor de luz do PSII (KRAUSE & WEISS 1991). O  $F_m$  indica a completa redução da quinona A ( $Q_A$ ) a partir da incidência de um pulso de luz no centro de reação  $Q_A$ , gerando fluorescência máxima. A diferença entre  $F_m$  e  $F_0$  resulta na fluorescência variável ( $F_v$ ). A  $F_v$  representa o fluxo de elétrons do centro de reação do PSII (P680) até a plastoquinona ( $PQH_2$ ) (TAGIBA & PEZZOPANE 2007). O rendimento quântico máximo é calculado como:  $F_v/F_m = (F_m - F_0)/F_m$  (TAGIBA & PEZZOPANE 2007). Foi constatado para clones de eucalipto (*Eucalyptus* - Myrtaceae) que quando a planta está com seu aparelho fotossintético intacto, a razão  $F_v/F_m$  deve variar entre 0,75 e 0,85, quando ocorre queda nesta razão pode-se inferir que houve dano fotoinibitório nos centros de reação do PSII (KRAUSE & WEISS 1991). Logo os parâmetros de fluorescência são importantes ferramentas na detecção de danos ou da inibição do processo de transferência elétrons do PSII (LASSOUANE *et al.* 2013).

Mesmo sob limitação hídrica do solo a captação de luz pelas plantas é um processo contínuo, assim para proteger e evitar danos severos às proteínas dos fotossistemas às plantas dissipam o excesso de energia luminosa sob a forma de calor através do *quenching* não-fotoquímico (NPQ) (CHAVES *et al.* 2002).

## 2.5 – Estratégias de tolerância ao déficit hídrico: metabolismo antioxidante

Em climas tropicais, o déficit hídrico geralmente é acompanhado de excesso de energia luminosa, com conseqüente aumento do dano oxidativo por espécies reativas de oxigênio (ERO) (UZILDAY *et al.* 2012). O déficit hídrico, sobretudo, tende a causar um desequilíbrio entre a atividade fotoquímica e bioquímica da fotossíntese, favorecendo a geração de ERO (CHANDRA & DUBEY 2010, MAFAKHERI *et al.* 2010). As plantas continuamente sintetizam as espécies reativas de oxigênio como um subproduto de várias vias metabólicas, seja pela redução parcial de moléculas de O<sub>2</sub> ou pela transferência de energia para eles (UZILDAY *et al.* 2012). ERO desempenham um papel significativo na proteção contra patógenos prejudiciais, sendo também importantes na formação de elementos terciários e em vários outros processos de desenvolvimento (HAYAT *et al.*, 2012). No entanto, níveis excessivos de ERO comprometem a integridade celular podendo, inclusive, levar a morte da planta (GILL & TUTEJA 2010). O aumento nos níveis de ERO pode ser mensurado através da quantificação de malondialdeído (MDA), que é um produto da peroxidação lipídica da membrana produzido nas plantas sob estresse hídrico severo (CAKMAK & HORST, 1991).

As plantas frequentemente lidam com o excesso de ERO fazendo a “desintoxicação” dos radicais livres recém formados, através de sistemas antioxidantes complexos, mas, bem desenvolvidos, que são compostos de defesa não enzimática, tais como o ácido ascórbico, glutathione, tocoferol, etc, e eliminadores enzimáticos tais como superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT), peroxidase (APX), glutathione redutase (GR) etc. (UPADHYAYA *et al.* 2008, CHANDRA & DUBEY 2010). Estas enzimas desempenham um papel fundamental no equilíbrio redox das plantas. A resposta das enzimas antioxidantes SOD, CAT e APX foi relacionada à tolerância ao déficit hídrico em várias espécies tais como soja (*Glycine max* (L) Merr), cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum* L.), pinhão manso (*Jatropha curcas* L.), açafraão (*Carthamus tinctorius* L.), café (*Coffea arabica* L.) entre outros (VILLALOBOS-RODRIGUEZ & SHIBLES

1985, CAKMAK & HORST 1991, WILLADINO *et al.* 2011, ARCOVERDE *et al.* 2011, POMPELLI *et al.* 2010b, HOJATI *et al.* 2011). Sob estresse hídrico, a enzima SOD é uma das primeiras a entrar em atividade catalisando a dismutação do ânion superóxido ( $O_2^{\cdot-}$ ) com grande eficiência, resultando na produção de peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ) e oxigênio molecular ( $O_2$ ) (GILL & TUTEJA 2010, KÖŞKEROĞLU & TUNA 2010). Em seguida as enzimas CAT e APX convertem o  $H_2O_2$  em água e oxigênio molecular, evitando o dano celular em condições desfavoráveis, como a seca (GILL & TUTEJA 2010).

### 2.6 – Estratégias de tolerância ao déficit hídrico: defesa não enzimática

Nos mecanismos de tolerância a seca, maior acúmulo de amido nos períodos de menor disponibilidade hídrica é considerado como uma característica adaptativa das plantas à desidratação (MCCREE *et al.* 1990). Outro mecanismo é o acúmulo ativo de solutos osmoticamente ativos na célula, denominado de ajustamento osmótico, que permite a manutenção da turgescência, crescimento e fotossíntese, sob baixos valores de potencial hídrico na folha (MORGAN 1984). Os solutos responsáveis por esse ajustamento compreendem: íons inorgânicos ( $K^+$ ,  $NO_3^-$ ,  $Cl^-$ ,  $SO_4^-$ ), ácidos orgânicos (malato, aspartato), carboidratos solúveis (sacarose, frutose e glicose), e aminoácidos livres (prolina, glutamina) (HANSON & HITZ 1982).

O acúmulo de muitos outros compostos tem efeito protetor para a célula sob a desidratação como ascorbato, glutatona, tocoferol e xantofilas, desintoxicando a célula das espécies reativas de oxigênio (NOCTOR *et al.* 2002, LOGAN *et al.* 2006, ASHRAF 2009); proteínas LEAs, que ativam os sistemas de reparo de danos nas membranas (XIONG *et al.* 2002); ácido jasmônico, brassinosteróides e ácido salicílico, que protegem a integridade das membranas e do DNA e RNA (MITTLER 2002, DAVIES 2010, UZILDAY *et al.* 2012).

A eliminação do excesso de ERO nas plantas também pode ser realizada através do acúmulo de solutos compatíveis ou osmólitos tais como açúcares solúveis, compostos terciários, quartenários, prolina (Pro) e glicina-betaina (GB) (BHARGAVA & SAWANT 2013). Solutos

compatíveis são compostos orgânicos que, ajudam a manter o equilíbrio do potencial hídrico dentro da célula sem interferir nas funções das enzimas (BHARGAVA & SAWANT 2013, LASSOUANE *et al.* 2013, TAIZ & ZEIGER 2013). Nas plantas os solutos compatíveis são acumulados no citosol, estes compostos vão permitir que as células possam regular a pressão de turgescência e extrair a água do solo em condições de déficit hídrico (KÖŞKEROĞLU & TUNA 2010, TAIZ & ZEIGER 2013). Os osmólitos também ajudam a manter a estrutura da membrana ao atuarem como captadores de ERO, impedindo assim a peroxidação lipídica e regulando canais iônicos nos estômatos (CHANDRA & DUBEY 2010).

Entre os pesquisadores é bem aceito que sob limitação hídrica uma das mais frequentes respostas fisiológicas das plantas é o acúmulo de prolina (UPADHYAYA *et al.* 2008, KÖŞKEROĞLU & TUNA 2010, MAFAKHERI *et al.* 2010). Upadhyaya *et al.* (2008) observaram um aumento de 10% no teor de prolina em clones de *Camellia sinensis* (L.) Kuntze submetidos ao déficit hídrico por 20 dias, quando comparadas com as plantas totalmente irrigadas sendo esta diferença anulada logo após a reidratação do substrato. De forma semelhante Mafakheri *et al.* (2010) constataram aumentos em torno de 10 vezes no teor de prolina de plantas de grão de bico (*Cicer arietinum* L.) submetidas a déficit hídrico. Embora seja plausível que o acúmulo de prolina possa estar envolvido na tolerância das plantas ao estresse hídrico, seu papel neste processo permanece incerto (ZANG *et al.* 2013). Visto que para muitas plantas o acúmulo de prolina pode ocorrer em resposta a uma ampla gama de estresses bióticos e abióticos (HARE & CRESS 1997).

É discutido na literatura que a prolina pode atuar nas plantas sob estresse de diferentes formas, tais como ajustamento osmótico, estabilização de membranas e eliminador de radicais livres, juntamente com as enzimas do complexo antioxidativo (HARE & CRESS 1997, MAFAKHERI *et al.* 2010, HAYAT *et al.*, 2012). A controvérsia no papel da prolina está centrada justamente em sua capacidade para mediar todos estes parâmetros, uma vez que o pool de prolina observado em plantas sob estresse é insuficiente para explicar todos os efeitos biofísicos pronunciados. Para Hare & Cress (1997) o papel do acúmulo de prolina, em plantas sob estresse, é

auxiliar as mesmas fornecendo a energia necessária para a sua recuperação. De acordo com estes autores os níveis elevados de síntese de prolina durante o estresse pode manter taxas de  $\text{NAD(P)}^+/\text{NAD(P)H}$  em valores compatíveis com o metabolismo em condições não estressantes. A atuação da prolina na redução de danos fotoinibitórios foi constatada em plantas de *Brassica juncea* (L.) Coss. submetidas a déficit hídrico (Alia *et al.* 1991). Estes autores argumentam que a prolina só foi capaz de atuar na redução destes danos devido a sua baixa reatividade com as ERRO (Alia *et al.* 1991).

Porém, não basta apenas conhecer os principais mecanismos ou respostas de tolerância existentes entre as plantas, deve-se principalmente buscar quais os mecanismos, dentre os muitos já conhecidos, são utilizados pelas espécies em estudo em seu processo de aclimação.

### 3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alia, P., Saradhi, P., Mohanty, P. 1991. Proline enhances primary photochemical activities in isolated thylakoid membranes of *Brassica juncea* by arresting photoinhibitory damage. *Biochem Biophys Res Commun* 181, 1238–1244.
- Arcoverde, G. B.; Rodrigues, B. M.; Pompelli, M. F., Santos, M. G. 2011. Water relations and some aspects of leaf metabolism of *Jatropha curcas* young plants under two water deficit levels and recovery. *Braz. J. of Plant Physiol* 23, 123-130.
- Ashraf, M. 2009. Biotechnological approach of improving plant salt tolerance using antioxidants as markers. *Biotechnology Advances* 27, 84-93.
- Araújo, D. S. D. E Henriques, R. P. B. 1984. Análise florística das restingas do Estado do Rio de Janeiro. In: LACERDA, L. D., ARAÚJO, D. S. D., CERQUEIRA, R. TURCQ, B. (Orgs.), *Restingas: origem, estrutura, processos*. Rio de Janeiro: CEUFF, pp. 159-193.
- Atkin, O. K.; Macherel, D. 2009. The crucial role of plant mitochondria in orchestrating drought tolerance. *Annals of Botany* 103, 581-597.
- Aoyama, E. M.; Sajo, M. G. 2003. Estrutura foliar de *Aechmea* Ruiz & Pav. subgênero *Lamprococcus* (Beer) Baker e espécies relacionadas (Bromeliaceae). *Rev. Bras. Bot.* 26, 461-473.
- Bhargava, S., Sawant, K. 2013. Review. Drought stress adaptation: metabolic adjustment and regulation of gene expression. *Plant Breeding* 132, 21–32.
- Boyer, J. S. 1965. Effects of osmotic water stress on metabolic rates of cotton plants with open stomata. *J Plant Physiol* 40, 229-234.
- Brito, M. E. B., Araújo Filho, G. D., Wanderley, J. A. C., Melo, A. S., Costa, F. B., Ferreira, M. G. P. 2013. Crescimento, fisiologia e produção do milho doce sob estresse hídrico. *Biosci. Journal* 29, 1244-1254.
- Cakmak, I., Horst, J. 1991. Effect of aluminium on lipid peroxidation, superoxide dismutase, catalase, and peroxidase activities in root tips of soybean (*Glycine max*). *Plant Physiology* 83, 463-468.



Carelli, M. L. C., Fahl, J. I., Ramalho, J. D. C., 2006. Aspects of nitrogen metabolism in coffee plants. *Braz J Plant Physiol* 18, 9-21.

Chagas, M. G. S., Silva, M. D., Galvíncio, J. D., Pimentel, R. M. M. 2008. Variações foliares em grupos funcionais vegetais de uma paisagem de restinga, pernambuco-Brasil. *Rev. Bras. Geog. Física* 1, 50-63.

Chandra, A., Dubey, A. 2010. Effect of ploidy levels on the activities of  $\delta^1$ -pyrroline-5-carboxylate synthetase, superoxide dismutase and peroxidase in *Cenchrus* species grown under water stress. *J Plant Physiol* 48, 27–34.

Chaves, M. M., Pereira, J.S., Maroco, J., Rodrigues, M. L., Ricardo, C. P. P., Osório, M. L., Carvalho, I., Faria, T., Pinheiro, C. 2002. How Plants Cope with Water Stress in the Field? Photosynthesis and Growth. *Annals of Botany* 89, 907-916.

Chaves, M. M., Oliveira, M. 2004. Mechanisms underlying plant resilience to water deficits: prospects for water-saving agriculture. *J Exp Bot.* 55, 2365-2384.

Cirilo, A.G., Andrade, F.H. 1996. Sowing date and kernel weight in maize. *Crop Science* 36, 325-331.

Corrêa, P. G., Pimentel, R. M. M., Cortez, J. S. A., Xavier, H. S. 2008. Herbivoria e anatomia foliar em plantas tropicais brasileiras. *Cienc. Cult.* 60, 54-57.

Costa, E. S, Bressan-Smith, R., Oliveira, J. G., Campostrini, E. 2003. Chlorophyll *a* fluorescence analysis in response to excitation irradiance in bean plants (*Phaseolus vulgaris* L. and *Vigna unguiculata* L. Walp) submitted to high temperature stress. *Photosynthetica* 41, 77-82.

Costa, C. B. N., Costa, J. A. S., 2006. Ramalho, M. Biologia reprodutiva de espécies simpátricas de Malpighiaceae em dunas costeiras da Bahia, Brasil. *Rev Bras Bot* 29, 103-114.

Da Matta, F. M. 2003. Drought as a multidimensional stress affecting photosynthesis in tropical tree crops. In: *Advances in Plant Physiology* 5 Ed. A. Hemantaranjan. Scientific Publishers, Jodhpur, pp. 227–265.

Davies, P. J. 2010. The Plant Hormones: Their Nature, Occurrence, and Functions. In: DAVIES, P. (Ed.). Plant Hormones: Springer Netherlands, cap. 1, p.1-15.

Dias, J. 2005. Aspectos morfoanatômicos e fisiológicos de folhas de sol e sombra de *Lithrae molleoides* (Vell.) Engl. (Anacardiaceae). Dissertação (mestrado em Ciências Biológicas), Universidade Estadual de Londrina, Paraná, Brasil, 78p.

Dickson, W. C. Integrative Plant Anatomy. Academic Press, San Diego, California, USA 2000. 532 p.

Doley, D. 1967. Water relations of *Eucalyptus marginata* Sm. under natural conditions. J Ecology 55, 597-614.

Duz, S. R., Siminski, A., Santos, M., Paulilo, M. T. S. 2004. Crescimento inicial de três espécies arbóreas da floresta Atlântica em resposta à variação na quantidade de luz. Rev Bras Bot 27, 587-596.

Fahn, A., Cutler, D. F. Xerophytes. Berlin: Gebruder Borntraeger, 1992. 176p.

Fernández, C. J., Mcinnes, K. J., Cothren, J. T. 1996. Water status and leaf area production in water-and nitrogen-stressed cotton. Crop Science 36, 1224-1233.

Flexas, J., Bota, J., Loreto, F., Cornic, G., Sharkey, T.D., 2004. Diffusive and metabolic limitations to photosynthesis under drought and salinity in C3 plants. Plant Biology 6, 1–11.

Galle, A., Florez-Sarasa, L., Aououad, H.E., Flexas, J. 2011. The mediterranean evergreen *Quercus Ilex* and the semi-deciduous *Cistus Albidus* differ in their leaf gas exchange regulation and acclimatation to repeated drought and rewatering cycles. J Exp. Botany 62, 5207-5216.

Garau, A. M., Lemcoff, J. H., Ghersa, C. M., Beadle, C. L. 2008. Water stress tolerance in *Eucalyptus Globulus* Labill. subsp. *Maidenii* (F. Muell.) saplings induced by water restrictions imposed by weeds. Forest Ecology Manag 255, 2811–2819.

Gill, S. S., Tuteja, N. 2010. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. J Plant Physiology 48, 909-930.

Hanson, A. D., Hitz, W. D. 1982. Metabolic responses of mesophytes to plant water deficits. *Annual Review of Plant Physiology* 33, 163-203.

Hare, P. D., Cress, W. A. 1997. Metabolic implications of stress-induced proline accumulation in plants. *Plant Growth Regulation* 21, 79–102.

Hay, J. D., Lacerda, L. D., Tan, A. L. 1981. Soil cation increase in a tropical sand dune ecosystem due to a terrestrial bromeliad. *Durham, Ecology* 62, 1392-1395.

Hayat, S., Hayat, Q., Alyemeni, M. N., Wani, A. S., Pichtel, J., Ahmad, A. 2012. Role of proline under changing environments. A review. *Plant Signaling & Behavior* 7, 1–11.

Hojati, M., Modarres-Sanavy, S. A. M., Karimi, M. F. G. 2011. Responses of growth and antioxidant systems in *Carthamus Tinctorius* L. under water deficit stress. *Acta Physiol Plant* 33, 105–112.

Holbrook, N. M., Lund, C. P. Photosynthesis in forest canopies. In: M.D. Lowman and N. M. Nadkarni (eds.). *Frest Canopies*, Academic Press, California, pp. 430-441.

Inman-Bamber, N. G., Smith, D. M. 2005. Water relations in sugarcane and response to water deficits. *Field Crops Research* 92, 185-202.

Karabourniotis, G., Bornman, J. F., Liakoura, V. 1999. Different leaf surface characteristics of three grate cultivars affect leaf optical properties as measured white fibre optics: possible implication in stress tolerance. *Australian J Plant Physiology* 26, 47-53.

Kiehl, E. J. 1979. *Manual de edafologia: relação solo-planta*. São Paulo: Agronômica Ceres, 264p.

Klein, A.S., Citadini-Zanette, V., Santos, S. 2007. Florística e estrutura comunitária de restinga herbácea no município de Araranguá, Santa Catarina. *Biotemas* 20, 15-26.

Köşkeroglu, S., Tuna, A. L. 2010. The investigation on accumulation levels of proline and stress parameters of the maize (*Zea mays* L.) plants under salt and water stress. *Acta Physiol Plant* 32, 541–549.

Krause, G. H., Weis, E. 1991. Chlorophyll fluorescence and photosynthesis: The Basics. *Plant Molec. Biology* 42, 313-349.

Kudoyarova, G. R., Kholodovab, V. P., Veselova, D. S. 2013. Reviews. Current state of The problem of water relations in plants under water deficit. *Russian J Plant Physiol* 60, 165–175.

Lassouane, N., Aïd, F., Lutts, S. 2013. Water stress impact on young seedling growth of *Acacia arábica*. *Acta Physiol Plant* 35, 2157–2169.

Lee, D.W., Oberbauer, S.F., Baskaran, K.; Mansor, M., Mohamad, H., Yap, S.K. 1997. Effects of irradiance and spectral quality on seedling development of two southeast asian hopea species. *Oecologia* 110, 1-9.

Lee, D. W., Oberbauer, S. E., Johnson, P., Krishnapilay, B., Mansor, M., Mohamad, H., Yap, S.K. 2000. Effects of irradiance and spectral quality on leaf structure and function in seedlings of two southeast asian hopea (Dipterocarpaceae) Species. *American J. Bot* 87, 447-455.

Lecoeur, J.; Sinclair, T. R. 1996. Field pea transpiration and leaf growth in response to soil water deficits. *Crop Science* 36, 331-335.

Lizana, C. Wentworth, M., Martinez, J. P., Villegas, D., Meneses, R., Murchie, E. H., Pastenes, C., Lercari, B., Verniere, P., Horton, P., Pinto, M. 2006. Differential adaptation of two varieties of common bean to abiotic stress: Effects of drought on yield and photosynthesis. *J Exp Botany* 57, 685-97.

Logan, B. A. Kornyejev, D., Hardison, J., Holaday, A. S. 2006. The role of antioxidant enzymes in photoprotection. *Photosynthesis Research* 88, 119-32.

Long, S.P., Humphries, S. 1994. Photoinhibition of photosynthesis in nature. *ann rev Plant Physiol Plant Mol Biology* 45, 633-662.

Mafakheri, A., Siosemardeh, A., Bahramnejad, B., Struik, P .C., Sohrabi, E. 2010. Effect of drought stress on yield, proline and chlorophyll contents in three chickpea cultivars. *A J Croup Scienc*: 4 580-585.

- Medeiros, J. D., Morretes, B. L. 1995. Dimensões da folha e herbivoria em *Miconia cabucu* Hoehne. Biotemas 8, 97-112.
- Mittler, R. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. 2002. Trends in Plant Science 7, 405-410.
- Morgan, J. M. 1984. Osmoregulation and water stress in higher plants. Annual Review of Plant Physiology 35, 299- 319.
- Nascimento, H. E. M., Dias, A. Da S., Tabanez, A. A. J., Viana, V. M. 1999. Estrutura e dinâmica de populações arbóreas de um fragmento de floresta estacional semidecidual na região de Piracicaba, SP. Rev. Brasil. Biol. 59, 329-342.
- Noctor, G., Veljovic-Jovanovic, S., Driscoll, S., Novitskaya, L., Foyer. C. 2002. Drought and oxidative load in the leaves C3 plants: a predominant role for photorespiration? Ann Botany 89, 841-850.
- Núñez-Oliveira, E., Marínez-Abaigar, J., Escudero, J. C. 1996. Adaptability of leaves of *Cistus ladanifer* to widely varying environmental conditions. Functional Ecology 10, 636-646.
- Osmond, B., Badger M., Maxwell, K., Björkman, O., Leegood. R. 1997. Too many photons: photorespiration, photoinhibition and photooxidation. Trends Plant Sciency 2, 119-121.
- Osunkoya, O. O., Ash, J. E., Hopkins, M. S., Graham, A. W. 1994. Influence of seed size and seedling ecological attributes on shade-tolerance in northern queensland. J Ecology 82, 149-163.
- Pastenes, C., Pimentel, P., Lillo, J. 2005. Leaf movements and photoinhibition in relation to water stress in field-grown beans. J Exp Botany 56, 425-33.
- Petit, C., Thompson, J. D., Bretagnolle, F. 1996. Phenotypic plasticity in relation to ploidy level and corn production in the perennial grass *Arrhenatherum elatius*. J Botany 74, 1964-1963.
- Pereira, D. C., Barros, C. F. B., Scarano, F. R. 2009. *In situ* variation in leaf anatomy and morphology of *Andira legalis* (Leguminosae) in two neighbouring but contrasting light environments in a Brazilian sandy coastal plain. Acta Bot. Bras. 23, 267-273.
- Pimentel, C. A relação da planta com a água. Seropédica, RJ: EDUR, 2004. 191p.

Pompelli, M.F. ., Barata-Luís, R., Vitorino, H., Gonçalves, E., Rolim, E., Santos, M., Almeida-Cortez, J., Endres, L. 2010a. Photosynthesis, photoprotection and antioxidant activity of purging nut under drought deficit and recovery. *Biomass Bioenergy* 34, 1207-1215.

Pompelli M. F., Ferreira, D. T. R. G., Cavalcante, P. P. G. S., Salvador, T. L., Hsie, B.S., Endres, L. 2010b. Environmental influence on the physico-chemical and physiological properties of *Jatropha curcas* L. seeds. *Aust J Botany* 58, 421-427.

Raven, P. H.; Evert, R. F.; Eichhorn, S. E. *Biologia vegetal*. 7ª edição. Rio de Janeiro: Guanabara Joogan, 2007. 830p.

Rivas, R., Oliveira, M. T., Santos, M. G. 2013. Three cycles of water deficit from seed to young plants of *Moringa oleifera* woody species improves stress tolerance. *J Plant Physiology* 63, 200-208.

Santos, R. F., Carlesso, R. 1998. Déficit hídrico e os processos morfológico e fisiológico das plantas. *Rev Bras Eng. Agrícola e Ambiental* 2, 287-294.

Scarano, F. R., Duarte, H. M., Rôças, G., Barreto, S. M. B., Amado, E. F., Reinert, F., Wendt, T., Mantovani, A., Lima, H. R. P., Barros, C. F. 2002. Acclimation or stress symptom? An integrated study of intraspecific variation in the clonal plant *Aechmea bromeliifolia*, a widespread CAM tank-bromeliad. *Bot. J. Linnean Society* 140, 391-401.

Scarano, F. R., Mattos, E. A., Franco, A. C., Herzog, B., Ball, E., Grams, T. E. E., Mantovani, A., Barreto, S., Haag-Kerwer, A., Lüttge, U. 1999. Habitat segregation of C3 and CAM Nidularium (Bromeliaceae) in response to different light regimes in the understory of a swamp forest in southeastern Brazil. *Flora* 194, 281-288.

Schreiber, U., Schliwa, U., Bilger, W. 1986. Continuous recording of photochemical and non-photochemical chlorophyll fluorescence quenching with a new type of modulation fluorometer. – *Photosynth. Res.* 10, 51-62.

Silva, C. V., Bilia, D. A. C., Maluf, A. M., Barbedo, C. J. 2003. Fracionamento e germinação de sementes de uvaia (*Eugenia pyriformis* Cambess. – Myrtaceae). *Rev Bras Botany* 26, 213-221.

Silva Jr., E. A., Gouveia-Neto, A. S., Oliveira, R. A., Moura, D. S., Cunha, P. C., Costa, E. B., Câmara, T. J. R., Willadino, L. G. 2012. Water deficit and salt stress diagnosis through led induced chlorophyll fluorescence analysis in *Jatropha Curcas* L. *J Fluoresc* 22, 623–630.

Souza, G. M., Balmant, B. D., Vítolo, H. F., Gomes, K. B. P., Florentino, T. M., Catuchi, T. A., Vieira. W. L., 2009. Estratégias de utilização de luz e estabilidade do desenvolvimento de plântulas de *Cordia superba* Cham. (Boraginaceae) crescidas em diferentes ambientes luminosos. *Acta bot. bras.* 23, 474-485.

Souza, B. D., Meiado, M. V., Rodrigues, B. M., Santos, M. G., 2010. Water relations and chlorophyll fluorescence responses of two leguminous trees from the caatinga to different watering regimes. *Acta Physiol Plant.*, 32 235-244.

Tagiba, S. D., Pezzopane, J. E. M. 2007. Cinética de emissão de fluorescência das clorofilas em dois clones de *Eucalyptus*. *Rev. Cient. Eng. Florestal* 10, 1-14.

Taiz, L., Zeiger, E., 2013. *Fisiologia Vegetal* 5ªed. Artmed. Porto Alegre-Rs. 918p.

Turner, I. M., Ong, B. L., Tan, H. Y. W. 1995. Vegetation analysis, leaf structure and nutrient status of a Malasian heath community. *Biotropica* 27, 2-12.

Uzilday, B., Turkan, I., Sekmen, A. H., Ozgur, R., Karakaya, H. C. 2012. Comparison of ROS formation and antioxidant enzymes in *Cleome gynandra* (C4) and *Cleome spinosa* (C3) under drought stress. *Plant Scienc* 182, 59-70.

Upadhyaya, H., Panda, S. K., Dutta, B. K. 2008. Variation of physiological and antioxidative responses in tea cultivars subjected to elevated water stress followed by rehydration recovery. *Acta Physiol plant* 30, 457–468.

Valladares, F., Niinemets, U. 2008. Shade tolerance, a key plant feature of complex nature and consequences. *Annual Rev. Ecology and Systematics* 39, 237-257.

Villalobos-Rodriguez, E, Shibles, R. 1985. response of determinate and indeterminate tropical soybean cultivars to water stress. *Field Crops research* 10, 269-281.

Willadino, L., Oliveira Filho, R. A., Silva Junior, E. A., Gouveia Neto, A. & Câmara, T. R. 2011. Estresse salino em variedades de cana-de-açúcar: enzimas do sistema antioxidativo e fluorescência da clorofila. *Rev. Ciência Agronomica* 42, 417-422.

Xiong, L., Wang, R. G., Mao, G., Koczan, J. M. 2006. Identification of drought tolerance determinants by genetic analysis of root response to drought stress and abscisic acid. *Plant Physiology* 142, 1065–1074.

Xiong, L., Schumaker, K. S., Zhu, J. K., 2002. Cell signaling during cold, drought, and salt stress. *The plant cell* 14, 165-183.

Yang, Y., Liu, Q., Han, C., Qiao, Y.Z., Yao, X.Q., Yin, H.J., 2007. Influence of water stress and low irradiance on morphological and physiological characteristics of *Picea asperata* seedlings. *Photosynthetica* 45, 613-619.

Zickel, C. S., Vicente, A., Almeida Jr., E. B., Cantarelli, J. R. R., Sacramento, A. C. 2004. Flora e vegetação das restingas no nordeste brasileiro. pp. 689-701. In: Eskinazi-Leça, E., Neumann-Leitão, S., Costa, M.F. (orgs.). *Oceanografia: um cenário tropical*. Recife, Bagaço.



## **ARTIGO 1**

### **Respostas ecofisiológicas e anatômicas de quatro espécies lenhosas a diferentes condições de luminosidade e precipitação**

Artigo redigido conforme normas da revista *Environmental and Experimental Botany*

Ecophysiological and anatomical responses of four woody species to different light conditions and precipitation

**Respostas ecofisiológicas e anatômicas de quatro espécies lenhosas a diferentes condições de luminosidade e precipitação**

Maria Claudjane J. L. Alves<sup>a\*</sup>, Renata Maria Strozi Alves Meira<sup>b</sup>, Marciel T. Oliveira<sup>c</sup>, João A.A. Granja<sup>d</sup>, Bety S. Hsie<sup>d</sup>, Marcelo F. Pompelli<sup>c</sup>, Carmen S. Zickel<sup>a</sup>.

a. Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, Pernambuco, Brazil.

Autor para correspondência: Telefone: +5508199213988; Fax: +5508133206361. E-mail: mariaclaudjane@hotmail.com

b. Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, Minas Gerais, Brazil.

c. Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Pernambuco, Brazil.

d. Universidade Federal de Lavras, Lavras, Minas Gerais, Brazil.

## Resumo

Gradientes ambientais, como precipitação anual, intensidade de luz e fertilidade do solo, modulam a funcionalidade morfológica da folha, bem como as características fisiológicas das plantas de florestas tropicais. No ecossistema restinga a variação nestes gradientes é intensificada já que além da alta incidência luminosa o solo é arenoso e de baixa retenção hídrica. Assim, quais os mecanismos utilizados pelas plantas da restinga para tolerar as condições ambientais limitantes desse ecossistema? Para responder esta questão foram selecionadas quatro espécies lenhosas de importância econômica e biológica para restingas, em cada espécie foi avaliado nas folhas de sol e sombra e nos períodos seco e chuvoso: trocas gasosas [taxa líquida de assimilação de CO<sub>2</sub> (A), condutância estomática (g<sub>s</sub>), transpiração (E), Eficiência do uso da água (EUA), temperatura foliar (T<sub>f</sub>)] e análises bioquímicas do tecido vegetal, além do índice e densidade estomática e espessura do mesofilo. Nas quatro espécies A, g<sub>s</sub> e E foram maiores no período chuvoso e a T<sub>f</sub> no período seco, independente da luminosidade. A EUA foi maior nas folhas de sol de *Manilkara salzmanni* e *Protium heptaphyllum* no período seco, neste período os compostos bioquímicos, prolina, superóxido dismutase (SOD), peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) e malondialdeído (MDA) apresentaram maiores valores, exceção apenas de clorofilas totais e carotenóides que foram reduzidos. Dos atributos morfoanatômicos, com exceção de *Hancornia speciosa* as demais espécies apresentaram folhas menores e mais espessas no período seco e sob maior nível de luminosidade. Maior densidade estomática ocorreu nas folhas de sol em ambos os períodos avaliados exceto para *P. heptaphyllum* que não apresentou variação neste parâmetro. Os resultados demonstram que em ambientes naturais se faz importante a análise de vários atributos, bem como da interação entre os mesmos para a compreensão das respostas das plantas ao estresse ambiental, especialmente em relação às variações de luminosidade e precipitação.

**Palavras-chave:** folhas de sol, folhas de sombra, trocas gasosas, atributos anatômicos, restinga.

## **Introdução**

A luminosidade e a disponibilidade hídrica são os fatores abióticos que mais influenciam no desenvolvimento e na produtividade vegetal (Liu et al., 2011; Rossato et al., 2010; Rodríguez- Calcerrada et al., 2008). Nas florestas tropicais a radiação luminosa e a disponibilidade hídrica alteram de forma significativa a estrutura e o metabolismo das plantas (Dickison, 2000; Rodríguez- Calcerrada et al., 2008; Souza et al. 2009, Rossato et al., 2010), onde as respostas ecofisiológicas dessas plantas podem variar de acordo com a intensidade e a duração do estresse (Flexas et al., 2004, Chaves et al., 2009).

Em resposta as condições ambientais limitantes as plantas fazem diversos ajustes no seu metabolismo, tais como: alterações no conteúdo de fitorreguladores, abertura estomática, potencial hídrico, conteúdo de pigmentos cloroplásticos, sistema antioxidante enzimático e não enzimático (Gil e Tuteja, 2010; Suzuki et al., 2012; Lichtenthaler et al., 2013; Keunen et al., 2013; Rivas et al., 2013; Oliveira et al. 2014), além de alterações no tamanho e espessura foliar, densidade e índice estomático (Valladares e Niinemets, 2008; Rossatto et al. 2010). Em conjunto estes ajustes vão auxiliar a manter o equilíbrio redox das plantas, evitando danos irreversíveis ao seu aparato fotossintético (Hayat et al., 2012; Krasensky e Jonak, 2012; Lassouane et al., 2013; Lichtenthaler et al., 2013).

São várias as estratégias utilizadas pelas plantas para tolerar as adversidades ambientais, e apesar da importância de estudos que tratam das adaptações e tolerância das plantas ao estresse ambiental, a maioria dos estudos ecofisiológicos, contudo, estão centrados em culturas de importância econômica como o café, cana-de-açúcar, milho, etc (DA MATTA 2003, SILVA *et al.* 2003, CHAVES *et al.* 2004), ainda faltam informações sobre muitas espécies nativas que possam ou não apresentar importância econômica, especialmente em áreas de restinga.

No Brasil, a restinga é um importante ecossistema costeiro que apresenta grande heterogeneidade de condições ambientais, sendo formado por diferentes fisionomias que vai desde herbáceo reptante praiano até floresta fechada (Oliveira Filho e Carvalho, 1993). No nordeste

brasileiro as restingas apresentam alta riqueza e diversidade de espécies, apesar das limitações do ambiente, tais como solos arenosos com baixa capacidade de retenção hídrica e pobres em nutrientes, associados a temperaturas elevadas e alta incidência luminosa (Scarano, 2002; Klein et al., 2007; Chagas et al., 2008). Logo, quais são os mecanismos ecofisiológicos utilizados pelas plantas da restinga para tolerar as limitações desse ambiente? O conhecimento desses mecanismos bem como a interação dos mesmos se faz importante para o entendimento da dinâmica das plantas em seu habitat natural, e assim propor estratégias corretas para o manejo e a preservação desse importante ecossistema. Portanto, este trabalho teve por objetivo investigar em um ecossistema de restinga as respostas fisiológicas e morfoanatômicas nas folhas de *Andira fraxinifolia*, *Hancornia speciosa*, *Manilkara salzmannii* e *Protium heptaphyllum*, espécies de importância econômica e com ampla distribuição ao longo da costa brasileira, frente às variações de radiação luminosa e disponibilidade hídrica. Tendo por hipótese que a diminuição da disponibilidade hídrica irá promover nas folhas de sol e sombra uma redução nas trocas gasosas, metabolismo dos solutos orgânicos e aumento da atividade do sistema antioxidante, sendo esperado que ocorra: 1) redução na estação seca da taxa de assimilação líquida de CO<sub>2</sub>, condutância estomática, transpiração, amido, aminoácidos, proteínas e pigmentos cloroplastídicos; 2) aumento na estação seca da temperatura foliar, eficiência do uso da água, concentração de carboidratos, malondialdeído, peróxido de hidrogênio, atividade da superóxido dismutase e prolina. Além disso, acredita-se que a luminosidade promova alterações significativas nos parâmetros anatômicos das quatro espécies, logo esperamos encontrar que sob alta radiação luminosa ocorra uma redução na área foliar, aumento na espessura do mesofilo (parênquima paliçádico e lacunoso), epiderme (face adaxial e abaxial), parede periclinal externa e densidade e índice estomático.

## **Materiais e Métodos**

*Área de estudo e seleção das espécies* – indivíduos adultos das quatro espécies selecionadas foram amostrados em uma floresta de restinga localizada no município de Ipojuca no estado brasileiro de

Pernambuco (08°31'48"S e 35°01'05"W). O solo da área é composto por Neossolos Quartzarênicos, o clima é do tipo As' tropical chuvoso (Köppen, 1948), com verão seco (~ 60 mm de chuva) e com precipitação pluviométrica anual aproximada de 2.000 mm. Maio, junho e julho são os meses mais chuvosos; enquanto que os meses mais secos são outubro, novembro e dezembro (Medeiros et al., 2007).

*Andira fraxinifolia* Benth (Fabaceae) é uma espécie arbórea, perenifólia e heliófita, folhas alternas, compostas imparipinadas, com 7 a 11 folíolos opostos, com aplicações na marcenaria, construção civil, paisagismo e indústria farmacêutica pode ser encontrada em planícies arenosas da costa brasileira e floresta Atlântica (Silva et al., 2006; Carvalho-Filho et al., 2004; Lorenzi, 1998). *Hancornia speciosa* Gomes (Apocynaceae) é uma espécie arbóreo-arbustiva, semidecídua, heliófita e xerófita, lactescente, folhas simples e glabras, seus frutos são consumidos *in natura* e usados na fabricação de doces e sorvetes (Villachica et al., 1996; Lorenzi, 1998), apresenta distribuição na Caatinga, Cerrado e restingas (Lorenzi, 1998; Almeida Jr et al., 2009). *Manilkara salzmannii* (A. DC.) H. J. Lam (Sapotaceae) é uma espécie arbórea, perenifólia, heliófila, secundária, lactescente, folhas simples e coriáceas, é utilizada na construção civil e seu látex na produção de gomas, apresenta distribuição em planícies arenosas da costa brasileira, floresta Atlântica e floresta Amazônica (Lorenzi, 1998; Almeida Jr et al., 2009). *Protium heptaphyllum* (Aubl.) Marchand. (Burseraceae), é uma espécie arbórea, perenifólia ou semidecídua, aromática, folhas alternas, compostas, pinadas, com 3 a 7 pares de folíolos opostos, é explorada na confecção de artesanato, fabricação de tintas, vernizes, cosméticos e na indústria farmacêutica e apresenta distribuição em planícies arenosas da costa brasileira, floresta Atlântica e floresta Amazônica (Lorenzi, 1998; Vieira-Júnior et al., 2005; Costa et al., 2006; Almeida Jr et al., 2009).

Foram marcados de forma aleatória cinco indivíduos adultos de cada uma das quatro espécies para a realização das coletas em ambiente natural, sendo as medidas de trocas gasosas e as coletas de material vegetal para análises bioquímicas obtidas entre 8:30 e 11:30 h, durante dois dias na estação seca e dois dias na estação chuvosa. Foram realizadas quatro coletas de dados, no entanto

devido à irregularidade na distribuição da precipitação na área de estudo, os dados foram agrupados em meses com maior precipitação (maio e agosto/2013) e menor precipitação (novembro/2012 e fevereiro/2013) com base na precipitação total acumulada durante cada mês (CPTEC, 2014). De cada indivíduo, das quatro espécies, dois ramos foram identificados: um do dossel, exposto a altas intensidades luminosas ao meio dia ( $\sim 1700-2100 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ) e o outro localizado abaixo do dossel, onde não havia exposição direta à luz ( $\sim 40-260 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ), conforme a aferição obtida com o Analisador de Gases a Infravermelho (IRGA) (LI 6400, LICOR, Lincoln, USA).

*Variáveis fisiológicas* – As trocas gasosas foram mensuradas utilizando um IRGA com uma densidade de fluxo de fótons fotossintéticos (DFFF) de  $1800 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$  para folhas de sol e  $200 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$  para folhas de sombra (Fig. 1A) sob temperatura ambiente, em folhas/folículos visualmente saudáveis, completamente expandidas e não senescentes. Foram registrados os valores de taxa líquida de assimilação de  $\text{CO}_2$  (A), condutância estomática ( $g_s$ ), transpiração (E), temperatura foliar ( $T_f$ ), para obter a eficiência do uso da água (EUA) dividiu-se A por E (Osmond et al., 1980).

Imediatamente após as medições de trocas gasosas, amostras do tecido vegetal foram coletadas e prontamente congeladas em nitrogênio líquido e armazenadas em freezer a  $-20^\circ\text{C}$  até serem analisadas.

Para a extração e mensuração de carboidratos solúveis totais (CST), aminoácidos livres (AA) e amido foliar, 30 mg de tecido foliar foi usado na preparação do extrato etanólico. Os CST foram medidos de acordo com Dubois et al. (1956), utilizando-se D (+) - glucose com leitura de absorbância a 490nm. As análises de AA foram realizadas de acordo com Moore e Stein (1948), utilizando uma solução 1 mM de glicina, ácido glutâmico, fenilalanina e arginina como um padrão, as soluções foram analisadas em espectrofotômetro, com leitura de absorbância a 570nm. A fração insolúvel da extração dos hidratos de carbono foi utilizada para determinar o teor de amido; o sedimento foi hidrolisado por uma hora com 10 unidades de amiloglucosidase, e os açúcares resultantes analisados uma segunda vez (Dubois et al., 1956), usando D (+) - glucose como um

padrão, a absorbância das soluções das amostras foram lidas em espectrofotômetro a 490nm. O conteúdo de clorofila a, b e carotenóides foram analisadas por maceração de 40 mg de tecido de folha em 2 ml de acetona (80%), e com aproximadamente 30 por cento de  $\text{CaCO}_3$  para impedir a atividade da clorofilase. Após maceração, as soluções com as amostras foram filtradas e as suas absorbâncias foram medidas em 470,0, 646,8, e 663,2 nm (Lichtenthaler e Buschmann, 2001).

Para determinar o teor de proteínas solúveis totais das folhas (PST), foram extraídas 100 mg de tecido foliar em tampão fosfato de potássio (TFK) a 100mM e EDTA 2 mM. O teor de PST das folhas foi estimado de acordo com o método de Bradford (1976), usando soro de albumina bovina como padrão, sendo as absorbâncias lidas em espectrofotômetro a 595nm. O teor de prolina foi medido através do método da ninidrina-ácida (Bates et al., 1973), usando 100 mg de tecido foliar, as absorbâncias foram lidas em espectrofotômetro a 520nm. Para avaliar o dano celular, foi medido o de malondialdeído (MDA) e o peróxido de hidrogênio ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ), usando 100 mg de tecido foliar. O conteúdo MDA foi avaliado com o teste de ácido tiobarbitúrico (TBA), que mede MDA como produto final da peroxidação lipídica. A quantidade de complexo (pigmento vermelho) MDA-TBA foi calculada usando um coeficiente de extinção de  $155 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ , sendo as absorbâncias lidas em espectrofotômetro a 532 nm (Cakmak e Host, 1991). O acúmulo de  $\text{H}_2\text{O}_2$  foi medida por espectrofotometria a 390 nm após reagir com KI (Alexieva et al., 2001). Para medir a atividade da Superóxido dismutase (SOD, EC 1.15.1.1) foi extraído a partir de 100 mg de tecido foliar em um tampão que consiste em fosfato de potássio (TFK) 100 mM, EDTA 0,1 mM, ditioneitol 5 mM, 10 mM de 2-mercaptoetanol, 0,1 por cento (v/v) de Triton X-100 e 30 por cento de polivinilpirrolidona. A atividade foi determinada medindo inibição da redução fotoquímica de nitroazul de tetrazólio (NBT) a 560 nm (Giannopolitis e Reis, 1977). Todas as análises foram expressas com base no peso seco ( $\text{mg g}^{-1}$  DW).

*Variáveis anatômicas* – Em novembro de 2012 (período seco) e em maio de 2013 (período chuvoso), foram coletados fragmentos foliares dos ramos marcados de cada um dos cinco



indivíduos por espécie, nas diferentes condições de luminosidade (sol e sombra). Amostras da região mediana foram imediatamente fixadas em uma solução de FAA<sub>50</sub> (formol, ácido acético glacial, etanol 50%, 1:1:18, v/v) (Krauss e Arduin, 1997) por 48 horas. Estas amostras foram transferidas e armazenadas em etanol 70%. Amostras da porção mediana da lâmina foliar foram desidratadas em série etílica até o etanol 95%, infiltradas e incluídas em historresina (hidroxietilmetacrilato, Jung's Historesin–Leica<sup>®</sup>). Seções transversais, com 5µm de espessura, foram obtidas com o auxílio de um micrótomo rotativo de avanço automático (modelo RM2265, Leica Microsystems Inc., Deerfield, USA), utilizando navalhas de vidro. Os cortes foram corados com azul de toluidina 0,25% em tampão McIlvaine (ácido cítrico e fosfato dibásico sódico) a pH 4,4 e as lâminas montadas com água no momento da observação ao microscópio, em seguida foram montadas de forma permanente com Entellan<sup>®</sup>. Estas lâminas foram utilizadas para a caracterização anatômica e mensurações. Partes das amostras coletadas foram submetidas à técnica de dissociação epidérmica (Arnott, 1959, com modificações), o material dissociado foi corado com fucsina alcoólica a 50%.

A obtenção das imagens foi realizada em um microscópio de luz (modelo AX70TRF, Olympus Optical, Tokyo, Japão) equipado com sistema U-Photo e com câmera digital acoplada (Axio Carm HRC – Carl Zeiss – Gottingen, Germany). As medidas foram realizadas com auxílio do software ANATI-QUANTI versão 2.0 para Windows<sup>®</sup> (Aguiar et al., 2007). Foram mensurados os seguintes parâmetros: densidade estomática (DE), índice estomático (IE), espessura da parede periclinal externa (PPE), altura da epiderme da face abaxial (EPab) e da face adaxial (EPad), espessura do mesofilo (EM), parênquimas paliçádico (PP) e lacunoso (PL). Na espécie *A. fraxinifolia* devido a dificuldades na diferenciação dos parênquimas não foi realizada a medida de PP e PL.

Para cada uma das quatro espécies a área foliar (AF) foi obtida através da coleta de 100 folhas (10 folhas de 10 diferentes indivíduos), totalmente expandidas e visualmente saudáveis, para cada nível de luminosidade (sol e sombra) e precipitação (seco e chuvoso). Todas as folhas foram

scaneadas e com auxílio do software Image-Pro<sup>®</sup> Plus (versão 4.5, Media Cybernetics, Silver Spring, USA) foi mensurado nas imagens obtidas: área foliar, comprimento e largura.

*Análise estatística* – A análise estatística considerou indivíduos diferentes como repetições. Foi testada a normalidade de todos os dados coletados, em seguida os dados foram submetidos à Factorial ANOVA considerando como variáveis independentes luminosidade (sol e sombra) e disponibilidade hídrica (seco e chuvoso). As médias obtidas foram contrastadas pelo teste de Student Newman-Keuls (ao nível de significância de 5%).

## **Resultados**

As condições ambientais diferiram significativamente entre os meses avaliados nos parâmetros de precipitação e Déficit de pressão de vapor (DPV). A precipitação apresentou uma média mensal acumulada de 13, 138, 284 e 161 mm para os meses de novembro/2012, fevereiro, maio e agosto/2013, respectivamente (CPTEC, 2014). Entretanto, devido à irregularidade na distribuição das chuvas, os parâmetros fisiológicos e anatômicos foram analisados considerando a precipitação dos 10 dias que antecederam as coletas, assim temos precipitações acumuladas de 6, 1, 152 e 85 mm para os meses de novembro/2012, fevereiro, maio e agosto/2013, respectivamente. O DPV do ar apresentou valores médios de 3,00 e 2,13 kPa nos períodos seco e chuvoso, respectivamente, não diferindo quanto ao ambiente com maior ou menor luminosidade (Fig. 1B).

### *Variáveis fisiológicas:*

No geral, a precipitação influenciou significativamente os parâmetros fisiológicos e bioquímicos induzindo diferentes respostas nas quatro espécies estudadas, enquanto que a luminosidade pouco influenciou nestas respostas. Já em relação às análises anatômicas a luminosidade foi quem mais influenciou nas respostas das plantas avaliadas, principalmente nos parâmetros de AF, DE, EM e PPE.

No período seco foram observadas reduções nas taxas de A para *A. fraxinifolia* (67%), *H. speciosa* (66%) e *P. heptaphyllum* (47%), entretanto não houve diferenças quanto à luminosidade em ambos os períodos avaliados (Figs. 2A-B, D). As taxas de A em *M. salzmannii* foram superiores nas folhas de sol (44%) em relação às folhas de sombra no período chuvoso, no entanto ao reduzir a disponibilidade hídrica houve uma diminuição neste parâmetro para as folhas de sol (67%) e sombra (54%) (Fig. 2C). A taxa de  $g_s$  no período seco foi reduzida em *A. fraxinifolia* (48%), *H. speciosa* (26%), *M. salzmannii* (52%) e *P. heptaphyllum* (46%), entretanto não houve diferenças quanto à luminosidade nos períodos avaliados (Figs. 2E-H). A E em *A. fraxinifolia* diferiu no período chuvoso entre folhas de sol e sombra, ao reduzir a disponibilidade hídrica houve uma redução neste parâmetro para as folhas de sol (35%) não diferindo quanto à luminosidade (Fig. 2I). Em *H. speciosa* as folhas de sol apresentaram maiores taxas de E nos períodos seco (33%) e chuvoso (51%) (Fig. 2J); já em *M. salzmannii* (52%) e *P. heptaphyllum* (57%) este parâmetro foi reduzido exclusivamente no período seco não diferindo, porém, quanto à luminosidade nos períodos avaliados (Figs. 2K, L).

Em relação às folhas de sombra, as folhas de sol de *A. fraxinifolia* e *M. salzmannii* apresentaram maior EUA nos períodos seco (35 e 19%) e chuvoso (17 e 28%), respectivamente (Figs. 2M,O), em *H. speciosa* este parâmetro não diferiu quanto à luminosidade e precipitação (Fig. 2N), e em *P. heptaphyllum* a EUA foi maior no período seco (28%), não diferindo, contudo quanto à luminosidade nos períodos avaliados (Fig. 2P). A temperatura foliar não diferiu quanto à luminosidade nos períodos avaliados, entretanto a redução da disponibilidade hídrica promoveu um aumento neste parâmetro para *A. fraxinifolia* (3%), *H. speciosa* (4%), *M. salzmannii* (7%) e *P. heptaphyllum* (8%) (Figs. 2Q-T).

No metabolismo dos solutos orgânicos a concentração de carboidratos solúveis totais (CST) de *A. fraxinifolia* e *H. speciosa* não diferiu para a disponibilidade hídrica ou quanto à diferença de luminosidade (Figs. 3A-B); no período seco houve um aumento neste parâmetro para *M. salzmannii* (47%) e *P. heptaphyllum* (21%), não havendo, porém diferenças quanto à luminosidade nos

períodos avaliados (Figs. 3C-D). A concentração de amido foliar foi maior em *A. fraxinifolia* (54%) e *H. speciosa* (38%) no período seco, não diferindo quanto à luminosidade nos períodos avaliados (Figs. 3E-F). Em *M. salzmännii* a concentração de amido foliar foi maior no período seco, não diferindo quanto a luminosidade, entretanto no período chuvoso a maior concentração de amido ocorreu nas folhas de sol (40%) em relação as de sombra (Fig. 3G). Em *P. heptaphyllum* a concentração de amido foliar não diferiu quanto à luminosidade no período seco, entretanto no período chuvoso as folhas de sol apresentaram uma redução de 36% neste parâmetro (Fig. 3H).

A concentração de aminoácidos (AA) em *A. fraxinifolia*, *H. speciosa* e *M. salzmännii* não diferiram quanto à luminosidade e precipitação (Figs. 3I-K). A concentração de AA no período chuvoso foi maior nas folhas de sol (42%) em relação às folhas de sombra, ao reduzir a disponibilidade hídrica houve uma diminuição de 17% neste parâmetro, não diferindo quanto à luminosidade (Fig. 3L). A concentração de proteínas solúveis totais (PST) em *A. fraxinifolia* não diferiu quanto à disponibilidade hídrica e luminosidade (Fig. 3M). No período seco houve uma redução na PST em *H. speciosa* (25%), e um aumento em *M. salzmännii* (13%) e *P. heptaphyllum* (60%), não havendo diferenças para as três espécies quanto à luminosidade nos períodos avaliados (Figs. 3N-P).

A concentração de clorofilas totais (chl a+b) em *A. fraxinifolia* foi reduzida em 33% nas folhas de sol no período seco, não diferindo quanto à luminosidade no período chuvoso (Fig. 4A). No período seco chl a+b foi reduzido em *H. speciosa* (41%) e *M. salzmännii* (15%) (Figs. 4B-C) e aumentado em *P. heptaphyllum* (34%) (Fig. 4D), não havendo diferenças para as três espécies quanto à luminosidade nos períodos avaliados. Em relação à concentração de carotenóides (Car) no período seco houve redução para *A. fraxinifolia* (31%), *H. speciosa* (32%) e *M. salzmännii* (18%) (Figs. 4E-G), e aumento para *P. heptaphyllum* (47%) (Fig. 4H); para as quatro espécies não foram observadas diferenças quanto à luminosidade nos períodos avaliados (Figs. 4E-H). Em *A. fraxinifolia* a relação clorofila a/b (chl a/b) foi 11% maior no período seco (Fig. 4I) não diferindo quanto à luminosidade em ambos os períodos avaliados, em *H. speciosa* e *P. heptaphyllum* este

parâmetro não diferiu quanto à luminosidade e disponibilidade hídrica (Fig. 4J, L), já em *M. salzmannii* a chl a/b foi 11% maior nas folhas de sol em relação às folhas de sombra em ambos os períodos avaliados (Fig. 4K).

A concentração de MDA de *A. fraxinifolia* foi maior nas folhas de sol em relação a folhas de sombra nos períodos seco (49%) e chuvoso (24%) (Fig. 5A). Em *H. speciosa* e *M. salzmannii* a concentração de MDA não diferiu quanto à disponibilidade hídrica e luminosidade (Figs. 5B, C), já em *P. heptaphyllum* no período seco houve um aumento de 52% neste parâmetro para as folhas de sol e sombra (Fig. 5D). O H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> foi 23% maior nas folhas de sol de *A. fraxinifolia* de ambos os períodos avaliados (Fig. 5E). No período seco a concentração do H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> foi maior nas folhas de sol de *H. speciosa* (39%) (Fig. 5F). Em *M. salzmannii* e *P. heptaphyllum* o H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> não diferiu quanto à luminosidade nos períodos avaliados, entretanto no período seco houve um aumento neste parâmetro de 24% e 26%, respectivamente para estas espécies (Figs. 5G, H). Em *A. fraxinifolia* a atividade da SOD não diferiu quanto à luminosidade ou disponibilidade hídrica (Fig. 5I), já no período chuvoso houve um aumento neste parâmetro para *H. speciosa* (48%) e *M. salzmannii* (23%), que não diferiram quanto à luminosidade nos períodos avaliados (Figs. 5J-K). Em *P. heptaphyllum* em relação ao período chuvoso, as folhas de sombra do período seco apresentaram uma redução de 37% na atividade da SOD (Fig. 5L). A concentração de prolina em *A. fraxinifolia* não diferiu quanto à luminosidade ou disponibilidade hídrica (Fig. 5M), entretanto no período seco houve um aumento neste parâmetro para *H. speciosa* (94%), *M. salzmannii* (31%) e *P. heptaphyllum* (17%) não diferindo quanto à luminosidade nos períodos avaliados (Figs. 5N-P).

#### Variáveis anatômicas:

Tricomas tectores foram observados apenas em *A. fraxinifolia*, ocorrendo na superfície abaxial das folhas de sol e sombra (Figura 6A-6B). As folhas são hipoestomáticas nas quatro espécies (Figs. 6A, B, E, F, I, J, M e N). *A. fraxinifolia* apresentou estômatos do tipo paracítico (Figuras 6A-B) enquanto que nas demais espécies os estômatos são do tipo anomocítico (Figs. 6E-F, I-J e M-N). O mesofilo é isobilateral em *A. fraxinifolia* (Figs. 7A-D) e nas demais espécies é

dorsiventral (Figs. 7E-P). Uma camada de hipoderme uniseriada, por vezes descontínua, pode ser notada exclusivamente em *M. salzmannii* (Figs. 7I-L). O PP em *A. fraxinifolia* variou entre quatro e cinco camadas, em um arranjo compacto com menor espaço intercelular (Figs. 7A-D). Em *H. speciosa* (Figs. 7E-H), *M. salzmannii* (Figs. 7I-L) e *P. heptaphyllum* (Figs. 7M-P) ocorrem duas camadas de PP e uma de PL. Canais resiníferos localizados na nervura central da folha foram observados exclusivamente em *P. heptaphyllum* (dados não mostrados), e laticíferos dispersos no mesofilo ou associados ao floema em *H. speciosa* (Figs. 7E-H) e *M. salzmannii* (Figs. 7I-L). Esclereídes são abundantes na região abaixo da EPad e por entre as células do colênquima somente em *M. salzmannii* (Figs. 7I-L).

No período seco houve uma redução na AF nas folhas de sol (11%) e sombra (10%) de *A. fraxinifolia*, além disso, em ambos os períodos avaliados as folhas de sombra apresentaram uma AF 11% maior em relação às folhas de sol; em *H. speciosa* este parâmetro não diferiu quanto à precipitação e luminosidade, já em *M. salzmannii* em ambos os períodos avaliados a AF das folhas de sol foi 10% menor em relação às folhas de sombra, e ao reduzir a disponibilidade hídrica constatou-se uma redução de 12% na AF nas folhas de sol e sombra desta espécie (Tabela 1). Em *P. heptaphyllum* a AF das folhas de sombra foi maior nos períodos seco (15%) e chuvoso (8%) (Tabela 1).

Em relação à DE em *A. fraxinifolia* este parâmetro foi maior nas folhas de sol (15%) no período chuvoso não diferindo quanto à luminosidade no período seco (Tabela 1). Em *H. speciosa* a DE foi superior nas folhas de sol dos períodos seco (12%) e chuvoso (6%) e em *M. salzmannii* este parâmetro também foi superior nas folhas de sol nos períodos seco (14%) e chuvoso (17%), já em *P. heptaphyllum* a DE foi superior nas folhas de sol (20%) do período seco, não diferindo quanto a luminosidade no período chuvoso (Tabela 1). Em *A. fraxinifolia* o IE foi reduzido no período seco (11%), não diferindo quanto à luminosidade nos períodos avaliados (Tabela 1). No período seco o IE foi maior entre as folhas de sol de *H. speciosa* (11%) e *P. heptaphyllum* (20%), já em *M. salzmannii* este parâmetro não diferiu quanto à luminosidade e precipitação (Tabela 1).

Em *A. fraxinifolia* a PPE foi maior nas folhas de sol do que as de sombra em ambos os períodos avaliados, entretanto no período seco houve um aumento neste parâmetro para as folhas de sol (50%) e sombra (59%) (Tabela 1). Em *M. salzmanni* a PPE foi superior nas folhas de sol nos períodos seco (8%) e chuvoso (25%), para esta estrutura *H. speciosa* e *P. heptaphyllum* não diferiram quanto à luminosidade e disponibilidade hídrica (Tabela 1). Em *A. fraxinifolia* no período seco a EPad e EPab foi maior nas folhas de sol (7%) em relação as folhas de sombra, entretanto o aumento da disponibilidade hídrica promoveu uma redução de aproximadamente 34% nestas estruturas para as folhas de sol e sombra (Tabela 1). Em *H. speciosa* a EPad foi maior no período seco (7%), não diferindo quanto a luminosidade nos períodos avaliados, enquanto que no período chuvoso a EPab foi menor entre as folhas de sombra (13%); em *M. salzmanni* as folhas de sol apresentaram maior EPad nos períodos seco (4%) e chuvoso (20%), já a EPab não diferiu quanto à luminosidade nos períodos avaliados. Em *P. heptaphyllum* a EPad e EPab não diferiram quanto a precipitação e luminosidade (Tabela 1).

No período seco a EM foi maior entre as folhas de sol (13%) de *A. fraxinifolia* enquanto que no período chuvoso este parâmetro foi reduzido nas folhas de sol (24%) e sombra (12%) não diferindo quanto à luminosidade (Tabela 1). Em *H. speciosa* a EM e o PL não diferiram quanto à luminosidade e disponibilidade hídrica, entretanto o PP foi menor entre as folhas de sombra (12%) do período chuvoso, não diferindo quanto à luminosidade no período seco (Tabela 1). Em *M. salzmannii* no período seco as folhas de sombra apresentaram aumento na EM (10%) e no PL (11%), enquanto que o PP não apresentou variação quanto à precipitação e luminosidade (Tabela 1). Em *P. heptaphyllum* no período seco houve um aumento na EM (7%), PP (12%) e PL (5%), não diferindo quanto à luminosidade nos períodos avaliados (Tabela 1).

## **Discussão**

A análise dos resultados mostrou que as quatro espécies apresentaram respostas específicas sob os diferentes níveis de luminosidade e disponibilidade hídrica avaliados. Um dos primeiros

mecanismos de resposta das plantas sob déficit hídrico é a redução da condutância estomática ( $g_s$ ), proporcionando as plantas maior controle contra a perda de água pela transpiração (Rivas et al., 2013; Oliveira et al., 2014). Nossos resultados mostraram que na estação seca todas as espécies reduziram  $g_s$ , promovendo uma diminuição nas taxas de A nas folhas de sol e sombra não diferindo assim no primeiro mecanismo de resposta, contudo a redução da  $g_s$  proporcionou diferentes respostas entre as espécies, com *A. fraxinifolia*, *M. salzmannii* e *P. heptaphyllum* reduzindo sua E em ambas as condições de luminosidade, enquanto que *H. speciosa* apresentou reduções da E apenas nas folhas de sombra. Em *Tetrastigma hemsleyanum* (Dai et al., 2009) e *Brosimum guianensis* (Souza et al., 2010) também foi constatado que a redução da  $g_s$  nas folhas de sol promoveu mudanças nas relações entre A e E. No presente estudo, a mudança na relação A/E ou seja na EUA foi verificado nas espécies *A. fraxinifolia* e *M. salzmannii* que responderam quanto a luminosidade, *P. heptaphyllum* respondeu quanto a precipitação. De forma semelhante no período seco foi verificado um aumento significativo na EUA para *Prosopis juliflora* e *Anadenanthera colubrina* em uma área de caatinga (Oliveira et al., 2014). *H. speciosa* não alterou a EUA sugerindo maiores limitações na perda de água do que na captação do  $CO_2$  (Galle et al., 2011).

Diversos trabalhos (Atkin e Macherel, 2009; Keunen et al., 2013; Ende e El- Esawe, 2014; Oliveira et al., 2014) indicam que sob condições estressadas os CST podem desempenhar o papel de sequestradores de espécies reativas de oxigênio (ERO), no presente estudo foi observado um acúmulo de CST em *M. salzmannii* e *P. heptaphyllum* no período seco, indicando uma estratégia de defesa dessas plantas. Todas as espécies apresentaram maior concentração de amido foliar no período seco, esta resposta pode estar relacionada à redução na translocação dos açúcares advindos da fotossíntese, visto que sob déficit hídrico o transporte de fotoassimilados é seriamente afetado (Dunford et al., 2010; Krasensky e Jonak, 2012). No período chuvoso *M. salzmannii* apresentou maior concentração de amido nas folhas de sol, o que pode estar correlacionado com as maiores taxas de A.



No período seco, *P. heptaphyllum* apresentou uma redução na concentração AA, que provavelmente esta relacionado com o aumento na concentração de PST (Krasensky e Jonak, 2012); neste mesmo período *M. salzmannii* também apresentou maior concentração de PST, entretanto não alterou seus níveis de AA. O acúmulo de PST em *M. salzmannii* pode esta relacionada à proteção celular das plantas pelo acúmulo de proteínas específicas associadas ao estresse, tais como: Hsps (proteínas de choque térmico) e LEA (*Late Embryogenesis Abundant*) que atuam na proteção celular estabilizando outras proteínas e membranas (Ramanjulu e Bartels, 2002; Wang et al., 2003). Diferentemente no período seco *H. speciosa* apresentou uma diminuição na concentração de PST, apesar de não ter ocorrido alteração nos AA, indicando que pode ter ocorrido uma redução na síntese desse metabólico. Frosi et al. (2013) também observaram, em casa de vegetação, uma redução significativa na concentração de PST de plantas de *Calotropis procera* submetidas a déficit hídrico, associando esta resposta uma estratégia da planta para tolerar limitação hídrica do solo.

Com a redução da disponibilidade hídrica, *H. speciosa* e *M. salzmannii* apresentaram redução nas chl a+b e carotenóides (Car) em ambas as condições luminosas, não diferindo na relação chl a/b, já em *A. fraxinifolia* houve a redução de clorofilas totais nas folhas de sol e nos carotenóides em ambas as condições de luminosidade, o que pode estar correlacionado com a redução nas taxas de A, evitando assim danos foto-oxidativos pela geração de ERO. Lichtenthaler et al. (2013) observaram reduções das clorofilas totais e carotenóides nas folhas de sol de *Fagus sylvatica*, *Ginkgo biloba* e *Quercus robur*. Em *P. heptaphyllum* a maior concentração de clorofilas totais está correlacionado com o aumento de carotenóides, auxiliando a dissipar o excesso de energia luminosa na forma de calor (Demmig-Adams e Adams, 1996; Liu et al., 2011; Lassouane et al., 2013; Rivas et al., 2013; Oliveira et al., 2014).

A redução da disponibilidade hídrica promoveu um aumento na concentração de prolina em *H. speciosa*, *M. salzmannii* e *P. heptaphyllum* (Fig. 5N-P), a prolina pode atuar como um regulador osmótico, auxiliando a manter a estabilidade das proteínas e membranas, além de auxiliar no sequestro de radicais livres (Hayat et al., 2012; Lassouane et al. 2013). Os ajustes metabólitos

combinados permitiram uma maior integridade nas membranas verificada em *H. speciosa* pela ausência de alterações nas concentrações de MDA, aumento da prolina e redução dos pigmentos cloroplastídicos, e em *M. salzmannii* verificada com o aumento do CST, PST e prolina e redução dos pigmentos cloroplastídicos, já em *P. heptaphyllum* os ajustes metabólicos realizados não foram suficientes para reduzir os danos nas membranas, dado o aumento na concentração de MDA que apresentou uma correlação muito alta ( $r=0,84$ ;  $p<0,0001$ ) com o aumento das chl a+b (Lichtenthaler et al., 2007, 2013). Já em *A. fraxinifolia* a redução nos pigmentos cloroplastídicos e os altos níveis de prolina contribuíram para uma homeostase fisiológica verificada nos parâmetros de SOD,  $H_2O_2$  e MDA.

Associado aos parâmetros fisiológicos, *A. fraxinifolia* apresentou células epidérmicas (EP) pequenas e de paredes retas que segundo Oertli et al. (1990) conferem maior resistência contra colapso em condições semiáridas, enquanto que *H. speciosa* apresentou paredes retas porém com células de maior tamanho e as demais espécies células pequenas mas com paredes sinuosas.

As espécies *A. fraxinifolia*, *M. salzmannii* e *P. heptaphyllum* apresentaram redução na AF e aumento na EM, sinalizando uma estratégia de tolerância à seca, visto que plantas sob condições de déficit hídrico e altas radiações luminosas apresentam redução foliar, aumento e compactação do mesófilo permitindo a utilização mais eficiente da água disponível no solo (Bussotti, 2008; Rossatto et al., 2010; Ashton et al., 2011).

Maior DE foi observada nas folhas de sol de *A. fraxinifolia* no período chuvoso, e em *H. speciosa* e *M. salzmannii* em ambos os períodos avaliados; além disso o IE também foi superior nas folhas de sol de *H. speciosa* e *P. heptaphyllum* no período chuvoso e nas folhas de sol e sombra de *A. fraxinifolia* no período seco. Em geral, as folhas desenvolvidas em ambientes de maior radiação solar apresentam menor índice e densidade estomática (Osmond, 1994; Ashton et al., 2011), logo redução nesses parâmetros em plantas sob limitação hídrica pode auxiliar as mesmas em um maior controle das taxas de transpiração. Resultados semelhantes foram reportados para duas cultivares de *Olea europea* L. submetidas a déficit hídrico (Ennajeh et al., 2010).

A PPE foi maior nas folhas de sol de *A. fraxinifolia* e *M. salzmanii* em ambos os períodos avaliados, este parâmetro atua na reflexão do excesso de energia luminosa evitando maiores danos ao aparato fotossintético (Bondada et al., 1996; Pompelli et al., 2012). A redução da disponibilidade hídrica promoveu em *A. fraxinifolia* e *H. speciosa* o aumento na EPad e EPab, esta modificação antômica é bastante observada em plantas submetidas a restrição hídrica contribuindo na diminuição da perda de água (Sandquist e Ehleringer, 1998; Bosabalidis e Kofidis, 2002; Terashima et al., 2006; Pompelli et al., 2012). Em *M. salzmanii* em ambos os períodos avaliados a EPad das folhas de sol foi superior as das folhas de sombra, já em *A. fraxinifolia* a EPad das folhas de sol foi mais espessa em relação as folhas de sombra exclusivamente no período de menor disponibilidade hídrica. A maior espessura da EPad auxilia na redução da E e promove uma maior reflexão da radiação solar (Bondada et al., 1996; Pompelli et al., 2012).

## Conclusão

Com base nos resultados obtidos, sob limitação hídrica *A. fraxinifolia* ajustou um menor número de atributos fisiológicos, e apesar de ter alterado praticamente todos os parâmetros anatômicos avaliados foi a espécie que apresentou melhor homeostase. *H. speciosa* e *M. salzmanii* apresentaram respostas intermediárias em relação aos ajustes fisiológicos e anatômicos, mas as alterações realizadas evitaram danos oxidativos. Sob déficit hídrico e alta radiação luminosa *P. heptaphyllum* alterou quase todos os seus atributos anatômicos e fisiológicos, entretanto os ajustes realizados não favoreceram esta espécie tendo em vista os danos oxidativos observados.

Em síntese, os resultados mostram a importância de uma abordagem sistêmica, ou seja de uma análise cruzada de múltiplos atributos biológicos para uma compreensão mais consistente dos mecanismos de tolerância das plantas ao estresse ambiental, especialmente em relação as variações de luminosidade e precipitação; já que uma abordagem reducionista, que busca indicadores únicos

para determinar as respostas das plantas as condições naturais, pode fornecer diferentes interpretações das complexas interações entre plantas e seu ambiente.

## **Agradecimentos**

A FACEPE pela concessão da bolsa de doutorado ao primeiro autor, ao PNADB pelo auxílio financeiro na execução do projeto e aos laboratórios de Ecofisiologia Vegetal da UFPE e de Anatomia Vegetal da UFV por terem concedido subsídios para realização dessa pesquisa.

**Tabela 1.** Parâmetros anatômicos de *Andira fraxinifolia*, *Hancornia speciosa*, *Manilkara salzmannii* e *Protium heptaphyllum* em diferentes condições de luminosidade e disponibilidade hídrica na restinga da RPPN do Outeiro de Maracaípe (Pernambuco, Brasil): AF (área foliar), EM (espessura do mesofilo), PP (parênquima paliçádico), PL (parênquima lacunoso), PPE (parede periclinal externa), EPad (epiderme da face adaxial), EPab (epiderme da face abaxial), DE (densidade estomática) e IE (índice estomático). Letras maiúsculas representam à interação entre as variáveis avaliadas (luminosidade x precipitação). Valores representam as médias das replicatas (n= 5 ± EP).

Tratamentos/ período	AF (cm <sup>2</sup> )	DE (mm <sup>2</sup> )	IE (mm <sup>2</sup> )	PPE (µm)	EPad (µm)	EPab (µm)	EM (µm)	PP (µm)	PL (µm)
<i>Andira fraxinifolia</i>									
Folhas sol/seco	13 ± 0.2 <sup>C</sup>	100±4 <sup>B</sup>	18 ± 0.6 <sup>B</sup>	27± 0.8 <sup>A</sup>	39± 1 <sup>A</sup>	30± 0.7 <sup>A</sup>	369 ±8 <sup>A</sup>	-	-
Folhas sombra/seco	15 ± 0.3 <sup>B</sup>	113±4 <sup>B</sup>	18 ± 0.6 <sup>B</sup>	21± 0.7 <sup>B</sup>	36± 1 <sup>B</sup>	28± 0.8 <sup>B</sup>	323± 7 <sup>B</sup>	-	-
Folhas sol/chuvoso	14 ± 0.1 <sup>B</sup>	126±4 <sup>A</sup>	20 ± 0.6 <sup>A</sup>	17± 0.4 <sup>C</sup>	26± 0.7 <sup>C</sup>	19± 0.5 <sup>C</sup>	282± 5 <sup>C</sup>	-	-
Folhas sombra/chuvoso	16 ± 0.5 <sup>A</sup>	107±3 <sup>B</sup>	19 ± 0.5 <sup>A</sup>	14± 0.7 <sup>D</sup>	21± 0.8 <sup>C</sup>	21± 0.7 <sup>C</sup>	284± 7 <sup>C</sup>	-	-
<i>Hancornia speciosa</i>									
Folhas sol/seco	8 ± 0.2 <sup>A</sup>	43±0.8 <sup>A</sup>	30±0.6 <sup>A</sup>	15 ±0.7 <sup>A</sup>	38 ±1 <sup>A</sup>	28 ±0.7 <sup>A</sup>	371 ±9 <sup>A</sup>	142±5 <sup>AB</sup>	226±6 <sup>A</sup>
Folhas sombra/seco	8 ± 0.1 <sup>A</sup>	39±1 <sup>B</sup>	27± 0.6 <sup>B</sup>	15 ±0.6 <sup>A</sup>	38±0.9 <sup>A</sup>	28±0.7 <sup>A</sup>	389±12 <sup>A</sup>	150±4 <sup>A</sup>	243±8 <sup>A</sup>
Folhas sol/chuvoso	8± 0.1 <sup>A</sup>	41±1 <sup>A</sup>	26±0.6 <sup>B</sup>	16 ±0.7 <sup>A</sup>	35±1 <sup>B</sup>	29±1 <sup>A</sup>	393±17 <sup>A</sup>	152±3 <sup>A</sup>	245±6 <sup>A</sup>
Folhas sombra/chuvoso	8± 0.2 <sup>A</sup>	38±0.8 <sup>B</sup>	27±0.6 <sup>B</sup>	16 ±0.7 <sup>A</sup>	32±1 <sup>B</sup>	25±0.8 <sup>B</sup>	378±9 <sup>A</sup>	133±4 <sup>B</sup>	247±7 <sup>A</sup>
<i>Manilkara salzmannii</i>									
Folhas sol/seco	17 ± 0.3 <sup>C</sup>	72±2 <sup>A</sup>	20±0.5 <sup>A</sup>	13±0.4 <sup>A</sup>	37 ±1 <sup>A</sup>	31 ±1 <sup>A</sup>	677±18 <sup>AB</sup>	233 ±9 <sup>A</sup>	413 ±11 <sup>B</sup>
Folhas sombra/seco	19 ± 0.2 <sup>B</sup>	63±2 <sup>B</sup>	19±0.7 <sup>A</sup>	12 ±0.4 <sup>B</sup>	36±1 <sup>B</sup>	30±1 <sup>A</sup>	722±20 <sup>A</sup>	228±10 <sup>A</sup>	465±15 <sup>A</sup>
Folhas sol/chuvoso	20± 0.3 <sup>B</sup>	69±3 <sup>A</sup>	20±0.7 <sup>A</sup>	15±0.5 <sup>A</sup>	42±2 <sup>A</sup>	31±1 <sup>A</sup>	689±15 <sup>AB</sup>	250±9 <sup>A</sup>	429±10 <sup>B</sup>
Folhas sombra/chuvoso	22± 0.4 <sup>A</sup>	59±3 <sup>B</sup>	19±0.6 <sup>A</sup>	12±0.5 <sup>B</sup>	34±1 <sup>B</sup>	30±1 <sup>A</sup>	650±15 <sup>B</sup>	235±8 <sup>A</sup>	405±12 <sup>B</sup>
<i>Protium heptaphyllum</i>									
Folhas sol/seco	17 ± 0.3 <sup>D</sup>	148± 7 <sup>A</sup>	23± 3 <sup>A</sup>	10±0.4 <sup>A</sup>	34± 0,9 <sup>A</sup>	14 ± 1 <sup>A</sup>	489 ±9 <sup>A</sup>	227 ± 9 <sup>A</sup>	263 ±6 <sup>A</sup>
Folhas sombra/seco	20± 0.3 <sup>C</sup>	123± 3 <sup>B</sup>	19± 0.5 <sup>B</sup>	9±0.8 <sup>A</sup>	32± 1 <sup>A</sup>	17 ± 0.9 <sup>A</sup>	478 ±12 <sup>A</sup>	227 ± 7 <sup>A</sup>	258 ±7 <sup>A</sup>
Folhas sol/chuvoso	23± 0.9 <sup>B</sup>	147± 3 <sup>A</sup>	17± 0.4 <sup>B</sup>	10 ±0.7 <sup>A</sup>	31± 0,9 <sup>A</sup>	15 ± 1 <sup>A</sup>	454 ±13 <sup>B</sup>	201 ± 10 <sup>B</sup>	249 ±9 <sup>B</sup>
Folhas sombra/chuvoso	25± 0.3 <sup>A</sup>	134± 4 <sup>AB</sup>	17± 0.5 <sup>B</sup>	9±0.4 <sup>A</sup>	32± 1 <sup>A</sup>	14 ± 1 <sup>A</sup>	423 ±13 <sup>B</sup>	195± 7 <sup>B</sup>	229 ±7 <sup>B</sup>

Nota: Para cada espécie, letras diferentes comparadas verticalmente indicam diferenças estatisticamente significativas entre as médias, a uma significância de 0,05 pelo teste de Student Newman-Keuls.

## Legenda das figuras

**Figura 1:** (A) Densidade de Fluxo de Fótons Fotossintéticos (DFFF) nas folhas de sol e sombra de *Andira fraxinifolia*, *Hancornia speciosa*, *Manilkara salzmannii* e *Protium heptaphyllum*; (B) déficit de pressão de vapor (DPV) do ar, na restinga da RPPN do Outeiro de Maracaípe (Pernambuco, Brasil). Os valores representam a média das repetições ( $n= 5 \pm EP$ ). Letras maiúsculas indicam diferenças significativas pelo teste de Student Newman-Keuls, com nível de significância de 5% entre as variáveis avaliadas (luminosidade x precipitação).

**Figura 2:** Fotossíntese líquida (A), condutância estomática ( $g_s$ ), Transpiração (E), Eficiência do uso da água (EUA), Temperatura foliar ( $T_f$ ) nas espécies *Andira fraxinifolia* (A, E, I, M e Q), *Hancornia speciosa* (B, F, J, N e R), *Manilkara salzmannii* (C, G, K, O e S) e *Protium heptaphyllum* (D, H, L, P e T) em diferentes condições de luminosidade e disponibilidade hídrica na restinga da RPPN do Outeiro de Maracaípe (Pernambuco, Brasil). Os valores representam a média das repetições ( $n= 5 \pm EP$ ). Letras maiúsculas indicam diferenças significativas pelo teste de Student Newman-Keuls, com nível de significância de 5% entre as variáveis avaliadas (luminosidade x precipitação).

**Figura 3:** Concentração de carboidratos solúveis totais (CST), aminoácidos livres totais (AA) e Proteínas solúveis totais (PST) nas espécies *Andira fraxinifolia* (A, E, I e M), *Hancornia speciosa* (B, F, e N), *Manilkara salzmannii* (C, G, K e O) e *Protium heptaphyllum* (D, H, L e P) em diferentes condições de luminosidade e disponibilidade hídrica na restinga da RPPN do Outeiro de Maracaípe (Pernambuco, Brasil). Os valores representam a média das repetições ( $n= 5 \pm EP$ ). Letras maiúsculas indicam diferenças significativas pelo teste de Student Newman-Keuls, com nível de significância de 5% entre as variáveis avaliadas (luminosidade x precipitação).

**Figura 4:** Concentração de Clorofilas totais (Chl a+b), carotenóides (car), relação clorofila a/b (Chl a/b) nas espécies *Andira fraxinifolia* (A, E e I), *Hancornia speciosa* (B, F e J), *Manilkara salzmannii* (C, G e K) e *Protium heptaphyllum* (D, H e L) em diferentes condições de luminosidade e disponibilidade hídrica na restinga da RPPN do Outeiro de Maracaípe (Pernambuco, Brasil). Os valores representam a média das repetições ( $n= 5 \pm EP$ ). Letras maiúsculas indicam diferenças significativas pelo teste de Student Newman-Keuls, com nível de significância de 5% entre as variáveis avaliadas (luminosidade x precipitação).

**Figura 5:** Concentração de malondialdeído (MDA), peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ), superóxido dismutase (SOD) e prolina nas espécies *Andira fraxinifolia* (A, E, I, M), *Hancornia speciosa* (B, F,

J e N), *Manilkara salzmannii* (C, G, K e O) e *Protium heptaphyllum* (D, H, L e P) em diferentes condições de luminosidade e disponibilidade hídrica na restinga da RPPN do Outeiro de Maracaípe (Pernambuco, Brasil). Os valores representam a média das repetições ( $n= 5 \pm EP$ ). Letras maiúsculas indicam diferenças significativas pelo teste de Student Newman-Keuls, com nível de significância de 5% entre as variáveis avaliadas (luminosidade x precipitação).

**Figura 6:** Dissociação da epiderme em *Andira fraxinifolia* (A-D), *Hancornia speciosa* (E-H), *Manilkara salzmannii* (I-L) e *Protium heptaphyllum* (M-P) na face abaxial (A-B, E-F, I-J e M-N) e da face adaxial (C-D, G-H, K-L e O-P), sob condições de sol (A, C, E, G, I, K, M e O) e sombra (B, D, F, H, J, L, N e P) na restinga da RPPN do Outeiro de Maracaípe (Pernambuco, Brasil). EST (estômatos), setas apontam cicatrizes de tricomas tectores. Barras = 200  $\mu\text{m}$ .

**Figura 7:** Corte transversal da região mediana da folha de *Andira fraxinifolia* (A-D), *Hancornia speciosa* (E-H), *Manilkara salzmannii* (I-L) e *Protium heptaphyllum* (M-P) sob condições de sol (A, C, E, G, I, K, M e O) e sombra (B, D, F, H, J, L, N e P) obtidas em período seco (A-B, E-F, I-J e M-N) e chuvoso (C-D, G-H, K-L e O-P) na restinga da RPPN do Outeiro de Maracaípe (Pernambuco, Brasil): EPAb (epiderme da face abaxial), EPAd (epiderme da face adaxial), PPE (parede periclinal externa), PP (parênquima paliçádico), PL (parênquima lacunoso), Lc (laticíferos), Es (esclerênquima), Hp (hipoderme). Notar parede periclinal externa espessa (seta preta) e extensão de bainha (setas brancas). Barras = 200  $\mu\text{m}$ .



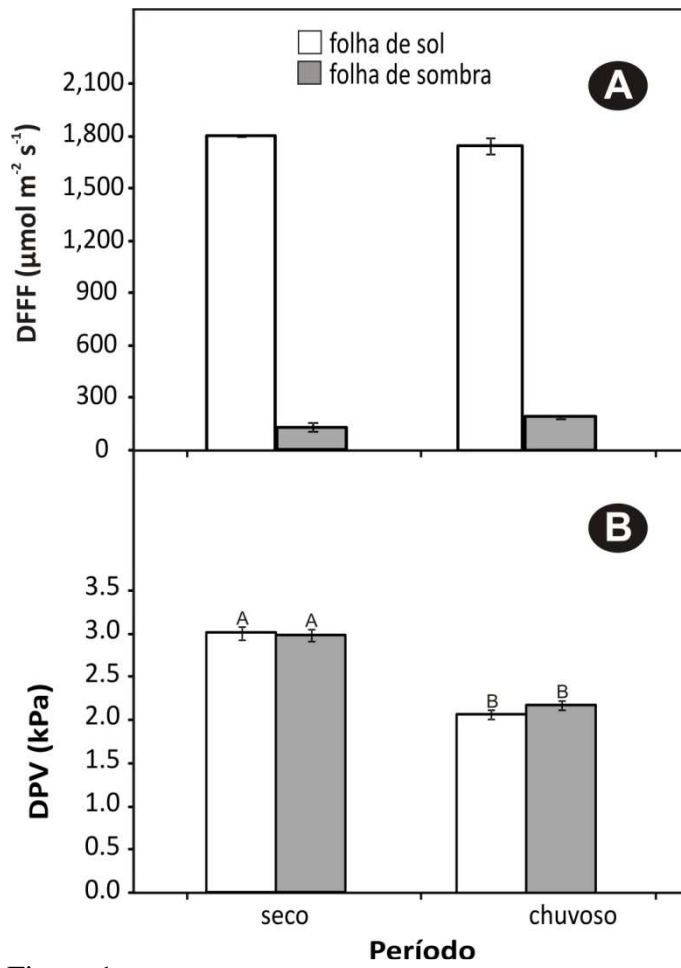


Figura 1:

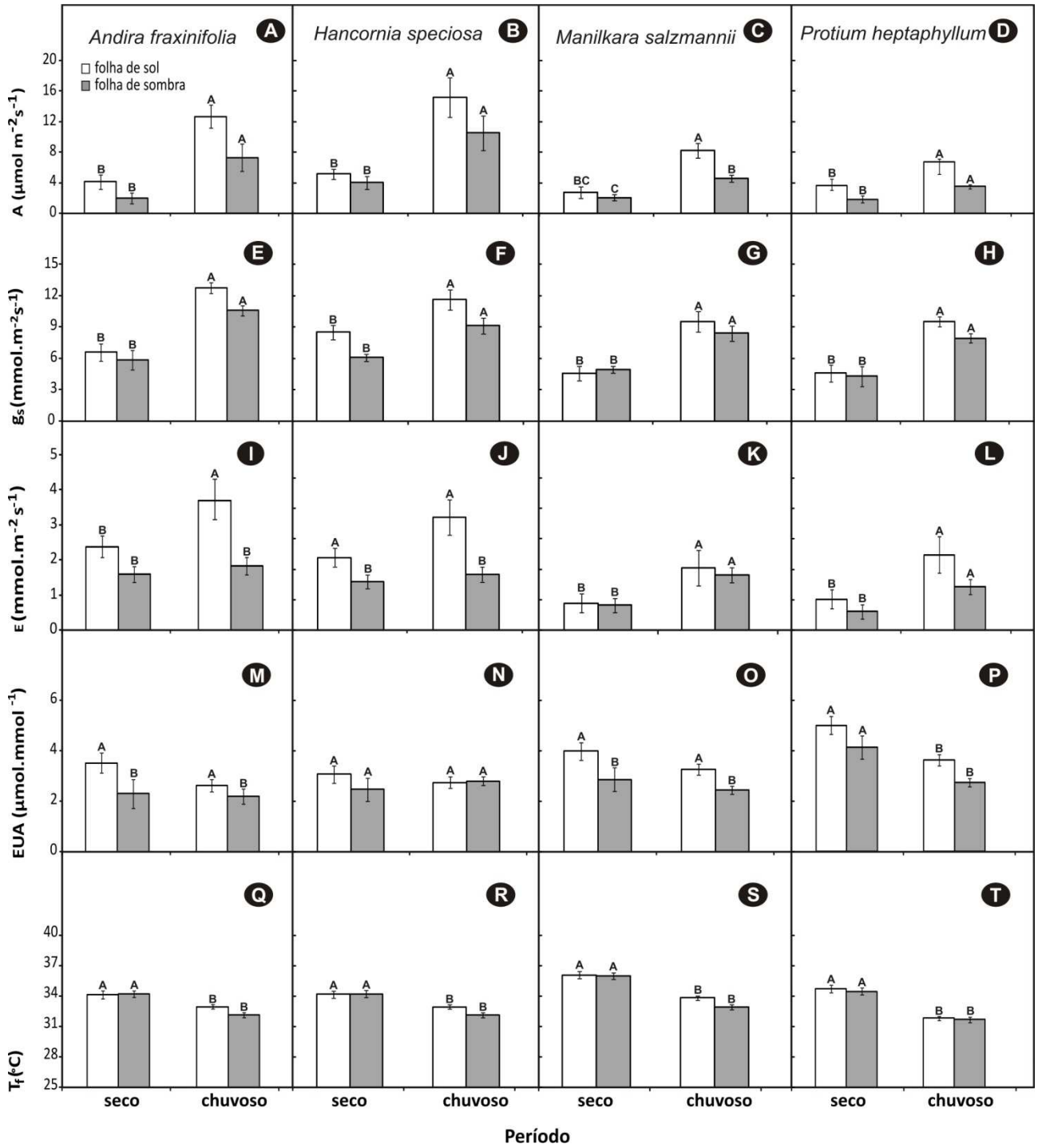


Figura 2

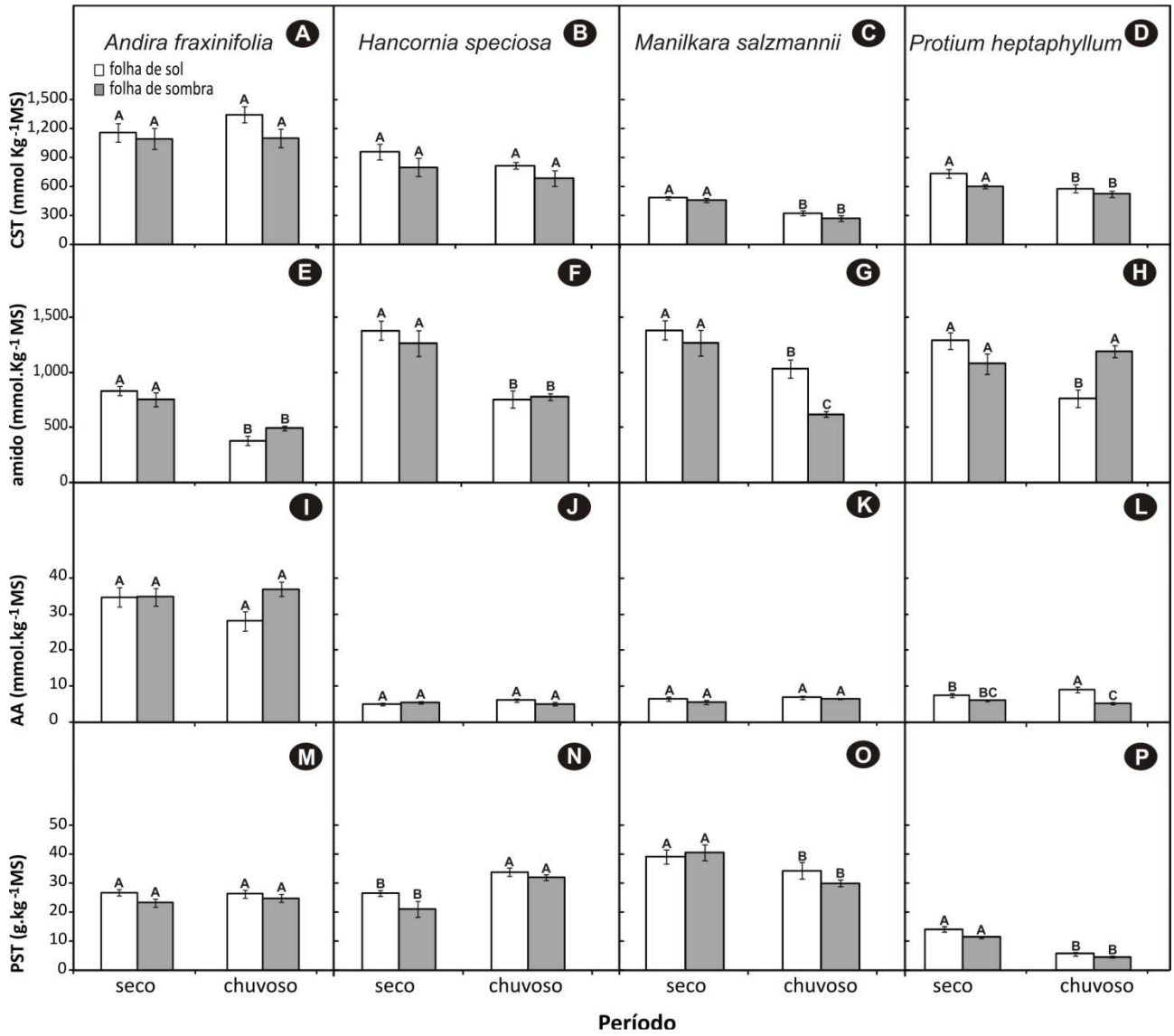


Figura 3

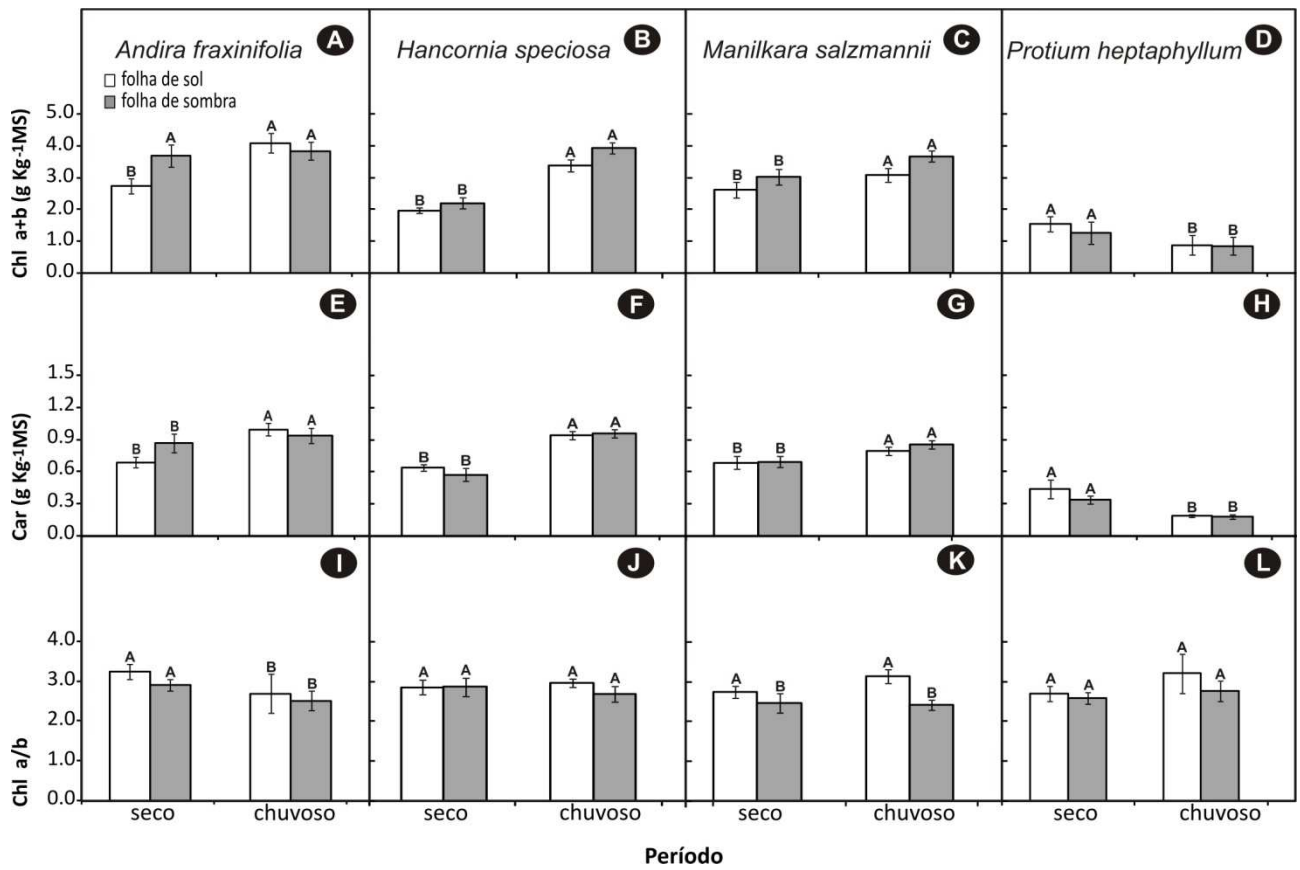


Figura 4

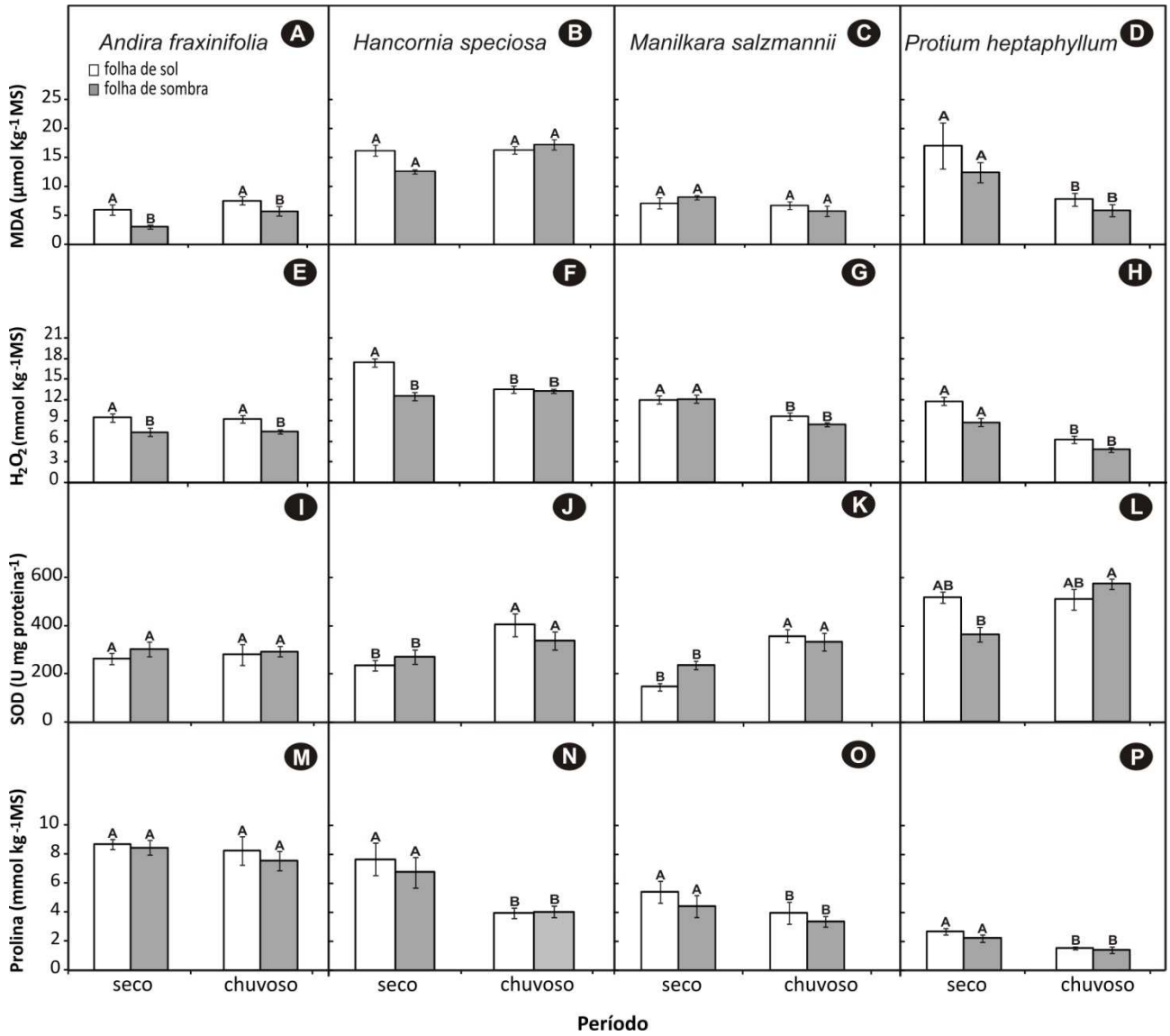
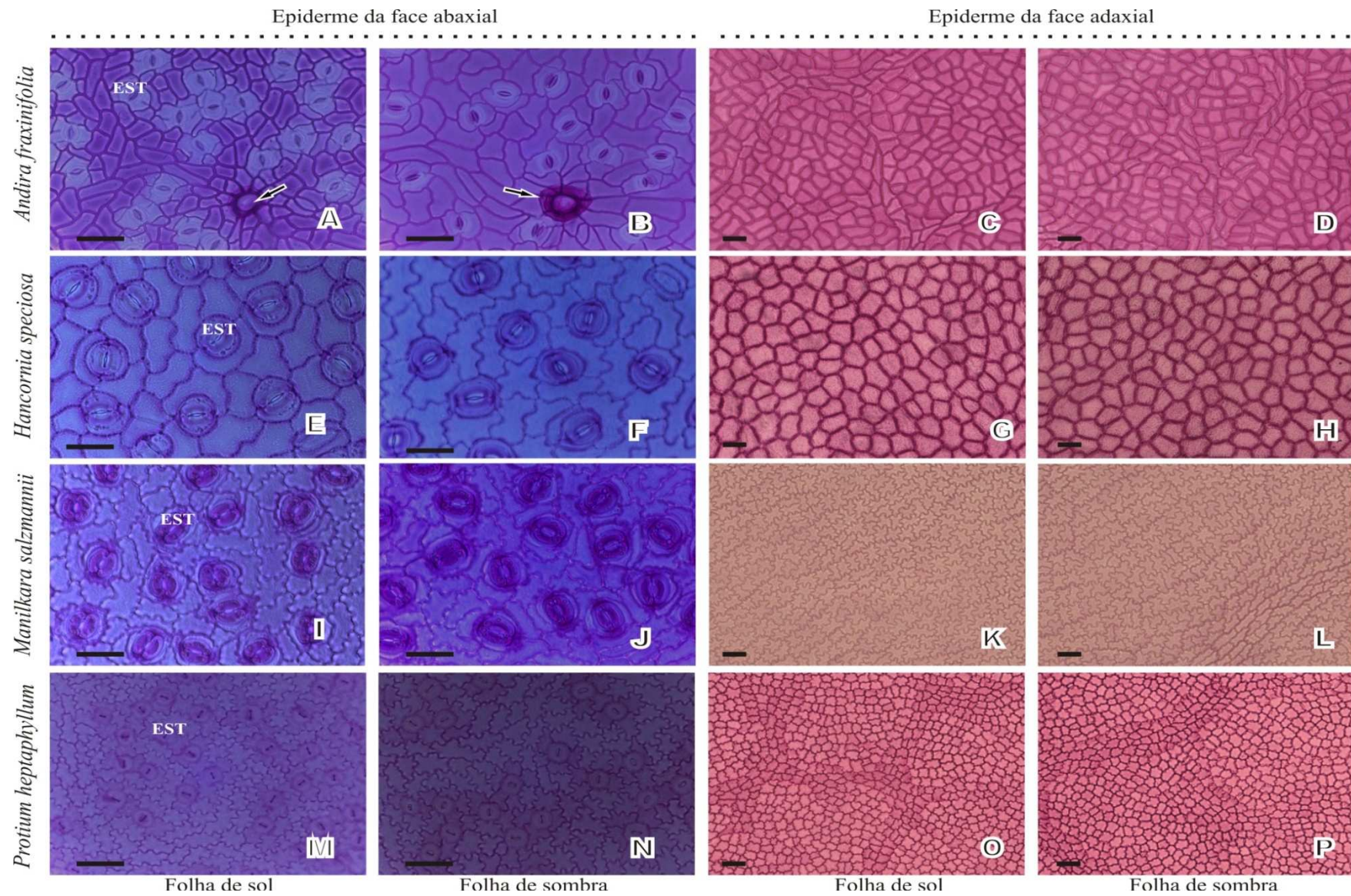


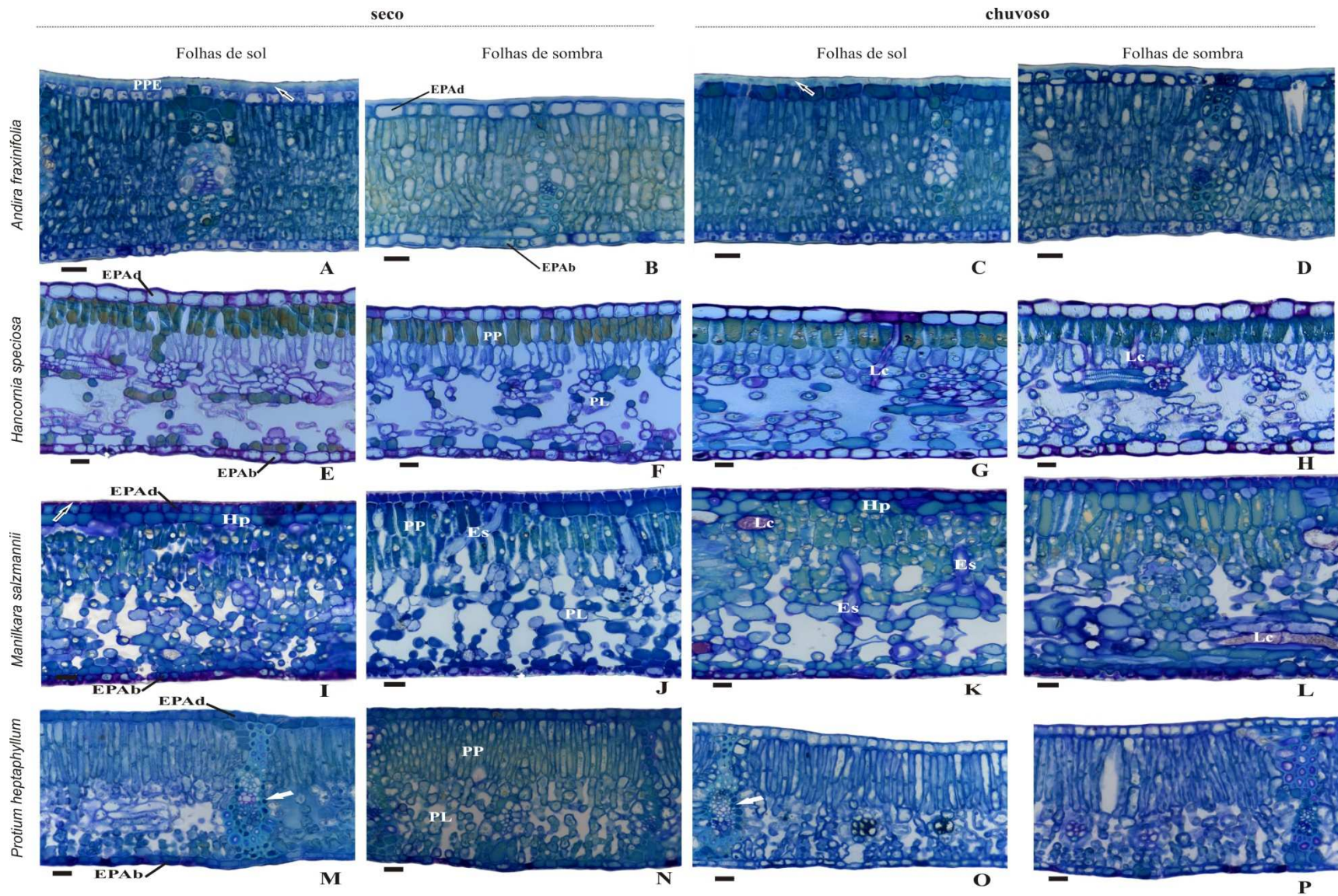
Figura 5





1  
2  
Figura 6





3  
4 Figura 7

## Referências bibliográficas

- Aguiar, T.V., Sant'Anna-Santos, B.F., Azevedo, A.A., Ferreira, R.S. 2007. ANATI QUANTI: software de análises quantitativas para estudos em anatomia vegetal. *Planta Daninha* 25, 649-659. doi.org/10.1590/S0100-83582007000400001.
- Alexieva, V., Sergiev, I., Mapelli, S., Karanov, E. 2001. The effect of drought and ultraviolet radiation on growth and stress markers in pea and wheat. *Plant Cell Environment* 24, 1337–1344.
- Almeida Jr., E. B., Olivo M. A., Araujo E. L., Zickel C. S. 2009. Caracterização da vegetação de restinga da RPPN de Maracaípe, PE, Brasil, com base na fisionomia, flora, nutrientes do solo e lençol freático. *Acta Bot. Brasílica* 23, 36-48. doi: 10.1590/S0102-33062009000100005.
- Arnott, H.J. 1959. Leaf clearings. *Turtox news* 37, 192-194.
- Ashton, M.S.C., Gunatilleke, V. S., Gunatilleke, I.A.U.N., Griscom, H.P., Ashton, P.S., Singhakumara, B.M.P. 2011. The effect of shade on leaf structure and physiology of tree seedlings from a mixed dipterocarp forest. *Botanical Journal of the Linnean Society* 167, 332–343. doi:10.1111/j.1095-8339.2011.01181.x.
- Atkin, O. K., Macherel, D. 2009. The crucial role of plant mitochondria in orchestrating drought tolerance. *Annals of Botany* 103, 581-597. doi:10.1093/aob/mcn094.
- Bates, L.S., Waldren, R.P., Teare, I.D., 1973. Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant Soil* 39, 205-207. doi: 10.1007/BF00018060.
- Bondada, B. R., Oosterhuis, D. M., Murphy, J. B., Kim, k. S. 1996. Effect of water stress on the epicuticular wax composition and ultrastructure of cotton (*Gossypium hirsutum* L.) leaf, bract, and boll. *Env. Exp. Botany* 36 61-69.
- Bosabalidis, A.M., Kofidis, G. 2002. Comparative effects of drought stress on leaf anatomy of two olive Cultivars. *Plant Science* 163, 375-379. doi: 10.1016/S0168-9452 (02) 00135-8.
- Bradford, M., 1976. Rapid and quantitative method for quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anual Biochem* 72, 284-252. doi:10.1016/0003-2697(76)90527-3.
- Bussotti, F. 2008. Functional leaf traits, plant communities and acclimation processes in relation to oxidative stress in trees: a critical overview. *Global Change Biology* 14, 2727–2739. doi: 10.1111/j.1365-2486.2008.01677.x.



- Cakmak, I. Horst. J. 1991. Effect of aluminium on lipid peroxidation, superoxide dismutase, catalase, and peroxidase activities in root tips of soybean (*Glycine max*). *Physiol. Plant* 83, 463-468. doi: 10.1111/j.1399-3054.1991.tb00121.x.
- Carvalho-Filho, J. L. S.; Arrigoni-Blank, M. F.; Blank, A. F. 2004. Produção de mudas de angelim (*Andira fraxinifolia* Benth.) em diferentes ambientes, recipientes e substratos. *Rev. Ciência Agron.* 35, 61-67.
- Chaves, M.M. Effects of water deficits on carbon assimilation. 1991. *J Exp. Botany*, 42 1-19.
- Chaves, M.M., Flexas, J., Pinheiro, C., 2009. Photosynthesis under drought and salt stress: regulation mechanisms from whole plant to cell. *Ann. of Botany*, 103, 551-560.
- Costa, C.B.N., Costa, J.A.S., Ramalho, M. 2006. Biologia reprodutiva de espécies simpátricas de Malpighiaceae em dunas costeiras da Bahia, Brasil. *Rev. Bras. Botânica* 29, 103-114.
- CPTEC - Centro de Previsão de Tempo e Estudos Climáticos. Disponível em: [http://proclima.cptec.inpe.br/balanco\\_hidrico/balancohidrico.shtml](http://proclima.cptec.inpe.br/balanco_hidrico/balancohidrico.shtml)— acessado em: 10/10/2014.
- Dai, Y., Shen, Z., Liu, Y., Wang, L., Hannaway, D., Lu, H. 2009. Effects of shade treatments on the photosynthetic capacity, chlorophyll fluorescence, and chlorophyll content of *Tetrastigma hemsleyanum* Diels et Gilg. *Env. Exp. Botany* 65, 177–182.
- Demmig-Adams, B., Adams III, W.W., Barker, D.H., Logan, B.A., Bowlling, D.R., Verhoeven, A.S. 1996. Using chlorophyll fluorescence to assess the fraction of absorbed light allocated to thermal dissipation of excess excitation. *Physiol Plant*; 98:253–64.
- Dickson, W.C. Integrative Plant Anatomy. Academic Press, San Diego, California, USA 2000. 532 p.
- Dubois, M., Gilles, K.A., Hamilton, J.K., Reders, P.A., Smith, F., 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Anal Chem* 28, 350-356. doi: 10.1021/ac60111a017.
- Dunford, S., 2010. Translocation in the Phloem. In: Taiz, L., Zeiger, E. (Eds.), *Plant Physiology*, 5<sup>th</sup> edition. Sinauer Associates Inc., Sunderland, Massachusetts, pp 271-303.

- Ende, W.V., El-Esawe, S.K. 2014. Sucrose signaling pathways leading to fructan and anthocyanin accumulation: A dual function in abiotic and biotic stress responses? *Env. Exp. Botany* 108, 4–13. doi: 10.1016/j.envexpbot.2013.09.017.
- Ennajeh, M., Vadel, A.M., Cochard, H., Khemira, H. 2010. Comparative impacts of water stress on the leaf anatomy of a drought-resistant and a drought-sensitive olive cultivar. *J. Hort. Science & Biotechnology* 85, 289–294.
- Flexas, J., Bota, J., Loreto, F., Cornic, G., Sharkey, T.D. 2004. Diffusive and metabolic limitations to photosynthesis under drought and salinity in C3 plants. *Plant Biology* 6, 269–279.
- Flexas, J., Diaz-Espejo, A., Galme's, J., Kaldenhoff, R., Medrano, H., Ribas-Carbó, M., 2007. Rapid variations of mesophyll conductance in response to changes in CO2 concentration around leaves. *Plant, Cell & Env.* 30, 1284–1289. doi:10.1111 / j.1365-3040.2007.01700.x.
- Frosi, G., Oliveira, M.T., Almeida-Cortez, J., Santos, M.G. 2013. Ecophysiological performance of *Calotropis procera*: an exotic and evergreen species in Caatinga, Brazilian semi-arid. doi: 10.1007 / x.-s11738-012-1076.
- Galle, A., Florez-Sarasa, L., Aououad, H.E., Flexas, J. 2011. The mediterranean evergreen *Quercus Ilex* and the semi-deciduous *Cistus Albidus* differ in their leaf gas exchange regulation and acclimatation to repeated drought and rewatering cycles. *J Exp Botany* 62, 5207-5216. doi:10.1093/jxb/err233.
- Giannopolitis, C.N Ries, S.K., 1977. Superoxide dismutases: occurrence in higher plants. *Plant Physiol.* 59 309-314. doi:http://dx.doi.org/10.1104/pp.59.2.309.
- Gill, S.S., Tuteja, N., 2010. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant Physiol.* 48, 909-930. doi:10.1016/j.plaphy.2010.08.016.
- Hayat, S., Hayat, Q., Alyemeni, M. N., Wani, A.S., Pichtel, J., Ahmad, A. 2012. Role of proline under changing environments. A review. *Plant Sig Behavior* 7, 1–11. doi: 10.4161/psb.21949.
- Kempa, S., Krasensky, J., Dal Santo, S., Kopka, J., Jonak, C. 2008. A central role of abscisic acid in stress-regulated carbohydrate metabolism. *PLoS One* 3, p. e3935.
- Keunen, E., Peshev, D., Vangronsveld, J., Ende, WVD., Cuypers, A. 2013. Plant sugars are crucial players in the oxidative challenge during abiotic stress: extending the

- traditional concept. *Plant, Cell & Environment* 36, 1242–1255. doi: 10.1111/pce.12061.
- Klein, A.S., Citadini-Zanette, V., Santos, S. 2007. Florística e estrutura comunitária de restinga herbácea no município de Araranguá, Santa Catarina. *Biotemas* 20, 15-26. doi:<http://dx.doi.org/10.5007/20663>.
- Köppen, W., 1948. *Climatologia: com un estudio de los climas de la tierra*. Fondo de Cultura Economica. Mexico.
- Krasensky, J., Jonak, C. 2012. Drought, salt, and temperature stress-induced metabolic rearrangements and regulatory networks. *J. Exp. Botany* 63, 1593–1608. doi:10.1093/jxb/err460.
- Kraus, J. E., Arduin, M. *Manual básico de métodos em morfologia vegetal*. Seropédica, RJ: EDUR, 1997. 198 p.
- Lassouane, N., Aïd, F., Lutts, S., 2013. Water stress impact on young seedling growth of *Acacia arabica*. *Acta Physiol Plant.*, 35 2157–2169. doi: 10.1007 / s11738-013-1252-7.
- Lichtenthaler, H.K., Babani, F., Navrátil, M., Buschmann, C. 2013. Chlorophyll fluorescence kinetics, photosynthetic activity, and pigment composition of blue-shade and half-shade leaves as compared to sun and shade leaves of different trees. *Photosynth Res* 117, 355–366. doi: 10.1007/s11120-013-9834-1
- Lichtenthaler, H.K., 2007. Biosynthesis, accumulation and emission of carotenoids,  $\alpha$ -tocopherol, plastoquinone, and isoprene in leaves under high photosynthetic irradiance. *Photosynthesis Research* 92, 163-179. doi: 10.1007/s11120-007-9204-y.
- Lichtenthaler, H. K., Buschmann, C. 2001. Chlorophylls and carotenoids: measurement and characterization by UV-VIS spectroscopy. *Current Protocols in Food Analytical Chemistry* F4.3: 1–8. doi:10.1002/0471142913.faf0403s01.
- Liu, C., Liu, Yuguo, Guo, K., Dayong, F., Li, G., Yuanrun, Z., Yu, L., Yang, R. 2011. Efeito da seca sobre pigmentos, ajuste osmótico e enzimas antioxidantes em espécies de plantas lenhosas em seis habitats cársticas do sudoeste da China. *Env. Exp. Botany* 71, 174–183. doi: 10.1016 / j.envexpbot.2010.11.012.
- Lorenzi, H. *Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil*. Nova Odessa. Plantarum, 1998. 352p

- Medeiros, D. P. W., Lopes, A. V., Zickel, C. S. 2007. Phenology of woody species in tropical coastal vegetation, northeastern Brazil. *Flora* 202, 513–520.
- Moore, S., Stein, W.H., 1954. A modified ninhydrin reagent for the photometric determination of amino acids and related compounds. *J Biol Chem* 221, 907-913. doi: 10.1021 / ac60139a005.
- Oertli, J.J., Lips, S.H., Agami, M. 1990. The strength of sclerophyllous cells to resist collapse due to negative turgor pressure. *Acta Oecologica* 11, 281-289.
- Osmond, C.B. What is Photoinhibition? Some insights from comparison of shade and sun plants. *Photoinhibition of photosynthesis: From Molecular Mechanisms to the Field*. N.R. a J.R.B.E. Baker. Lancaster, BIOS Scientific Publishers. 1994.
- Osmond, C.B., Björkman, O., Anderson, D.J. *Physiological Processes in Plant Ecology - Toward a Synthesis with Atriplex*. Springer-Verlag Heidelberg. 1980. 194p.
- Oliveira, M.T., Matzek, V., Dias, C.M., Rivas, R., Marinho, F.H., Santos, M.G. 2014. Stress tolerance and ecophysiological ability of an invader and a native species in a seasonally dry tropical forest. *PLoS ONE* 9, e105514. doi:10.1371/journal.pone.0105514.
- Pompelli, M.F., Barata-Luís, R.M., Vitorino, H.S., Gonçalves, E.R., Rolim, E.V., Santos, M.G., Almeida-Cortez, J.S., Endres, L., 2010a. Photosynthesis, photoprotection and antioxidant activity of purging nut under drought deficit and recovery. *Biomass Bioenerg* 34, 1207-1215. doi: 10.1016/j.biombioe.2010.03.011.
- Pompelli, M.F., Martin, S.C., Celin, E.F., Ventrella, M.C., Da Matta, F.M., 2010b. What is the influence of ordinary epidermal cells and stomata on the leaf plasticity of coffee plants grown under full-sun and shady conditions? *Braz J Biol* 70, 1083-1088. doi: 10.1590/S1519-69842010000500025.
- Pompelli, M.F., Pompelli, G.M., Cabrini, E.C., Alves, M.C.J.L., Ventrella, M.C. 2012. Leaf anatomy, ultrastructure and plasticity of *Coffea arabica* L. in response to light and nitrogen. *Biotemas* 25, 13-28. doi: 10.5007/2175-7925.2012v25n4p13.
- Ramanjulu, S., Bartels, D. 2002. Drought- and desiccation-induced modulation of gene expression in plants. *Plant, Cell and Environment* 25, 141–151.
- Rivas, R., Oliveira, M. T., Santos, M.G. 2013. Three cycles of water deficit from seed to young plants of *Moringa oleifera* woody species improves stress tolerance. *J*

- Plant Physiology 63, 200-208. doi:10.1016/j.plaphy.2012.11.026.
- Rizzini, C.T. 1979. Tratado de Fitogeografia do Brasil, vol. 2. São Paulo: Edusp.
- Rodríguez-Calcerrada, J., Pardos, J.A., Gil, L., Aranda, I. 2008. Ability to avoid water stress in seedlings of two oak species is lower in a dense forest understory than in a medium canopy gap. For Ecol Man 255, 421–430. doi:10.1016/j.foreco.2007.09.009.
- Rossatto, D.R., Takahashi, F.S.C., Silva, L.C.R., Franco, A.C. 2010. Características funcionais de folhas de sol e sombra de espécies arbóreas em uma mata de galeria no Distrito Federal, Brasil. Acta bot bras 24, 640-647. doi: 10.1590/S0102-33062010000300007.
- Sandquist, D.R., Ehleringer, J.R. 1998. Intraspecific variation in drought adaptation in brittlebush: Leaf pubescent and timing of leaf loss with rainfall. Oecologia 113, 162-169.
- Scarano, F. R. 2002. Structure, function and floristic relationships of plant communities in stressful habitats marginal to the Brazilian Atlantic rain forest. Ann Botany 90, p. 517-524. doi: 10.1093/aob/mcf189.
- Silva, V. C., Alves, A. N., S. A., Carvalho, M. G. 2006. Constituintes fenólicos e terpenóides isolados das raízes de *Andira fraxinifolia* (FABACEAE). Química Nova 29, 1184-1186.
- Souza, G.M., Balmant, B.D., Vítolo, H. F., Gomes, K.B.P., Florentino, T.M., Catuchi, T.A., Vieira, W.L. 2009. Estratégias de utilização de luz e estabilidade do desenvolvimento de plântulas de *Cordia superba* Cham. (Boraginaceae) crescidas em diferentes ambientes luminosos. Acta bot. bras. 23, 474-485. doi: 10.1590/S0102-33062009000200019.
- Souza, B.D., Rodrigues, B.M., Endres, L., Santos, M.G., 2010. Ecophysiology parameters of four Brazilian Atlantic Forest species under shade and drought stress. Acta Physiol Plant 32, 729-737. doi: 0.1007/s11738-009-0454-5.
- Suzuki, N., Koussevitzky, S., Mittler, R. Miller, G. 2012. ROS and redox signalling in the response of plants to abiotic stress. Plant, Cell and Env. 35, 259–270.
- Terashima, I., Hanba, Yuko T. T., D., Niinemets, Ulo. 2011. Leaf Functional Anatomy in Relation to Photosynthesis. Plant Physiology 155, 108–116. doi: <http://dx.doi.org/10.1104/pp.110.165472>.
- Uzilday, B., Turkan, I., Sekmen, A.H., Ozgur, R. & Karakaya, H.C. 2012. Comparison of ros formation and antioxidant enzymes in *Cleome gynandra* (C4) And *Cleome*

*spinosa* (C3) under drought stress, *Plant Scienc* 182, 59-70. doi: 10.1016 / j.plantsci.2011.03.015.

Valladares, F., e Niinemets, Ü. 2008. Shade Tolerance, a Key Plant Feature of Complex Nature and Consequences. *Annual Review Ecology, Evolution, and Systematics* 39, p. 237-257. doi:10.1146/annurev.ecolsys.39.110707.173506.

Villachica, H., Carvalho, J. E. U. De, Müller, C. H., Diaz S., C., 1996. Almanza, M. Mangaba. In: *Frutales y hortalizas promisorios de la amazonia*. Lima: Tratado de Cooperacion Amazonica, p.191-194,

Vieira-Júnior, G. M., Souza, C. M. L., Chaves, M. H. 2005. Resina de *Protium heptaphyllum*: isolamento, caracterização estrutural e avaliação das propriedades térmicas. *Química Nova* 28, 183-187.

Wang, W., Vinocur, B., Altman, A. 2003. Plant responses to drought, salinity and extreme temperatures: towards genetic engineering for stress tolerance. *Planta* 218, 1-14. doi: 10.1007/s00425-003-1105-5.

## **ARTIGO 2**

### **Sob diferentes regimes de déficit hídrico *Manilkara salzmannii* (Sapotaceae) apresenta capacidade de resiliência?**

Artigo redigido conforme norma da revista *Plant Physiology and Biochemistry*

**Sob diferentes regimes de déficit hídrico *Manilkara salzmannii* (Sapotaceae)  
apresenta capacidade de resiliência?**

**Under different water stress regimes *Manilkara salzmannii* (Sapotaceae)  
(Sapotaceae) shows resilience?**

Maria Claudjane Jerônimo Leite Alves<sup>1</sup>, Danilo Diego Souza<sup>2</sup>, Marcelo Francisco Pompelli<sup>3</sup>, Carmen Sílvia Zickel<sup>4</sup>.

1. M.C.J.L. Alves. Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, Pernambuco, Brazil.

[mariaclaudjane@hotmail.com](mailto:mariaclaudjane@hotmail.com)

+5508199213988

2. D. D. Souza. Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, Pernambuco, Brazil.

3. M. F. Pompelli. Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Pernambuco, Brazil.

4. C. S. Zickel. Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, Pernambuco, Brazil.



## Resumo

O déficit hídrico é o fator ambiental que mais limita o crescimento e o desenvolvimento vegetal em diversas áreas do planeta. Para sobreviver em ambientes passíveis de seca, as plantas precisam desenvolver mecanismos de proteção que permita o equilíbrio entre a absorção e a perda de água. Nesse contexto, o objetivo deste trabalho foi verificar a capacidade de resiliência de *Manilkara salzmannii* após diferentes regimes de restrição hídrica. Em casa de vegetação, plantas com dois anos de desenvolvimento foram submetidas a quatro tratamentos hídricos: plantas controle (SC) 100% da capacidade de água no campo (CC), estresse leve (SL) 50% CC, estresse moderado (SM) 25% CC e estresse severo (SS) restrição hídrica total (0% CC). Foram mensurados parâmetros de trocas gasosas, fluorescência da clorofila *a* (chl *a*) e bioquímica do tecido vegetal. No máximo estresse (36 dias de restrição hídrica) as plantas SL, SM e SS apresentaram reduções significativas nas taxas de trocas gasosas em comparação às plantas SC, no entanto o conteúdo hídrico relativo (RWC) das folhas e os parâmetros de fluorescência da chl *a* foram reduzidos exclusivamente nas plantas SS. No máximo estresse o teor de amido, aminoácidos, proteínas e ascorbato peroxidase (APX) foram reduzidos nas plantas sob SS; já no tratamento SM houve aumento na concentração de carboidratos solúveis totais e prolina e uma redução na atividade da superóxido dismutase e APX. Após 48h de reidratação do substrato todos os parâmetros avaliados em *M. salzmannii* foram restabelecidos, indicando que a lesão induzida pela seca na maquinaria fotossintética foi reversível, demonstrando sua capacidade de resiliência ao déficit hídrico. Enquanto indivíduos jovens *M. salzmannii* consegue se aclimatar a variação hídrica, e por ser uma espécie nativa e com ampla distribuição habilita a mesma para programas de recuperação e manejo de áreas tropicais.

**Palavras-chave:** fluorescência, tolerância à seca, trocas gasosas.

## 1. Introdução

O déficit hídrico é um dos fatores abióticos que mais alteram o metabolismo das plantas, nesse contexto condições hídricas mais severas podem causar danos severos no aparelho fotossintético das plantas, promovendo a inibição da fotossíntese (Gill e Tuteja, 2010; Mafakheri et al., 2010).

Muitas plantas apresentam a capacidade de resiliência, ou seja, de absorver as perturbações e reorganizar seu metabolismo de modo que após um evento estressante mantenham essencialmente a mesma estrutura e função (Folker et al., 2004). Essa capacidade é extremamente importante no cenário atual, tendo em vista as alterações climáticas em resposta ao aquecimento global. Assim, para tolerar as adversidades ambientais as plantas desenvolveram ao longo da evolução diversos mecanismos fisiológicos e bioquímicos que coletivamente promovem a sobrevivência das plantas em seus ambientes naturais (Willadino et al., 2011; Rivas et al., 2013). Apesar da importância dos estudos sob déficit hídrico e adaptações aos estresses ambientais, no Brasil a maioria destes trabalhos são voltados para culturas de importância econômica como o café, milho, cana-de-açúcar etc (Da Matta 2003; Chaves et al., 2004; Willadino et al., 2011), desse modo ainda faltam informações sobre muitas espécies nativas que possam ou não apresentar importância econômica.

*Manilkara salzmannii* (A. DC.) H. J. Lam (Sapotaceae) é uma planta latexcente e perenifólia com ampla distribuição em áreas de floresta Atlântica e floresta de restinga (Lorenzi, 1998; Almeida-Jr et al., 2009). Esta espécie é apreciada pela indústria madeireira e de construção civil, além disso, seu látex é muito utilizado na produção de gomas e seus frutos para consumo *in natura* (Lorenzi, 1998). Devido ao intenso desmatamento de suas áreas de distribuição, o gênero *Manilkara* tem várias espécies ameaçadas de extinção (IUCN, 2014), inclusive a espécie em estudo na região Nordeste

do Brasil. Assim, informações fisiológicas do comportamento dessa espécie frente ao déficit hídrico podem servir como subsídio para programas voltados a recuperação e manejo de áreas antropizadas. Portanto, o objetivo deste trabalho foi identificar a capacidade de resiliência de plantas jovens de *M. salzmannii* submetidas a diferentes regimes de déficit hídrico com posterior reidratação do substrato. Em nossa primeira hipótese, acreditamos que sob limitação hídrica moderada e severa (25% e 0% CC) as plantas de *M. salzmannii* ajustam seu metabolismo reduzindo as trocas gasosas e os solutos orgânicos além de aumentar a atividade do sistema antioxidante, sendo esperado que ocorra: 1) redução na assimilação líquida de CO<sub>2</sub>, condutância estomática, transpiração, fluorescência da clorofila *a*, amido, aminoácidos, proteínas e pigmentos cloroplastídicos; 2) aumento da temperatura foliar, eficiência do uso da água, concentração de carboidratos, atividade da superóxido dismutase, catalase, ascorbato peroxidase e prolina. Nossa segunda hipótese é que *M. salzmannii* apresente capacidade de resiliência aos diferentes regimes de déficit hídrico, sendo esperado que após a reidratação do substrato, as plantas apresentem um rápido retorno ao metabolismo normal, ou seja, não apresentem diferenças quanto aos parâmetros avaliados.

## 2. Materiais e Métodos

### 2.1 Obtenção das plantas

Sementes de *M. salzmannii* foram obtidas de frutos maduros coletados de cinco diferentes indivíduos adultos distribuídos aleatoriamente em uma área de restinga no município de Ipojuca (08°31'48"S e 35°01'05"W) Pernambuco, Brasil. Em casa de vegetação as sementes foram colocadas em bandejas contendo solo arenoso e deixadas para germinar em local sombreado ( $\sim 250 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ). A germinação ocorreu após seis meses da semeadura, sem quebra de dormência, e as plântulas obtidas foram

transferidas para baldes com capacidade de 8L, com uma mistura de terra preta e solo arenoso (1:1 v/v), sendo regadas diariamente até atingir a capacidade de vaso (CC). As plântulas foram regadas diariamente e após dois anos de desenvolvimento, as plantas jovens foram submetidas a quatro tratamentos de déficit hídrico: controle (SC), estresse leve (SL), estresse moderado (SM) e estresse severo (SS). O Déficit de pressão de Vapor (DPV) variou entre 1.7 e 6.6 kPa (Fig. 1A). A temperatura média e a umidade relativa do ar na casa de vegetação foram aferidas com auxílio de um termohigrômetro digital (Incoterm, modelo: 7666.02), os valores variaram entre 25,2-28,1°C e 53-87% respectivamente (dados não mostrados), já a Radiação Fotossinteticamente Ativa (PAR) do local foi de aproximadamente 800  $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$  (dados não mostrados).

## 2.2 Status hídrico do solo

A cada dois dias, a umidade do solo foi aferida com o auxílio de um sensor Falker (Hidro Farm Falker HFM2030, Santa Catarina, Brasil) em seis amostras por tratamento.

### 2.2.1 Conteúdo hídrico foliar

O teor relativo de água (RWC) das folhas foi determinado em cinco amostras de cada tratamento. Discos foliares com uma área conhecida foram coletados às 6:00 h nos dias de estresse máximo (36° dia) e reidratação (42° dia) (Fig. 1C), logo após a coleta foram imediatamente pesados e seguido a metodologia de Galle et al. (2011).

## 2.3 Trocas gasosas e fluorescência da clorofila a

Com o auxílio de um sistema portátil de fotossíntese (LI 6400, LICOR, Lincoln, EUA) foram aferidas medidas de trocas gasosas a cada dois dias, durante 42 dias, entre 9:00-11:00 h. Foi marcada uma folha totalmente expandida e não senescente de seis plantas por tratamento, nesta folha foram mensurados: taxa de fotossíntese líquida (A), taxa de

transpiração ( $E$ ), condutância estomática ( $g_s$ ), temperatura foliar ( $T_f$ ), além da eficiência do uso da água (WUE) que foi calculada dividindo-se  $A/E$ . No momento da coleta de dados foi utilizada temperatura ambiente e o PAR de  $930 \text{ mmol f\u00f3tons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ , conforme curva de luz previamente realizada (dados n\u00e3o mostrados).

Para avaliar as varia\u00e7\u00f5es de fluoresc\u00eancia da clorofila  $a$  as folhas foram aclimatadas ao escuro por 30 min (Souza et al. 2010), para determinar a fluoresc\u00eancia m\u00ednima da clorofila ( $F_o$ ). Em seguida, a fluoresc\u00eancia m\u00e1xima ( $F_m$ ) foi obtida por um pulso de satura\u00e7\u00e3o a  $\sim 7800 \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ . A emiss\u00e3o de fluoresc\u00eancia em um estado est\u00e1vel ( $F_t$ ) e m\u00e1ximo de emiss\u00e3o de fluoresc\u00eancia ( $F'_m$ ) foi determinada para folhas adaptadas a luz, submetidas \u00e0 fotoss\u00edntese est\u00e1vel. A partir desses dados, foram calculados os seguintes par\u00e2metros de fluoresc\u00eancia: efici\u00eancia fotoqu\u00edmica m\u00e1xima do  $\Phi\text{PSII}$  [ $F_v/F_m = (F_m - F_o) / F_m$ ], taxa de transporte de el\u00e9trons [ $\text{ETR} = \Phi\text{PSII} \times \text{PFDa} \times 0,5 \times 0,84$  (onde o rendimento qu\u00e2ntico do fotossistema II \u00e9 expresso como  $\Phi\text{PSII} = F'_m - F_t/F'_m$ , PFDa que \u00e9 absorvido na luz, 0,5 \u00e9 um fator que representa a parti\u00e7\u00e3o de energia entre PSI e PSII e 0,84 representa 84% da PPFD incidente, que \u00e9 assumida para ser absorvido pelas folhas)], coeficiente ou *quenching* fotoqu\u00edmico [ $\text{qP} = (F'_m - F_t) / (F'_m - F_o)$ ] e *quenching* n\u00e3o fotoqu\u00edmico [ $\text{NPQ} = (F_m - F'_m) / F'_m$ ].

#### 2.4 Par\u00e2metros bioqu\u00edmicos

No m\u00e1ximo estresse e na reidrata\u00e7\u00e3o imediatamente ap\u00f3s as medi\u00e7\u00f5es de trocas gasosas, amostras do tecido vegetal foram coletadas e prontamente congeladas em nitrog\u00eanio l\u00edquido e armazenadas em freezer a  $-20^\circ\text{C}$  em local at\u00e9 a serem analisadas.

Para a extra\u00e7\u00e3o e mensura\u00e7\u00e3o de carboidratos sol\u00faveis totais (CST), amino\u00e1cidos livres (AA) e amido, 50 mg de tecido foliar foi usado na prepara\u00e7\u00e3o do extrato etan\u00f3lico. Os CST foram medidos de acordo com Dubois et al. (1956), utilizando-se D

(+) - glucose com leitura de absorvância a 490 nm. As análises de AA foram realizadas de acordo com Moore e Stein (1948), utilizando uma solução 1 mM de glicina, ácido glutâmico, fenilalanina e arginina como um padrão, as soluções foram analisadas em espectrofotômetro, com leitura de absorvância a 570 nm. A fração insolúvel da extração dos hidratos de carbono foi utilizada para determinar o teor de amido; o sedimento foi hidrolisado por uma hora com 10 unidades de amiloglucosidase, e os açúcares resultantes analisados uma segunda vez (Dubois et al., 1956), usando D (+) - glucose como um padrão, a absorvância das soluções das amostras foram lidas em espectrofotômetro a 490 nm. O conteúdo de clorofila a, b e carotenóides foram analisadas por maceração de 40 mg de tecido de folha em 2 ml de acetona (80%), com  $\text{CaCO}_3$  para impedir a atividade da clorofilase. Após maceração, as soluções com as amostras foram filtradas e as suas absorvâncias foram medidas em 470,0, 646,8, e 663,2 nm (Lichtenthaler e Buschmann, 2001).

Para determinar o teor de proteínas totais das folhas (PST), foram extraídas 100 mg de tecido foliar em tampão fosfato de potássio (TFK) a 100 mM e EDTA 2 mM. O teor de PST das folhas foi estimado de acordo com o método de Bradford (1976), usando soro de albumina bovina como padrão, sendo as absorvâncias lidas em espectrofotômetro a 595nm. O teor de prolina foi medido através do método da ninidrina-ácida (Bates et al., 1973), usando 100 mg de tecido foliar, as absorvâncias foram lidas em espectrofotômetro a 520 nm. Para avaliar o dano celular, foi medido o de malondialdeído (MDA) e o peróxido de hidrogênio ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ), usando 100 mg de tecido foliar. O conteúdo MDA foi avaliado com o teste de ácido tiobarbitúrico (TBA), que mede MDA como produto final da peroxidação lipídica. A quantidade de complexo (pigmento vermelho) MDA-TBA foi calculada usando um coeficiente de extinção de  $155 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ , sendo as absorvâncias lidas em espectrofotômetro a 532 nm (Cakmak e

Host, 1991). O acúmulo de  $H_2O_2$  foi medida por espectrofotometria a 390nm após reagir com KI (Alexieva et al., 2001). Para medir a atividade da Superóxido dismutase (SOD, EC 1.15.1.1) foi extraído a partir de 100 mg de tecido foliar em um tampão que consiste em TFK 100 mM, EDTA 0,1 mM, ditioneitol 5 mM, 10 mM de 2-mercaptoetanol, 0,1 por cento (v/v) de Triton X-100 e 30 por cento de polivinilpirrolidona. A atividade foi determinada medindo inibição da redução fotoquímica de nitro-azul de tetrazólio (NBT) a 560 nm (Giannopolitis e Reis, 1977). As enzimas catalase e peroxidase do ascorbato foram extraídos a partir de 100 mg de tecido foliar em tampão fosfato de potássio (TFK) 100 mM, EDTA 2 mM, ácido ascórbico 20 mM e 30 por cento polivinilpirrolidona (PVP). Catalase (CAT, EC 1.11.1.6) foi estimada por atividade da medição da taxa de decomposição de peróxido de hidrogênio a 240 nm, utilizando um coeficiente de extinção de  $39,4 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$  (Nakano e Asada, 1981). A atividade de L-ascorbato peroxidase (APX, CE 1.11.1.11) foi medida por redução de peróxido de hidrogênio e ácido ascórbico como um agente redutor e monitorizando a diminuição na absorbância a 290 nm (Nakano e Asada, 1981). Todas as análises foram expressas com base no peso seco ( $\text{mg g}^{-1} \text{ DW}$ ).

## 2.6 Análises estatísticas

Para a análise estatística foram utilizados seis indivíduos, a normalidade de todos os dados coletados foi testada, em seguida os dados foram submetidos à ANOVA One-way, sendo as médias contrastadas pelo teste de Student Newman-Keuls (ao nível de significância de 5%). Os dados foram analisados usando o programa Statistica 7.0 (Stat Soft. Inc., Tulsa, OK 74104, USA). Foram realizadas correlações de Pearson do programa estatístico Bioestat 5.0 (Ayres et al., 2007).

### 3. Resultados

#### 3.1. Status hídrico do solo e na folha

Após 36 dias de restrição hídrica (estresse máximo) houve uma redução na umidade do solo das plantas dos tratamentos SL (66%), SM (84%) e SS (88%) em relação a SC (Fig. 1B). O conteúdo hídrico foliar (RWC) foi reduzido nas plantas submetidas a SS apenas no máximo estresse (Fig. 1C), entretanto após seis dias de reidratação do substrato não foram observadas variações neste parâmetro para nenhum dos tratamentos.

#### 3.2. Trocas gasosas

A partir do 28º dia de imposição de restrição hídrica, foram observadas quedas significativas nas taxas de A,  $g_s$  e E. No máximo estresse (36º dia) as plantas do tratamento SL apresentaram reduções nas taxas de A (19%),  $g_s$  (21%) e E (20%) em relação às plantas irrigadas (SC) (Figs. 2A, B, C), sob SM as plantas também reduziram A (65%),  $g_s$  (50%) e E (62%) (Figs. 2A, B, C), já nas plantas sob SS essas reduções foram ainda maiores para A (94%),  $g_s$  (79%) e E (76%) quando comparadas as plantas irrigadas (Figs. 2A, B, C). Correlação positiva foi observada para a relação A/ $g_s$  ( $r=0,82$ ,  $p<0,0001$ ), A/E ( $r=0,77$ ,  $p<0,0001$ ) e  $g_s$ /E ( $r=0,83$ ,  $p<0,0001$ ).

A WUE no máximo estresse foi superior nas folhas do tratamento SL (6%) em relação às plantas irrigadas de *M. salzmanni* (Fig. 2D), de forma inversa no máximo estresse a WUE foi reduzida nas plantas sob SM (2%) e SS (63%) quando comparadas as plantas SC (Fig. 2D). Observamos correlações entre A/WUE ( $r=0,40$ ,  $p<0,001$ ), WUE/umidade solo ( $r=0,25$ ,  $p<0,05$ ) e  $g_s$ /WUE ( $r=0,34$ ,  $p<0,05$ ).

Após 48h após de reidratação do substrato observou-se uma rápida recuperação dos parâmetros de A,  $g_s$ , E e WUE nas plantas sob restrição hídrica (SL, SM e SS),



quando comparadas às plantas irrigadas (Fig. 2A-D). A temperatura foliar não diferiu com a redução da disponibilidade hídrica no período avaliado em nenhum dos tratamentos (Fig. 2E).

No máximo estresse, as plantas sob SS apresentaram menores valores para a relação  $F_v/F_M$  (10%) e  $qP$  (50%) em relação as plantas irrigadas; nos demais tratamentos (SL e SM) estes parâmetros não apresentaram variações significativas (Figs. 2F, H). No máximo estresse a  $\Phi PSII$  foi reduzida nas plantas sob SM (26%) e SS (44%), de forma semelhante a ETR também foi reduzida nas plantas SM (23%) e SS (51%), quando comparadas as plantas irrigadas (Figs. 2G, J). Já os valores de NPQ foram superiores nas plantas sob SS (61%) em relação às plantas SC apenas no máximo estresse (Fig. 2I). Após 48 h da reidratação do substrato, todos os valores de fluorescência avaliados nos tratamentos SC, SL, SM e SS não apresentaram diferenças significativas (Fig. 2F, J). Correlação positiva foi observado para  $A/PSII$  ( $r= 0,55$ ,  $p<0.0001$ ) e  $A/qP$  ( $r= 0,56$ ,  $p<0.0001$ ), além da correlação negativa entre  $A/NPQ$  ( $r= -0,38$ ,  $p<0.001$ ),  $NPQ/umidade$  do solo ( $r= -0,16$ ,  $p<0.05$ ) e  $NPQ/ETR$  ( $r= -0,33$ ,  $p<0.05$ ).

### *Bioquímica*

No metabolismo dos solutos orgânicos, no máximo estresse, a concentração de CST foi maior nas plantas sob SM (48%) em relação às plantas dos demais tratamentos, não havendo diferenças quanto a este metabólico após a reidratação do substrato (Fig. 3A). Para as plantas sob SS foi observado no máximo estresse menores concentrações de amido foliar (12%), AA (19%) e PST (29%), em relação às plantas dos demais tratamentos (Figs. 3B, C, D). Seis dias após a reidratação do substrato não houve diferenças nos parâmetros de AA e PST (Figs. 3C, D) entre os tratamentos

avaliados, entretanto em relação à concentração de amido foliar percebeu-se um aumento de 26% nas plantas sob SM quando comparada aos tratamentos SC, SL e SS (Figs. 3B, C, D).

A concentração de clorofila totais (chl a+b), carotenóides (Car), relação clorofila a/b (Chl a/b) e relação carotenóides/clorofilas totais (Car/ chl a+b) não apresentaram diferenças entre os tratamentos durante o período de estresse (Tabela 1).

As plantas sob SM apresentaram no máximo estresse uma maior concentração de MDA (54%), H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (31%) e prolina (51%) em relação às plantas dos demais tratamentos (Figs. 4A-C). Quando comparadas as plantas irrigadas a atividade da SOD foi maior entre as plantas sob SS (24%) e menor nas plantas sob SM (31%) (Fig. 4D). A enzima CAT não apresentou variação em sua atividade para nenhum dos tratamentos durante o período avaliado (fig. 4E), já a atividade da enzima APX foi menor nas plantas sob SM (41%) e SS (74%) em relação às plantas SC (Fig. 4F). Seis dias após a reidratação do substrato não houve diferenças entre os tratamentos avaliados nos parâmetros de MDA, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, SOD e prolina (Figs. 4A-D), entretanto a atividade da APX foi menor nas plantas sob SL (26%) em relação às plantas SC (Fig. 5F).

A análise dos resultados mostrou que as plantas jovens de *M. salzmannii* responderam aos diferentes regimes de restrição hídrica reduzindo as trocas gasosas, fluorescência da clorofila *a* e componentes bioquímicos do metabolismo vegetal.

#### 4.1 Status hídrico do solo e na folha

A redução da disponibilidade hídrica no solo promoveu nas plantas sob SS diminuição significativa no RWC (Fig. 1C). A redução da disponibilidade hídrica também promoveu diminuição significativa na RWC em *Cistus albidus* (Cistaceae) e

*Quercus ilex* (Fagaceae) (Galle et al., 2011). A ausência de água no solo provocou danos ao metabolismo fotossintético, já que também foram observadas quedas significativas nas taxas de A. Estes danos, porém, foram reversíveis uma vez que após a reidratação do substrato as taxas de A e WUE foram prontamente restabelecidas, não diferindo das plantas SC.

Apesar da diminuição da umidade do solo, as plantas de *M. salzmannii* sob SM não apresentaram reduções no RWC (Fig. 1C). Possivelmente este resultado pode estar atrelado a redução da  $g_s$  promovendo redução na E e manutenção da RWC. Frequentemente, nos estágios iniciais do estresse hídrico o fechamento estomático leva a um aumento na WUE (Galle et al., 2011), no presente estudo as plantas sob SM apresentaram quedas de apenas 2% neste parâmetro em relação as plantas irrigadas, sugerindo que sob restrições hídricas de até 25% CC estas plantas conseguem manter seus processos fisiológicos. De forma semelhante, plantas jovens de *Moringa oleifera* (Moringaceae) submetidas a 10% de hidratação não reduziram o RWC, mas aumentaram a WUE sugerindo uma estratégia dessas plantas para auxiliar a manter os processos fisiológicos e de crescimento (Rivas et al., 2013).

#### 4.2 Trocas gasosas e fluorescência da clorofila a

A limitação estomática observada nas plantas dos tratamentos SL, SM e SS de *M. salzmannii* levaram a uma redução significativa nas taxas de A e E transpiração (Fig. 2B). Sob estresse hídrico, o fechamento dos estômatos é visto como uma primeira linha de defesa utilizada pelas plantas para evitar a perda de água para atmosfera através da transpiração (Galle et al., 2011; Pompelli et al., 2010; Rivas et al., 2013; Souza et al., 2010). Entretanto, o fechamento dos estômatos inibiu a captação de CO<sub>2</sub> atmosférico resultando em quedas significativas nas taxas fotossintéticas (Mafakheri et al., 2010;

Flexas et al., 2004). Resultados semelhantes foram encontrados por Pompelli et al. (2010) e Rivas et al. (2013) que ao estudarem em casa de vegetação o comportamento de plantas jovens de *Jatropha curcas* (Euphorbiaceae) e *Moringa oleifera*, respectivamente, observaram que sob restrição hídrica  $A$ ,  $g_s$  e  $E$  eram reduzidos, alcançando valores próximos de zero. No entanto, assim como no presente estudo, após a reidratação do substrato os autores observaram a rápida recuperação nas taxas de trocas gasosas, indicando a plena capacidade destas espécies de recuperação.

No presente estudo, as plantas sob SS de *M. salzmannii* apresentaram uma redução na eficiência fotoquímica verificada através da diminuição nos valores da relação  $F_V/F_M$ . De forma semelhante Gonçalves et al. (2010) também observaram redução significativa na relação  $F_V/F_M$  em quatro variedades de cana-de-açúcar a medida que a água disponível no solo era reduzida. Todavia, a rápida recuperação da relação  $F_V/F_M$  após a reidratação das plantas indica que os danos aos fotossistemas foram reversíveis.

A redução nas taxas de  $q_P$  e ETR observadas nas plantas sob SS de *M. salzmannii* no máximo estresse apontam que também ocorreu uma diminuição no uso da energia fotoquímica direcionado a atividade fotossintética, bem como a redução no transporte de elétrons do PSII (Carvalho et al., 2011; Souza et al., 2010). O  $q_P$  e o NPQ são processos competitivos, logo é esperado que as reduções nas taxas de  $q_P$  sejam acompanhadas de aumento de NPQ (Lassouane et al., 2013). O aumento nas taxas de NPQ observado nas plantas sob SS indica que as mesmas dissiparam o excesso de energia luminosa sob a forma de calor, protegendo assim os centros de reação do PSII do excesso de energia de excitação (Lassoauane et al., 2013; Souza et al., 2010).

Os menores valores de  $\Phi_{PSII}$  promoveram redução nas taxas de  $A$  nas plantas sob SS, promovendo alterações na regulação no PSII, provocando um desequilíbrio

entre a produção e o consumo de ATP e NADPH (Yang et al. 2007). Em *Picea asperata* (Pinaceae) (Yang et al. 2007) e em seis cultivares de milho (*Zea mays* Poaceae) (Carvalho et al. 2011) também foram constatadas reduções na  $\Phi$ PSII associados com a diminuição da A nas plantas submetidas a déficit hídrico.

#### 4.3 Parâmetros bioquímicos

As plantas sob SM apresentaram aumento na concentração de CST. A quantidade e a qualidade no teor de CST nas folhas podem funcionar como um sinalizador metabólico na resposta ao estresse hídrico, desempenhando um papel de sequestradores de espécies reativas de oxigênio (ROS), como demonstrado por Keunen et al. (2013), Ende e El-Esawe (2014) e Oliveira et al. (2014a).

Nas plantas sob SS a redução no amido foliar indica que pode ter ocorrido uma degradação deste metabólico para evitar maiores danos aos cloroplastos, já que o acúmulo do amido pode comprimir os tilacóides ocasionando a desnaturação das grana com consequente retroinibição da fotossíntese (Bondada e Syvertsen 2005). A redução nas taxas de PST observada no tratamento de SS indica que ocorreu uma diminuição na síntese protéica. De forma semelhante Frosi et al. (2013) observaram em plantas de *Calotropis procera* submetidas a déficit hídrico, reduções significativas nas taxas de PST, com recuperação total desse parâmetro após 48h de reidratação do substrato. Assim como no presente estudo, a rápida capacidade de recuperação dos parâmetros bioquímicos avaliados, após um evento proeminente de seca, indica a capacidade de resiliência do metabolismo dessas plantas.

Na literatura são citadas respostas mais lenta na variação da concentração de pigmentos cloroplastídicos em relação às taxas de trocas gasosas e fluorescência da clorofila, já que envolvem vias enzimáticas de biossíntese e degradação, o que poderia

explicar a ausência de alterações destes parâmetros nas plantas de *M. salzmannii*. Além disso, a ausência de degradação dos carotenóides pode ser interpretada como um mecanismo de defesa, já que sob déficit hídrico os carotenóides atuam na proteção dos centros de reação do PSI e PSII ao absorverem o excesso de energia luminosa reduzindo assim a formação de ROS (Oliveira et al., 2014a; Rivas et al., 2013).

Nas plantas sob SS o aumento na atividade da SOD promoveu uma maior estabilidade no sistema redox, tendo em vista a ausência de variação no H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e MDA. Maior investimento na SOD auxilia na proteção das paredes celulares (Oliveira et al., 2014a), evitando assim a peroxidação lipídica. Nossos resultados estão de acordo com aqueles encontrados para milho (*Zea mays* L.) onde foi observada correlação positiva entre déficit hídrico e aumento da SOD (Köşkeroglu e Tuna, 2010).

Nas plantas sob SM a redução combinada nas atividades das enzimas SOD e APX e ausência de atividade na CAT promoveram um aumento na formação de ROS em resposta ao aumento nas taxas de ETR, exigindo da espécie maior investimento em sequestradores e osmoprotetores como prolina e CST. Os açúcares têm sido associados à defesa oxidativa e/ou a eliminação de ROS (Oliveira et al., 2014a; Ende e El-Esawe, 2014), já a prolina atua como um regulador osmótico auxiliando a manter o turgor foliar e conseqüentemente a estabilidade das proteínas e membranas, além de promover o sequestro de radicais livres (Lassouane et al. 2013, Hayat et al., 2012). Como demonstrado por Oliveira et al. (2014b), plantas jovens de *Anadenanthera colubrina* submetidas a 10% de hidratação, apresentaram correlação entre o aumento de CST e prolina na preservação das membranas celulares. Por outro lado, em plantas adultas de *A. colubrina* o acúmulo de prolina não foi suficiente para evitar a peroxidação lipídica das membranas indicado pelo aumento de MDA (Oliveira et al., 2014a).

## 5. Conclusão

Para proteger seu aparato fotossintético, as plantas jovens de *M. salzmannii* desenvolveram diferentes ajustes metabólicos em resposta aos níveis específicos de hidratação. O déficit hídrico promoveu nas plantas sob SM mudanças especialmente para manter o turgor foliar e a proteção das organelas envolvidas na fotossíntese; já as plantas sob SS buscaram proteger suas paredes celulares, além da dissipação do excesso de energia luminosa de forma térmica (NPQ). Entretanto, após a reidratação do substrato ocorreu a total recuperação dos parâmetros fisiológicos alterados após 36 dias de imposição de restrição hídrica, confirmando nossa segunda hipótese. Nossos resultados sugerem que enquanto indivíduos jovens *M. salzmannii* apresenta a capacidade de resiliência do seu metabolismo, o que pode auxiliar as mesmas a sobreviverem em ambientes passíveis de seca.

## 6. Contribuição dos autores

1. Maria Claudjane J. L Alves: contribuiu na formulação dos objetivos, design experimental, coleta de dados, análise e interpretação dos dados.
2. Danilo D. Souza: auxílio na coleta e análise de material botânico.
3. Marcelo F. Pompelli: auxílio nas análises bioquímicas.
4. Carmen S. Zickel: orientações fornecidas e todo tipo de apoio necessário para completar esta pesquisa.

*Agradecimentos*

A FACEPE pela concessão da bolsa de doutorado ao primeiro autor, ao PNADB pelo auxílio financeiro na execução do projeto e ao Laboratório de Ecofisiologia Vegetal da UFPE por ter concedido subsídios para realização dessa pesquisa.



## Considerações finais

Em ambientes naturais, o regime hídrico e a luminosidade influenciam desde o crescimento e desenvolvimento das espécies até a distribuição das populações e a biodiversidade dos ecossistemas. As plantas em seus ambientes naturais estão expostas a diversos fatores bióticos e abióticos que podem em um dado momento se tornar estressante. Para tolerar as adversidades ambientais as plantas desenvolveram diversos mecanismos de tolerância aos estresses, tais como ajustes bioquímicos, moleculares e anatômicos. Entretanto, para averiguar as respostas das plantas as variações do ambiente se faz importante uma análise com o maior número possível de atributos biológicos, bem como a interação entre os mesmos, já que uma análise que procura um único indicador pode levar a interpretações incorretas.

As espécies em estudo apresentaram, em ambiente natural, respostas diferenciadas quanto as variações de luminosidade e precipitação. A redução da disponibilidade hídrica promoveu alterações principalmente nos parâmetros bioquímicos de *P. heptaphyllum*, já a variação de luminosidade promoveu em *A. fraxinifolia* alterações em praticamente todos os atributos anatômicos avaliados. *H. speciosa* e *M. salzmannii* apresentaram comportamento semelhante tanto em relação aos parâmetros bioquímicos quanto anatômicos.

Em casa de vegetação sob diferentes regimes de restrição hídrica, as plantas de *M. salzmannii* apresentaram uma flexibilidade de respostas para tolerar o déficit hídrico, contudo após a reidratação do substrato todos os parâmetros alterados durante o estresse hídrico foram recuperados, mostrando a capacidade de resiliência da espécie. Concluiu-se, portanto que as variações morfoanatômicas e ecofisiológicas observadas tanto em ambiente natural para as quatro espécies, como as respostas ao déficit hídrico em casa de vegetação com *M. salzmannii*, mostram a flexibilidade de estratégias utilizadas por estas plantas para se aclimatar as variações do ambiente na qual estão inseridas. Além disso, essas informações podem ser utilizadas para definir estratégias de conservação dos biomas e recuperação de áreas degradadas, especialmente em regiões tropicais.

Tabela 1. Pigmentos cloroplastídicos de plantas jovens de *Manilkara salmannii* submetidas a quatro diferentes tratamentos de restrição hídrica (100%, 50%, 25% e 0% CC). Chl a + b (clorofilas totais), Car (carotenóides), Chl a/b (relação clorofila a/b) e Car/Chla+b (relação carotenóides/clorofilas totais).

Tratamentos	<i>Estresse</i>				<i>Reidratação</i>			
	chl a+b	Car	chl a/b	Car/chl a+b	chl a+b	Car	chl a/b	Car/chl a+b
100% de irrigação	3.89±0.2 <sup>A</sup>	0.89± 0.04 <sup>A</sup>	3.31±0.2 <sup>A</sup>	4.40±0.14 <sup>A</sup>	4.09± 0.11 <sup>A</sup>	0.86± 0.03 <sup>A</sup>	4.09± 0.11 <sup>A</sup>	4.71±0.15 <sup>A</sup>
50%de irrigação	3.75±0.1 <sup>A</sup>	0.86±0.03 <sup>A</sup>	2.87±0.05 <sup>A</sup>	4.38±0.29 <sup>A</sup>	3.57±0.17 <sup>A</sup>	0.88±0.06 <sup>A</sup>	3.57±0.17 <sup>A</sup>	4.16±0.49 <sup>A</sup>
25% de irrigação	3.92±0.2 <sup>A</sup>	0.92±0.03 <sup>A</sup>	2.84±0.23 <sup>A</sup>	4.31±0.24 <sup>A</sup>	3.68±0.14 <sup>A</sup>	0.86±0.04 <sup>A</sup>	3.68±0.14 <sup>A</sup>	4.30±0.18 <sup>A</sup>
0% de irrigação	3.79±0.3 <sup>A</sup>	0.83±0.05 <sup>A</sup>	2.66±0.21 <sup>A</sup>	4.73±0.71 <sup>A</sup>	3.93± 0.18 <sup>A</sup>	0.81 ±0.03 <sup>A</sup>	3.93± 0.18 <sup>A</sup>	4.89±0.34 <sup>A</sup>

Nota: Letras diferentes comparadas verticalmente indicam diferenças estatisticamente significativas entre as médias, ao nível de 5% de significância pelo teste de Student Newman-Keuls. Os valores representam médias das repetições (n=6 ± EP).

## Legendas das figuras

**Figura 1:** (A) déficit de pressão de vapor (DPV) do ar na casa de vegetação da Universidade Federal Rural de Pernambuco; (B) umidade do solo (%) e (C) conteúdo relativo de água (RWC) nas folhas de plantas jovens de *Manilkara salzmannii* submetidas a diferentes regimes de restrição hídrica com posterior reidratação. Seta indica o dia da reidratação do substrato (36°). (\*) indicam diferenças significativas ( $p < 0.0001$ ) no mesmo período. Letras maiúsculas representam tratamentos do máximo estresse e letras minúsculas tratamentos da reidratação. Médias ( $n=6 \pm EP$ ) seguidas pela mesma letra não são significativamente diferentes pelo teste de Student Newman Keuls a 5% de significância.

**Figura 2:** Mensurações de trocas gasosas e fluorescência da clorofila *a*: (A) Assimilação líquida de CO<sub>2</sub> (A), (B) Condutância estomática ( $g_s$ ), (C) transpiração (E), (D) eficiência do uso da água (WUE), (E) temperatura foliar ( $T_f$ ), (F) relação  $F_v/F_m$ , (G) eficiência do fotossistema II ( $\phi_{PSII}$ ), (H) *quenching* fotoquímico (qP), (I) *quenching* não fotoquímico (NPQ) e (J) taxa de transporte de elétrons (ETR) em plantas jovens de *Manilkara salzmannii* submetidas a diferentes regimes de restrição hídrica com posterior reidratação. Seta indica o dia da reidratação do substrato (36°). Letras maiúsculas representam tratamentos do máximo estresse e letras minúsculas tratamentos da reidratação. Médias ( $n=6 \pm EP$ ) seguidas pela mesma letra não são significativamente diferentes pelo teste de Student Newman Keuls a 5% de significância.

**Figura 3:** Variações na concentração dos solutos orgânicos: (A) carboidratos solúveis totais da folha de (CST), (B) amido, (C) aminoácidos livres totais (AA) e (D) proteínas solúveis totais (PST) nas folhas de plantas jovens de *Manilkara salzmannii* submetidas a diferentes regimes de restrição hídrica com posterior reidratação. Barras verticais escuras representam o máximo estresse (36° dia) e barras verticais claras representam a reidratação (42° dia). Letras maiúsculas representam tratamentos do máximo estresse e letras minúsculas tratamentos da reidratação. Médias ( $n=6 \pm EP$ ) seguidas pela mesma letra não são significativamente diferentes pelo teste de Student Newman Keuls a 5% de significância.

**Figura 4:** Variação na concentração de (A) malondialdeído (MDA), (B) peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), (C) superóxido dismutase (SOD), (D) prolina, (E) catalase (CAT) e (F) ascorbato peroxidase (APX) nas folhas de plantas jovens de *Manilkara salzmannii* submetidas a diferentes regimes de restrição hídrica com posterior reidratação. Barras verticais escuras representam o máximo estresse (36° dia) e barras verticais claras representam a reidratação (42° dia). Letras maiúsculas representam tratamentos do máximo estresse e letras minúsculas tratamentos da reidratação. Médias ( $n=6 \pm EP$ ) seguidas pela mesma letra não são significativamente diferentes pelo teste de Student Newman Keuls a 5% de significância.

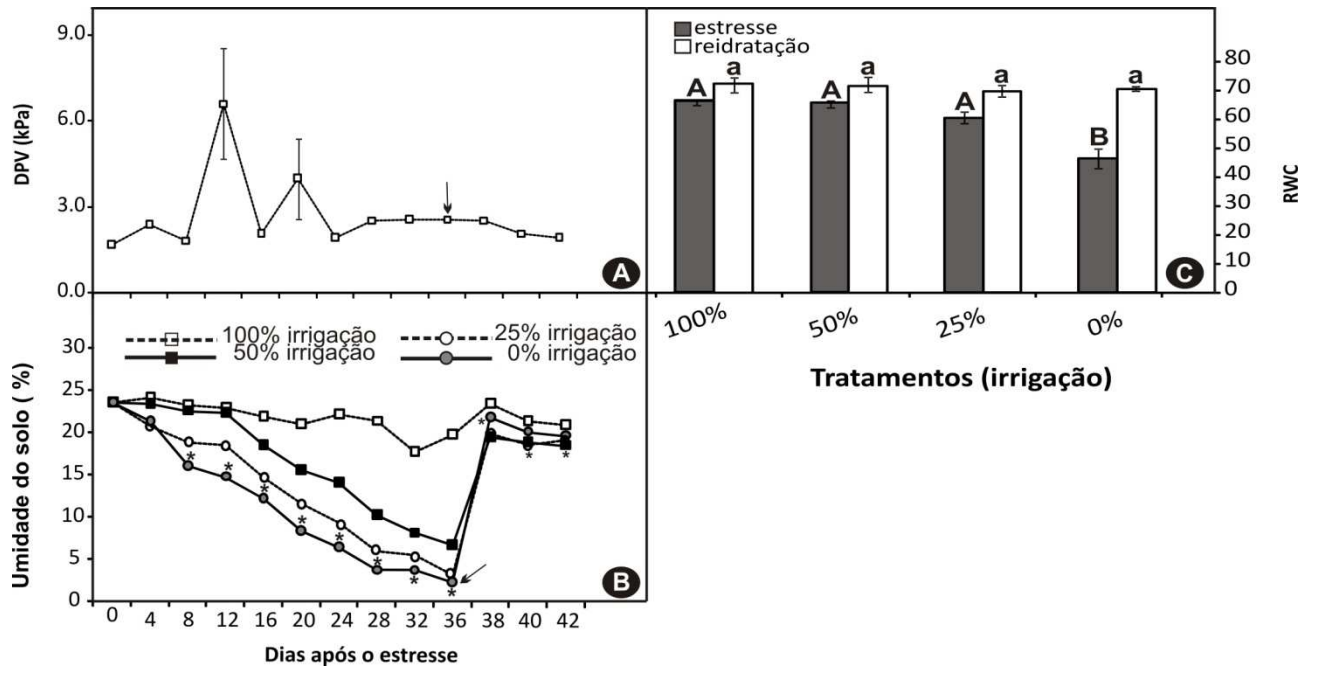


fig. 1.

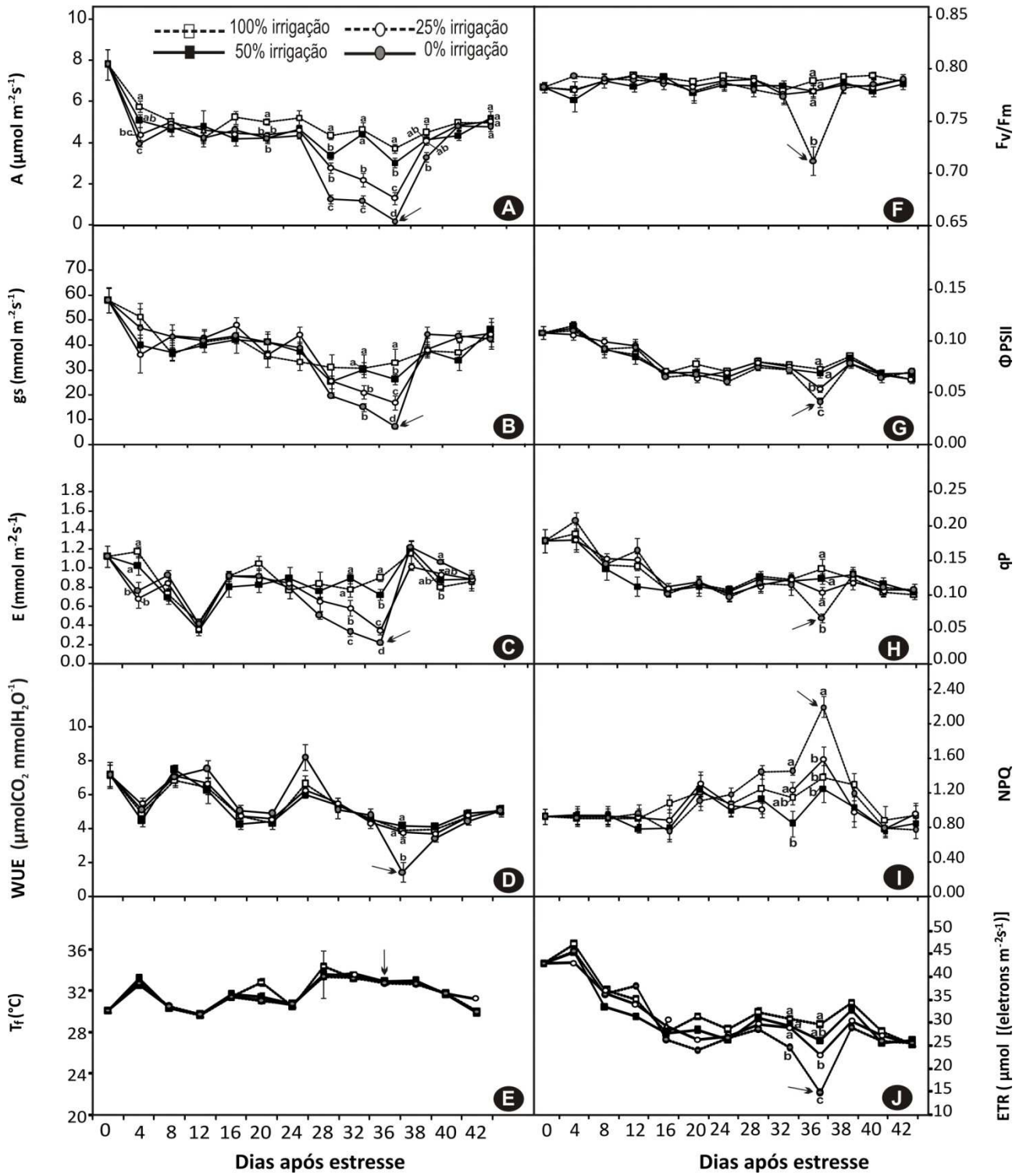


fig. 2.

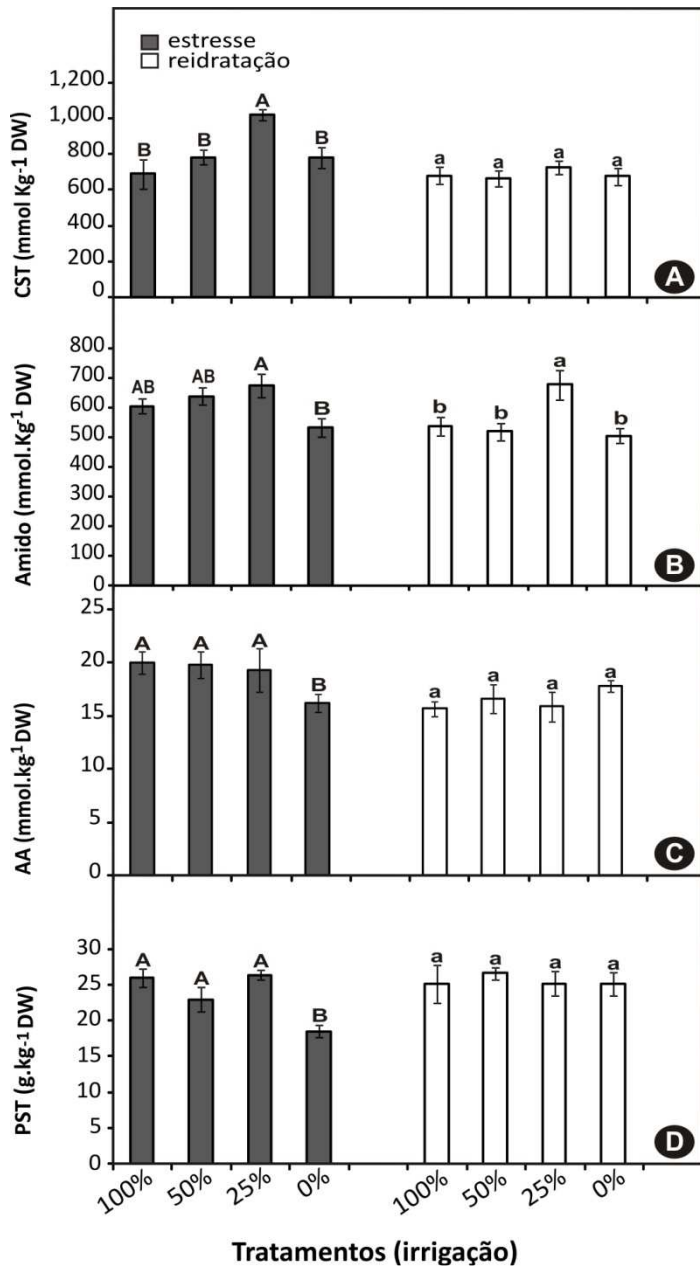


fig. 3.

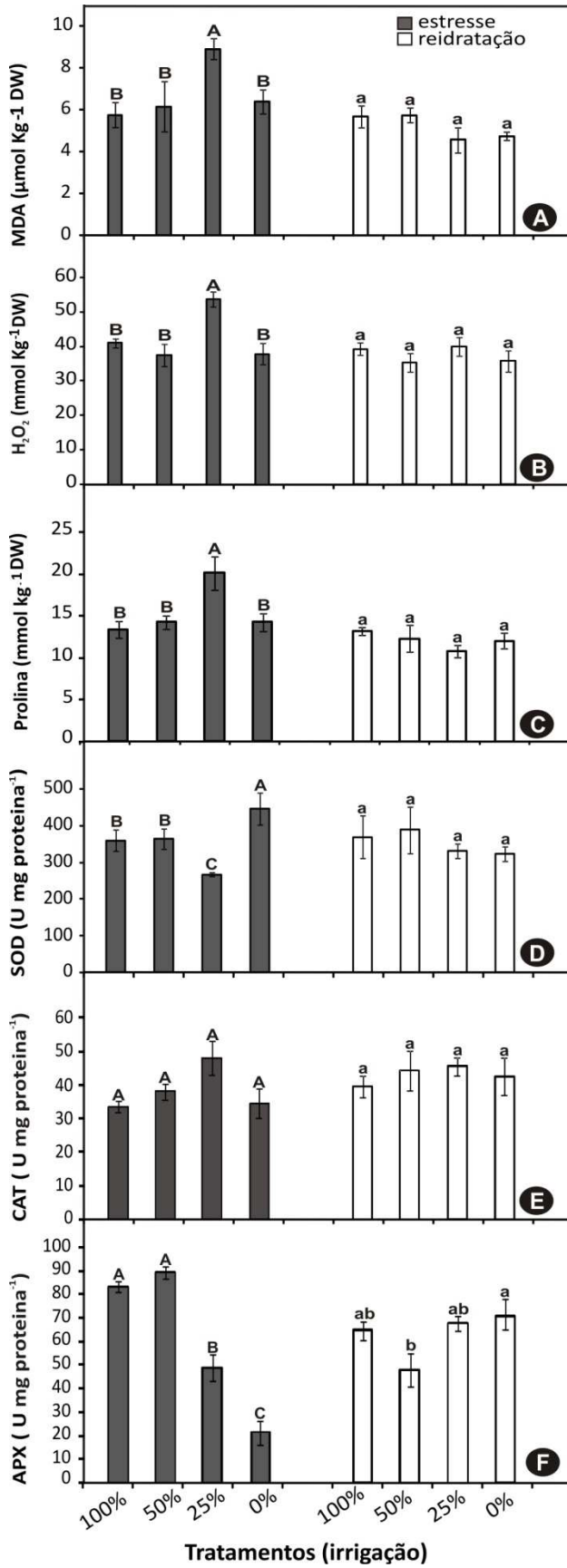


fig. 4

## Referências bibliográficas

- Alexieva, V., Sergiev, I., Mapelli, S., Karanov, E. 2001. The effect of drought and ultraviolet radiation on growth and stress markers in pea and wheat. *Plant Cell Environ.*, 24 1337–1344.
- Almeida Jr., E. B., Olivo M. A., Araujo E. L., Zickel C. S. 2009. Caracterização da vegetação de restinga da RPPN de Maracáípe, PE, Brasil, com base na fisionomia, flora, nutrientes do solo e lençol freático. *Acta bot. Bras.*, 23 36-48. doi: 10.1590/S0102-33062009000100005.
- Ayres, M., Ayres Júnior, M., Ayres, D.L., Santos, A.A., 2007. BIOESTAT – Aplicações estatísticas nas áreas das ciências biomédicas. Ong Mamiraua. Belém, PA.
- Bondada, B.R. & Syvertsen, J.P., 2005. Concurrent changes in net CO<sub>2</sub> assimilation and chloroplast ultrastructure in nitrogen deficient citrus leaves. *Environ Exp Bot.*, 54 41-48. doi:10.1016 / j.envexpbot.2004.05.005.
- Bates, L.S., Waldren, R.P., Teare, I.D., 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. *Plant Soil.*, 39 205–207. doi: 10.1007/BF00018060.
- Bradford, M.M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.*, 72 248-254. doi:10.1016/0003-2697(76)90527-3.
- Cakmak, I. & Horst, J., 1991. Effect of aluminium on lipid peroxidation, superoxide dismutase, catalase, and peroxidase activities in root tips of soybean (*Glycine max*). *Plant Physiol.*, 83463-468. doi:10.1111/j.1399-3054.1991.tb00121.x.
- Carvalho, R.C., Cunha, A., Silva, J.M., 2011. Photosynthesis by six Portuguese maize cultivars during drought stress and recovery. *Acta Physiol Plant.*, 33 359-374. doi:10.1007/s11738-010-0555-1.
- Chaves, M. & Oliveira, M., 2004. Mechanisms underlying plant resilience to water deficits: prospects for water-saving agriculture. *J Exp Bot.*, 55 2365-2384. doi:10.1093/jxb/erh269.
- Da Matta. F.M, 2003. Drought as a multidimensional stress affecting photosynthesis in tropical tree crops, in Hemantaranjan, A. (Ed.), *Advances in Plant Physiology* 5 edition Scientific Publishers, Jodhpur, pp. 227–265.
- Dunford, S., 2010. Translocation in the Phloem, in: Taiz, L., Zeiger, E. (Eds.), *Plant Physiology*, 5<sup>th</sup> edition. Sinauer Associates Inc., Sunderland, Massachusetts, pp 271-303.
- Dubois, M., Gilles, K.A., Hamilton, J.K., Reders, P.A., Smith, F., 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Anal Chem.*, 28 350-356. doi: 10.1021/ac60111a017.



- Ende, W.V. & El-ESawe, S.K. 2014. Sucrose signaling pathways leading to fructan and anthocyanin accumulation: A dual function in abiotic and biotic stress responses? *Env. Exp. Bot.*, 108 4–13. doi:10.1016/j.envexpbot.2013.09.017.
- Flexas, J., Bota, J., Loreto, F., Cornic, G., Sharkey, T.D., 2004. Diffusive and metabolic limitations to photosynthesis under drought and salinity in C3 plants. *Plant Biology* 6, 1–11. doi:10.1055/s-2004-820867.
- Folker, C., Walker, B., Scheffer, M., Elmqvist, T., Guderson, L. Holling, C.S. 2004. Regime shifts, resilience, and biodiversity in ecosystem management. *Annual Rev Ecol Evol Systematics* 35, 557-581.
- Frosi, G., Oliveira, M.T., Almeida-Cortez, J., Santos, M.G. 2013. Ecophysiological performance of *Calotropis procera*: an exotic and evergreen species in Caatinga, Brazilian semi-arid. *Acta Physiol Plant*, 35 335–344. doi:10.1007 / x.-s11738-012-1076.
- Galle, A., Florez-Sarasa, I., Aououad, H.E., Flexas, J., 2011. The mediterranean evergreen *Quercus ilex* and the semi-deciduous *Cistus albidus* differ in their leaf gas exchange regulation and acclimation to repeated drought and rewatering cycles. *J Exp. Bot.*, 62 5207-5216. doi:10.1093/jxb/err233.
- Giannopolitis, C.N & Ries, S.K., 1977. Superoxide dismutases: occurrence in higher plants. *Plant Physiology*, 59 309-314. doi:10.1104/pp.59.2.309.
- Gill, S.S., Tuteja, N., 2010. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant Physiol.*, 48 909-930. doi:10.1016/j.plaphy.2010.08.016.
- Gonçalves, E. R., Ferreira, V. M., Silva, J. V., Endres, L., Barbosa, T. P. Duarte, W. G. 2010. Trocas gasosas e fluorescência da clorofila a em variedades de cana-de-açúcar submetidas à deficiência hídrica. *Rev. Bras. Eng. Agrícola e Ambiental*, 14 378–386.
- Hayat, S., Hayat, Q., Alyemeni, M. N., Wani, A.S., Pichtel, J., Ahmad, A. 2012. Role of proline under changing environments. A review. *Plant Sig Behavior*, 7 1–11. doi: 10.4161/psb.21949.
- IUCN – disponível em: <http://www.iucnredlist.org/apps/redlist/search>, acessado em 10/09/2014.
- Keunen, E., Peshev, D., Vangronsveld, J., Ende, WVD., Cuypers, A. 2013. Plant sugars are crucial players in the oxidative challenge during abiotic stress: extending the traditional concept. *Plant, Cell & Environment* 36 1242–1255. doi:10.1111/pce.12061.
- Köşkeroglu, S. & Tuna, A. L., 2010. The investigation on accumulation levels of proline and stress parameters of the maize (*Zea mays* L.) plants under salt and water stress. *Acta Physiol Plant*, 32 541–549. doi:10.1007/s11738-009-0431-z.

- Krause, G.H. & Weis, E. 1991. Chlorophyll fluorescence and photosynthesis: the basics. Annual Review Plant Physiology. Plant Molecular Biology, 42 313-349. doi:10.1146/annurev.pp.42.060191.001525.
- Lassouane, N., Aïd, F., Lutts, S., 2013. Water stress impact on young seedling growth of *Acacia arabica*. Acta Physiol Plant., 35 2157–2169. doi:10.1007 / s11738-013-1252-7.
- Lichtenthaler, H. K., Buschmann, C. 2001. Chlorophylls and carotenoids: measurement and characterization by UV-VIS spectroscopy. Current Protocols in Food Analytical Chemistry F4.3: 1–8. doi:10.1002/0471142913.faf0403s01.
- Lorenzi, H., 1998. Árvores Brasileiras: Manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil. Nova Odessa. Plantarum, 352p.
- Mafakheri, A., Siosemardeh, A., Bahramnejad, B., Struik, P.C., Sohrabi, E. 2010. Effect of drought stress on yield, proline and chlorophyll contents in three chickpea cultivars. A J Croup Scienc., 4 580-585.
- Moore, S., Stein, W.H. 1954. A modified ninhydrin reagent for the photometric determination of amino acids and related compounds. J Biol Chem 221, 907-913. doi: 10.1021 / ac60139a005.
- Oliveira, M.T., Matzek, V., Dias, C.M., Rivas, R., Marinho, F.H., Santos, M.G. 2014a. Stress tolerance and ecophysiological ability of an invader and a native species in a seasonally dry tropical forest. PLoS ONE 9, e105514. doi:10.1371/journal.pone.0105514.
- Oliveira, M.T., Dias, C.M., Frosi, G., Santos, M.G. 2014b. Different mechanisms drive the performance of native and invasive woody species in response to leaf phosphorus supply during periods of drought stress and recovery Plant Physiol. Biochem, 82 66-75 doi:10.1016/j.plaphy.2014.05.006.
- Oliveira Filho, A.T. e Carvalho, D.A. 1993. Florística e fisionomia da vegetação no extremo norte do litoral da Paraíba. Rev. Bras. Botany, 16 115-130.
- Pompelli, M.F., Barata-Luís, R., Vitorino, H., Gonçalves, E., Rolim, E., Santos, M., Almeida-Cortez, J., Endres, L., 2010. Photosynthesis, photoprotection and antioxidant activity of purging nut under drought deficit and recovery. Biomass Bioenerg, 34 1207-1215. doi:10.1016/j.biombioe.2010.03.011.
- Rivas, R., Oliveira, M. T., Santos, M.G., 2013. Three cycles of water deficit from seed to young plants of *Moringa oleifera* woody species improves stress tolerance. J Plant Physiology, 63 200-208. doi:10.1016/j.plaphy.2012.11.026.
- Souza, B.D., Meiado, M.V., Rodrigues, B.M., Santos, M.G., 2010. Water relations and chlorophyll fluorescence responses of two leguminous trees from the caatinga to different watering regimes. Acta Physiol Plant., 32 235-244. doi:10.1007/s11738-009-0394-0.

- Tagiba, S.D., Pezzopane, J.E.M., 2007. Cinética de Emissão de fluorescência das clorofilas em dois clones de *Eucalyptus*. Rev. Cient. Eng. Florestal, 9 1-14.
- Willadino, L., Oliveira Filho, R. A., Silva Junior, E. A., Gouveia Neto, A., Câmara, T. R., 2011. Estresse salino em variedades de cana-de-açúcar: enzimas do sistema antioxidativo e fluorescência da clorofila. Rev. Ciência Agronômica: 42 417-422. doi:<http://dx.doi.org/10.1590/S1806-66902011000200022>.
- Yang, Y., Liu, Q., Han, C., Qiao, Y.Z., Yao, X.Q., Yin, H.J., 2007. Influence of water stress and low irradiance on morphological and physiological characteristics of *Picea asperata* seedlings. Photosynthetica, 45 613-619. doi:10.1007 / s11099-007-0106-1.