

MARTA RIBEIRO BARBOSA

ESTRATÉGIAS FISIOLÓGICAS À RESTRIÇÃO HÍDRICA DE *Cnidoscolus quercifolius* Pohl COM E SEM TRICOMAS

RECIFE

2017

MARTA RIBEIRO BARBOSA

ESTRATÉGIAS FISIOLÓGICAS À RESTRIÇÃO HÍDRICA DE *Cnidoscolus quercifolius* Pohl COM E SEM TRICOMAS

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia - Melhoramento Genético de Plantas - Universidade Federal Rural de Pernambuco, como parte dos requisitos para obtenção do título de doutora em Agronomia: área de concentração Melhoramento Genético de Plantas.

Orientadora: Dra. Terezinha Rangel Camara

Coorientadora: Dra. Cláudia Ulisses de Carvalho Silva

RECIFE

2017

Ficha catalográfica

B238e Barbosa, Marta Ribeiro
 Estratégias fisiológicas à restrição hídrica de *Cnidoscolus quercifolius* Pohl
 com e sem tricomas / Marta Ribeiro Barbosa. – 2017.
 86 f. : il.

 Orientadora: Terezinha Rangel Camara.

 Coorientadora: Cláudia Ulisses de Carvalho Silva.

 Tese (Doutorado) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Programa
 de Pós-Graduação em Agronomia – Melhoramento Genético de Plantas, Recife,
 BR-PE, 2017.

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

 1. Ajustamento osmótico 2. Enzimas antioxidantes 3. Faveleira
 I. Camara, Terezinha Rangel, orient. II. Silva, Cláudia Ulisses de
 Carvalho, coorient. III. Título

CDD 581.1

MARTA RIBEIRO BARBOSA

ESTRATÉGIAS FISIOLÓGICAS À RESTRIÇÃO HÍDRICA DE *Cnidocolus quercifolius* Pohl COM E SEM TRICOMAS

Tese defendida e aprovada pela banca examinadora em 25/07/2017

Orientadora:

Dra. Terezinha Rangel Camara

Professora do Departamento de Química - UFRPE

Dra. Cynthia Cavalcanti de Albuquerque

Professora do Departamento de Biologia - UERN

Dra. Isabelle Maria Jaqueline Meunier

Professora do Departamento de Ciências Florestais - UFRPE

Dra. Marciana Bizerra de Moraes

Departamento de Genética - UFPE

Dr. Péricles de Albuquerque Melo Filho

Professor do Departamento de Agronomia – UFRPE

“Aqueles que passam por nós não vão sós. Deixam um pouco de si, levam um pouco de nós.”
Antoine de Saint-Exupéry

“Feliz aquele que transfere o que sabe e aprende o que ensina.”
Cora Coralina

*A todos os que contribuíram para
o meu crescimento pessoal e
profissional de alguma maneira.*

Dedico

AGRADECIMENTOS

À minha querida família, meus irmãos e meu pai pela base tanto na educação como por me ensinar a amar e respeitar. Por toda a união, carinho, aconchego e alegria.

À Profa. Terezinha Câmara pelas orientações e inestimáveis contribuições científicas, as quais foram de valor incontestável para o meu crescimento profissional. Pelo direcionamento e apoio durante a realização desta pesquisa e pelo suporte diante das dificuldades surgidas no percurso.

À Profa. Lilia Willadino a qual sempre agradecerei pelo incentivo, apoio e ensinamentos transmitidos desde a minha graduação, os quais muito contribuem para a minha formação profissional e crescimento pessoal.

À Profa. Cláudia Ulisses, pela amizade, contribuições científicas e direcionamentos. Por me apoiar e estar sempre prestes a me ajudar.

Ao Prof. Olaf Bakker por ter me recebido com muita atenção, me orientado nas coletas das sementes utilizadas nesta pesquisa e por ter também disponibilizado algumas dessas sementes.

À Wellington e Lindomar pelo grande apoio com as análises no Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais e pela grande amizade.

Aos amigos do grupo LCTV (Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais), os que já passaram por lá e os que estiveram presentes durante o período que estive trabalhando no laboratório: Lind, Godo (Rodolfo), Mima, Nat, Marci, Neto, Mayana, Ronald, Rafa, Igor, Well e as professoras. Por essa boa convivência e amizade, companheirismo e espírito de colaboração. Agradeço com muita alegria por participar do convívio dessa “grande família”.

À Danilo do Laboratório de Solos pelo apoio técnico com as análises de potencial osmótico.

A todos os meus amigos, pelos momentos de descontração, apoio moral e compreensão dos momentos que fui ausente, por sempre torcerem pela vitória em todos os desafios da minha vida.

A todos os que colaboraram direta ou indiretamente para a realização deste doutorado.

MUITO OBRIGADA!!

RESUMO

A faveleira é uma arbórea, pioneira exclusiva das matas xerófilas do Nordeste brasileiro e devido as suas características de resistência a seca e seus múltiplos usos pelas comunidades do semiárido nordestino, a espécie é indicada para plantios em lavouras xerófilas. A espécie possui tricomas urticantes que dificultam seu manuseio, mas, poucos indivíduos sem tricomas ocorrem na natureza e podem ser utilizados para a melhor exploração dos potenciais da espécie. Os mecanismos de tolerância utilizados pela faveleira têm sido alvo de pesquisas e geram informações importantes para programas de melhoramento. O objetivo desta pesquisa foi avaliar respostas adaptativas de tolerância, sobretudo o ajustamento osmótico ocasionado pelo acúmulo de solutos compatíveis e as alterações dos sistemas de defesa antioxidante em plantas de faveleira com e sem tricomas submetidas ao déficit hídrico. Para tanto, foram consideradas duas abordagens: o efeito de solutos compatíveis e as respostas das plantas ao estresse oxidativo durante o crescimento inicial. O experimento foi realizado em casa de vegetação na UFRPE. Mudanças de faveleira com e sem tricomas foram cultivadas sob dois regimes hídricos: rega a 80% da capacidade de pote (controle - C) até 105 dias e suspensão de rega (SR) até 60 dias com posterior reposição de rega a 80% da capacidade de pote até o 105º dia após início dos tratamentos. O delineamento estatístico foi inteiramente casualizado em arranjo fatorial 2 x 2 (dois fenótipos e dois regimes hídricos). Na primeira abordagem foram avaliados altura da planta, diâmetro do coleto e número de folhas emitidas a cada 15 dias e calculada a taxa de crescimento absoluto (TCA). Nesta pesquisa, para averiguar o acúmulo de solutos compatíveis e seus efeitos, aos 60 e 105 dias foram avaliados potencial osmótico (Ψ_s) e teores dos solutos compatíveis, carboidratos solúveis totais, sacarose, prolina e glicina betaína. O déficit hídrico provocou redução no crescimento. A suspensão da rega provocou também a diminuição da emissão de folhas, a qual demonstrou ser a variável mais sensível aos efeitos do déficit hídrico. A faveleira adotou como estratégia de tolerância o ajuste osmótico, o que foi evidenciado pela diminuição do Ψ_s e elevação do acúmulo de solutos compatíveis no tratamento SR. A espécie demonstrou ser acumuladora de glicina betaína, uma vez que foi observado o acúmulo do composto nas plantas expostas ao déficit hídrico. Para os estudos acerca do estresse oxidativo, foram avaliadas biomassa seca da parte aérea e das raízes, teor relativo de água (TRA), percentagem de extravasamento de eletrólitos (EE), percentual de integridade absoluta de membrana (PIA), teores dos pigmentos fotossintetizantes, clorofilas "a" (C_{loa}) e "b" (C_{lob}) e carotenóides (Car), teor de malondialdeído (MDA), teor de peróxido de hidrogênio (H₂O₂) e as atividades das enzimas superóxido dismutase (SOD), ascorbato peroxidase (APX) e catalase (CAT). O decréscimo nas relações C_{loa}/b, no TRA e no PIA e elevação no EE e nos teores de H₂O₂ e MDA indicaram a ocorrência de estresse oxidativo nas plantas expostas ao déficit hídrico. A elevação nos teores de carotenóides e nas atividades enzimáticas da SOD, APX e CAT nas plantas sob estresse hídrico demonstram a ativação da defesa contra o estresse oxidativo nestas plantas. A utilização do ajustamento osmótico através do acúmulo de solutos compatíveis e a ativação dos sistemas de defesa antioxidantes não enzimáticos e enzimáticos foram estratégias adotadas pela faveleira como estratégias de tolerância ao estresse hídrico independente da presença de tricomas na espécie.

Palavras-chave: Ajustamento osmótico, Enzimas antioxidantes, Faveleira

ABSTRACT

Faveleira is an arboreal species, an exclusive pioneer of the xerophilous forests of Brazilian Northeast. Due to its characteristics of resistance to drought and multiple uses by communities of the northeastern semi-arid region, the species is indicated for plantations in xerophilous cultivation. The faveleira has stinging trichomes that hinder its handling, but few individuals without trichomes occur in nature and can be used to better exploit the species' potentials. The tolerance mechanisms used by the faveleira have been the subject of researches that generate important information for breeding programs. Thus, the aim of this research was to evaluate adaptive tolerance responses, mainly the osmotic adjustment caused by the accumulation of compatible solutes and the alterations of the antioxidant defense systems in faveleira plants with and without trichomes submitted to water deficit. For this, two approaches were considered using the two phenotypes: the effect of compatible solutes and the plant responses to oxidative stress during initial growth. The experiment was carried out in a greenhouse at UFRPE. Faveleira seedlings with and without trichomes were cultivated under two water regimes: watering at 80% of the pot capacity (C - control) up to 105 days and irrigation suspension (SR) until 60 days and later watering replacement at 80% of the pot capacity until the 105th day after starting the treatments. The statistical design was completely randomized in factorial arrangement (two phenotypes and two water regimes). The first approach was to evaluate plant height, stem diameter and number of leaves emitted every 15 days, and the absolute growth rate (TCA) was calculated. In this research, to evaluate the accumulation of compatible solutes and their effects, at 60 and 105 days, the osmotic potential (Ψ_s) and the contents of the compatible solvents total soluble carbohydrates, sucrose, proline and glycine betaine, were evaluated. The water deficit caused a reduction in growth. The suspension of irrigation also caused a decrease in leaf emission, which proved to be the most sensitive variable to the effects of the water deficit. The faveleira adopted as a tolerance strategy the osmotic adjustment which was indicated by decrease of Ψ_s and elevation of the accumulation of compatible solutes in the SR treatment. The species was shown to be glycine betaine accumulator, since the accumulation of the compound in plants exposed to the water deficit. For the studies on oxidative stress, dry shoot and root biomass, relative water content (TRA), percentage of electrolyte extravasation (% EE), percentage of absolute membrane integrity (PIA), pigment contents Photosynthesizers, chlorophyll a (Chla) and b (Chlb) and carotenoids (Car), malondialdehyde content (MDA), hydrogen peroxide (H_2O_2) content and enzyme activities superoxide dismutase (SOD), ascorbate peroxidase (APX) and catalase (CAT). The decrease in Cloa / b, TRA and PIA ratios and elevation of EE and H_2O_2 and MDA levels indicated the occurrence of oxidative stress in plants exposed to water deficit. The elevation carotenoids levels and in the enzymatic activities of SOD, APX and CAT in plants under water stress demonstrate the activation of the defense against oxidative stress in these plants. The use of osmotic adjustment through compatible solutes accumulation and activation of non enzymatic and enzymatic antioxidant defense systems were strategies adopted by faveleira as stress tolerance strategies independent of the presence of trichomes in the species.

Keywords: Osmotic adjustment, Antioxidant enzymes, Faveleira.

LISTA DE EQUAÇÕES

CAPÍTULO I – INTRODUÇÃO GERAL E REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Equação 1. Redução e oxidação do íon ferro na presença de superóxido e oxigênio reversivamente	30
Equação 2. Formação do radical hidroxila (OH^{\cdot}) pela reação de Fenton	30
Equação 3. Formação do radical hidroxila (OH^{\cdot}) pela reação de Haber-Weiss	30

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO I – INTRODUÇÃO GERAL E REVISÃO DE LITERATURA

- Figura 1.** Formação de ROS pela redução tetravalente do oxigênio molecular à água . 29
- Figura 2.** Representação esquemática da geração de ROS no fotossistema I e sua eliminação pelas enzimas SOD, APX e CAT e ciclo do ascorbato-glutationa. AsA – ascorbato; MDHA – monodeidroascorbato; DHA – deidroascorbato; DHAR – deidroascorbato redutase; GSH – glutationa reduzida; GSSG – glutationa oxidada; Fd – ferredoxina 31
- Figura 3.** Formação do H₂O₂ nos peroxissomos durante a fotorrespiração 32

CAPÍTULO II – CRESCIMENTO INICIAL E ACÚMULO DE SOLUTOS COMPATÍVEIS EM FAVELEIRA COM E SEM TRICOMAS SOB DÉFICIT HÍDRICO

- Figura 1.** Perfis médios de altura da planta (A), diâmetro do coleto (B) e número de folhas emitidas (C) em função dos tempos de avaliação em plantas de *Cnidoscolus quercifolius* Pohl submetidas a dois regimes hídricos (Controle = rega contínua; SR = suspensão de rega). A seta indica o início do retorno da rega no tratamento SR 50

CAPÍTULO III - RESPOSTAS ANTIOXIDATIVAS EM FAVELEIRA COM E SEM TRICOMAS SOB DÉFICIT HÍDRICO

- Figura 1.** Biomassa seca: parte aérea (A) e raízes (B) aos 60 dias após o início dos tratamentos; parte aérea (C) e raízes (D) aos 105 dias após o início dos tratamentos (45 dias após o retorno da rega) de mudas de *Cnidoscolus quercifolius* Pohl com e sem tricomas 66
- Figura 2.** Alocação de biomassa: parte aérea e raiz (A) aos 60 dias após o início dos tratamentos; parte aérea e raiz (B) aos 105 dias após o início dos tratamentos (45 dias após o retorno da rega) de mudas de *Cnidoscolus quercifolius* Pohl submetidas a dois regimes hídricos (controle e suspensão de rega) 67

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO II – CRESCIMENTO INICIAL E ACÚMULO DE SOLUTOS COMPATÍVEIS EM FAVELEIRA COM E SEM TRICOMAS SOB DÉFICIT HÍDRICO

Tabela 1. Médias quinzenais de altura da planta, diâmetro do coleto e número de folhas emitidas em plantas de *Cnidosc ulus quercifolius* Pohl submetidas a dois regimes hídricos (controle e suspensão de rega) 48

Tabela 2. Médias da taxa de crescimento absoluto (TCA) em diâmetro do coleto de plantas de *Cnidosc ulus quercifolius* Pohl (com e sem tricomas) após período de restrição hídrica 51

Tabela 3. Médias de potencial osmótico (Ψ_s) e teores de carboidratos solúveis totais (CST), sacarose (SAC), prolina livre (Pro) e glicina betaína (GB) de plantas de *Cnidosc ulus quercifolius* Pohl submetidas a dois regimes hídricos após períodos de estresse hídrico e de recuperação 52

CAPÍTULO III - RESPOSTAS ANTIOXIDATIVAS EM FAVELEIRA COM E SEM TRICOMAS SOB DÉFICIT HÍDRICO

Tabela 1. Médias do teor relativo de água (TRA), taxa de extravasamento de eletrólitos (EE) e percentual de integridade absoluta de membrana (PIA) em plantas de *Cnidosc ulus quercifolius* Pohl submetidas a dois regimes hídricos (controle e suspensão da rega) em dois períodos de avaliação (60 e 105 dias) 68

Tabela 2. Médias dos teores de clorofila “a” (C_{loa}), clorofila “b” (C_{lob}), clorofilas a+b (C_{loa+b}) e de carotenoides (Car) e relação entre as clorofilas “a” e “b” (C_{loa/b}) em plantas de *Cnidosc ulus quercifolius* Pohl, submetidas a dois regimes hídricos (controle e suspensão da rega) em dois períodos de avaliação (60 e 105 dias) 70

Tabela 3. Médias das atividades enzimáticas da superóxido dismutase (SOD), ascorbato peroxidase (APX) e catalase (CAT) e teores de peróxido de hidrogênio (H₂O₂) e de malondialdeído (MDA) em plantas de *Cnidosc ulus quercifolius* Pohl, submetidas a dois regimes hídricos (controle e suspensão da rega) em dois períodos de avaliação (60 e 105 dias) 72

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

- $^1\text{O}_2$ - Oxigênio singlete
2PG - 2-fosfoglicolato
 $^3\text{Chl}^*$ - Clorofila tripleto
ABA - Ácido abcísico
APX - Ascorbato peroxidase
AsA - Ácido ascórbico
Car – Carotenóides
CAT - Catalase
Cloa – Clorofila a
Clob – Clorofila b
Clob – Relação entre as clorofilas “a” e “b”
CST – Carboidratos solúveis totais
DHA - deidroascorbato
DHAR - deidroascorbato redutase
EE - extravasamento de eletrólitos
EUA - Eficiência no uso da água
Fd - ferredoxina
GB - Glicina betaína
GR - Glutathione redutase
GSH - Glutathione
GSH - glutathione reduzida
GSSG - glutathione oxidada
 H_2O_2 - Peróxido de hidrogênio
 HO^\bullet - Radical hidroxila
 K_M - Michaelis-Menten
MDA - Malondialdeído
MDHA - monodeidroascorbato
MPa – Mega pascal
 NADP^+ - Nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato
NADPH - Nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato reduzida
NBT - Nitro blue tetrazolium
 O_2^\bullet - Radical superóxido
P5CS - *Pirrolina-5-carboxilato sintetase*

P5CSI - Genes que codifica a enzima *pirrolina-5-carboxilato sintetase*

P5CS2 - Genes que codifica a enzima *pirrolina-5-carboxilato sintetase*

PIA – Percentual de integridade absoluta de membrana

Pro – Prolina

PS – fotosistema

PS5 - *Pirrolina-5-carboxilato*

PSI – Fotossistema um

PSII – Fotossistema dois

RFA - Radiação fotossinteticamente ativa

ROS - Espécies reativas de oxigênio

SAC – Sacarose

SOD - Superóxido dismutase

TBA – Tiobarbitúrico

TCA - Taxa de crescimento absoluto

TCA - Ácido tricloroacético

TRA - Teor relativo de água

Ψ_s - Potencial osmótico

SUMÁRIO

CAPÍTULO I	15
1 INTRODUÇÃO GERAL	16
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	18
2.1 Características botânicas e importância socioeconômica da faveleira	18
2.2 Estratégias de tolerância ao estresse hídrico em plantas	20
2.3 Estresse oxidativo por seca em plantas	28
3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	33
CAPÍTULO II	40
Crescimento inicial e acúmulo de solutos compatíveis em faveleira com e sem tricomas sob déficit hídrico	41
RESUMO	42
ABSTRACT	43
INTRODUÇÃO	44
MATERIAL E MÉTODOS	45
RESULTADOS E DISCUSSÃO	47
CONCLUSÕES	54
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	54
CAPÍTULO III	58
Respostas antioxidativas em faveleira com e sem tricomas sob déficit hídrico	59
RESUMO	60
ABSTRACT	61
INTRODUÇÃO	62
MATERIAL E MÉTODOS	63
RESULTADOS E DISCUSSÃO	66
CONCLUSÕES	74
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	74
ANEXO	79
INSTRUÇÕES PARA SUBMISSÃO DOS ARTIGOS PARA A REVISTA CAATINGA	80

CAPÍTULO I

INTRODUÇÃO GERAL E REVISÃO DE LITERATURA

1 INTRODUÇÃO GERAL

Cnidoscolus quercifolius Pohl é uma Euphorbiacea arbórea xerófita, pioneira e de rápido crescimento capaz de vegetar em solos secos, sob baixos índices pluviométricos por longos períodos e está frequentemente exposta a fortes irradiações em ambientes semiáridos (DUQUE, 2004; MELO; SALES, 2008). A faveleira, como é conhecida em quase todo o Nordeste brasileiro, representa grande potencial econômico, social e ecológico para a região semiárida, onde se destaca por sua multiplicidade de usos. Neste contexto, a espécie apresenta potencial etnomedicinal, energético (BELTRÃO; OLIVEIRA, 2007; MELO-BATISTA; OLIVEIRA, 2014), alimentício e forrageiro (BELTRÃO; OLIVEIRA, 2007; SOUZA et al., 2012).

A presença de tricomas urticantes na faveleira pode dificultar o manuseio e a utilização da sua matéria fresca como forragem, limitando a exploração dos seus potenciais (MELO; SALES, 2008). Alguns indivíduos sem tricomas, entretanto, são encontrados em baixa frequência em populações nativas e podem favorecer a exploração dos potenciais da espécie. Nesta perspectiva, a introdução da faveleira com e sem tricomas como lavoura xerófila e o aumento da frequência gênica do caráter sem tricomas são apontados como alternativas para a melhor exploração do potencial agrônômico da espécie (CANDEIA et al., 2010; ALOUFA MEDEIROS et al., 2016) e para a sua inserção em programas de melhoramento de plantas é importante que se tenha o conhecimento a respeito das estratégias utilizadas pela espécie frente à escassez hídrica.

Devido à importância da faveleira, algumas pesquisas têm sido realizadas na tentativa de ampliar os conhecimentos acerca das estratégias de tolerância utilizadas pela espécie (SILVA et al. 2005; ARRIEL et al. 2006; OLIVEIRA et al. 2014; MEDEIROS et al. 2013). O interesse pelas vantagens da faveleira sem tricomas também têm incentivado a realização de pesquisas envolvendo esse fenótipo (VIANA; CARNEIRO, 1991; RIBEIRO-FILHO et al. 2007; SALES et al. 2008; CANDEIA et al. 2010; CAVALCANTE; BORA, 2010; CAVALCANTI et al. 2011; OLIVEIRA et al. 2012). No entanto, as pesquisas sobre a tolerância da faveleira ao estresse, principalmente a do fenótipo sem tricomas ainda são escassas.

Na região semiárida brasileira, as condições climáticas são representadas pelo clima tropical seco, onde a evaporação excede a precipitação e ocorrem chuvas sazonais em baixa frequência e curtos períodos em anos alternados. Esses fatores promovem à baixa disponibilidade hídrica na região e têm sido agravados pelas mudanças climáticas decorrentes do acúmulo de gases de efeito estufa na atmosfera. Contudo, a vegetação predominante neste ambiente possui características adaptativas de tolerância à seca e apresentam alto grau de xerofitismo (FRANCISCO, 2013; SILVA et al., 2014; MORAIS et al., 2015; FELLER, 2016).

Os mecanismos de tolerância ao estresse em plantas envolvem modificações tanto no desenvolvimento e nas taxas de crescimento, como respostas fisiológicas das plantas e culminam em alterações no metabolismo celular. A produção de compostos osmorreguladores é um exemplo de resposta fisiológica que envolve alterações bioquímicas no metabolismo celular de plantas expostas ao estresse. Um dos mecanismos fisiológicos mais eficazes no enfrentamento de plantas ao estresse hídrico, o ajustamento osmótico ocorre através do acúmulo de solutos compatíveis com o metabolismo celular tais como açúcares solúveis, prolina, glicina betaína, entre outros. Este processo evita a perda de água por aumentar o potencial osmótico da célula, promovendo assim, a homeostase osmótica (WANI et al., 2013; VAN-DEN-ENDE; EL-ESAWI, 2014; SAMI et al., 2016).

Além da osmorregulação, os solutos compatíveis podem exercer outras funções como é o caso da glicina betaína a qual apresenta função de proteção de membranas e de macromoléculas e na defesa contra o estresse oxidativo (GIRI, 2011; ROYCHOUDHURY; BANERJEE, 2016). Neste sentido, algumas plantas são classificadas como acumuladoras de glicina betaína como característica de tolerância a estresses abióticos (WANI et al., 2013). A prolina também exerce outras funções envolvidas com a tolerância ao estresse hídrico, como estabilidade de estruturas protéicas e eliminação de radicais livres (HOSSAIN; et al., 2014 ; KISHOR et al., 2015; KHAN et al., 2015; DAWOOD, 2016).

A exposição de plantas ao déficit hídrico pode resultar em perturbações em componentes celulares, as quais são provocadas pelo desequilíbrio entre a geração de espécies reativas de oxigênio (ROS) e a produção de compostos antioxidantes. ROS como oxigênio singlete (1O_2), radical superóxido ($O_2^{\cdot-}$), peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e radical hidroxila (HO^{\cdot}), são capazes de provocar estresse oxidativo, o qual caracteriza-se por danos oxidativos em macromoléculas e estruturas celulares (CAVERZAN et al., 2016).

Para evitar ocorrências de danos oxidativos, as plantas são capazes de ativar o sistema de defesa enzimático através de alterações nas atividades de enzimas como superóxido dismutase (SOD, EC 1.15.1.1), catalase (CAT, EC 1.11.1.6), ascorbato peroxidase (APX, EC 1.11.1.1), glutatona redutase (GR, EC 1.6.4.2), as peroxidases (POD, EC 1.11.1) e não enzimático pela regulação de compostos como glutatona (GSH), ácido ascórbico (AsA), α -tocoferol (vitamina E), carotenóides entre outros (SOFO, et al., 2015; CAVERZAN et al., 2016). Assim, os níveis de produtos do estresse oxidativo como MDA e a avaliação do balanço entre os níveis de ROS e as atividades das enzimas do sistema antioxidante representam importante ferramenta para entender as resposta das plantas em defesa do estresse oxidativo. Diante do exposto, esta pesquisa teve como objetivo avaliar respostas adaptativas de tolerância, sobretudo o ajustamento osmótico ocasionado pelo acúmulo de solutos compatíveis e as alterações dos sistemas de defesa antioxidante, em plantas de faveleira com e sem tricomas submetidas ao déficit hídrico.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Características botânicas e importância socioeconômica da faveleira

C. quercifolius Pohl pertence à família Euphorbiaceae, subfamília Crotonoideae e gênero *Cnidoscolus*, o qual possui número de cromossomos $n = 18$ ou $2n = 36$ (MELO; SALES, 2008). Conhecida como faveleira em grande parte do Nordeste, é uma espécie monóica e apresenta protoginia, um tipo de dicogamia que dificulta a autopolinização, o que a leva a ser considerada preferencialmente alógama, embora possa conservar certo grau de autocompatibilidade (SILVA et al., 2006). A inflorescência é do tipo cimeiras axilares com flores brancas e o fruto, do tipo cápsula tricoca, é deiscente e recoberto por tricomas urticantes (MEDEIROS, 2013).

A faveleira pode apresentar-se como arbusto, arvoreta ou árvore e chega a alcançar entre 8 a 12 m de altura. É uma espécie decídua, heliófila, seletiva higrófila, pioneira e exclusiva das matas xerófitas do Nordeste brasileiro, onde ocorre com elevada frequência e irregular dispersão e consegue vegetar em áreas de solo seco, pedregoso e sem húmos, em condições pluviométricas abaixo de 600 mm anuais de precipitação e exposta a fortes irradiações (DUQUE, 2004; MEDEIROS, 2013). Sua distribuição geográfica abrange os estados do Piauí, Ceará, Rio Grande do Norte, Paraíba, Pernambuco, Alagoas, Sergipe e Bahia (MELO; SALES, 2008).

Dotada de grande resistência à seca, dentre outras espécies da Caatinga, a faveleira é indicada para plantios em lavouras xerófilas, por possuir características como acúmulo de reservas, sobrevivência aos anos de escassez hídrica e ainda assim, apresentar safras contínuas (DUQUE, 2004). Em plantios realizados em áreas caracterizadas por altas intensidades de aridez em meio à Caatinga, Medeiros (2013) ressalta a viabilidade da espécie para repovoamento de áreas degradadas com fins econômicos.

O bioma Caatinga foi apontado pelo MMA (Ministério do Meio Ambiente) como área prioritária para a conservação da biodiversidade. O nível de prioridade foi considerado com base em três critérios de importância: social, econômico e ambiental. O órgão deu ênfase à necessidade do uso sustentável do bioma, onde algumas espécies estão listadas como alvo. Neste contexto, a faveleira está inserida como uma das espécies de alta prioridade, embora muitas vezes o potencial que a espécie oferece não seja bem aproveitado (PAREYN, 2010). Assim, o aproveitamento dos potenciais socioeconômicos e ambientais da espécie é apontado como estratégia para promover o desenvolvimento sustentável do semiárido do Nordeste brasileiro (ALOUFA; MEDEIROS, 2016).

As espécies da família Euphorbiaceae estão entre as utilizadas com mais frequência pelas comunidades na região semiárida brasileira e destacam-se tanto pelos seus múltiplos usos como pela quantidade de espécies utilizadas, incluindo as do gênero *Cnidoscolus* (CREPALDI, et al., 2016). Neste cenário, a faveleira está inserida por apresentar potencial etnomedicinal, energético, alimentício e forrageiro, além de ser utilizada em construções residenciais e como matéria prima para produção de biodiesel (BELTRÃO; OLIVEIRA, 2007; FERRAZ et al., 2012; SOUZA, et al., 2012; MELO-BATISTA; OLIVEIRA, 2014). A faveleira apresenta riqueza nutricional caracterizada por altos valores proteicos e minerais em várias partes da planta. As sementes, além de apresentarem riqueza proteica e nutricional, também são ricas em carboidratos e delas é extraído um óleo comestível com propriedades comparadas com as do azeite de oliva (CAVALCANTI et al., 2009; CAVALCANTI; BORA, 2010; RIBEIRO-FILHO, et al., 2011).

Apesar dos múltiplos usos pelas comunidades do semiárido brasileiro, a faveleira possui uma característica indesejável que é a presença de tricomas urticantes. Localizados em quase todas as partes vegetativas e florais, os tricomas provocam fortes dores quando entram em contato com a pele, podendo causar urticárias e até desmaios (MELO; SALES, 2008). Nessas estruturas estão presentes também substâncias antinutricionais que limitam o uso da matéria fresca da faveleira como forragem (CANDEIA, et al, 2010). Assim, a ausência de tricomas pode facilitar o manuseio da planta possibilitando sua melhor utilização e consumo.

Na natureza são encontrados alguns exemplares de faveleira sem tricomas, mas em baixa frequência. Estes indivíduos podem ser aproveitados para a introdução da cultura através de programas de melhoramento visando o aumento da frequência do caráter sem tricomas em populações de polinização aberta. Neste sentido, plantas de faveleira sem tricomas são indicadas para serem cultivadas isoladamente nessas populações, com o intuito de obter sementes melhoradas para a ausência do caráter tricomas. As progênies dessas populações podem ser utilizadas em programas de melhoramento para o aproveitamento de outras características e para ampliar o potencial sócio-econômico da cultura através do seu aproveitamento agrícola (CANDEIA et al., 2010; ALOUFA; MEDEIROS, 2016).

Programas de melhoramento empregados em populações de cruzamento aberto, objetivando o aumento da frequência gênica de caracteres de interesse, impulsionam a elevação da homozigose nas progênies, podendo gerar depressão endogâmica, fenômeno que compromete o desempenho fisiológico em plantas. A depressão endogâmica é caracterizada pela perda de vigor de descendentes, ocasionada pelo cruzamento entre parentais estreitamente relacionados e pode ocorrer por duas vias, ambas envolvidas com o aumento nos níveis de homozigidade: elevação do número de alelos recessivos deletérios e

BARBOSA, M.R. Estratégias fisiológicas à restrição hídrica de *Cnidoscolus quercifolius*... 20
diminuição de alelos que expressam vantagens heterozigóticas (CHARLESWORTH;
WILLIS, 2009).

Algumas pesquisas têm voltado a atenção para o entendimento da tolerância da faveleira ao estresses hídrico e têm sido direcionada para auxiliar programas de melhoramento da espécie. Em estudo acerca da tolerância ao estresse hídrico e divergência genética de faveleira, Arriel et al., (2006) constataram que a redução na disponibilidade hídrica afetou negativamente todos os caracteres de crescimento, e que estes contribuem pouco para a divergência entre famílias de faveleira frente ao estresse. Oliveira et al. (2014), avaliando a eficiência fotoquímica do fotossistema II e potencial hídrico em faveleira em períodos chuvosos e secos na Caatinga, atrelaram o ajustamento osmótico utilizado pela espécie para minimizar os efeitos da seca aos menores valores do potencial hídrico. Em investigação realizada por Medeiros et al. (2013) acerca de estratégias de tolerância à seca em faveleira, foi enfatizada a resistência da espécie à intempéries do ambiente semiárido, devido a sua capacidade de recuperar-se rapidamente mediante a ocorrência de baixos índices pluviométricos após períodos de seca severa.

2.2 Estratégias de tolerância ao estresse hídrico em plantas

O estresse biológico é de definição ainda complexa na literatura. Lichtenthaler (1998) refere-se ao termo “estresse” como uma disfunção no metabolismo, crescimento e desenvolvimento de plantas, ocorrida por uma condição desfavorável provocada por fatores naturais ou antropogênicos. Já Vince e Zoltán (2011) consideram o estresse um efeito adverso na fisiologia ou uma disfunção metabólica da planta, provocado por mudanças repentinas na condição ambiental ótima, o que pode chegar a provocar uma perturbação na homeostase celular.

O desvio de determinada condição ótima pode também não resultar em estresse. Segundo Soni et al. (2014), o estresse pode ser visto como uma alteração da condição fisiológica, causada por um desequilíbrio provocado por fatores externos. Os autores também consideram que a “tensão” é uma alteração física ou química provocada por algum tipo de estresse e pode desencadear respostas que variam desde alterações na expressão de genes e no metabolismo celular até mudanças no crescimento e na produtividade das plantas. Assim, o tipo de resposta desencadeada por plantas em condição de estresse pode ser definido de acordo com a duração e a gravidade imposta pelo agente estressor (SONI et al., 2014).

Para se defender dos efeitos negativos causados pelo estresse hídrico as plantas possuem adaptações envolvidas como três estratégias: 1- escape à seca, estratégia utilizada

para evitar a exposição ao estresse, na qual as plantas aceleram a reprodução e o desenvolvimento finalizando o seu ciclo de vida antes da chegada do período seco, garantindo dessa forma a perpetuação da espécie; 2 - prevenção da seca, utilizada para evitar a desidratação durante períodos transitórios de seca e pode ocorrer através da eficiência do uso da água, redução da transpiração, limitação do crescimento vegetativo e regulação do crescimento radicular; 3 - tolerância à seca, característica presente em plantas para suportar as condições estressantes. Neste caso as plantas realizam altas atividades metabólicas quando expostas a estresses moderados, e baixas sob estresse severo (KOOYERS, 2015). Neste sentido, o ajustamento osmótico pelo acúmulo de moléculas osmorreguladoras e a autorregulação de enzimas de defesa antioxidante que agem na eliminação de espécies reativas de oxigênio (ROS), representam modificações fisiológicas e metabólicas utilizadas como estratégias de tolerância ao estresse (KOOYERS, 2015; SIMOVA-STOILOVA, et al., 2016).

O estresse hídrico é comumente sentido pelas plantas, por longos ou curtos períodos na natureza. Contudo, as plantas possuem mecanismos adaptativos em resposta ao estresse que garantem seu crescimento e/ou sobrevivência durante a escassez de água e sua posterior recuperação. Neste caso, as plantas, como organismos sésseis, para evitar as intempéries do ambiente necessitam adaptar-se por meio de mecanismos evolutivos eficazes para evitar ou reduzir possíveis danos causados por tensões provocadas por mudanças climáticas (ARVE et al., 2011).

A tolerância das plantas ao estresse refere-se a sua aptidão para enfrentar um ambiente desfavorável. Essa adaptação ao estresse ambiental é refletida em uma gama de eventos interligados que ocorrem em diferentes níveis de organização, desde modificações morfológicas até respostas que envolvem alterações no metabolismo celular (SALEHILISAR; BAKHSHAYESHAN-AGDAM, 2016). Segundo Simova-Stoilova et al. (2016), o desempenho global de plantas tolerantes à seca no início do estresse moderado, pode decair mais do que o das plantas sensíveis, porém, a recuperação do estresse nos genótipos tolerantes pode ocorrer de forma mais rápida. Isso se deve ao decréscimo nas atividades fisiológicas dessas plantas durante o estresse, evento que pode ampliar suas chances de sobrevivência após a fase do estresse.

Características como alongamento e ramificação de raízes, assim como a sua capacidade de adquirir e liberar nutrientes, podem ser consideradas como importantes parâmetros de seleção de plantas tolerantes ao estresse hídrico. A dinâmica do crescimento nas raízes em plantas tolerantes dá-se de diferentes formas. Algumas espécies tolerantes promovem o alongamento das raízes para melhorar a captação de águas profundas como

resposta ao déficit hídrico. No entanto, algumas espécies podem não alongar e até reduzir as taxas de crescimento das raízes para uma melhor captação da água presente nas camadas superficiais do solo. Assim, a dinâmica do crescimento das raízes em plantas tolerantes depende de modificações climáticas durante o período de seca (SIMOVA-STOILOVA et al., 2016).

Mudanças morfológicas e anatômicas nas folhas também estão correlacionadas com o estresse hídrico na maioria das espécies. Características como, redução no tamanho das folhas e no número de estômatos, regulação da abertura estomática, espessamento das paredes celulares de tecidos foliares, subdesenvolvimento de sistemas condutores, cutinização da superfície foliar, submersão de estômatos, são exemplos de alterações morfoanatômicas que podem ocorrer em plantas como respostas a condições de estresse hídrico (LISAR et al., 2012; SIMOVA-STOILOVA et al., 2016). Para resistir à dessecação, plantas tolerantes podem desenvolver alterações estruturais relacionadas à sua capacidade para armazenar e diminuir a perda de água, conhecida como eficiência do uso da água. Assim, modificações anatômicas como a presença de ceras cuticulares na superfície foliar podem melhorar o uso da água e amenizar a transpiração, bem como prevenir fotoinibição através do aumento da refletância foliar (DE-MICCO; ARONNE, 2012).

Em plantas expostas a condições de estresse hídrico, o potencial hídrico e o turgor celular podem sofrer redução suficiente para perturbar as funções normais da célula. Quando o estresse é resultante de uma perda moderada de água, pode levar ao fechamento estomático, limitando as trocas gasosas. A desidratação por perdas mais intensas de água pode provocar rupturas em estruturas celulares como membranas e afetar o seu metabolismo podendo degradar enzimas e levar à neutralização de importantes reações metabólicas até provocar morte celular (SONI et al., 2014).

Essencial para a manutenção da turgescência, a água é absorvida quando o potencial hídrico da planta é menor que o do solo (SILVA et al., 2014). A manutenção da turgescência celular através do ajustamento osmótico é um dos mecanismos fisiológicos mais eficazes em plantas submetidas ao estresse hídrico. O acúmulo de compostos osmorreguladores ou solutos compatíveis com o metabolismo celular evita a perda de água por aumentar o potencial osmótico da célula, promovendo assim, a homeostase osmótica através do equilíbrio hídrico entre o citosol e o ambiente externo (WANI et al., 2013; VAN-DEN-ENDE; EL-ESAWI, 2014; SAMI et al., 2016). Estes compostos podem ser encontrados na natureza em várias classes: açúcares solúveis como sacarose, glicose e frutose, polióis como manitol e sorbitol, aminoácidos como a prolina e composto quaternário de amônio, principalmente a glicina betaina (DAWOOD, 2016; HELD, SADOWSKI, 2016; ROYCHOUDHURY; BANERJEE,

A glicina betaína é um dos mais abundantes compostos quaternários de amônio acumulados em plantas superiores em resposta a estresses abióticos como o seca, alta salinidade, temperaturas extremas, entre outros (WANI et al., 2013; ROYCHOUDHURY; BANERJEE, 2016). O papel deste composto na tolerância a estresses é conhecido por duas funções básicas, o ajustamento osmótico e a compatibilidade celular. No ajuste osmótico, está envolvida com o efeito da concentração de solutos sobre a pressão osmótica, atuando na absorção da água do ambiente. Na compatibilidade celular, a água presente na célula é retida, garantindo assim o funcionamento do metabolismo celular durante o estresse (GIRI, 2011). Em plantas expostas ao estresse hídrico, a associação entre o acúmulo de glicina betaína e o decaimento de malondialdeído (MDA) indicou a atuação do composto na proteção contra danos de membranas (ROYCHOUDHURY; BANERJEE, 2016).

Famílias e gêneros de plantas superiores podem ser classificadas como acumuladoras ou não de glicina betaína (RODES; HANSON, 1993). Segundo Wani et al. (2013) algumas espécies são capazes de elevar o teor de glicina betaína quando expostas à condições de estresse, outras são conhecidas como baixo acumuladores de glicina betaína, como é o caso da soja e do arroz, as quais apresentam acúmulo médio de 5 $\mu\text{mol g}^{-1}$ de matéria seca quando expostas à condições de estresse.

Em avaliação do acúmulo de glicina betaína em espécies da família Euphorbiaceae, Blunden et al. (2003), observaram baixo conteúdo do composto em algumas espécies e de modo geral apontaram a família como não-acumuladora do composto. No entanto, estes autores obtiveram altos rendimentos de glicina betaína em duas espécies do gênero *Jatropha* em sua pesquisa, o que indica que pode haver variações entre as espécies consideradas acumuladoras ou não de glicina betaína dentro da família Euphorbiaceae.

Aplicações exógenas de glicina betaína são indicadas para melhorar o desempenho frente a estresses abióticos em culturas de folhas largas como tomate, feijão e uva. Este tipo de aplicação tem ampliado até 12 vezes o acúmulo do composto, e pode melhorar a expressão de características envolvidas em mecanismos de tolerância. O efeito destas aplicações depende de fatores como espécie, estágio de desenvolvimento e tempo de aplicação (ROYCHOUDHURY; BANERJEE, 2016). A expressão de genes responsivos ao estresse como os que codificam enzimas atuantes na eliminação de ROS pode ser induzida pela aplicação de baixos níveis de glicina betaína, bem como por plantas transgênicas melhoradas para a síntese de solutos compatíveis (SOFO et al., 2015).

Introduções de genes de interesse têm sido realizadas, com vistas a promover a síntese de solutos compatíveis e melhorar a tolerância de plantas ao estresse hídrico. Neste sentido,

BARBOSA, M.R. Estratégias fisiológicas à restrição hídrica de *Cnidocolus quercifolius*... 24 plantas transgênicas de várias culturas de interesse como arroz, batata, tabaco, algodão e eucalipto foram beneficiadas e ampliaram sua capacidade de acumular glicina betaína após introgressão de gene que codificam proteínas envolvidas diretamente na síntese do composto (WANI et al., 2013; KHAN et al., 2015).

Em condições de estresse, a glicina betaína tem demonstrado também eficácia na ativação da replicação e da transcrição do DNA por promover a fusão das hélices, o que facilita o acesso ao mecanismo de transcrição de genes sensíveis ao estresse. Tanto a glicina betaína como a prolina podem atuar também na desestabilização da dupla hélice do DNA, por serem capazes de reduzir o ponto de fusão das hélices (ROYCHOUDHURY; BANERJEE, 2016). Assim como a glicina betaína, o aumento no acúmulo de prolina também tem sido estimulado em plantas transgênicas (WANI et al., 2013).

Além da ação na osmoregulação, os solutos compatíveis podem exercer também funções eficazes em outros processos vitais em plantas sob estresses abióticos, como o aumento da eficiência fotossintética através da proteção de membranas dos cloroplastos, proteínas e de paredes e membranas celulares, promovendo assim, a permeabilidade e estabilidade da organização celular, além de desempenhar importante papel na eliminação de ROS. Estas funções são possíveis devido a algumas propriedades como alta solubilidade, polaridade e hidrofiliçidade (DAWOOD, 2016; ROYCHOUDHURY; BANERJEE, 2016; SAMI et al., 2016).

A prolina é um dos 20 aminoácidos que compõem o código genético para formar cadeias polipeptídicas constituintes das proteínas. O aminoácido é codificado pelos códons CCA, CCU, CCG, os quais se baseiam na combinação das bases nitrogenadas citosina, guanina, adenina e uracila. Diferente dos outros aminoácidos, a prolina possui na sua estrutura uma amina secundária, além de apresentar uma distinta estrutura cíclica que confere rigidez na conformação de proteínas que possuem grande quantidade de prolina na sua composição (VERA, 2008; KISHOR et al., 2015).

A prolina pode ser acumulada em plantas sujeitas a estresses osmóticos, como salinos e hídricos. Dentre as funções primárias da prolina está a neutralização dos efeitos osmóticos provocados por estas tensões através da osmorregulação. O composto atua também na estabilidade de estruturas protéicas e na eliminação de radicais livres e por ser um aminoácido, serve como fonte de carbono e nitrogênio após sua degradação (KHAN et al., 2015). Contudo, a associação do acúmulo de prolina com a adaptação de plantas ao estresse tem sido questionada em várias abordagens na literatura. Assim, acredita-se que haja benefícios para a planta, com o aumento no teor do composto também na fase de recuperação do estresse (KAUR; ASTHIR, 2015; KISHOR et al., 2015; SAMI et al., 2016).

As específicas propriedades químicas da prolina, como sua natureza bipolar, pH neutro, alta compatibilidade com o meio celular e extrema solubilidade, influenciam a capacidade do aminoácido de exercer várias funções. Outro fator que influencia estas funções é o local e o metabolismo da prolina. Neste caso, a síntese e o catabolismo da prolina ocorrem em ciclos separados no cloroplasto e mitocôndrias respectivamente, cujo balanço pode depender da localização desses metabolismos em diferentes tecidos da planta (KHAN et al., 2015).

O acúmulo da prolina pode ocorrer em plantas sujeitas ou não ao estresse, pois, além de amenizar efeitos negativos gerados por condições adversas, este aminoácido pode exercer importante papel no desenvolvimento das plantas uma vez que, tem participação primordial na composição de muitas proteínas da parede celular e participa da transdução de sinais em plantas. Pesquisas envolvendo padrões de expressões genéticas sugerem que a síntese de prolina é elevada em tecidos fotossintéticos durante o estresse, enquanto o catabolismo é reduzido nestes tecidos e aumentado nas regiões meristemáticas das raízes (KISHOR et al., 2015; KHAN et al., 2015). A utilização do acúmulo de prolina como característica para monitorar o melhoramento de plantas para tolerância ao estresse hídrico, associada a características radiculares, vem sendo alvo de pesquisas na cultura da soja. Neste contexto, diferentes respostas genotípicas foram alcançadas e têm contribuído como informações importantes para o melhoramento genético da cultura (MWENYE et al., 2016).

O metabolismo da prolina envolve diferentes organelas e ocorre através da via do glutamato, na qual a biossíntese dá-se nos cloroplastos e no citosol e o catabolismo, nas mitocôndrias. Relatada como aminoácido multifuncional, a complexidade nas funções da prolina se deve também ao fato da biossíntese e degradação do composto serem realizadas em diferentes compartimentos. Nos cloroplastos o aumento na taxa da biossíntese da prolina está ligado à manutenção da homeostase redox pelo excesso do potencial de redução quando a cadeia de transporte de elétrons é saturada em condições de estresse. Já nas mitocôndrias, as funções da prolina estão relacionadas com a manutenção da energia para retomar o crescimento após o estresse e envolve o seu catabolismo, o qual está ligado à respiração oxidativa (KAUR; ASTHIR, 2015).

Alguns genes que codificam enzimas do metabolismo da prolina têm sido clonados e são encontrados em diferentes tecidos de plantas. O *P5CS2* é altamente expresso em células em células em divisão, enquanto o *P5CS1* é expresso abundantemente em várias partes da planta, mas não em células que se encontram em processo de divisão. Estes genes codificam diferentes formas da pirrolina-5-carboxilato sintetase (P5CS), enzima que atua na biossíntese

da prolina, onde catalisa a conversão do glutamato a pirrolina-5-carboxilato (PS5) a qual é reduzida à prolina (KHAN et al., 2015; KISHOR et al., 2015).

O pré-tratamento com prolina pode reduzir a toxicidade por metais pesados, pois o aminoácido está associado à redução da concentração de ROS, além de funcionar como hidrótropos (melhoria na solubilidade de espécies pouco solúveis em água) compatíveis com proteínas, mantendo as relações NADP⁺/NADPH para equilibrar a acidez citoplasmática compatível com o metabolismo celular (KAUR; ASTHIR, 2015).

Em pesquisas que abordam melhorias na tolerância à seca de *Jatropha curcas*, Yang et al., (2015) atrelaram o ajustamento osmótico à elevação nas atividades tanto de uma enzima envolvida na biossíntese de glicina betaína, como das enzimas P5CS, glutamato desidrogenase, arginase e ornitina aminotransferase, as quais participam de vias da biossíntese de prolina. Na ocasião, estes resultados foram reforçados pelo aumento na expressão de genes *P5CS*. Os autores também consideraram a osmorregulação através do acúmulo dos solutos compatíveis glicina betaína, prolina e açúcares solúveis, como fator chave na tolerância da espécie ao estresse hídrico.

Embora os solutos compatíveis exerçam funções osmorreguladoras e de proteção em membranas e paredes celulares em plantas sob estresse hídrico, estes compostos também atuam na eliminação de ROS (HOSSAIN; et al., 2014; DAWOOD, 2016). Sofo et al., (2015), associam a aplicação exógena de glicina betaína e prolina com a elevação de enzimas do sistema antioxidante na eliminação de ROS em defesa das plantas contra o estresse oxidativo.

Um dos principais motivos pelo qual o crescimento e o desenvolvimento de órgãos nas plantas são afetados negativamente pela escassez hídrica é a redução da síntese de carboidratos devido à limitação da fixação de CO₂ na fotossíntese. Mudanças nas características estomáticas como a regulação da abertura e fechamento dos estômatos, o aumento da densidade estomática e a diminuição do tamanho das células guardas, são umas das principais respostas utilizadas como estratégia por plantas submetidas ao estresse hídrico para evitar a perda de água por transpiração (CHAI, et al., 2016; JOHNSON, 2016). Em resposta a essas condições o fechamento estomático ocorre por um rápido aumento nos níveis do ABA endógeno, o que é regulado por uma rede de transdução de sinais (OSAKABE, et al., 2014; HSIE et al., 2016; DARYANTO et al., 2016).

Os baixos níveis de trocas gasosas e suas consequências na assimilação de CO₂ levam à diminuição da fotossíntese e pode refletir também em danos ao aparato fotossintético. Nessas condições algumas plantas utilizam modificações nos conteúdos dos pigmentos fotossintetizantes como estratégias de proteção do aparato fotossintético (ZARGAR et al., 2017). Pigmentos fotossintetizantes são compostos orgânicos capazes de absorver energia

luminosa ao longo do espectro de luz visível, o qual se encontra na faixa de 400 a 700 nm e é chamado de radiação fotossinteticamente ativa (RFA). Clorofilas e carotenóides são pigmentos envolvidos na fotossíntese e podem absorver energia luminosa em distintos comprimentos de ondas desde os mais energéticos (luz azul) até o menos energético (luz vermelha) (KLUGE et al., 2015).

Os pigmentos fotossintetizantes são localizados em complexos proteicos, local específico de captação de energia luminosa, os quais se encontram nos fotossistemas (PS), um conjunto de proteínas integrais inseridos nas membranas dos tilacóides que representam o sítio das reações luminosas da fotossíntese. Neles são realizadas as reações luminosas da fotossíntese em dois locais, o complexo antenas, local específico de captação de energia luminosa, e o centro de reações. Em plantas, as clorofilas estão presentes de duas formas: clorofilas *a* e *b*. Durante a captação de luz na fotossíntese, os pigmentos acessórios clorofila *b* e carotenóides, exercem a função de captação de energia luminosa e a clorofila *a*, além de captar energia luminosa, participa da transferência de energia para as reações fotoquímicas (KIM, et al., 2015; KLUGE et al., 2015; ESTEBAN et al., 2015).

Em plantas, pigmentos como clorofilas e carotenóides tem participação primordial nos processos de captação de energia luminosa para transformá-la em moléculas energéticas e redutoras como ATP e NADPH as quais são utilizadas durante a fixação do CO₂ para a produção de fotoassimilados. Na primeira fase do processo fotossintético, conhecida como etapa fotoquímica, a clorofila *a* é requerida para receber a energia de excitação absorvida pelos pigmentos acessórios nos complexos antena e iniciar a transferência de elétrons para moléculasceptoras no centro de reações do PS II, onde parte dessa energia é utilizada na fotoxidação da água. O desbalanço entre os processos de captação e transmissão de energia luminosa pode acarretar em danos ao aparato fotossintético (KLUGE et al., 2015; KIM et al., 2016).

O direcionamento da energia de excitação da clorofila *a* como ponto de partida para as reações fotoquímicas ocorridas entre os PS II e I é conhecido como dissipação fotoquímica. Em plantas expostas a limitados conteúdos de água no solo, as taxas de fixação de carbono fotossintético diminuem enquanto a captação de luz continua. Isso provoca um desequilíbrio nas reações de oxido-redução e os produtos gerados entre os PSII e I aumentando o estado de excitação da clorofila, levando à formação de clorofila tripleto (³Chl^{*}). No estado tripleto a clorofila pode transferir energia de excitação para o O₂ e formar o oxigênio singlete (¹O₂), ROS causadora de estresse oxidativo. Neste caso, os carotenóides são capazes de prevenir a formação do ¹O₂ (MORALES et al., 2014; ESTEBAN et al., 2015; TIAN et al., 2016; ZARGAR et al., 2017).

A relação entre os conteúdos de clorofilas *a* e *b* (*Cloa/b*) tem sido evidenciado como resposta a estresses abióticos e seu decaimento pode estar associado à síntese da clorofila *b* a partir da clorofila *a*, processo que é estimulado por altos níveis de energia luminosa e ocorre no ciclo da clorofila, onde envolve as enzimas clorofila *a* oxigenase e clorofila *b* redutase na presença de NADPH (TRIPATHY; PATTANAYAK, 2012). A relação (*Cloa/b*) pode estar associada também ao aumento no tamanho do complexo de antenas do PSII, como alterações resultantes de ajustamentos no aparato fotossintético em resposta à mudanças ambientais (ESTEBAN et al., 2015).

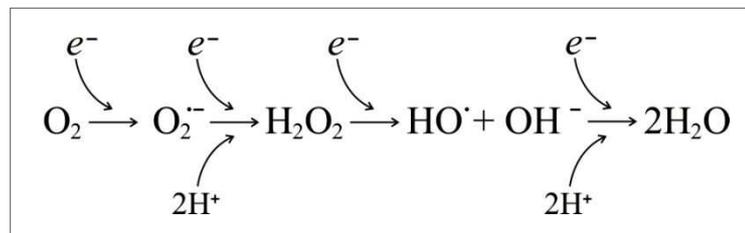
Os carotenoides são uma grande classe de isoprenóides encontrada nos tecidos fotossintetizantes das plantas, onde estão diretamente ligados aos complexos antena dos PSI e PSII nos tilacóides. Além da participação como pigmentos acessórios, onde absorvem luz nas regiões verde-azul do espectro de luz visível, os carotenóides exercem papel chave na proteção dos processos fotoquímicos quando a extinção fotoquímica de energia luminosa não é eficiente. Nestas circunstâncias, o excesso de energia da clorofila pode ser dissipado pelos carotenóides em forma de calor através de um processo conhecido como extinção não fotoquímica. Dentre os carotenóides, o β -caroteno desempenha papel primordial na extinção da energia excedente da clorofila tripleto no complexo antena do PS II, impedindo assim a geração do 1O_2 , ROS com potencial para causar danos oxidativos em moléculas e estruturas biológicas (JALEEL et al., 2009; DI-VALENTIN et al., 2016).

2.3 Estresse oxidativo por seca em plantas

ROS (reactive oxygen species) é um termo empregado para designar moléculas que possuem átomos de oxigênio reativos ou com potencial para reatividade (DEMIDCHIK, 2015). Durante as atividades de processos metabólicos aeróbicos das plantas a geração de ROS ocorre naturalmente em vários compartimentos como cloroplastos, mitocôndrias e peroxissomos. Contudo, o excesso destes compostos pode causar danos celulares e levar a disfunções metabólicas resultando em um estresse secundário conhecido como estresse oxidativo. O estresse oxidativo acontece porque as ROS são formadas a partir da redução parcial ou da excitação do oxigênio atmosférico, o que as torna reativas e consequentemente, com potencial para causar oxidação em moléculas e componentes celulares como proteínas, ácidos nucleicos e membranas. Neste sentido, este tipo de estresse ocorre como resultado do desequilíbrio entre o acúmulo de ROS e sua eliminação pela ação de sistemas de defesa antioxidante (DEMIDCHIK, 2015; INUPAKUTIKA et al., 2016; CAVERZAN et al., 2016).

Plantas expostas a condições extremas de estresse abiótico estão sujeitas a sofrer estresse oxidativo e as ROS mais encontradas em células vegetais nestas condições são o radical superóxido ($O_2^{\cdot-}$), o peróxido de hidrogênio (H_2O_2), o oxigênio singlete (1O_2) e o radical hidroxila (OH^{\cdot}) (CAVERZAN et al., 2016; SIMOVA-STOILOVA, et al., 2016). A geração de ROS pode ocorrer através da redução parcial do oxigênio molecular e dos produtos resultantes deste processo, o qual é conhecido como redução tetravalente do oxigênio molecular à água. A redução do O_2 com um elétron (univalente) que escapa da cadeia de transporte de elétrons em cloroplastos e mitocôndrias resulta na formação do radical superóxido ($O_2^{\cdot-}$) (Figura 1) (BHATTACHARJEE, 2010; DEMIDCHIK, 2015; INUPAKUTIKA et al., 2016).

Figura 1. Formação de ROS pela redução tetravalente do oxigênio molecular à água.

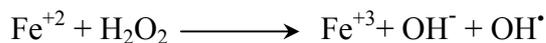
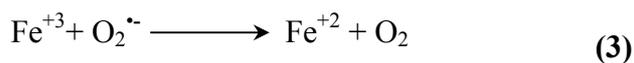


Em condições de déficit hídrico, o declínio nas taxas de assimilação de CO_2 devido ao fechamento estomático, pode levar a baixos níveis de CO_2 interno e acarretar na diminuição da oxidação do NADPH durante a etapa de fixação do CO_2 na fotossíntese. Este evento tem como consequência uma queda da geração de $NADP^+$ e quando isto ocorre, os elétrons da ferredoxina, o qual seria utilizado para reduzir o $NADP^+$ no final da cadeia de transporte de elétrons, migram para moléculas de O_2 presentes no estroma, formando o $O_2^{\cdot-}$, numa reação denominada “reação de Mehler” (ROACH; KRIEGER-LISZKAY, 2014; CAVERZAN et al., 2016; PUTHUR, 2016).

ROS podem ser formadas também pela transferência de energia de excitação da clorofila tripleto para o O_2 formando 1O_2 . Em plantas sujeitas ao déficit hídrico, o 1O_2 é gerado na etapa fotoquímica da fotossíntese, durante a ativação fotoquímica da clorofila *a*, processo estimulado por uma diminuição na oxidação do NADPH acumulado no final da cadeia de transporte de elétrons por causa das baixas taxas de fixação de CO_2 nessas plantas. Este evento acarreta em um desequilíbrio entre a captação de energia luminosa e sua extinção fotoquímica formando clorofila tripleto, a qual transfere sua energia excedente para O_2 formando 1O_2 (MOR et al., 2014; ESTEBAN et al., 2015; KIM et al., 2016).

O H_2O_2 é considerada uma ROS moderadamente reativa por não possuir elétron desemparelhados mas, pode representar potencial perigo quando acumulados em grande quantidade devido ao seu pequeno tamanho, o que facilita a sua travessia através de membranas permitindo sua migração entre diferentes compartimentos. Além disso, o H_2O_2 possui ação deletéria por atuar na formação do OH^\bullet quando reage com metais de transição como o Fe^{2+} em uma reação conhecida por reação de Fenton (Equação 2). Por outro lado, o H_2O_2 exerce importante papel na sinalização de genes regulados por tensões ambientais como a seca, além de participar de processos metabólicos envolvidos no crescimento e desenvolvimento de plantas. Os níveis de H_2O_2 são considerados bons marcadores do estresse oxidativo e tem sido utilizado em vários estudos acerca de tolerância de plantas à condições de seca (OSAKABE, et al., 2014; ROACH; KRIEGER-LISZKAY, 2014; DEMIDCHIK, 2015; SOFO, et al., 2015; CAVERZAN et al., 2016).

Os altos níveis de $\text{O}_2^{\bullet-}$ provocados por condições de estresse em plantas, podem acarretar em danos severos por estresse oxidativo ocasionados pelo HO^\bullet , uma vez que o $\text{O}_2^{\bullet-}$ pode reagir com Fe-S de proteínas liberando íons Fe os quais são utilizados nas reações de Fenton e Haber-Weis e formar HO^\bullet . Na presença de Fe^{+3} o $\text{O}_2^{\bullet-}$ pode gerar OH^\bullet pela conversão do H_2O_2 através das reações de Fenton e de Haber-Weis (Equações 1, 2 e 3) (DEMIDCHIK, 2015; CAVERZAN et al., 2016).



Equação 1. Redução e oxidação do íon ferro na presença de superóxido e oxigênio reversivamente. **Equação 2.** Formação do radical hiroxila (OH^\bullet) pela reação de Fenton. **Equação 3.** Formação do radical hiroxila (OH^\bullet) pela reação de Haber-Weiss.

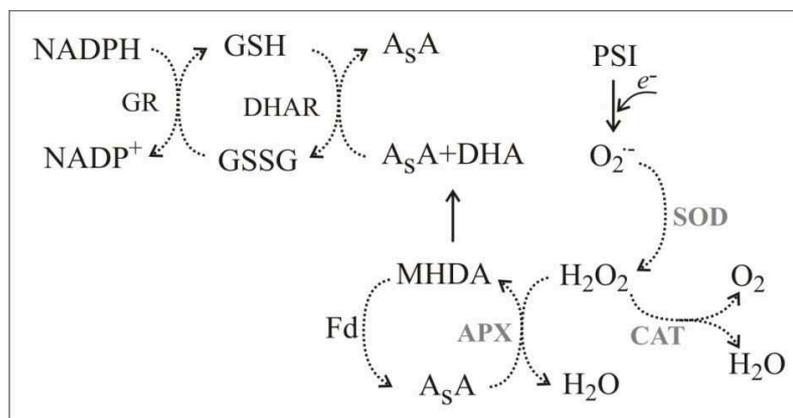
O OH^\bullet é considerado o oxidante mais reativo dentre as ROS e portanto altamente prejudicial ao funcionamento celular. Devido sua alta reatividade, o OH^\bullet é capaz de retirar átomos de hidrogênio de ácidos graxos insaturados da camada bilipídica tornando-os reativos. Este processo conhecido como peroxidação lipídica ocasiona a lise de membranas celulares comprometendo sua integridade e tem como um dos principais produtos finais o

malondialdeído (MDA), molécula reconhecida como um dos principais marcadores do estresse oxidativo em plantas.

Para se proteger contra os efeitos deletérios do estresse oxidativo, as plantas procuram manter baixos níveis de ROS através da ativação dos sistemas de defesa antioxidante que podem ser ou não de natureza enzimática. Neste caso, o funcionamento deste sistema pode se dar através de alterações nos níveis de compostos não-enzimáticos como glutathiona (GSH), ácido ascórbico (AsA), o α -tocoferol (vitamina E) e carotenóides, e nas atividades de enzimas antioxidantes como superóxido dismutase (SOD, EC 1.15.1.1), catalase (CAT, EC 1.11.1.6), ascorbato peroxidase (APX, EC 1.11.1.1), glutathiona redutase (GR, EC 1.6.4.2), dentre outras (CAVERZAN et al., 2016).

A SOD atua na linha de frente em combate a ROS e é responsável pela dismutação do $O_2^{\cdot-}$, quando o mesmo se encontra em altos níveis em compartimentos celulares como cloroplastos, mitocôndrias, citosol e peroxissomos. Nesta ação a enzima converte o $O_2^{\cdot-}$ a H_2O_2 e O_2 . O H_2O_2 gerado pela SOD pode ser convertido a moléculas de H_2O e O_2 pela enzima CAT e de H_2O pela APX através de uma rede de reações denominada via do ascorbato glutathiona (Figura 2). Assim, o equilíbrio das atividades destas enzimas é crucial para amenizar os níveis de ROS em plantas, sobretudo nas expostas a estresses (DEMIDCHIK, 2015; CAVERZAN et al., 2016).

Figura 2. Representação esquemática da geração de ROS no fotossistema I e sua eliminação pelas enzimas SOD, APX e CAT e ciclo do ascorbato-glutathiona. AsA – ascorbato; MDHA – monodeidroascorbato; DHA – deidroascorbato; DHAR – deidroascorbato redutase; GSH – glutathiona reduzida; GSSG – glutathiona oxidada; Fd – ferredoxina.



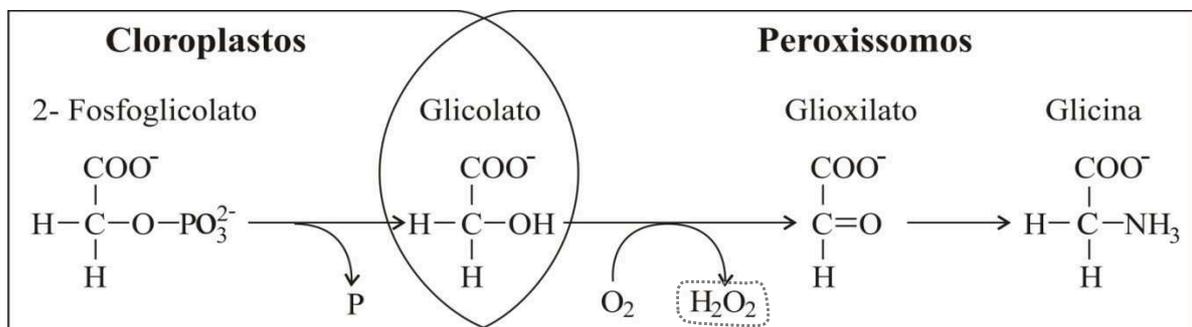
Para diminuir o acúmulo de H_2O_2 e evitar os danos acarretados pelo estresse oxidativo, plantas acionam alterações nas atividades das enzimas APX e CAT. A APX é uma enzima da família das peroxidases e suas isoformas podem atuar no citosol, cloroplastos,

mitocôndrias e peroxissomos. Nos cloroplastos exerce um determinante papel na conversão do H_2O_2 em H_2O no ciclo do ascorbato glutaciona, um importante sistema de eliminação do H_2O_2 em plantas sob estresse abiótico (Figura 2) (SOFO et al., 2015; CAVERZAN et al., 2016).

A APX executa um importante papel na eliminação rápida de H_2O_2 uma vez que possui alta afinidade com o composto, o que permite a sua eliminação mesmo quando presente em baixas concentrações. Esta afinidade dá-se porque a cinética enzimática da enzima tem uma constante de Michaelis-Menten (K_M) na ordem de μM , uma vez que requer apenas uma molécula de H_2O_2 para convertê-lo em H_2O na presença do ascorbato como doador de elétron. Diferente da APX, a CAT age na eliminação do H_2O_2 quando a molécula se encontra em maiores concentrações devido a sua K_M a qual apresenta-se na grandeza de mM. Neste processo a enzima requer $2H_2O_2$ para formar $2H_2O$ e O_2 sem a presença de poder redutor (BARBOSA et al. 2014; PUTHUR, 2016).

A atuação da CAT na detoxificação do H_2O_2 ocorre principalmente no peroxissomos durante a fotorrespiração. Os peroxissomos são considerados como o principal sítio de produção de H_2O_2 gerado pela fotorrespiração em função do decréscimo da assimilação do CO_2 em plantas C_3 expostas a estresses abióticos como a seca. Neste caso, as baixa concentrações de CO_2 interno provocadas pelo fechamento estomático promove o decréscimo na relação CO_2/O_2 ativando a função oxigenase da enzima ribulose-1,5-bifosfato (Rubisco). Na via respiratória o H_2O_2 é gerado como produto secundário quando o 2-fosfoglicolato (2PG) oriundo dos cloroplastos é exportado para os peroxissomos onde é convertido à glioxilato (Figura 3), (SOFO et al., 2015; EISENHUT et al., 2017).

Figura 3. Formação do H_2O_2 nos peroxissomos durante a fotorrespiração.



O glioxilato formado nos peroxissomos dá seguimento a uma série de reações envolvendo as mitocôndrias e cloroplastos para gerar 3-fosfoglicerato, molécula intermediária do processo de fixação do carbono da fotossíntese. Em plantas C_3 sob condições de estresse hídrico, a fotorrespiração ocorre para o melhor aproveitamento do carbono fixado na

BARBOSA, M.R. Estratégias fisiológicas à restrição hídrica de *Cnidoscolus quercifolius*... 33 molécula do 2PG. No final do processo uma molécula de CO₂ em cada duas de 2PG é liberada, por isso a fotorrespiração diminui a eficiência fotossintética e é considerada desvantajosa. Contudo, algumas pesquisas vêm revelando a importância da via respiratória como auxílio à fotossíntese em plantas sob estresse (SOFO et al., 2015; KIM et al., 2016; EISENHUT et al., 2017).

A regulação das enzimas do sistema antioxidante está relacionada com a tolerância a estresses abióticos como a seca e pode garantir a proteção contra estresse oxidativo estabilizando processos metabólicos como a fotossíntese em inúmeras espécies e variedades de plantas tolerantes (SIMOVA-STOILOVA et al., 2016). A avaliação do balanço entre as atividades de enzimas dos sistemas antioxidantes como SOD, APX e CAT, bem como dos níveis de ROS como o H₂O₂ e dos produtos gerados durante o estresse secundário como MDA, são importantes fontes de informações acerca da dinâmica da tolerância à seca em plantas. A importância de se traçar um perfil de respostas é a obtenção de marcadores bioquímicos relacionados com a defesa do estresse em questão, os quais possam servir para selecionar genótipos agronomicamente desejáveis. Além disso, a utilização desses marcadores com o auxílio de técnicas de biologia molecular pode acelerar programas de melhoramento para reduzir perdas na agricultura.

3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALOUFA, M.A.I.; MEDEIROS, J.A. Valorização e preservação da faveleira (*C. quercifolius*) para o desenvolvimento sustentável do semiárido brasileiro. **Revista OKARA: Geografia em debate**, João Pessoa, v. 10, n. 3, p. 453-476, 2016.

ARRIEL, E.F.; PAULA, R.C.; RODRIGUES, T.J.D.; BAKKE, O.A.; ARRIEL, N.H.C. Divergência genética entre progênies de *Cnidoscolus phyllacanthus* submetidas a três regimes hídricos. **Revista Científica**, v. 34, n. 2, p. 229-237, 2006.

ARVE, L.E.; TORRE, S.; OLSEN, J.E.; TANINO, K.K. Stomatal responses to drought stress and air humidity. In: SHANKER, A.K.; VENKATESWARLU, B (ed.). **Abiotic stress in plants – mechanisms and adaptations**. Rijeka: In Tech, 2011. p. 267-280.

BARBOSA, M.R.; SILVA, M.M.A.; WILLADINO, L.; ULISSES, C.; CAMARA, T.R. Geração e desintoxicação enzimática de espécies reativas de oxigênio em plantas. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 44, n. 3, p. 453-460, 2014.

BELTRÃO, N.E.M.; OLIVEIRA, M.I.P. Oleaginosas potenciais do Nordeste para a produção de biodiesel. Brasília: **Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária**, 2007. 18p. (Boletim Técnico, 177).

BHATTACHARJEE, S. Sites of generation and physicochemical basis of formation of reactive oxygen species in plant cell. In: GUPTA, S.D. **Reactive oxygen species and antioxidants in higher plants**. Enfield: Science Publishers, 2010. cap. 1, p. 1-30.

BLUNDEN, G.; PATEL, A.V. ; ROMERO, M.A.; CUERVO, A.C.; AI-AMOUDI, O.A.; MUTAWIE, H.H. Betaine distribution in the Euphorbiaceae. **Umm Al-Qura Journal for Science, Medicine, and Engineering**, v. 15, n. 1, p. 37-42, 2003.

CANDEIA, B.L.; BAKKE, O.A.; ARIEL, E.F.; BAKKE, I.A. Production of thornless *Cnidoscolus phyllacanthus* progenies from open pollinated native trees. **Pesquisa Florestal Brasileira**, Colombo. v. 30, n. 62, p. 147-152, 2010.

CAVALCANTI, M.T.; BORA, P.S. Análise das proteínas e estudo reológico dos isolados protéicos das amêndoas da faveleira (*Cnidoscolus Phyllacanthus* (Mart.) Pax et K. Hoffm.) com e sem espinhos. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**. v. 69, n. 2, p. 243-251, 2010.

CAVALCANTI, M.T.; BORA, P.S.; CARVAJAL, J.C.L. Propriedades funcionais das proteínas de amêndoas da faveleira (*Cnidoscolus phyllacanthus* (Mart.) Pax. et K. Hoffm.) com e sem espinhos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 29, n. 3, p. 597-602, 2009.

CAVALCANTI, M.T.; SILVEIRA, D.C.; FLORENTINO, E.R.; MARACAJÁ, P.B. Caracterização biométrica e físico-química das sementes e amêndoas da faveleira (*Cnidoscolus phyllacanthus* (Mart.) Pax. et K. Hoffm.) com e sem espinhos. **Revista Verde**, v. 6, n. 1, p. 41-45, 2011.

CAVERZAN, A.; CASASSOLA, A.; BRAMMER, S.P. Reactive oxygen species and antioxidant enzymes involved in plant tolerance to stress. In: SHANKER, A.K; SHANKER, C (ed.). **Abiotic and biotic stress in plants - recent advances and future perspectives**. Publisher: InTech, Chapters published, 2016. cap. 20, p. 463-480.

CHAI, Q.; GAN, Y.; ZHAO, C.; XU, H.; WASKOM, R.M.; NIU, Y.; SIDDIQUE, K.H.M. Regulated deficit irrigation for crop production under drought stress. A review. **Agronomy for Sustainable Development**, v. 36, n. 3, 2016.

CHARLESWORTH, D.; WILLIS, J.H. The genetics of inbreeding depression. **Nature Reviews Genetics**, v. 10, p. 783-796, 2009.

CREPALDI, C.G.; CAMPOS, J.L.A.; ALBUQUERQUE, U.P. Richness and ethnobotany of the family Euphorbiaceae in a tropical semiarid landscape of Northeastern Brazil. **South African Journal of Botany**, Pietermaritzburgo, v. 102, p. 157–165, 2016.

DARYANTO, S.; WANG, L.; JACINTHE, P.A. Drought effects on root and tuber production: a meta-analysis. **Agricultural Water Management**, v. 176, p. 122-131, 2016.

DAWOOD, M.G. Influence of osmoregulators on plant tolerance to water stress. **Scientia Agriculturae**, v. 13, n. 1, p. 42-58, 2016.

DE-MICCO, V.; ARONNE, G. Morpho-anatomical traits for plant adaptation to drought. In: AROCA, R. (ed.): **Plant responses to drought stress – from morphological to molecular features**. Berlin: Springer, 2012. cap. 2. p. 37-61.

DEMIDCHIK, V. Mechanisms of oxidative stress in plants: from classical chemistry to cell biology. **Environmental and Experimental Botany**, v. 109, p. 212-228, 2015.

DI-VALENTIN, M.; DAL FARRA, M.G.; GALAZZO, L.; ALBERTINI, M.; SCHULTE, TIM.; HOFMANN, E.; CARBONERA, D. Distance measurements in peridinin-chlorophyll *a*-protein by light-induced PELDOR spectroscopy. Analysis of triplet state localization. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1857, p. 1909-1916, 2016.

DUQUE, G. **O Nordeste e as lavouras xerófilas**. 4. ed. Fortaleza: Banco do Nordeste do Brasil, 330 p, 2004.

EISENHUT, M.; BRAUTIGAM, A.; TIMM, S.; FLORIAN, A.; TOHGE, T.; FERNIE, A.R.; BAUWE, H.; WEBER, A.P.M. Photorespiration is crucial for dynamic response of photosynthetic metabolism and stomatal movement to altered CO₂ availability. **Molecular Plant**, v. 10, p. 47-61, 2017.

ESTEBAN, R.; BARRUTIA, O.; ARTETXE, U.; FERNÁNDEZ-MARÍN, B.; HERNÁNDEZ, A.; GARCÍA-PLAZAOLA, J. I. Internal and external factors affecting photosynthetic pigment composition in plants: a meta-analytical approach. **New Phytologist**, v. 206, p. 268-280, 2015.

FERRAZ, J.S.F.; FERREIRA, R.L.C. SANTOS, M.V.F.; MEUNIER, I.M.J. Usos de especies leñosas de la Caatinga del municipio de Floresta en Pernambuco, Brasil: conocimiento de los indios de la aldea Travessão do Ouro. **Bosque**, Valdivia, v. 33, n. 2, p. 183-190, 2012.

FRANCISCO, P.R.M. Os limites do semiárido brasileiro. In: PEREIRA, F.C.; SANTANA, M.; PEREIRA, D.D.; LIMA, A.V.O.; VERAS, R.P (Org.). **Manejo de plantas xerófilas do semiárido**. Campina Grande: EDUFPG, 2013. p.163-181.

GIRI, J. Glycinebetaine and abiotic stress tolerance in plants. **Plant Signaling & Behavior**, v. 6, n. 11, p. 1746-1751, 2011.

HELD, C.; SADOWSKI, G. Compatible solutes: Thermodynamic properties relevant for effective protection against osmotic stress. **Fluid Phase Equilibria**, v. 407, p. 224–235, 2016.

HOSSAIN, M.A.; HOQUE, M.A.; BURRITT, D.J.; FUJITA, M. Proline protects plants against abiotic oxidative stress: biochemical and molecular mechanisms. In: AHMAD, P. (Ed): **Oxidative damage to plants**. San Diego: Elsevier Inc, 2014. Cap. 16, p. 477-522.

HSIE, B.S.; MENDES, K.R.; ANTUNES, W.C.; ENDRES, L.; CAMPOS, M.L.O.; SOUZA, F.C.; SANTOS, N. D.; SINGH, B.; ARRUDA, E.C.P. ; POMPELLI, M.F. *Jatropha curcas* L. (Euphorbiaceae) modulates stomatal traits in response to leaf-to-air vapor pressure deficit. **Biomass and Bioenergy**, v. 81, p. 273-281, 2015.

INUPAKUTIKA, M.A.; SENGUPTA, S.; DEVIREDDY, A.R.; AZAD, R.K.; MITTLER, R. The evolution of reactive oxygen species metabolism. **Journal of Experimental Botany**, v. 67, n. 21, p. 5933-5943, 2016.

JALEEL, C.B.; MANIVANNAN, P.; WAHID, A.; FAROOQ, M.; AL-JUBURI, H.J.; SOMASUNDARAM; R.; PANNEERSELVAM, R. Drought stress in plants: a review on morphological characteristics and pigments composition. **International Journal of Agriculture & Biology**, v. 11, n. 1, p. 100-105, 2009.

JOHNSON, M.P. Photosynthesis. **Essays in Biochemistry**, v. 60, p. 255-273, 2016.

KAUR, G.; ASTHIR, B. Proline: a key player in plant abiotic stress tolerance. **Biologia Plantarum**, v. 59, n. 4, p. 609-619, 2015.

KHAN, M.S.; AHMAD, D.; KHAN, M.A. Utilization of genes encoding osmoprotectants in transgenic plants for enhanced abiotic stress tolerance. **Electronic Journal of Biotechnology**, v. 18, p. 257-266, 2015.

KIM, Y.; LEE, J. H.; HA, H.; IM, S.W.; NAM, K.T. Material science lesson from the biological photosystem. **Nano Convergence**, v. 3, n. 19, p. 1-11, 2016.

KISHOR, P.B.K.; KUMARI, P. H.; SUNITA, M.S.L.; SREENIVASULU, N. Role of proline in cell wall synthesis and plant development and its implications in plant ontogeny. **Frontiers in Plant Science**, v. 6, p. 1-17, 2015.

KLUGE, R.A.; TEZOTTO-ULIANA, J.V.; SILVA, P.P.M. Aspectos fisiológicos e ambientais da fotossíntese. **Revista Virtual de Química**, v. 7, n. 1, p. 56-73, 2015.

KOOYERS, N.J. The evolution of drought escape and avoidance in natural herbaceous populations. **Plant Science**, Chicago, v. 234, p. 155-162, 2015.

LICHTENTHALER, H.K. The stress concept in plants: an introduction. **Annals of New York Academy of Sciences**, v. 851, p. 187-198, 1998.

LISAR, S.Y.S., MOTAFAKKERAZAD, R., HOSSAIN, M.M., RAHMAN, I.M.M. Water stress in plants: causes, effects and responses. In: RAHMAN, I.M.M. (ed.): **Water Stress**. Pp. 1-15. Intech. Publ., Rijeka, 2012.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas do Brasil**. 2. ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum de Estudos da Flora, v. 2. 2002. 368p.

MEDEIROS, J.A. Introdução da favela (*Cnidoscolus phyllacanthus*) em meio à caatinga no núcleo de desertificação Seridó, na seca de 2012. **Revista OKARA: Geografia em debate**, João Pessoa, v. 7, n. 2, p. 241-254, 2013. ISSN: 1982-3878.

MELO, A.L.; SALES, M.F. O gênero *Cnidoscolus* Pohl (Crotonoideae-Euphorbiaceae) no Estado de Pernambuco, Brasil. **Acta botânica brasileira**. v. 22, n. 3, p. 806-827, 2008.

MELO-BATISTA, A.A.; OLIVEIRA, C.R.M. Plantas utilizadas como medicinais em uma comunidade do semiárido baiano: saberes tradicionais e a conservação ambiental. **Enciclopédia Biosfera**, Goiânia, v. 10, n. 18; p. 74-88, 2014.

MOR, A.; KOH, E.; WEINER, L.; ROSENWASSER, S.; SIBONY-BENYAMINI, H.; FLUHR, R. Singlet oxygen signatures are detected independent of light or chloroplasts in response to multiple stresses. **Plant Physiology**, v. 165, p. 249-261, 2014.

MORALES, F.; ABADÍA, J.; ABADÍA, A. Thermal energy dissipation in plants under unfavorable soil conditions. In: DEMMIG-ADAMS, B.; GARAB, G.; ADAMS III, W.; GOVINDJEE. (eds) **Non-photochemical quenching and energy dissipation in plants, algae and cyanobacteria**. Springer, Dordrecht, 2014. P. 605-630.

MWENYE, O.J.; VAN-RENSBURG, L.; VAN-BILJON, A.; VAN-DER-MERWE, R. The role of proline and root traits on selection for drought-stress tolerance in soybeans: a review. **South African Journal of Plant and Soil**. v. 33, n. 4, p. 245-256, 2016.

OLIVEIRA, E.C.S.; COSTA-JÚNIOR, E.O.; FERNANDES, P.D.; TRAJANO, E.V.A. Photochemical efficiency of photosystem II (PSII) and water potential of *Cnidoscolus quercifolius* Pohl in areas of Caatinga paraibana. **IHERINGIA**, Série Botânica, Porto Alegre, v. 69, n. 2, p. 479-487, 2014.

OSAKABE, Y.; OSAKABE, K.; SHINOZAKI, K.; TRAN, L.S.P. Response of plants to water stress. **Frontiers in Plant Science**, v. 5, n. 86, p. 1-8, 2014.

PAREYN, F.G.C. A importância da produção não-madeireira na Caatinga. In: GARIGLIO, M.A.; SAMPAIO, E.V.S.B.; CESTARO, L.A.; KAGEYAMA, P.Y. (Org.). **Uso sustentável e conservação dos recursos florestais da Caatinga**. 2ª ed. Brasília: Serviço Florestal Brasileiro, 2010. cap. 1.1, p. 29-48.

PUTHUR, J.T. Antioxidants and cellular antioxidation mechanism in plants. **South Indian Journal of Biological Sciences**, v. 2, n. 1, p. 14-17.

RIBEIRO, K.; SOUSA-NETO, E.R.; CARVALHO-JUNIOR, J.A.; LIMA, J.R.S.; MENEZES, R.S.C.; DUARTE-NETO, P.J.; GUERRA, G.S.; OMETTO, J.P.H.B. Land cover changes and greenhouse gas emissions in two different soil covers in the Brazilian Caatinga. **Science of the Total Environment**, v. 571, p. 1048-1057, 2016.

RIBEIRO-FILHO, N.M.; FLORÊNCIO, I.M.; BRITO, A.C.; DANTAS, J.P.; CAVALCANTI, M.T. Avaliação nutricional de raízes de faveleira e cenoura em períodos equidistantes de coleta. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v. 13, n. 2, p. 169-175, 2011.

ROACH, T.; KRIEGER-LISZKAY, A. Regulation of photosynthetic electron transport and photoinhibition. **Current Protein and Peptide Science**, v. 15, p. 351-362, 2014.

RODAL, M.J.N.; SAMPAIO, E.V.S.B. A vegetação do bioma caatinga. In: SAMPAIO, E. V.S.B.; GIULIETTI, A.M. VIRGÍNIO, J.; GAMARRA-ROJAS, C.F.L. (Ed.). **Vegetação e flora da caatinga**. Recife: PNE/CNIP, 2002. p. 11-24.

RODES, D.; HANSON, A.D. Quaternary ammonium and tertiary sulphonium compounds in higher plants. **Annual Reviews of Plants Physiology and Plant Molecular Biology**, v. 44, p. 357-383, 1993.

ROYCHOUDHURY, A.; BANERJEE, A. Endogenous glycine betaine accumulation mediates abiotic stress tolerance in plants. **Tropical plant research**, v. 3, n. 1, p. 105-111, 2016.

SALEHI-LISAR, S.Y.; BAKHSHAYESHAN-AGDAM, H. Drought stress in plants: causes, consequences, and tolerance. In: HOSSAIN, M.A. et al. (Eds.). **Drought stress tolerance in plants: physiology and biochemistry**. New York: Springer International Publishing, 2016. v. 1, cap. 1, p. 1-16.

SALES, F.C.V.; BAKKE, O.A.; ARRIEL, E.F.; BAKKE, I.A.B. Enxertia da faveleira (*Cnidoscolus phyllacanthus*) sem espinhos. **Ciência Rural**, v. 38, n. 5, p. 1443-1446, 2008.

SAMI, F.; YUSUF, M.; FAIZAN, M.; FARAZ, A.; HAYAT, S. Role of sugars under abiotic stress. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 109, p. 54-61, 2016.

SANTOS, C.M.; VERISSIMO, V.; WANDERLEY-FILHO, H.C.L.; FERREIRA, V.M.; CAVALCANTE, P.G.S.; ROLIM, E.V.; ENDRES, L. Seasonal variations of photosynthesis,

gas exchange, quantum efficiency of photosystem II and biochemical responses of *Jatropha curcas* L. grown in semi-humid and semi-arid areas subject to water stress. **Industrial Crops and Products**, v. 41, p. 203- 213, 2013.

SILVA, L.M.M.; AGUIAR, I.B.; MORAIS, D.L.; VIEGAS, R.A.; SILVEIRA, J.A.G. Storage of seeds of *Cnidoscolus phyllacanthus* Pax & K. Hoffm. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 9, n. 4, p. 591-595, 2005.

SILVA, L.M.M.; AGUIAR, I.B.; VIEGAS, R.A.; MENDONÇA, I.F.C. Biologia reprodutiva de *Cnidoscolus juercifolius* Pax & K. Hoffm (Euphorbiaceae). **Revista de Biologia e Ciências da Terra**, v. 6, n. 2, p. 25-34. 2006.

SILVA, T.C.; SANTOS, E.M; MARTINS, R.; PINHO, A.; CAMPOS, F.S.; OLIVEIRA, J.S.; MACEDO, C.H.O.; PERAZZO, A.F.; BEZERRA, H.F.C. Conservação de forrageiras xerófilas. **Revista Eletrônica de Veterinária**, v. 15, n. 3, p. 1-10, 2014.

SIMOVA-STOILOVA, L.; VASSILEVA, V.; FELLER, U. Selection and breeding of suitable crop genotypes for drought and heat periods in a changing climate: which morphological and physiological properties should be considered? **Agriculture**, v. 6, n. 26, p. 1-19, 2016.

SOFO, A.; SCOPA, A.; NUZZACI, M.; VITTI, A. Ascorbate peroxidase and catalase activities and their genetic regulation in plants subjected to drought and salinity stresses. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 16, p. 13561-13578, 2015.

SONI, P.; SHARMA, R.; RIZWAN, M.; SINGH, G. Classification of plant responses to drought stress. **Research in Environment and Life Sciences**, v. 7, n. 2, p. 69-80, 2014.

SOUZA, B.B; BATISTA, N.L.; OLIVEIRA, G.J.C. Utilização da faveleira (*Cnidoscolus phyllacanthus*) como fonte de suplementação alimentar para caprinos e ovinos no semiárido brasileiro. **Agropecuária Científica no Semiárido**, v. 8, n. 3, p. 01-05, 2012.

TIAN, L.; XU, P.; CHUKHUTSINA, V.U.; HOLZWARTH, A.R.; CROCE, R. Zeaxanthin-dependent nonphotochemical quenching does not occur in photosystem I in the higher plant *Arabidopsis thaliana*. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, Early Edition, p. 1-5, 2016.

TRIPATHY, B.C.; PATTANAYAK, G.K. Chlorophyll biosynthesis in higher plants. In: EATON-RYE, J.J.; TRIPATHY, B.C; SHARKEY, T.D. (eds.). **Photosynthesis: Plastid Biology, Energy Conversion and Carbon Assimilation**. Springer. p. 63-94, 2012.

VAN-DEN-ENDE, W.; EL-ESAWI, S.K. Sucrose signaling pathways leading to fructan and anthocyanin accumulation: a dual function in abiotic and biotic stress responses? **Environmental and Experimental Botany**, v. 108, p. 4-13, 2014.

VERA, L.F. El código genético cumple 40 años. **Revista de la Real Academia de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales**, v. 102, n. 1, p. 201-213, 2008.

VIANA, O.J.; CARNEIRO, M.S.S. Plantas forrageiras xerófilas - I faveleira inerme, *Cnidoscolus phyllacanthus* (Mart.) Pax & K. Hoffm., no semi-árido cearense. **Ciência Agrônômica**, v. 22 n. 1/2, p. 17-21, 1991.

VINCE, O.; ZOLTÁN, M. **Plant Physiology**: Plant stress physiology, 2011. Disponível em: <http://www.tankonyvtar.hu/en/tartalom/tamop425/0010_1A_Book_angol_01_novenelettan/ch04s05.html>. Acesso em: 11 set. 2016.

WANI, S.H.; SINGH, N.B.; HARIBHUSHAN, A.; MIR, J.I. Compatible solute engineering in plants for abiotic stress tolerance - role of glycine betaine. **Current Genomics**, v. 14, p. 157-165, 2013.

YANG, S.L.; CHEN, K.; WANG, S.S.; GONG, M. Osmoregulation as a key factor in drought hardening-induced drought tolerance in *Jatropha curcas*. **Biologia Plantarum**, v. 59, n. 3, p. 529-536, 2015.

ZARGAR, S.M.; NANCY GUPTA, A.; NAZIRA, M.; MAHAJAN, R.; MALIK, F.A.; SOFI, N.R.; SHIKARI, A.B.; SALGOTRA, R.K. Impact of drought on photosynthesis: molecular. **Plant Gene**, <http://dx.doi.org/10.1016/j.plgene.2017.04.003>. 2017.

CAPÍTULO II

CRESCIMENTO INICIAL E ACÚMULO DE SOLUTOS COMPATÍVEIS EM FAVELEIRA COM E SEM TRICOMAS SOB DÉFICIT HÍDRICO

**Crescimento inicial e acúmulo de solutos compatíveis em faveleira com e sem tricomas
sob déficit hídrico**

Marta Ribeiro Barbosa², Francisco Wellington de Oliveira Carneiro³, Cláudia Ulisses de
Carvalho Silva⁴, Terezinha Rangel Camara^{3*}

*Autor para correspondência

1. Recebido em xxxxx

Artigo extraído do trabalho de conclusão de curso do primeiro autor.

2. Departamento de Agronomia - Melhoramento Genético de Plantas - Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE). Rua Dom Manoel de Medeiros S/N, CEP: 52171-900 - Dois Irmãos, Recife, Pernambuco – Brasil.

3. Departamento de Química da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE).

4. Departamento de Biologia da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE).

CRESCIMENTO INICIAL E ACÚMULO DE SOLUTOS COMPATÍVEIS EM FAVELEIRA COM E SEM TRICOMAS SOB DÉFICIT HÍDRICO

RESUMO - Nas regiões semiáridas a vegetação possui estratégias adaptativas de tolerância à seca. Dentre elas, destaca-se o ajustamento osmótico, fenômeno que ocorre através do acúmulo de solutos compatíveis. *Cnidoscolus quercifolius* é uma arbórea exclusiva das matas xerófilas do Nordeste brasileiro e destaca-se por sua tolerância à seca e por seus múltiplos usos. O objetivo desta pesquisa foi avaliar o efeito de solutos compatíveis durante o crescimento inicial de faveleira com e sem tricomas submetidas ao déficit hídrico e a posterior reposição da rega. As mudas foram mantidas sob dois regimes hídricos: rega a 80% da capacidade de pote (controle - C) até 105 dias e suspensão de rega (SR) até 60 dias com posterior reposição de água a 80% da capacidade de pote até o 105º dia. Foram avaliadas, altura da planta, diâmetro do coleto e número de folhas emitidas a cada 15 dias, taxa de crescimento absoluto (TCA) aos 105 dias e potencial osmótico (Ψ_s) e solutos compatíveis aos 60 e 105 dias. No tratamento SR houve diminuição do Ψ_s e acúmulo de solutos compatíveis, indicando a utilização do ajustamento osmótico pela faveleira. O número de folhas demonstrou maior sensibilidade ao estresse e destacou-se também durante a recuperação do estresse. Com o retorno da rega, a recuperação do crescimento, elevação do Ψ_s e diminuição dos teores de solutos compatíveis indicaram a influência do ajustamento osmótico na recuperação do estresse. A faveleira acumula solutos compatíveis para amenizar os efeitos do estresse hídrico através do ajustamento osmótico como estratégia de tolerância.

Palavras-chave: Ajustamento osmótico. *Cnidoscolus quercifolius*. Estratégia de tolerância.

**INITIAL GROWTH AND COMPATIBLE SOLUTE ACCUMULATION IN
FAVELEIRA WITH AND WITHOUT TRICHOMES UNDER WATER DEFICIT**

ABSTRACT – The vegetation of semi arid regions have adaptive strategies to tolerate drought. Among these strategies, osmotic adjustment is a phenomenon caused by the accumulation of compatible solutes. *Cnidoscolus quercifolius* Is an exclusive tree of xerophilous forests of Northeast Brazil and stands out for its drought tolerance and its multiple uses. The aim of this research was to evaluate the effect of compatible solutes on the initial growth of faveleira with and without trichomes submitted to the water deficit and the subsequent irrigation replacement. The seedlings were maintained under two water regimes: irrigation at 80% of pot capacity (control – C) up to 105 days and watering suspension (SR) up to 60 days with subsequent replacement of water at 80% of the pot capacity until the 105th day. Were evaluated plant height, stem diameter and number of leaves emitted every 15 days, absolute growth rate (AGR) at 105 days, and osmotic potential (Ψ_s) and compatible solutes at 60 and 105 days. In the SR treatment there was a decrease in Ψ_s and accumulation of compatible solutes, indicating the use of the osmotic adjustment by the faveleira. The number of leaves showed greater sensitivity to stress and also stood out during recovery from stress. With the return of watering, recovery of growth, Ψ_s elevation and decrease of compatible solutes indicated the influence of osmotic adjustment on the recovery of stress. The faveleira accumulates compatible solutes to ameliorate the effects of water stress through osmotic adjustment as a tolerance strategy.

Keywords: Osmotic adjustment. *Cnidoscolus quercifolius*. Tolerance strategy.

INTRODUÇÃO

Altas ondas de calor e maiores frequências de secas geradas pelas mudanças climáticas acarretam déficit hídrico no solo e vêm apontando para um alerta acerca da sobrevivência de plantas nas regiões áridas e semiáridas. Grande parte da vegetação desses ambientes apresenta alto grau de xerofitismo e possui estratégias adaptativas de tolerância à seca que permitem o desenvolvimento dessas espécies sob as condições climáticas dessas regiões, tais como, redução nas taxas de crescimento e das atividades fisiológicas, regulação do fechamento estomático, ajustamento osmótico, dentre outras. A avaliação da velocidade de recuperação de plantas após períodos de seca é uma importante ferramenta na seleção e no melhoramento de genótipos que se adaptam aos ambientes secos (FRANCISCO, 2013; SIMOVA-STOILOVA; VASSILEVA; FELLER, 2016).

O ajustamento osmótico, um dos mecanismos mais eficazes em plantas submetidas ao estresse hídrico, ocorre através do acúmulo de solutos compatíveis com o metabolismo celular. Estes compostos atuam como osmólitos por aumentar a capacidade das células de reter água em função da redução do potencial osmótico da planta, sem prejudicar seu funcionamento metabólico. Este evento promove a homeostase osmótica através do equilíbrio hídrico entre o citosol e o ambiente externo (WANI et al., 2013; DAWOOD, 2016; SAMI et al., 2016).

O acúmulo de açúcares solúveis como glicose, sacarose e frutose agem na regulação do ajustamento osmótico, melhorando a tolerância de plantas a estresses osmóticos. A prolina, um dos principais metabólitos acumulados em resposta a estresses ambientais, além de atuar como osmólito, pode agir como antioxidante em defesa contra o estresse oxidativo ou estabilizando estruturas celulares e biomoléculas. A glicina betaína também exerce outras funções, além da osmorreguladora uma vez que atua na integridade de membranas e de enzimas. (SONI et al., 2014; SAMI et al., 2016). Solutos como prolina, glicina betaína e açúcares solúveis tem sido acumulados em respostas adaptativas ao estresse hídrico em algumas espécies da família Euphorbiaceae relatadas como tolerantes a seca (BABITA et al., 2010; MOURA et al., 2016; YANG et al., 2015), assim como em espécies endêmicas do bioma Caatinga (COSTA et al., 2015; SILVA et al., 2004).

Cnidoscolus quercifolius Pohl, espécie da família Euphorbiaceae que vem ganhando destaque pela sua multiplicidade de usos em populações da Caatinga (CREPALDI, et al., 2016; FERRAZ et al., 2012), é uma arbórea pioneira exclusiva das matas xerófilas do Nordeste brasileiro, onde vegeta sob baixos índices pluviométricos e apresenta rusticidade e rápido crescimento. Apesar de representar potencial socioeconômico para as populações do

semiárido a faveleira, como é conhecida, apresenta tricomas urticantes que dificultam seu manuseio, limitando seus diversos usos. Exemplares sem tricomas são encontrados em baixa frequência na natureza e para o melhor aproveitamento da espécie, são recomendados como lavoura xerófila, através da ampliação da sua base genética em populações de cruzamento aberto (ALOUFA; MEDEIROS, 2016; CANDEIA, et al., 2010).

Incentivados pela preocupação com os efeitos das mudanças climáticas, programas de melhoramento tem focado nas pesquisas acerca das respostas de variedades de plantas com maior capacidade para enfrentar condições de seca. Apesar de algumas pesquisas abordarem acerca de respostas a condição de déficit hídrico da faveleira, poucas estudos estão direcionados aos mecanismos de tolerância à seca da espécie, sobretudo ao acúmulo de solutos compatíveis e seus efeitos no crescimento. Assim, o objetivo desta pesquisa foi avaliar o efeito de solutos compatíveis durante o crescimento inicial de faveleira com e sem tricomas submetidas ao déficit hídrico e a posterior reposição da rega.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido em casa de vegetação na UFRPE, em Recife (08° 03' 14" S e 34° 52' 52" W), no período de dezembro de 2015 a março de 2016, onde as médias de temperatura e umidade relativa no período foram de 32 °C e 68,9 %, respectivamente, e a radiação fotossinteticamente ativa (PAR) média no local foi 757,0 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{seg}^{-1}$.

Foram utilizadas mudas de faveleira com quatro meses de idade, as quais foram padronizadas quanto à altura (± 20 cm) e ao número de folhas (± 9) e transplantadas para sacos de polietileno medindo 40 cm x 20 cm, com perfurações na base, com capacidade para 6 L. Os sacos foram preenchidos por uma mistura de areia lavada+substrato comercial Plantimax[®]+solo (1:1:1). As plantas foram irrigadas com solução nutritiva com a seguinte composição: 0,37 g.L⁻¹ de fertilizante solúvel Kristalon[®] (1,5% N; 5,5% P₂O₅; 19% K₂O; 2% MgO; 5,5% S; 0,012% B; 0,002% Mo; 0,005% Cu-EDTA; 0,012% Zn-EDTA,; 0,035% Fe-EDTA e 0,02% Mn-EDTA) e 0,42 g.L⁻¹ de Calcinit[®] (7,75% N e 9,5% Ca).

As regas ocorreram diariamente, porém com alternância de dias de regas com água ou com solução nutritiva. A umidade foi mantida em aproximadamente 80 % da capacidade de pote e as plantas permaneceram nestas condições, durante 15 dias, antes de iniciar a aplicação dos tratamentos. Para a obtenção da capacidade de pote, três amostras de sacos de polietileno contendo o substrato seco foram pesadas para a determinação do peso seco. Em seguida, a base dos sacos foi imersa em água até a saturação total do substrato. Após completa

drenagem, os sacos foram pesados novamente para a determinação do peso úmido (100 % da capacidade de pote) que foi calculada pela diferença entre os pesos à saturação e o peso do substrato seco.

As mudas foram mantidas sob dois regimes hídricos, constituídos pelos tratamentos: controle - regime de rega contínua com manutenção de 80% da capacidade de pote ao longo do período experimental (105 dias) e suspensão de rega – suspensão total do suprimento hídrico. Para as avaliações foram considerados dois períodos: o de imposição do estresse hídrico, durante 60 dias e o de reposição da rega, que foi dos 60 aos 105 dias, quando as plantas expostas ao estresse hídrico passaram a receber água procurando-se manter o mesmo regime do tratamento controle.

Para as avaliações biométricas, as variáveis altura da planta e diâmetro do coleto foram mensuradas com o auxílio de trena graduada e paquímetro, respectivamente e o número de folhas emitidas foi obtido através de contagem direta. Os valores médios destas variáveis foram utilizados para as avaliações das velocidades do crescimento em altura e em diâmetro através da taxa de crescimento absoluto (TCA), pela equação: $TCA = \frac{V_2 - V_1}{t_2 - t_1}$ onde, TCA = taxa de crescimento absoluto; V_1 = medida da altura ou diâmetro no tempo₁; V_2 = medida da altura ou diâmetro no tempo₂; t_1 = tempo inicial da avaliação (0 dias); e t_2 = tempo final da avaliação (105 dias) de acordo com Benincasa (2003).

Para a estimativa do potencial osmótico, folhas do terço médio da planta foram coletadas e maceradas para a obtenção da seiva, a qual foi centrifugada a 10.000 g por 10 minutos a 4 °C. Do sobrenadante foram utilizados 10 µL para a determinação da osmolalidade das amostras através de leituras em osmômetro de pressão de vapor Vapro 5520 (Wescor, Inc., Logan, UT, USA). Dos valores obtidos, expressos em osmolalidade (mmol kg^{-1}), foram calculados os potenciais osmóticos expressos em mega pascal (MPa), através da equação de Van't Hoff, pela fórmula: $\Psi_s = -RTC$ em que, Ψ_s = potencial osmótico (atm); R = constante geral dos gases perfeitos ($8,32 \text{ J mol}^{-1} \text{ }^\circ\text{K}^{-1}$); T = temperatura ($^\circ\text{K}$); C = concentração (mol L^{-1}).

Para análise de solutos compatíveis, foram determinados os teores de carboidratos solúveis totais (YEMM; WILLIS, 1954) e sacarose (VAN HANDEL, 1968) pelos métodos da antrona, a estimativa do teor de glicina betaína, realizada pela quantificação de complexos quaternários de amônio-periodeto de potássio de acordo com Grieve e Grattan (1983) e a do teor de prolina livre, seguindo o método do ácido sulfossalicílico descrito por Bates, Waldren e Teare (1973).

As variáveis altura da planta, diâmetro do coleto e número de folhas foram avaliadas ao longo do período experimental, a cada 15 dias, até o 105º dia, resultando em oito tempos de

avaliação em quatro repetições. Os dados foram submetidos ao teste de esfericidade de Mauchly, o qual resultou em significativo, com $p - valor < 0,05$, indicando que as análises não devem ser realizadas univariadamente como parcelas subdivididas no tempo. Assim, os dados foram submetidos à análise multivariada (MANOVA) com medidas repetidas, e as médias comparadas pelo teste Tukey a 5% de probabilidade por meio do programa estatístico SAS (Statistical Analysis System).

A avaliação das variáveis TCA, Ψ_s e teor dos solutos compatíveis foram realizadas aos 60 e 105 dias após a aplicação dos tratamentos, o que correspondeu aos finais dos períodos de estresse e de recuperação, respectivamente, para as plantas do tratamento SR. Para a análise estatística dessas variáveis foi adotado o esquema fatorial 2 x 2 (dois genótipos e dois regimes hídricos) resultando em quatro tratamentos para cada período. O delineamento utilizado foi inteiramente casualizado, com três repetições para os solutos compatíveis e quatro para as demais variáveis. Cada repetição foi representada por uma muda. Os dados foram submetidos à análise da variância (ANOVA) e as médias comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade, utilizando o software SISVAR 5.6. Os dados de TCA em altura da planta e teor de prolina livre foram previamente transformados em \sqrt{x} e $\log(x)$, respectivamente.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As análises permitiram avaliar a relação entre o crescimento e o ajustamento osmótico como estratégia fisiológica de plantas de faveleira submetidas à restrição hídrica. A partir do 30º dia de suspensão de rega as variáveis de crescimento, altura e diâmetro do coleto apresentaram decréscimo em relação ao controle. Já a emissão de folhas diminuiu logo após os primeiros 15 dias sem rega, demonstrando ser a variável mais sensível aos efeitos do déficit hídrico (Tabela 1).

Tabela 1. Médias quinzenais de altura da planta, diâmetro do coleto e número de folhas emitidas em plantas de *Cnidoscolus quercifolius* Pohl submetidas a dois regimes hídricos (controle e suspensão de rega)

Dias após o início dos tratamentos	Altura da planta (cm)		Diâmetro do coleto (mm)		Número de folhas emitidas	
	Controle	Suspensão de rega	Controle	Suspensão de rega	Controle	Suspensão de rega
0	21,00 a	21,38 a	5,08 a	5,65 a	1,0 a	1,0 a
15	26,94 a	22,66 a	6,41 a	6,12 a	3,0 a	1,8 b
30	33,06 a	23,58 b	7,54 a	6,18 b	6,5 a	2,4 b
45	41,12 a	23,62 b	8,89 a	6,25 b	9,9 a	2,5 b
*60	45,38 a	23,69 b	9,78 a	6,42 b	12,8 a	2,9 b
75	51,81 a	27,25 b	10,56 a	6,91 b	16,8 a	5,4 b
90	61,81 a	36,88 b	11,89 a	7,87 b	21,0 a	9,2 b
105	74,56 a	49,75 b	13,55 a	9,41 b	25,0 a	13,1 b

Médias seguidas pelas mesmas letras, nas linhas de uma mesma variável, não diferem significativamente pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

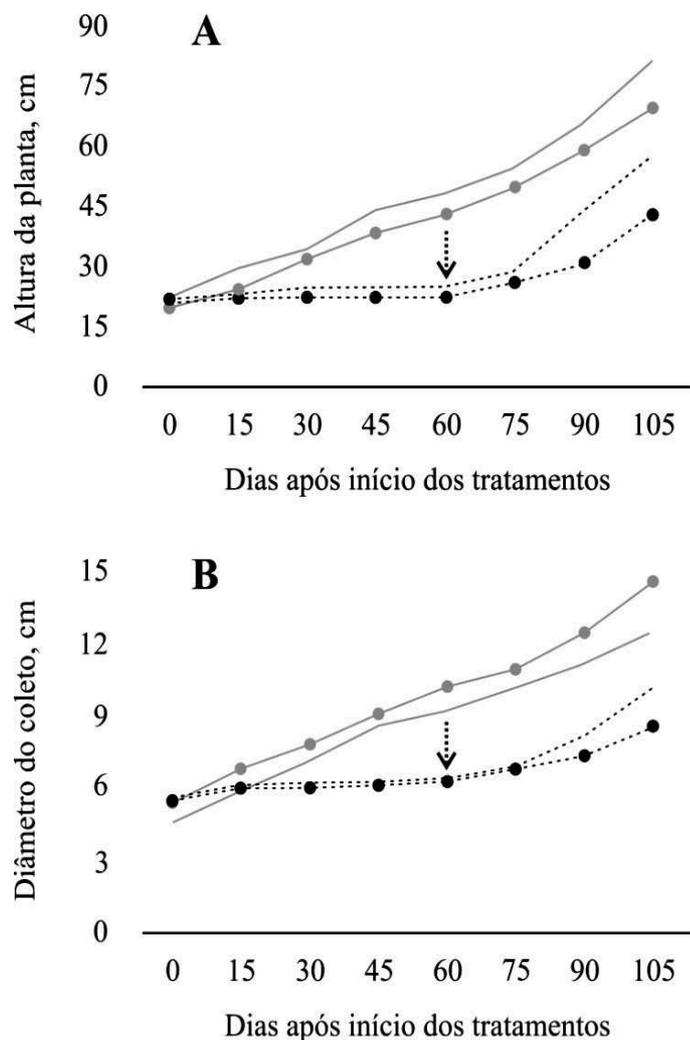
*Reposição da rega nas plantas do tratamento suspensão de rega.

A emissão de folhas também destacou-se na fase de recuperação das plantas do tratamento SR apresentando aumento da ordem de 46 % já nos primeiros 15 dias após o retorno da rega (dos 60 aos 75 dias), enquanto que a altura e o diâmetro aumentaram cerca de 13 e 9 %, respectivamente. Quarenta e cinco dias após a reposição de rega (105º dia após o início dos tratamentos), observou-se um incremento médio de 52,4 % em altura e 31,8 % em diâmetro do coleto. A emissão de folhas, entretanto, foi 78 % maior aos 105 dias em relação ao período sem rega confirmando ser a variável que melhor evidencia a estratégia de recuperação das plantas ao tratamento aplicado (Tabela 1).

A rápida emissão de folhas na recuperação da seca é evidenciada como uma característica de tolerância em faveleira. Ao avaliar a sobrevivência da espécie em períodos secos na Caatinga, Medeiros (2013) observou rápida recuperação da emissão de folhas na faveleira após exposição a períodos de seca acompanhados de chuvas em baixos índices pluviométricos (< 200 mm) por curto período (menos de 60 dias). Na ocasião, o autor indicou a espécie como resistente as intempéries do semiárido. Aloufa e Moura (2016) também relataram que uma das características de tolerância à seca em faveleira é o início da emissão de novas folhas logo nos primeiros dias após a ocorrência das chuvas enfatizando o envolvimento da emissão de folhas na recuperação da espécie após exposição à seca.

O crescimento em plantas é diretamente afetado pelo acúmulo de biomassa. Como a folha representa o principal sítio da fotossíntese, o acréscimo na emissão de folhas resulta no aumento da fotossíntese e por consequência no acúmulo de biomassa, influenciando negativamente o crescimento das plantas (SIMOVA-STOILOVA; VASSILEVA; FELLER, 2016). No presente experimento, a rápida recuperação da emissão de folhas na fase de retorno da rega no tratamento SR, é apontada como estratégia utilizada pela faveleira para influenciar positivamente a retomada do crescimento nesta fase.

Os perfis de crescimento das plantas com e sem tricomas são apresentados em gráficos na Figura 1, e permitiram perceber comportamentos ascendentes (perfis não horizontais) para altura da planta, diâmetro do coleto e emissão de folhas no tratamento controle e uma fase estacionária (perfis horizontais) nas plantas expostas a 60 dias de suspensão de rega. Essas plantas também apresentaram acúmulo de solutos compatíveis e redução no potencial osmótico foliar no último dia da fase de suspensão de rega (60 dias após o início dos tratamentos) (Tabela 3).



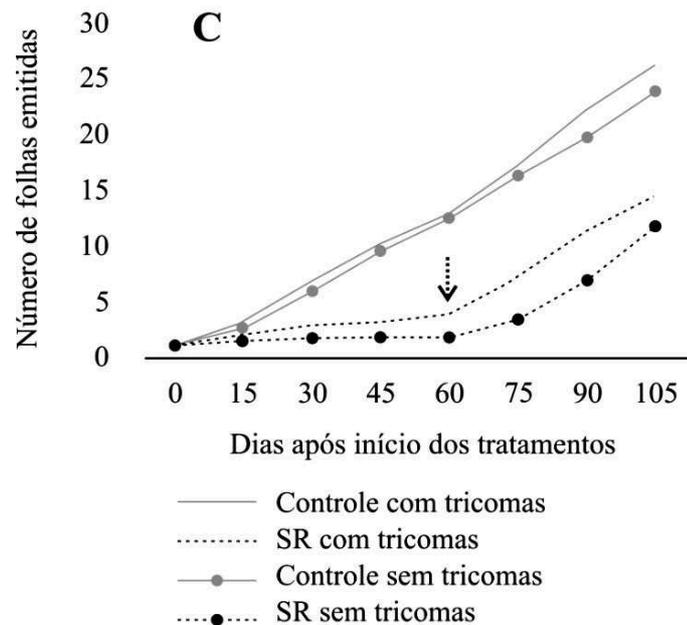


Figura 1. Perfis médios de altura da planta (A), diâmetro do coleto (B) e número de folhas emitidas (C) em função dos tempos de avaliação em plantas de *Cnidoscolus quercifolius* Pohl submetidas a dois regimes hídricos (Controle = rega contínua; SR = suspensão de rega). A seta indica o início do retorno da rega no tratamento SR.

No período de retorno da rega (60 aos 105 dias) a retomada do crescimento e da emissão de folhas das plantas do tratamento SR é percebida pela elevação dos perfis médios (não horizontais) a partir do 75º dia (Figura 1), indicando a recuperação dessas plantas com o retorno da disponibilidade hídrica.

As taxas de crescimento absoluto (TCA) foram calculadas a partir da altura da planta e do diâmetro do coleto, representando, respectivamente, o crescimento primário e secundário das plantas de faveleira. Não houve efeito da interação dos fatores sobre a TCA em altura das plantas, porém a suspensão da rega reduziu a velocidade de crescimento das plantas, de maneira que a TCA das plantas do tratamento SR ($0,63 \text{ cm dia}^{-1}$) foi praticamente a metade daquela exibida pelas plantas do tratamento controle ($1,19 \text{ cm dia}^{-1}$), independente da presença de tricomas. A TCA em diâmetro do coleto também diminuiu com a suspensão de rega e, entre as plantas que passaram pela restrição hídrica, a TCA em diâmetro foi menor naquelas sem tricomas (Tabela 2).

Tabela 2. Médias da taxa de crescimento absoluto (TCA) em diâmetro do coleto de plantas de *Cnidoscolus quercifolius* Pohl (com e sem tricomas) após período de restrição hídrica

TRATAMENTOS	TCA Ø coleto (mm dia ⁻¹)	
	Com tricomas	Sem tricomas
Controle	0,17 bA	0,20 aA
Suspensão da rega	0,10 aB	0,07 bB
CV %	13,8	

Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas nas linhas e maiúsculas nas colunas, não diferem significativamente pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

A capacidade das plantas em recuperar o crescimento e desenvolvimento após exposição a condições estressantes podem ser expressas de diferentes formas entre e dentro de espécies, dependendo do genótipo (MAIA et al., 2013). Nas condições da presente pesquisa, os fenótipos com e sem tricomas apresentaram o mesmo comportamento no padrão de crescimento, uma vez que diferença significativa entre as velocidades do crescimento das plantas com e sem tricomas foi detectada apenas na TCA em diâmetro do coleto (Tabela 2). Isso implica que a capacidade de recuperação da faveleira após exposição ao déficit hídrico não está relacionada com a expressão da característica tricomas, pois, embora, de acordo com Larcher (2006), o crescimento em diâmetro em espécies arbóreas seja considerado de grande importância para o desenvolvimento da planta por apresentar função de sustentação dos ramos e expansão da copa, ele referir-se ao crescimento secundário, o qual se dá de forma muito lenta com relação ao crescimento em altura (crescimento primário), implicando em uma variável pouco sensível.

Com relação ao potencial osmótico (Ψ_s) e ao acúmulo de solutos compatíveis, apenas o fator regime hídrico afetou as respostas das plantas, as quais apresentaram diminuição do Ψ_s acompanhada de acúmulo de solutos compatíveis quando exposta aos 60 dias de suspensão de rega. Aos 105 dias após o início dos tratamentos (45 dias após a retomada da rega) os teores dos solutos compatíveis e o potencial osmótico no tratamento SR igualaram-se aos das plantas do tratamento controle, com exceção do teor de prolina (Tabela 3).

Tabela 3. Médias de potencial osmótico (Ψ_s) e teores de carboidratos solúveis totais (CST), sacarose (SAC), prolina livre (Pro) e glicina betaína (GB) de plantas de *Cnidoscolus quercifolius* Pohl submetidas a dois regimes hídricos após períodos de estresse hídrico e de recuperação

Tratamentos	Ψ_s (MPa)	CST (mg g ⁻¹ MS)	SAC (mg g ⁻¹ MS)	Pro (μ mol g ⁻¹ MF)	GB (μ mol g ⁻¹ MS)
----- 60 dias após o início dos tratamentos -----					
Controle	-2,1 a	75 b	56 b	119 b	16 b
Suspensão de rega	-2,9 b	169 a	89 a	382 a	64 a
CV %	8,3	25,7	17,5	16,9	24,0
----- 105 dias após o início dos tratamentos -----					
Controle	-2,3 a	108 a	66 a	196 b	36 a
Suspensão de rega	-2,5 a	118 a	61 a	289 a	32 a
CV %	9,1	19,0	10,0	25,4	27,7

Médias seguidas da mesma letra não diferem estatisticamente pelo testes de Tukey ($p \leq 0,05$). Dados de Pro transformados por log (x).

Estas respostas demonstram a busca dessas plantas em manter o equilíbrio osmótico com o substrato quando o mesmo apresentava baixa disponibilidade hídrica. A absorção de água pelas plantas ocorre quando o seu potencial hídrico está menor que o do solo. Neste caso, as plantas tendem a acumular solutos compatíveis para manter o equilíbrio osmótico (DAWOOD, 2016). O ajustamento osmótico foi sugerido por Oliveira et al. (2014) como estratégia utilizada pela faveleira para amenizar os efeitos do déficit hídrico quando avaliaram a espécie em períodos de seca na Caatinga. Na ocasião, estes autores não avaliaram o acúmulo de solutos compatíveis, diferente do que ocorreu no presente experimento, onde foi observada a contribuição destes solutos no ajustamento osmótico das plantas expostas ao déficit hídrico (Tabela 1), como observado por Yang et al. (2015) ao avaliar plantas de *Jatropha curcas*, Euphorbiaceae considerada como tolerante à seca, perceberam a contribuição dos açúcares solúveis totais, prolina e glicina betaína no ajuste osmótico nas plantas sujeitas ao déficit hídrico.

A suspensão da rega afetou negativamente o crescimento e a emissão de folhas caracterizando o estresse hídrico nas plantas (Figura 1), ao mesmo tempo provocou redução do Ψ_s , a qual foi induzida pelo o ajustamento osmótico através do acúmulo dos solutos compatíveis (Tabela 3). Posteriormente, com a reposição da rega nestas plantas, a retomada do crescimento e da emissão de folhas ocorreu ao mesmo tempo em que houve elevação do Ψ_s e diminuição dos teores dos solutos compatíveis (Figura 1 e Tabela 3), indicando não haver mais a necessidade de ajustamento osmótico nestas plantas. Esses resultados apontam

para a ação dos solutos compatíveis para amenizar os impactos negativos ocorridos durante o estresse hídrico, e a sua influência na recuperação destas plantas com o retorno da disponibilidade hídrica. Segundo Dawood (2016), além de função osmorreguladora, estes osmólitos podem agir também na proteção de membranas e paredes celulares, assim como na estabilidade de proteínas, o que resulta na manutenção da permeabilidade e da organização celular. Os autores também relatam que estas ações garantem os processos vitais das plantas sob estresse, melhorando a recuperação dessas plantas, mesmo que o crescimento geral seja comprometido.

Após o retorno da rega apenas a prolina não alcançou os valores médios do tratamento controle (Tabela 2), evento que pode estar envolvido com outras funções inerentes ao aminoácido, além da sua função primária como osmoregulação, como estabilidade de estruturas proteicas e sua atuação na eliminação de radicais livres. A prolina está envolvida também numa importante rede nas vias do metabolismo do nitrogênio em associação com o armazenamento de carbono, durante o desenvolvimento de plantas (MAJUMDAR et al., 2016). Neste sentido, o acúmulo de prolina pode trazer benefícios para plantas também após o estresse. No entanto, ainda existem vários questionamentos a respeito das funções da prolina e suas relações com estresses abióticos (KAUR; ASTHIR, 2015).

No presente experimento a faveleira demonstrou ser uma espécie acumuladora de glicina betaína uma vez que apresentou aumento no teor do composto nas plantas expostas ao tratamento suspensão de rega aos 60 dias (Tabela 3). As plantas superiores podem ser classificadas de acordo com o acúmulo de glicina betaína. Wani et al. (2013) mencionam que plantas conhecidas como acumuladoras naturais, contêm baixos níveis do composto em condições normais e maiores em condições estressantes e que em algumas espécies a glicina betaína não é detectável em condições normais nem estressantes. Embora Blunden et al. (2003) tenham apontado a família Euphorbiaceae como não-acumuladora de betaína, os autores observaram maior rendimento de glicina betaína em duas espécies de *Jatropha*, gênero que, assim como o da faveleira (*Cnidoscolus*), pertence à subfamília *Crotonoideae*. No presente experimento, a faveleira comportou-se como espécie acumuladora do composto (Tabela 3), resultado que corrobora com os observados por Yang et al. (2015), quando detectou acúmulo de glicina betaína em *Jatropha curcas*, espécie que assim como a faveleira, pertence à subfamília *Crotonoideae* e família Euphorbiaceae. Assim como na presente pesquisa, estes autores também inferiram a efetividade do composto no ajuste osmótico das plantas submetidas ao estresse hídrico.

Algumas espécies consideradas não acumuladoras de glicina betaína, passaram a acumular após aplicação exógena do composto. Genes que catalisam as vias biossintéticas de

BARBOSA, M.R. Estratégias fisiológicas à restrição hídrica de *Cnidoscolus quercifolius*... 54 glicina betaína e prolina têm amenizado também as tensões provocadas por estresses abióticos como seca em plantas transgênicas. Em arábida, algodão e batata a introgressão de genes envolvidos na síntese de glicina betaína melhorou a tolerância ao déficit hídrico. Em plantas transgênicas de tabaco, o acúmulo de prolina também foi estimulado (KHAN; AHMAD; KHAN, 2015; WANI et al., 2013).

Os resultados obtidos na presente pesquisa demonstraram que a faveleira adotou como estratégia de tolerância o ajustamento osmótico através do acúmulo dos solutos compatíveis glicina betaína, prolina, carboidratos solúveis e sacarose, para amenizar os efeitos nocivos causados pelo déficit hídrico, bem como a rápida emissão de novas folhas para impulsionar a recuperação do crescimento após exposição ao estresse. Através destes resultados foi possível observar também que os fenótipos com e sem tricomas não responderam de forma diferente as condições de déficit hídrico impostas nesta pesquisa, com relação às variáveis estudadas.

CONCLUSÕES

O ajustamento osmótico através do acúmulo dos solutos compatíveis glicina betaína, prolina, carboidratos solúveis e sacarose e o fato da espécie demonstrar ser acumuladora de glicina betaína representam características utilizadas pela faveleira como estratégia de tolerância ao estresse hídrico. Essas respostas, assim como a rápida emissão de novas folhas com o retorno da disponibilidade hídrica após exposição ao estresse, demonstram influenciar na capacidade de recuperação da espécie ao estresse hídrico.

A semelhança nas respostas dos fenótipos com e sem tricomas da faveleira, representam uma vantagem, uma vez que a utilização do fenótipo sem tricomas pode ser utilizado para a melhor exploração dos potenciais da espécie. Estas informações também podem ser utilizadas em planejamentos de programas de melhoramento que visem aumentar a frequência de indivíduos com a característica sem tricomas. No entanto, maiores explicações acerca de outras características devem ser consideradas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALOUFA, M. A. I.; MEDEIROS, J. A. Valorização e preservação da faveleira (*C. quercifolius*) para o desenvolvimento sustentável do semiárido brasileiro. **Revista OKARA: Geografia em debate**, João Pessoa, v.10, n.3, p.453-476, 2016.

- BARBOSA, M.R. Estratégias fisiológicas à restrição hídrica de *Cnidoscolus quercifolius*... 55
- BABITA, M. et al. Osmotic adjustment, drought tolerance and yield in castor (*Ricinus communis* L.) hybrids. **Environmental and Experimental Botany**, Amsterdam, v.69, p. 243-249, 2010.
- BATES, L.; WALDREN, R. P.; TEARE, I. D. Rapid determination of free proline for water-stress studies. **Plant and Soil**, Amsterdam, v.39, p. 205-207, 1973.
- BENINCASA, M. M. P. **Análise de crescimento de plantas: noções básicas**. Jaboticabal: FUNEP, 2003. 41p.
- BLUNDEN, G. et al. Betaine distribution in the Euphorbiaceae. *Umm Al-Qura Journal for Science, Medicine, and Engineering*, v.15, n.1, p. 37-42, 2003.
- CANDEIA, B. L. et al. Production of thornless *Cnidoscolus phyllacanthus* progenies from open pollinated native trees. **Pesquisa Florestal Brasileira**, Colombo. v.30, n.62, p. 147-152, 2010.
- COSTA, A. S. et al. Respostas fisiológicas e bioquímicas de plantas de aroeira (*Myracrodruon urundeuva* Allemão) ao déficit hídrico e posterior recuperação. **Irriga, Botucatu**, v.20, n.4, p. 705-717, 2015.
- CREPALDI, C. G. et al. Richness and ethnobotany of the family Euphorbiaceae in a tropical semiarid landscape of Northeastern Brazil. **South African Journal of Botany**, Pietermaritzburgo, v.102, p. 157–165, 2016.
- DAWOOD, M. G. Influence of osmoregulators on plant tolerance to water stress. **Scientia Agriculturae**, v.13, n.1, p. 42-58, 2016.
- FERRAZ, J. S. F. et al. Usos de especies leñosas de la Caatinga del municipio de Floresta en Pernambuco, Brasil: conocimiento de los indios de la aldea *Travessão do Ouro*. **Bosque**, Valdivia, v.33, n.2, p. 183-190, 2012.
- FRANCISCO, P. R. M. Os limites do semiárido brasileiro. In: PEREIRA, F.C.; SANTANA, M.; PEREIRA, D.D.; LIMA, A.V.O.; VERAS, R.P (Org.). **Manejo de plantas xerófilas do semiárido**. Campina Grande: EDUFPG, 2013. p.163-181.

GRIEVE, C. M.; GRATTAN, S. R. Rapid assay for determination of water soluble quaternary ammonium compounds. **Plant and Soil**, v.70, p. 303-307, 1983.

KAUR, G.; ASTHIR, B. Proline: a key player in plant abiotic stress tolerance. **Biologia Plantarum**, v. 59, n. 4, p. 609-619, 2015.

KHAN, M.S.; AHMAD, D.; KHAN, M.A. Utilization of genes encoding osmoprotectants in transgenic plants for enhanced abiotic stress tolerance. **Electronic Journal of Biotechnology**, v.18, p.257-266, 2015.

LARCHER, W. **Ecofisiologia vegetal**. Tradução: Prado, C. H. B. A. São Carlos: Ed. Rima, 2006. 531p.

MAIA, A. J. et al. Efeito do estresse hídrico no crescimento de plantas de feijão de corda. **Enciclopédia biosfera**, Goiânia, v.9, n.17, p. 876-886, 2013.

MAJUMDAR, R. et al. Glutamate, ornithine, arginine, proline, and polyamine metabolic interactions: the pathway is regulated at the post-transcriptional level. **Frontiers in Plant Science**, v.7, art.78, p.1-17, 2016.

MEDEIROS, J. A. Introdução da favela (*Cnidoscolus phyllacanthus*) em meio à caatinga no núcleo de desertificação Seridó, na seca de 2012. **Revista OKARA: Geografia em debate**, João Pessoa, v.7, n.2, p. 241-254, 2013.

MOURA, A. R. et al. Relações hídricas e solutos orgânicos em plantas jovens de *Jatropha curcas* L. sob diferentes regimes hídricos. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v.26, n.2, p. 345-354, 2016.

OLIVEIRA, E. C. S. et al. Photochemical efficiency of photosystem II (PSII) and water potential of *Cnidoscolus quercifolius* Pohl in areas of caatinga paraibana. **Iheringia, Série Botânica**, Porto Alegre, v. 69, n. 2, p. 479-487, 2014.

SAMI, F. et al. Role of sugars under abiotic stress. **Plant Physiology and Biochemistry**, Paris, v.109, p. 54-61, 2016.

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

SIMOVA-STOILOVA, L.; VASSILEVA, V.; FELLER, U. Selection and breeding of suitable crop genotypes for drought and heat periods in a changing climate: which morphological and physiological properties should be considered? **Agriculture**, v.6, n.26, p.1-19, 2016.

SONI, P. et al. Classification of plant responses to drought stress. **Research in Environment and Life Sciences**, Lucknow, v.7, n.2, p. 69-80, 2014.

VAN HANDEL, E. Direct microdetermination of sucrose. **Analytical Biochemistry**, v.22, p. 280-283, 1968.

WANI, S. H. et al. Compatible solute engineering in plants for abiotic stress tolerance - role of glycine betaine. **Current Genomics**, Paris, v.14, p. 157-165, 2013.

YANG, S.L. et al. Osmoregulation as a key factor in drought hardening-induced drought tolerance in *Jatropha curcas*. **Biologia Plantarum**, Praga, v.59, n.3, p. 529-536, 2015.

YEMM, E. W.; WILLIS, A. J. The estimation of carbohydrates in plants by anthrone. **Biochemical Journal**, Londres, v.57, p. 508-514, 1954.

CAPÍTULO III

RESPOSTAS ANTIOXIDATIVAS EM FAVELEIRA COM E SEM TRICOMAS SOB DÉFICIT HÍDRICO

Respostas antioxidativas em faveleira com e sem tricomas sob déficit hídrico

Marta Ribeiro Barbosa², Lindomar Maria de Souza⁴, Cláudia Ulisses⁴, Terezinha Rangel Camara^{3*}

*Autor para correspondência

1. Recebido em xxxxx

Artigo extraído do trabalho de conclusão de curso do primeiro autor.

2. Departamento de Agronomia - Melhoramento Genético de Plantas - Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE). Rua Dom Manoel de Medeiros S/N, CEP: 52171-900 - Dois Irmãos, Recife, Pernambuco – Brasil.

3. Departamento de Química da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE).

4. Departamento de Biologia da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE).

RESPOSTAS ANTIOXIDATIVAS EM FAVELEIRA COM E SEM TRICOMAS SOB DÉFICIT HÍDRICO

RESUMO – A faveleira é conhecida por sua tolerância à seca e pelos seus diversos usos pelas comunidades do semiárido brasileiro. O entendimento das respostas de tolerância da faveleira pode auxiliar programas de melhoramento da espécie. O objetivo desta pesquisa foi avaliar as respostas antioxidativas de plantas de faveleira com e sem tricomas submetidas ao estresse hídrico, bem como a recuperação do estresse nessas plantas. Mudanças de faveleira com e sem tricomas foram submetidas a dois regimes hídricos: 105 dias de irrigação (controle = C) e 60 dias sem irrigação, seguidos por 45 dias de retorno da irrigação (suspensão de rega = SR). Avaliou-se biomassa seca das partes aérea e raízes, teor relativo de água (TRA), extravasamento de eletrólitos (EE), percentual de integridade absoluta de membrana (PIA), clorofilas “a” e “b”, e carotenoides, malondialdeído, peróxido de hidrogênio e atividades de enzimas do sistema antioxidante. O déficit hídrico diminuiu a biomassa seca da parte aérea e da raiz, alocação de biomassa da raiz, TRA, PIA, teor de Cloa e a Cloa/b, ao mesmo tempo que elevou o EE, o MDA, o teor de carotenoides e as atividades das enzimas SOD, APX e CAT. Com o retorno da disponibilidade hídrica a recuperação do estresse oxidativo nas plantas foi indicada pelo aumento no PIA e redução no EE e no MDA. As respostas antioxidativas na faveleira independem do caráter tricomas. A faveleira foi capaz de acionar os sistemas antioxidantes enzimático e não enzimático em combate ao estresse oxidativo como resposta de tolerância ao estresse hídrico.

Palavras-chave: *Cnidoscolus quercifolius*. Enzimas antioxidantes. Integridade de membrana.

**ANTIOXIDANT RESPONSE IN FAVELE WITH AND WITHOUT TRICOMAS
UNDER WATER DEFICIT**

ABSTRACT – The faveleira is known for its telerância to the drought and for its diverse uses by the communities of the Brazilian semiarid. The understanding of the tolerance responses of the faveleira can support breeding programs of the species. The objective of this research was to evaluate the antioxidative respnoss of faveleira plants with and without trichomes submitted to water stress, as well as the stress recovery in these plants. Faveleira seedlings with and without trichomes were submitted to two water regimes: 105 days of irrigation with 80% of pot capacity (control treatment = C) and 60 days without irrigation followed by 45 days of irrigation return (irrigation suspension treatment) = SR). It was evaluated: dry biomass of shoot and roots, relative water content (TRA), extravasation of electrolytes (EE), percentage of absolute membrane integrity (PIA), chlorophylls "a" and "b", and carotenoids, malondialdehyde, hydrogen peroxide and antioxidant enzyme activity. The water deficit decreased the dry biomass of shoot and root, root biomass allocation, TRA, PIA, Chla content and Chla/b, while increasing EE, MDA, carotenoids content and SOD, APX and CAT enzymes activities. The return of water availability mitigated the oxidative stress in the plants, which was indicated by the increase in the PIA and reduction in the EE and MDA. The antioxidative responses in the faveleira are independent of the trichomes character. The faveleira was able to activate the enzymatic and non-enzymatic antioxidant systems in the defense against oxidative stress as a tolerance response to water stress.

Keywords: *Cnidoscolus quercifolius*. Antioxidant enzymes. Membrane integrity.

INTRODUÇÃO

A seca é um dos principais fatores ambientais que afetam o crescimento e o desenvolvimento das plantas. No semiárido brasileiro, região marcada pela seca, a vegetação apresenta mecanismos de tolerância que garantem sua sobrevivência frente às condições adversas deste ambiente (ALOUFA; MEDEIROS, 2016). Algumas plantas possuem estratégias adaptativas que envolvem mecanismos de tolerância interligados que ocasionam mudanças morfológicas, fisiológicas, bioquímicas e moleculares e permitem o enfrentamento ao estresse hídrico (SALEHI-LISAR; BAKHSHAYESHAN-AGDAM, 2016). Alguns mecanismos envolvem a manutenção da absorção e utilização da energia luminosa pelos pigmentos fotossintetizantes (clorofilas e carotenoides), assim como a defesa do aparato fotossintético pelos carotenoides contra a formação de espécies reativas de oxigênio (ROS) (KLUGE; TEZOTTO-ULIANA; DA SILVA, 2015; SOFO et al., 2015).

ROS são moléculas reativas de oxigênio geradas normalmente pelo metabolismo celular. O excesso de ROS como peróxido de hidrogênio (H_2O_2), o radical superóxido ($O_2^{\cdot-}$), radical hidroxila (OH^{\cdot}) e o oxigênio singleto (1O_2) em plantas sob condições de estresse leva ao estresse oxidativo, evento caracterizado por danos em moléculas e estruturas celulares como proteínas, ácidos nucleicos e membranas. Para evitar ou combater esse estresse, as plantas podem ativar enzimas do sistema antioxidante como superóxido dismutase (SOD), ascorbato peroxidase (APX) e catalase (CAT), e o balanço das atividades dessas enzimas é crucial para a eliminação de ROS (SIMOVA-STOILOVA; VASSILEVA; FELLER, 2016; SOFO et al., 2015). O (OH^{\cdot}) e o (1O_2), são ROS altamente deletéria e podem provocar peroxidação lipídica, processo no qual ocorre a ruptura de membranas celulares e que tem como subproduto o malondialdeído (MDA), composto considerado marcador do estresse oxidativo (DEMIDCHIK, 2015).

Algumas variáveis, como níveis de pigmentos fotossintetizantes, percentual de integridade absoluta de membrana (PIA), teores de MDA e de H_2O_2 e atividades das enzimas SOD, APX e CAT, têm servido de base para a compreensão das respostas de plantas em condições de estresse, sobretudo do enfrentamento dessas plantas ao estresse oxidativo. Essas variáveis têm sido utilizadas na avaliação da tolerância ao estresse hídrico, tanto de espécies de ocorrência na Caatinga como *Myracrodruon urundeuva* (MARIANO et al., 2009), como em outras espécies da família Euphorbiaceae, tais como *Jatropha curcas* (POMPELLI, et al., 2010; ARCOVERDE et al., 2011; SILVA et al., 2015), *Ricinus communis* (MORAES et al., 2015) entre outras.

A faveleira (*Cnidoscolus quercifolius* Pohl), Euphorbiaceae xerófita arbórea e pioneira, de ocorrência na Caatinga, é conhecida por seus múltiplos usos e resistência à seca e apresenta grande significado socioeconômico para as comunidades do semiárido brasileiro. A presença de tricomas urticantes localizados em quase todas as partes da planta, contudo,

limita a utilização de seus potenciais (ALOUFA; MEDEIROS, 2016). Indivíduos de faveleira sem tricomas são encontrados em baixa frequência em populações nativas e, para a obtenção de sementes melhoradas, é recomendada a ampliação de sua base genética em plantios de polinização aberta (CANDEIA et al., 2010). O entendimento dos mecanismos de tolerância ao estresse hídrico utilizados pela faveleira com e sem tricomas pode auxiliar programas de melhoramento genético voltados para a sua introdução em lavouras xerófilas. Esta pesquisa teve como objetivo, O objetivo desta pesquisa foi avaliar as respostas antioxidativas de plantas de faveleira com e sem tricomas submetidas ao estresse hídrico, bem como a recuperação do estresse nessas plantas.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido em casa de vegetação localizada na UFRPE em Recife (08° 03' 14" S e 34° 52' 52" W) no período de dezembro de 2015 a março de 2016, quando a temperatura média local era de 32 °C e a umidade relativa de 68,9 %. Mudanças de faveleira dos fenótipos com e sem tricomas com quatro meses de idade, foram padronizadas com base na altura média (20,0 cm) e no número médio de folhas (8) e cultivadas em sacos de polietileno com capacidade para 6 L, medindo 40 x 20 cm, contendo uma mistura de areia lavada+substrato comercial Plantimax[®]+solo, na proporção 1:1:1. Durante 15 dias, foram realizadas regas com 80 % da capacidade de pote, a qual foi determinada por método gravimétrico. As regas foram realizadas em dias alternados, sendo uma vez com água e outra com uma solução nutritiva contendo 0,37 g.L⁻¹ de fertilizante solúvel Kristalon[®] (1,5% N; 5,5% P₂O₅; 19% K₂O; 2% MgO; 5,5% S; 0,012% B; 0,002% Mo; 0,005% Cu-EDTA; 0,012% Zn-EDTA; 0,035% Fe-EDTA e 0,02% Mn-EDTA) e 0,42 g.L⁻¹ de Calcinit[®] (7,75% N e 9,5% Ca).

Após 15 dias de cultivo sob as condições descritas anteriormente, foram aplicados dois tratamentos: o controle (C), caracterizado pela manutenção da rega com 80 % da capacidade de pote durante 105 dias; o tratamento de suspensão de rega (SR), definido pela supressão total da rega durante 60 dias seguidos por um período de retomada da rega com 80 % da capacidade de pote, durante 45 dias, perfazendo 105 dias de experimento. Ao final dos períodos de 60 e 105 dias após o início dos tratamentos, foram realizadas avaliações para estudar os efeitos do estresse hídrico e da recuperação ao estresse, respectivamente.

O crescimento das plantas foi avaliado a partir da produção de biomassa seca da parte aérea e das raízes e pela alocação de biomassa seca. A biomassa seca da parte aérea e das raízes foram obtidas por pesagens em balança analítica das biomassas frescas após secagem em estufa de aeração forçada até a obtenção dos pesos constantes. A partir dos valores de

biomassa seca, foram calculadas as alocações de biomassa para a parte aérea (ABPA) e para as raízes (ABR) através das equações: $ABPA = \text{peso da biomassa da parte aérea} / \text{peso da biomassa total} \times 100$ e $ABR = \text{peso da biomassa das raízes} / \text{peso da biomassa total} \times 100$ de acordo com Benincasa (2003).

Para avaliar o status hídrico, determinou-se o teor relativo de água (TRA), o qual foi calculado de acordo com Barrs e Weatherley (1962) a partir da equação $TRA = (MF-MS) / (MT-MS) \times 100$, onde a massa fresca (MF) foi obtida pela pesagem de 10 discos foliares medindo $0,5 \text{ cm}^2$ cada. Em seguida os discos foram mantidos, por 24 horas, em placas de Petri contendo água destilada para posterior pesagem e obtenção da massa túrgida (MT). Esses discos foram submetidos à secagem a $60 \text{ }^\circ\text{C}$ por 72 h e pesados para obtenção da massa seca (MS).

A intensidade de dano à membranas foi avaliada por meio do extravasamento de eletrólitos (EE) e do percentual de integridade absoluta de membrana (PIA). Para a obtenção do EE, 10 discos foliares medindo $0,5 \text{ cm}^2$ foram mantidos em tubos de ensaio contendo 30 mL de água destilada deionizada por 24 horas. Após esse período mensurou-se a condutividade elétrica livre (CEI dS m^{-1}) utilizando condutivímetro de bancada. Após este procedimento, os tubos foram mantidos a $80 \text{ }^\circ\text{C}$ em banho-maria por 1 hora. Após resfriamento até atingir temperatura ambiente ($\pm 25 \text{ }^\circ\text{C}$), foi realizada a leitura da condutividade elétrica total (CEt dS m^{-1}). A partir desses dados o EE foi calculado o através da equação: $EE = (CEI/CEt) \times 100$ e o PIA utilizando a equação: $PIA = 1 - CEI/CEt \times 100$, de acordo com Pimentel et al. (2002).

O teor de MDA foi analisado para avaliar a peroxidação lipídica e junto com o de H_2O_2 serviu como parâmetro para avaliar os níveis de estresse oxidativo. Para a obtenção dos teores de MDA e H_2O_2 , 0,2 g de amostras frescas de lâminas foliares foram macerados em N_2 líquido na presença de ácido tricloroacético (TCA) a 0,1% e 20% de polivinilpirrolidona (PVP). As amostras foram centrifugadas a 10.000 rpm por 15 minutos em centrífuga refrigerada a $4 \text{ }^\circ\text{C}$ e o sobrenadante utilizado como extrato. As leituras foram realizadas utilizando espectrofotômetro UV-vis.

A quantificação do teor de MDA foi baseada na metodologia descrita por Heath e Packer (1968). Utilizaram-se 250 μL do extrato ao qual foi adicionada 1,0 mL de uma mistura de ácido tricloroacético (TCA) a 10% e tiobarbitúrico (TBA) a 0,25%. As amostras foram incubadas em banho-maria a $95 \text{ }^\circ\text{C}$ por 30 minutos e, após resfriamento, foram centrifugadas por 10 minutos a 10.000 g e utilizadas para as leituras das absorbâncias a 560 e 600 nm.

Os teores de H_2O_2 foram quantificados de acordo com Alexieva et al. (2001), método através do qual amostras da mistura contendo 200 μL dos extratos, 200 μL de tampão fosfato de potássio a 0,1 M (pH 7,5) e 800 μL de solução 1,0 M de iodeto de potássio, permaneceram por 1 hora em gelo no escuro. Em seguida as amostras foram retiradas do escuro e mantidas a temperatura ambiente para serem utilizadas nas leituras a 390 nm de absorbância.

Para averiguar os efeitos do estresse no aparato fotossintético foram obtidos os teores dos pigmentos fotossintetizantes clorofila a (Cloa), clorofila b (Clob) e carotenoides (Car), os quais foram determinados por espectrofotometria de acordo com o método de Arnon (1949), homogeneizando 0,1 g de tecido fresco em 80 % (v/v) de solução aquosa de acetona e calculados com base nas equações descritas por Lichtenthaler (1987): clorofila *a* = $12,72 \times A_{663} - 2,59 \times A_{645}$; clorofila *b* = $22,88 \times A_{645} - 4,67 \times A_{663}$ e carotenoides = A partir dos valores dos teores de clorofilas calculou-se a razão entre os teores das clorofilas “a” e “b” (Cloa/b) e o somatório (Cloa+b).

As atividades das enzimas SOD, APX e CAT e o teor de carotenoides foram realizados para averiguar a ativação do sistema antioxidativo. Para as atividades das enzimas do sistema antioxidativo macerou-se 0,2 g de tecido fresco por amostra em nitrogênio (N₂) líquido com a adição de PVP e tampão fosfato de potássio pH 7,5 100 mM contendo ácido etilenodiaminotetracético (EDTA) e ditioneitol (DTT). O homogenizado foi centrifugado a 10.000 rpm por 20 minutos em centrífuga refrigerada a 4 °C. O sobrenadante foi utilizado como extrato enzimático para as análises, as quais foram determinadas por espectrofotometria utilizando espectrofotômetro UV-vis.

A atividade da SOD foi obtida determinando a inibição da redução fotoquímica do nitro blue tetrazolium (NBT) pela enzima, seguindo a metodologia de Giannopolitis e Reis (1977). Amostras contendo 3 mL da mistura reacional composta por 50 µL do extrato enzimático, tampão fosfato de potássio a 85 mM (pH 7,8), NBT a 75 µM, riboflavina a 5 µM, metionina 13 a mM, EDTA 0,1 a mM, foram acondicionadas em tubos de vidro e expostas a luz branca por 5 minutos. Posteriormente, as leituras foram efetuadas a 560 nm de absorbância. Uma unidade de SOD foi definida como a quantidade de enzima que inibiu 50 % da formazana por grama de massa fresca.

A quantificação da atividade da APX foi realizada conforme Nakano e Asada (1981), baseada no consumo do ascorbato, através da medida da variação da absorbância a 290 nm de uma solução reacional contendo 75 µL do extrato enzimático, 1335 µL de tampão fosfato de potássio a 0,05 M (pH 6,0), 75 µL de ácido ascórbico a 0,01 M e 15 µL de H₂O₂ a 0,1 M.

A atividade da CAT foi obtida com base na metodologia descrita por Berris e Sizer (1952), pelo declínio da absorbância do H₂O₂ consumido a 240 nm, de uma solução composta por 25 µL do extrato enzimático, 1390 µL de tampão fosfato de potássio a 0,01 mM (pH 7,0) e 50 µL de H₂O₂ a 0,5 M.

Adotou-se um esquema fatorial 2 x 2, considerando dois fenótipos (com e sem tricomas) e dois regimes hídricos (controle e suspensão de rega), o que gerou quatro tratamentos para cada período. As unidades experimentais, constituídas por uma planta por vaso, foram dispostas em delineamento inteiramente casualizado com quatro repetições. Os dados foram submetidos à análise da variância (ANOVA), e as médias comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. Coeficientes de correlação de Pearson (r) foram

calculados para as combinações entre todas as variáveis. As análises estatísticas foram realizadas utilizando o software SISVAR 5.6.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O tratamento de suspensão de rega durante 60 dias causou redução na produção de biomassa das plantas submetidas ao estresse. O déficit hídrico não afetou as plantas com e sem tricomas de maneira distinta, pois, diferente comportamento ocorreu apenas no acúmulo de biomassa das plantas mantidas com rega contínua até os 105 dias, quando a faveleira sem tricomas apresentou mais biomassa seca na parte aérea e menos na raiz, em relação à plantas com tricomas (Figura 1).

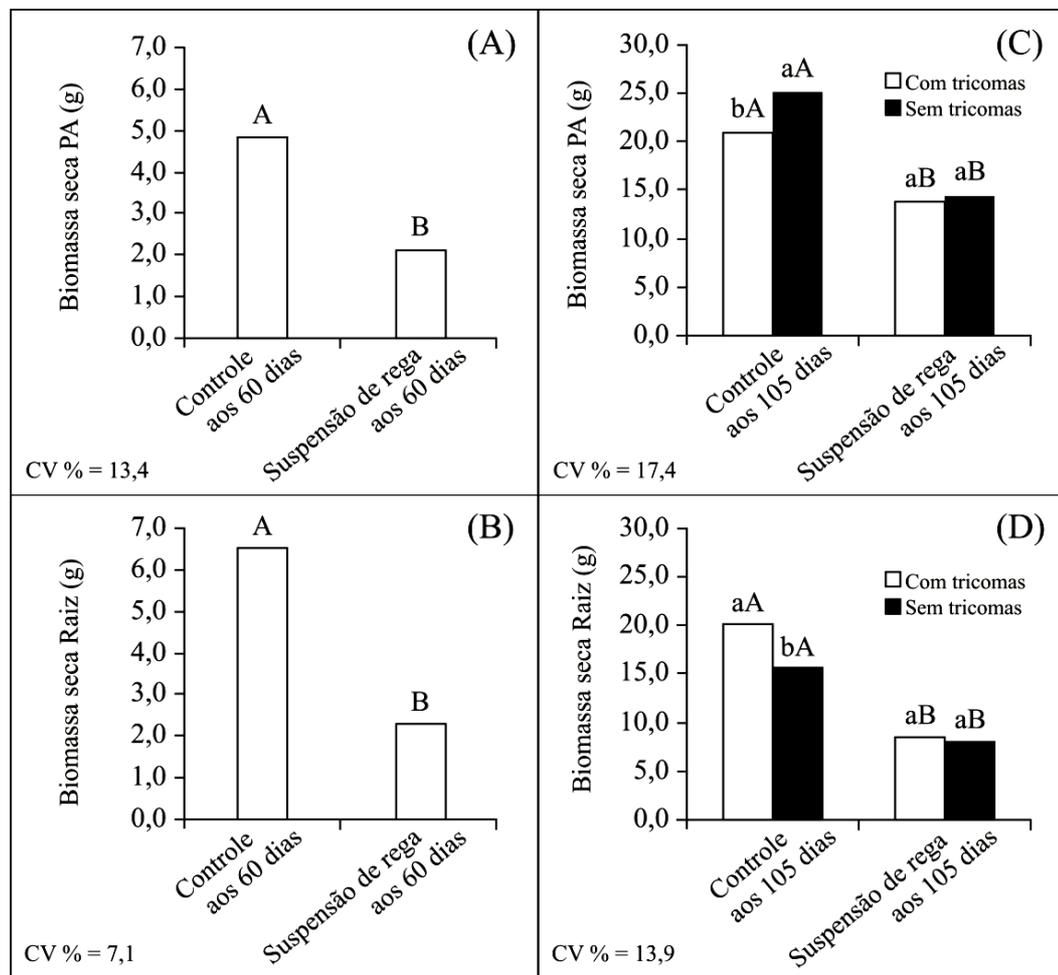


Figura 1. Biomassa seca: parte aérea (A) e raízes (B) aos 60 dias após o início dos tratamentos; parte aérea (C) e raízes (D) aos 105 dias após o início dos tratamentos (45 dias após o retorno da rega) de mudas de *Cnidoscolus quercifolius* Pohl com e sem tricomas submetidas a dois regimes hídricos (controle e suspensão de rega). Letras minúsculas iguais não diferem estatisticamente entre as plantas com e sem tricomas, e as maiúsculas não diferem entre os tratamentos, pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

A redução da biomassa atrelada aos baixos teores de água é um comportamento comum em plantas sob déficit hídrico. Neste caso, para evitar perda de água por transpiração algumas plantas adotam a restrição da abertura estomática o que dificultam a difusão de CO₂ para o interior da folha, o que limita a geração de carboidratos pela fotossíntese, e como consequência, reduz o acúmulo de biomassa (SIMOVA-STOILOVA; VASSILEVA; FELLER, 2016).

Embora o retorno da rega não tenha proporcionado a recuperação completa da biomassa seca das plantas, incrementos de aproximadamente 85 % da biomassa seca da parte aérea e de 72 % da biomassa seca da raiz, em comparação com as plantas sob suspensão de rega, indicam que estas plantas estão em fase de recuperação, após serem expostas ao estresse. Essa recuperação do incremento da biomassa seca nestas plantas, demonstra o retorno das atividades metabólicas envolvidas com o crescimento como indicativo de recuperação do estresse (Figura 1).

A suspensão da rega promoveu menores percentuais de alocação de biomassa para as raízes aos 60 dias em comparação com o tratamento controle. Este resultado foi mantido aos 105 dias após o início dos tratamentos, período que representa 45 dias de retorno da rega nas plantas sujeitas ao déficit hídrico (Figura 2).

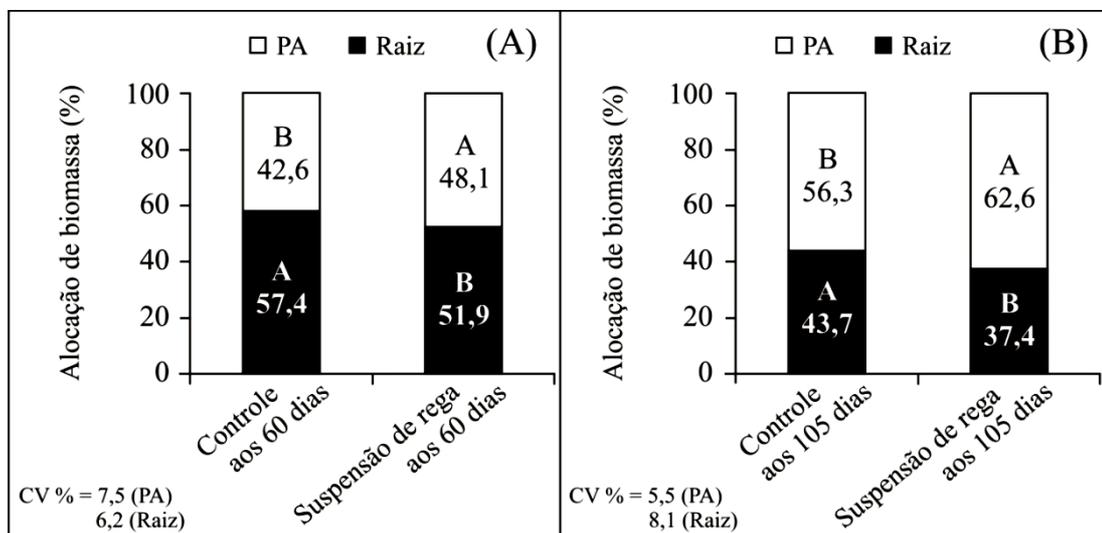


Figura 2. Alocação de biomassa: parte aérea e raiz (A) aos 60 dias após o início dos tratamentos; parte aérea e raiz (B) aos 105 dias após o início dos tratamentos (45 dias após o retorno da rega) de mudas de *Cnidoscopus quercifolius* Pohl submetidas a dois regimes hídricos (controle e suspensão de rega). Letras iguais não diferem estatisticamente entre os tratamentos, pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

No período de retorno da rega (105 dias após o início dos tratamentos) nas plantas do tratamento SR o maior investimento em crescimento foi na parte aérea (62,6 %) e não nas

raízes (37,4 %), em comparação com o período do estresse no qual essas plantas alocaram 48,1 % da biomassa para a parte aérea e 51,9 % para as raízes (Figura 1 C e F). Em plantas tolerantes à seca o crescimento das raízes pode ser direcionado para proporcionar melhor absorção de água nas camadas superficiais do solo (BASU et al., 2016). Segundo Aloufa e Moura (2016) as raízes da faveleira alcançam pouca profundidade como estratégia para favorecer a captação dos pequenos volumes de água superficiais das primeiras chuvas, após períodos de seca na Caatinga. Neste sentido, os autores relatam que este comportamento impulsiona o rápido desenvolvimento de novas folhas na faveleira no início dos períodos chuvosos. Estas observações também sugerem que a maior alocação de biomassa para a parte aérea com o retorno da disponibilidade hídrica nas plantas do presente experimento é reflexo da capacidade de rápida recuperação do estresse hídrico apresentada pela faveleira (Figura 2).

Nas plantas expostas aos 60 dias de suspensão de rega foi evidenciado efeito negativo do déficit hídrico no TRA. Após período de reidratação, esse efeito foi eliminado pelo retorno da disponibilidade hídrica nestas plantas (Tabela 1).

Tabela 1. Médias do teor relativo de água (TRA), taxa de extravasamento de eletrólitos (EE) e percentual de integridade absoluta de membrana (PIA) em plantas de *Cnidoscopus quercifolius* Pohl submetidas a dois regimes hídricos (controle e suspensão da rega) em dois períodos de avaliação (60 e 105 dias)

Tratamentos	TRA (%)	EE (%)	PIA (%)
----- 60 dias após o início dos tratamentos -----			
Controle	82,1 a	18,5 b	81,5 a
Suspensão de rega	71,4 b	23,6 a	76,4 b
CV %	5,5	3,3	0,9
----- 105 dias após o início dos tratamentos -----			
Controle	79,2 a	20,8 a	81,6 a
Suspensão de rega	76,4 a	18,4 b	79,2 b
CV %	3,4	8,5	2,1

Médias seguidas pelas mesmas letras, nas colunas, não diferem significativamente pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

A disponibilidade de água é um dos fatores chave para a manutenção das atividades metabólicas e da turgescência celular, e assim como o CO₂, representa um componente primordial para o crescimento em plantas (BARTLETT; SCOFFONI; SACK, 2012; KLUGE; TEZOTTO-ULIANA; DA SILVA, 2015). Neste caso, os maiores valores de TRA,

acompanhados do incremento na biomassa seca nas plantas irrigadas, no presente estudo, indicam a influência positiva da hidratação na manutenção do crescimento dessas plantas (Tabela 1 e Figura 1). Redução no conteúdo relativo de água foi verificada também em plantas de *Jatropha curcas* expostas ao estresse hídrico (ARCOVERDE et al., 2014; MOURA et al., 2016). Arcoverde et. al., (2014) também verificaram posterior recuperação das plantas de *J. curcas* quando passaram a ser reidratadas, após período de estresse hídrico. Estes autores relataram que houve influência do maior conteúdo relativo de água na manutenção do crescimento das plantas irrigadas.

A integridade das membranas foi afetada negativamente pela suspensão da rega, o que pode ser percebido pelo aumento do EE e redução do PIA (Tabela 1). Neste tratamento, forte correlação positiva entre o PIA e o TRA ($r = 8,0$) foi detectada. Estes resultados indicam que a desidratação nestas plantas foi suficiente para influenciar na ocorrência de danos nas membranas celulares dos tecidos (Tabela 1). Segundo Pimentel et al., (2002), menores percentuais de integridade absoluta de membrana (PIA), indicam maior taxa de liberação de eletrólitos, o que corrobora com os resultados obtidos no presente experimento. Este tipo de resposta é um sinal de ruptura das membranas celulares, o que pode ser promovido por peroxidação lipídica provocada por danos oxidativos em plantas sob estresses abióticos (DEMIDCHIK, 2015). Em plantas de *Myracrodruon urundeuva*, espécie da Caatinga, foi observada redução dos PIA quando as plantas foram submetidas ao déficit hídrico, em comparação com as irrigadas diariamente (MARIANO et al., 2009). Assim como a faveleira, embora a espécie seja tolerante a seca, a integridade das membranas é comprometida, caracterizando os efeitos do estresse hídrico (Tabela 1).

Embora o TRA tenha aumentado com o retorno da rega por 45 dias, a hidratação das plantas até este período não foi suficiente para promover a recuperação completa da integridade das membranas nas plantas sob estresse. Contudo, foi observada uma queda de 6,3 % no PIA nas plantas sujeitas aos 60 dias de suspensão de rega em comparação com as plantas irrigadas durante este período. Durante 45 dias do retorno da rega (aos 105 dias após o início dos tratamentos), essa queda reduziu para menos da metade (2,9 %) (Tabela 1). Estes resultados indicam que as plantas reidratadas se encontravam em fase de recuperação da integridade das membranas.

A suspensão do fornecimento de água não afetou os teores de clorofila b e clorofilas a+b, mas, provocou diminuição nos teores de clorofila “a” e na razão entre as clorofilas “a” e “b” e elevação no teor de carotenoides nas plantas (Tabela 2).

Tabela 2. Médias dos teores de clorofila “a” (Cloa), clorofila “b” (Clob), clorofilas a+b (Cloa+b) e de carotenoides (Car) e relação entre as clorofilas “a” e “b” (Cloa/b) em plantas de *Cnidoscopus quercifolius* Pohl, submetidas a dois regimes hídricos (controle e suspensão da rega) em dois períodos de avaliação (60 e 105 dias)

Tratamentos	Cloa (mg.g ⁻¹ MF)	Clob (mg.g ⁻¹ MF)	Cloa/b	Cloa+b (mg.g ⁻¹ MF)	Car (mg.g ⁻¹ MF)
----- 60 dias após o início dos tratamentos -----					
Controle	22,5 a	10,3 a	2,3 a	32,8 a	0,456 b
Suspensão de rega	18,6 b	12,5 a	1,5 b	31,1 a	0,599 a
CV %	9,0	19,7	26,4	9,1	15,6
----- 105 dias após o início dos tratamentos -----					
Controle	21,7 a	12,7 a	1,9 a	34,6 a	0,455 a
Suspensão de rega	22,0 a	12,2 a	1,9 a	34,3 a	0,454 a
CV %	13,3	25,4	31,2	8,7	10,6

Médias seguidas pelas mesmas letras nas colunas não diferem significativamente pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$)

A Chl *a* participa de reações fotoquímicas no primeiro estágio do processo fotossintético. Em plantas submetidas ao estresse hídrico a dissipação fotoquímica da energia luminosa é limitada e o acúmulo dessa energia promove a formação de ROS (SOFO et al., 2015). Assim, nas plantas expostas a 60 dias de suspensão de rega, a queda no teor de Cloa pode ter ocorrido para diminuir a captação de energia luminosa direcionada para a fotossíntese, como proteção contra estresse oxidativo (Tabela 2).

A queda no teor de Cloa proporcionou menor relação Cloa/b nas plantas submetidas aos 60 dias de déficit hídrico. Posteriormente, quando estas plantas voltaram a ser irrigadas (aos 105 dias), os valores médios do teor de Cloa e da relação Cloa/b equipararam-se aos do tratamento controle (Tabela 2). O decaimento da relação Cloa/b envolve diferentes processos, os quais podem ser estimulados pelo estresse hídrico, como a degradação das clorofilas (HÖRTENSTEINER; KRÄUTLER, 2011), a síntese da Clob a partir da Cloa, a qual ocorre no ciclo da clorofila na presença de NADPH (TRIPATHY; PATTANAYAK, 2012), o balanço na estequiometria entre o PSI e PSII e o ajustamento do tamanho do complexo de antenas do PSII (ESTEBAN et al., 2015). Avaliando plantas de *J. curcas* expostas à seca, Sapeta et al. (2016) também destacaram a síntese de Clob como principal causa na redução da relação Cloa/b. Estes autores associaram a regulação negativa de uma enzima do ciclo da degradação da clorofila (CAO) com a rápida recuperação do aparato fotossintético depois que as plantas foram reidratadas.

Danos no PSII em populações naturais de faveleira durante período de estiagem na Caatinga foram observados por Oliveira et al. (2014), resultado que foi evidenciado pelos

baixos valores médios da eficiência quântica fotossintética nestas plantas. Na presente pesquisa, a redução da relação $Cloa/b$ sugere a ocorrência da síntese de $Clob$ a partir de $Cloa$ na faveleira, como estratégia de proteção do aparato fotossintético contra estresse oxidativo. No final do período de retomada da rega (105 dias após o início dos tratamentos), foi observada recuperação completa do aparato fotossintético das plantas de faveleira expostas ao déficit hídrico, já que não houve diferença significativa entre os tratamentos com relação aos valores médios de $Cloa$, $Clob$, $Cloa+b$, relação $Cloa/b$ e carotenoides (Tabela 2).

A suspensão da rega provocou aumento no teor de MDA (Tabela 3), no EE, e menor PIA (Tabela 1). Estes resultados evidenciam a ocorrência de peroxidação lipídica, evento caracterizado por danos oxidativos nas membranas celulares o qual pode ser ocasionado pelo oxigênio singleto (1O_2), ROS que reage com seus ácidos graxos das membranas tornando-os reativos e gerando o MDA como subproduto (DEMIDCHIK, 2015). A produção do 1O_2 se dá quando a limitação nas taxas de fixação de carbono causa um desequilíbrio no balanço entre a produção e o consumo de energia (dissipação fotoquímica) em plantas em condições de estresse hídrico, provocando excesso de energia luminosa nos fotossistemas (PS). Esse excesso pode ser dissipado em forma de calor (dissipação não fotoquímica) pelos carotenoides para evitar a formação do 1O_2 (ESTEBAN et al., 2015; TIAN et al., 2016). Este evento foi observado na presente pesquisa com a elevação no teor de carotenoides nas plantas expostas à 60 dias de déficit hídrico, o que demonstrou a ativação do sistema antioxidante não enzimático no combate aos efeitos deletérios do estresse oxidativo. Na ocasião o pigmento demonstrou eficiência na dissipação não fotoquímica do excesso de energia provocado pelo déficit hídrico sob a clorofila *a* (Tabela 2). Em plantas de *J. curcas*, aumento nos teores de carotenoides foi observado apenas quando as plantas foram submetidas a menores períodos de exposição ao estresse hídrico (4 dias) e declínio quando expostas a maiores períodos (8 dias) (POMPELLI et al., 2010).

Nas plantas submetidas aos 60 dias de estresse hídrico, a atividade das enzimas SOD, APX e CAT e o teor de MDA foram elevados, enquanto o teor de H_2O_2 foi diminuído (Tabela 3).

Tabela 3. Médias das atividades enzimáticas da superóxido dismutase (SOD), ascorbato peroxidase (APX) e catalase (CAT) e teores de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e de malondialdeído (MDA) em plantas de *Cnidoscopus quercifolius* Pohl, submetidas a dois regimes hídricos (controle e suspensão da rega) em dois períodos de avaliação (60 e 105 dias)

Tratamentos	SOD (U.g MF ⁻¹)	APX (mmol AsA. min ⁻¹ .g MF ⁻¹)	CAT (μ mol H_2O_2 . min ⁻¹ .g MF ⁻¹)	MDA (nmol.g MF ⁻¹)	H_2O_2 (μ mol.g MF ⁻¹)
----- 60 dias após o início dos tratamentos -----					
Controle	328 b	19 b	302 b	1,9 b	30 a
Suspensão de rega	571 a	51 a	525 a	4,4 a	19 b
CV %	20,2	19,1	30,7	32,1	23,1
----- 105 dias após o início dos tratamentos -----					
Controle	239 b	31 a	289 b	1,2 a	33 a
Suspensão de rega	415 a	22 b	395 a	0,7 b	25 b
CV %	37,1	26,9	27,9	32,1	18,8

Médias seguidas pelas mesmas letras nas colunas não diferem significativamente pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

A SOD é considerada a primeira linha de defesa contra ROS e atua na eliminação do radical superóxido ($O_2^{\bullet-}$), molécula moderadamente reativa, mas, potencialmente perigosa, por participar da formação do radical hidroxila OH^{\bullet} , ROS causadora de efeitos deletérios em proteínas, ácidos nucleicos e membranas celulares (INUPAKUTIKA, et al., 2016). No presente experimento, a elevação na atividade da SOD nas plantas sob estresse ocorreu, provavelmente devido à limitação da captação de CO_2 causada pelo fechamento estomático (Tabela 3). Quando isso ocorre, o NADPH é acumulado durante o ciclo de Calvin e os elétrons que seriam transferidos para o NADP no final da cadeia de transportes de elétrons na fase fotoquímica, passa para o O_2 e forma ($O_2^{\bullet-}$) (BARBOSA et al., 2014).

Na presente pesquisa, observou-se correlação positiva entre SOD e APX ($r = 0,8$) e correlação inversa entre APX e H_2O_2 ($r = -0,7$) nas plantas submetidas à suspensão de rega, o que evidencia a ação da APX no controle no teor de H_2O_2 formado pela dismutação do $O_2^{\bullet-}$ pela ação da SOD para minimizar os efeitos do estresse-melhorar (Tabela 3). Embora o H_2O_2 não seja um radical livre, possui grande potencial para causar danos oxidativos, uma vez que, na presença de íons metálicos como ferro e cobre, participa da formação do OH^{\bullet} , uma das ROS mais reativas e que pode ocasionar peroxidação lipídica (DEMIDCHIK, 2015). Apesar da suspensão total de rega por 60 dias no presente experimento, a faveleira demonstrou ter sentido o estresse de forma moderada. A ação da APX é indicada como sinal de estresse moderado. Este fato pode ser explicado pela maior afinidade da enzima por moléculas de H_2O_2 , já que a mesma é ativada na presença de baixas concentrações da molécula (μ M), enquanto a CAT necessita de maiores concentrações para ser ativada (mM) (BARBOSA, et

BARBOSA, M.R. Estratégias fisiológicas à restrição hídrica de *Cnidoscolus quercifolius*... 73 al., 2014). Silva et al., (2015), avaliando plantas de *J. curcas* submetidas ao déficit hídrico, enfatizaram o eficiente mecanismo da eliminação do H₂O₂ exercido pela APX em defesa do estresse hídrico moderado.

Embora a atividade da CAT tenha elevado nas plantas submetidas à suspensão de rega (Tabela 3), não foi observada correlação entre a atividade da enzima e o teor de H₂O₂ ($r = -0,4$). Esta alta atividade pode estar atrelada a eliminação do H₂O₂ gerado na via fotorrespiratória, uma vez que a enzima é uma das principais eliminadoras do H₂O₂ nesta via, processo que ocorre em plantas expostas ao déficit hídrico, onde a concentração de CO₂ é reduzida ativando a função oxigenase da enzima ribulose-1,5-bifosfato carboxilase/oxigenase (Rubisco) (SOFO et al., 2015; EISENHUT et al., 2017). Neste sentido, Silva et al., (2015) destacaram o importante papel da fotorrespiração na proteção do aparato fotossintético em plantas de *J. curcas* expostas ao déficit hídrico. Pompelli et al. (2010) também associaram a alta atividade da CAT com a fotorrespiração em plantas de *J. curcas* submetidas ao estresse hídrico.

O estresse oxidativo provocado pelo excesso de ROS em plantas expostas a estresses abióticos causa danos celulares que podem ser revertidos ou não, o que depende do grau de tolerância do genótipo ou da espécie (SIMOVA-STOILOVA; VASSILEVA; FELLER, 2016). As plantas de faveleira, com e sem tricomas, demonstraram ser capazes de reverter os sintomas do estresse pela ação das enzimas antioxidantes SOD, APX e CAT, o que foi evidenciado pela diminuição do teor de MDA nas plantas reidratadas, indicando o declínio da peroxidação lipídica (Tabela 3). Estes resultados podem ser reforçados pela recuperação da integridade das membranas, evidenciada pelo aumento do PIA nestas plantas (Tabela 1). Pompelli et al., (2010) observaram aumento nas atividades das enzimas SOD, CAT e APX quando plantas de *J. curcas* foram expostas ao estresse hídrico, e posterior declínio das atividades quando reidratadas. O estresse hídrico também provocou elevação no teor de MDA na espécie, e posterior redução no conteúdo da molécula, quando as plantas foram reidratadas (POMPELLI et al., 2010; ARCOVERDE et al., 2011). Estes autores apontaram a ação das enzimas antioxidantes em combate a ROS para evitar a peroxidação lipídica.

O alto conteúdo de água nas células durante o déficit hídrico em plantas tolerantes a seca acarreta na manutenção de suas funções metabólicas. Sapeta et al. (2013), consideraram o intervalo entre 70-80 % de TRA elevado em plantas de *J. curcas*. Os autores apontaram a influência destes valores de TRA na manutenção de altos níveis de hidratação nestas plantas, mesmo quando elas se encontravam sob estresse hídrico. Assim, os valores médios de TRA obtidos pela faveleira exposta ao déficit hídrico nas condições do presente experimento demonstram que o grau de desidratação nestas plantas não foi elevado o suficiente para afetar

a manutenção do seu metabolismo celular, uma vez que as plantas conseguiram ativar os sistemas antioxidantes enzimático e não enzimático em defesa do estresse oxidativo como estratégia de tolerância ao estresse hídrico, o que influenciou positivamente na capacidade da faveleira em recuperar-se após exposição ao estresse.

CONCLUSÕES

A estabilidade nos níveis de H₂O₂ e de MDA pelas alterações nos sistemas de defesa antioxidativo enzimático e não enzimático na faveleira, demonstram a capacidade da espécie em combater o estresse oxidativo provocado por déficit hídrico, como respostas de tolerância à seca, o que contribui para a recuperação do estresse hídrico na espécie. As respostas da faveleira independente da presença do caráter tricomas, representam informações que podem ser consideradas vantajosas para a recomendação da faveleira sem tricomas como lavoura xerófila, visando tanto o melhor aproveitamento da espécie pelas comunidades do semiárido nordestino, bem como importantes para contribuir em planejamentos de programas de melhoramento da espécie.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALEXIEVA, V. et al. The effect of drought and ultraviolet radiation on growth and stress markers in pea and wheat. **Plant, Cell and Environment**, v.24, p.1337-344, 2001.

ALOUFA, M. A. I.; MEDEIROS, J. A. Valorização e preservação da faveleira (*C. quercifolius*) para o desenvolvimento sustentável do semiárido brasileiro. **Revista OKARA: Geografia em debate**, João Pessoa, v.10, n.3, p.453-476, 2016.

ARCOVERDE, G.B. et al. Water relations and some aspects of leaf metabolism of *Jatropha curcas* young plants under two water deficit levels and recovery. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, v. 23, n.2, p.123-130, 2011.

ARNON, D.I. Copper enzymes in isolated chloroplasts: polyphenoloxidases in *Beta vulgaris*. **Plant Physiology**, Maryland, v.24, p.1-15, 1949.

BARBOSA, M.R. Estratégias fisiológicas à restrição hídrica de *Cnidocolus quercifolius*... 75

BARBOSA, M.R. et al. Geração e desintoxicação enzimática de espécies reativas de oxigênio em plantas. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.44, n.3, p.453-460, 2014.

BARRS, H. D.; P. E. WEATHERLEY. A re-examination of the relative turgidity technique for estimating water deficits in leaves. **Australian Journal of Biological Sciences**, Melbourne, v. 15, p. 413-428, 1962.

BARTLETT, M.K.; SCOFFONI, C; SACK, L. The determinants of leaf turgor loss point and prediction of drought tolerance of species and biomes: a global meta-analysis. Los Angeles. **Ecology Letters**, v.15, p.393-405, 2012.

BASU, S. et al. Plant adaptation to drought stress. **Crop, Soil, and Environmental Sciences**, v. 5, p. 1-10, 2016.

BENINCASA, M. M. P. **Análise de crescimento de plantas: noções básicas**. Jaboticabal: FUNEP, 2003. 41p.

BERRS, L.S.J.R; SIZER, I.W. A spectrophotometric method for measuring the breakdown of hydrogen peroxide by catalase. **Journal of Biological Chemistry**, v. 195, n. 1, p. 133-140, 1952.

CANDEIA, et al. Production of thornless *Cnidocolus phyllacanthus* progenies from open pollinated native trees. **Pesquisa Florestal Brasileira**, Colombo. v.30, n.62, p. 147-152, 2010.

DEMIDCHIK, V. Mechanisms of oxidative stress in plants: from classical chemistry to cell biology. **Environmental and Experimental Botany**, v.109, p. 212-228, 2015.

EISENHUT, M. et al. Photorespiration is crucial for dynamic response of photosynthetic metabolism and stomatal movement to altered CO₂ availability. **Molecular Plant**, v. 10, p. 47-61, 2017.

ESTEBAN, R. et al. Internal and external factors affecting photosynthetic pigment composition in plants: a meta-analytical approach. **New Phytologist**, v. 206, p. 268-280, 2015.

GIANNOPOLITIS, C.N.; RIES, S.K. Superoxide Dismutases. I. Occurrence in Higher Plants. **Plant Physiology**, v.59, p. 309-314, 1977.

HEATH, R.L.; PACKER, L. Photoperoxidation in isolated chloroplast. I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v.125. p.189-198, 1968.

HÖRTENSTEINER, S.; KRÄUTLER, B. Chlorophyll breakdown in higher plants. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1807, p. 977-988, 2011.

INUPAKUTIKA, M.A. et al. The evolution of reactive oxygen species metabolism. **Journal of Experimental Botany**, v. 67, n. 21, p. 5933–5943, 2016.

KLUGE, R. A.; TEZOTTO-ULIANA, J. V.; DA SILVA, P. P. M. Aspectos fisiológicos e ambientais da fotossíntese. **Revista Virtual de Química**, v. 7, n. 1, p. 56-73, 2015.

LICHTENTHALER, H. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. **Methods in Enzymology**, v.148, p.350-382, 1987.

MARIANO, K. R. S. et al. Fotossíntese e tolerância protoplasmática foliar em *Myracrodruon urundeuva* Fr. All. **Revista Floresta**, Curitiba, PR, v. 39, n. 4, p. 853-859, 2009.

MORAES, P. F. et al. Expressão gênica diferencial em genótipos de mamona (*Ricinus communis* L.) submetidos a déficit hídrico induzido por PEG. **Bragantia**, Campinas, v.74, n. 1, p.25-32, 2015.

MOURA, A.R. et al. Relações hídricas e solutos orgânicos em plantas jovens de *Jatropha curcas* L. sob diferentes regimes hídricos. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 26, n. 2, p. 345-354, 2016.

NAKANO, Y.; ASADA, K. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. **Plant Cell Physiology**, v. 22, p. 867-880, 1981.

BARBOSA, M.R. Estratégias fisiológicas à restrição hídrica de *Cnidoscolus quercifolius*... 77

OLIVEIRA, E.C.S. et al. Photochemical efficiency of photosystem II (PSII) and Water Potential of *Cnidoscolus quercifolius* Pohl in areas of Caatinga paraibana. **IHERINGIA**, Série Botânica, Porto Alegre, v. 69, n. 2, p. 479-487, 2014.

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

POMPELLI, M.P. et al. Photosynthesis, photoprotection and antioxidant activity of purgingnut under drought deficit and recovery. **Biomass and bioenergy**, Oxford, v. 34, p. 1207-1215, 2010.

SALEHI-LISAR, S. Y.; BAKHSHAYESHAN-AGDAM, H. Drought Stress in Plants: Causes, Consequences, and Tolerance. In.: HOSSAIN, M. A. et al. (Eds.). **Drought Stress Tolerance in Plants: Physiology and Biochemistry**. New York: Springer International Publishing, 2016. v. 1, cap.1, p. 1-16.

SAPETA, H. et al. Drought stress response in *Jatropha curcas*: growth and physiology. **Environmental and Experimental Botany**, v. 85, p. 76-84, 2013.

SAPETA, H. et al. Transcriptomics and physiological analyses reveal co-ordinated alteration of metabolic pathways in *Jatropha curcas* drought tolerance. **Journal of Experimental Botany**, v. 67, n. 3, p. 845-860, 2016.

SILVA, E. N. et al. Photoprotective function of energy dissipation by thermal processes and photorespiratory mechanisms in *Jatropha curcas* plants during different intensities of drought and after recovery. **Environmental and Experimental Botany**, v. 110, p. 36-45, 2015.

SIMOVA-STOILOVA, L.; VASSILEVA, V.; FELLER, U. Selection and breeding of suitable crop genotypes for drought and heat periods in a changing climate: which morphological and physiological properties should be considered? **Agriculture**, Switzerland, v.6, n.26, p.1-19, 2016.

BARBOSA, M.R. Estratégias fisiológicas à restrição hídrica de *Cnidocolus quercifolius*... 78

SOFO, A. et al. Ascorbate peroxidase and catalase activities and their genetic regulation in plants subjected to drought and salinity stresses. **International Journal of Molecular Sciences**, Switzerland, v. 16, p. 13561-13578, 2015.

TIAN, L. et al. Zeaxanthin-dependent nonphotochemical quenching does not occur in photosystem I in the higher plant *Arabidopsis thaliana*. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, Early Edition, p.1-5, 2016.

TRIPATHY, B. C.; PATTANAYAK, G. K. Chlorophyll biosynthesis in higher plants. In: **EATON-RYE, J. J.; TRIPATHY, B. C; SHARKEY, T. D.** (eds.). Photosynthesis: plastid biology, energy conversion and carbon assimilation. The Netherlands: **Springer**, 2012. p. 63-94.

SOFO, A. et al. Ascorbate peroxidase and catalase activities and their genetic regulation in plants subjected to drought and salinity stresses. **International Journal of Molecular Sciences**, Switzerland, v. 16, p. 13561-13578, 2015.

TIAN, L. et al. Zeaxanthin-dependent nonphotochemical quenching does not occur in photosystem I in the higher plant *Arabidopsis thaliana*. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, Early Edition, p.1-5, 2016.

TRIPATHY, B. C.; PATTANAYAK, G. K. Chlorophyll biosynthesis in higher plants. In: **EATON-RYE, J. J.; TRIPATHY, B. C; SHARKEY, T. D.** (eds.). Photosynthesis: plastid biology, energy conversion and carbon assimilation. The Netherlands: **Springer**, 2012. p. 63-94.

ANEXO

INSTRUÇÕES PARA SUBMISSÃO DOS ARTIGOS



APRESENTAÇÃO E PREPARO DOS MANUSCRITOS

Os artigos submetidos à Revista Caatinga devem ser originais, ainda não relatados ou submetidos à publicação em outro periódico ou veículo de divulgação. **A Revista Caatinga publica ARTIGO, NOTA TÉCNICA E REVISÃO DE LITERATURA.**

FORMAS DE ENVIO

Os artigos são submetidos, apenas eletronicamente, na página da Revista Caatinga. Podem ser ENVIADOS em Português, Inglês ou Espanhol. Porém, após a aprovação do manuscrito pelo Comitê Editorial, o autor será contactado para traduzir o artigo para a língua inglesa. Caso o trabalho seja submetido em inglês, após a aprovação desse pelo comitê editorial, o autor será comunicado para que realize a revisão do idioma inglês. **A publicação será exclusivamente em Inglês.** Fica a critério do autor a escolha da empresa ou pessoa física que irá realizar a tradução do manuscrito. Porém, é **obrigatória** a realização da **REVISÃO do idioma inglês** por umas das empresas indicadas pela Revista Caatinga. Abaixo seguem as indicações:

<http://www.proof-reading-service.com>
<http://www.academic-editing-services.com/>
<http://www.publicase.com.br/formulario.asp>
<http://www.editage.com.br/manuscriptediting/index.html>
<http://www.journalexperth.com>
<http://www.webshop.elsevier.com/languageservices>
<http://wsr-ops.com>
<http://www.journaleditorsusa.com>
<http://www.queensenglishediting.com/>
<http://www.canalpage.com>
<http://www.stta.com.br/servicos.php>
<http://americanmanuscripteditors.com/>

PREPARO DO MANUSCRITO

- **Digitação:** o texto deve ser composto em programa Word (DOC) ou compatível e os gráficos em programas compatíveis com o Windows, como Excel, e formato de imagens: Figuras (GIF) e Fotos (JPEG). Deve ter no máximo 20 páginas, tamanho A4, digitado com espaçamento 1,5, fonte Times New Roman, estilo normal, tamanho 12 e parágrafo recuado por 1 cm. Todas as margens deverão ter 2,5 cm. Páginas e linhas devem ser numeradas; os

números de páginas devem ser colocados na margem inferior, à direita e as linhas numeradas de forma contínua. Se forem necessárias outras orientações, entre em contato com o Comitê Editorial. As Notas Técnicas devem apresentar até 12 páginas, incluindo tabelas e figuras.

- **Tamanho:** o manuscrito não deverá ultrapassar 2,0 MB.
- **Organização:** o artigo científico deverá ser organizado em título, nome do(s) autor(es), resumo, palavras-chave, título em inglês, abstract, keywords, introdução, material e métodos, resultados e discussão, conclusão, agradecimentos (opcional), e referências.

Título: deve ser escrito em maiúsculo, negrito, centralizado na página, no **máximo com 15 palavras**, não deve ter subtítulo e abreviações. O nome científico deve ser indicado no título apenas se a espécie for desconhecida. Os títulos das demais seções da estrutura (resumo, abstract, introdução, material e métodos, resultados e discussão, conclusão, agradecimentos e referências) deverão ser escritos em letra maiúscula, negrito e justificado à esquerda.

Autores(es): nomes completos, sem abreviaturas, em letra maiúscula, um após o outro, separados por vírgula e centralizados. Essas informações deverão constar apenas na versão final do artigo. **Na primeira versão do artigo submetido, os nomes dos autores e a nota de rodapé com os endereços deverão ser omitidos.**

Para a inclusão do(s) nome(s) do(s) autor(es) e do(s) endereço(s) na **versão final do artigo** deve-se, como nota de rodapé na primeira página, indicar, para cada autor, afiliação completa (Unidade/Setor, Instituição, Cidade, Estado, País), endereço completo e e-mail de todos os autores. O autor correspondente deverá ser indicado por um “*”.

No rodapé devem constar informações sobre a natureza do trabalho (se extraído de tese/dissertação) e referências às instituições colaboradoras. Exemplo:

*Autor para correspondência

1Recebido para publicação em xx/xx/xxxx ; aceito em xx/xx/xxxx.

Especificação (natureza) do trabalho (ex.: Pesquisa apoiada pela FAPESP e pelo CNPq; Trabalho de Mestrado,...)

2Unidade/Setor (por extenso), Instituição (por extenso e sem siglas), Cidade, Estado(sigla), País; E-mail (s).

OBS.: Caso dois ou mais autores tenham as mesmas especificações, não precisa repetir as informações, basta acrescentar, apenas, o e-mail ao final.

Só serão aceitos, no máximo, 5(cinco) autores por artigo submetido: ressaltamos que, salvo algumas condições especiais, poderá ser incluído um sexto autor (não mais que isso) mediante apresentação de justificativas. A justificativa deverá ser anexada, no ato da submissão, em “Documentos Suplementares”, para que o Comitê Editorial proceda com a devida análise. Caso isso não ocorra, a submissão de artigo com número superior a 5 (cinco) autores não será aceita.

** Não serão permitidas mudanças nos nomes de autores *a posteriori*.

** Todos os autores deverão, OBRIGATORIAMENTE, cadastrarem-se no sistema.

Resumo e Abstract: no mínimo 100 e no máximo 250 palavras.

Palavras-chave e Keywords: a primeira letra maiúscula. Devem ter, no mínimo, três e, no máximo, cinco palavras, não constantes no Título/Title e separadas por ponto (consultar modelo de artigo).

Obs.: Em se tratando de artigo escrito em idioma estrangeiro (Inglês ou Espanhol), o título, resumo e palavras-chave deverão, também, constar em Português, mas com a sequência alterada, vindo primeiro no idioma estrangeiro.

Introdução: no máximo, 550 palavras, contendo citações atuais que apresentem relação com o assunto abordado na pesquisa.

Conclusão: deve ser em texto corrido, sem tópicos.

Agradecimentos: logo após as conclusões, poderão vir os agradecimentos a pessoas ou instituições, indicando, de forma clara, as razões pelas quais os faz.

- **Tabelas:** sempre **com orientação em “retrato”**. Serão numeradas consecutivamente com algarismos arábicos na parte superior. **Não usar linhas verticais.** As linhas horizontais devem ser usadas para separar o título do cabeçalho e este do conteúdo, além de uma no final da tabela. Cada dado deve ocupar uma célula distinta. Não usar negrito ou letra maiúscula no cabeçalho. Recomenda-se que **as tabelas apresentem 8,2 cm de largura, não ultrapassando 17 cm.**

- **Figuras:** sempre **com orientação em “retrato”**. Gráficos, fotografias ou desenhos levarão a denominação geral de **Figura** sucedida de numeração arábica crescente e legenda na parte inferior. Para a preparação dos gráficos deve-se utilizar “softwares” compatíveis com “Microsoft Windows”. A resolução deve ter qualidade máxima com pelo menos 300 dpi. **As figuras devem apresentar 8,5 cm de largura, não ultrapassando 17 cm.** A fonte empregada deve ser a Times New Roman, corpo 10 e não usar negrito na identificação dos eixos. As linhas dos eixos devem apresentar uma espessura de 1,5 mm de cor preta. A Revista Caatinga reserva-se ao direito de não aceitar tabelas e/ou figuras com **ORIENTAÇÃO** na forma “paisagem” ou que apresentem mais de 17 cm de largura. **Tabelas e Figuras devem ser inseridas logo após a sua primeira citação.**

- **Equações:** devem ser digitadas usando o editor de equações do Word, com a fonte Times New Roman. As equações devem receber uma numeração arábica crescente. As equações devem apresentar o seguinte padrão de tamanho:

Inteiro = 12 pt

Subscrito/sobrescrito = 8 pt

Sub-subscrito/sobrescrito = 5 pt

Símbolo = 18 pt

Subsímbolo = 14 pt

Estas definições são encontradas no editor de equação no Word.

REFERÊNCIAS

Devem ser digitadas em espaço 1,5 cm e separadas entre si pelo mesmo espaço (1,5 cm). Precisam ser apresentadas em ordem alfabética de autores; justificar (Ctrl + J). Este periódico utiliza a **NBR 6023 de agosto/2002 da ABNT. UM PERCENTUAL DE 60% DO TOTAL DAS REFERÊNCIAS DEVERÁ SER ORIUNDO DE PERIÓDICOS CIENTÍFICOS INDEXADOS COM DATA DE PUBLICAÇÃO INFERIOR A 10 ANOS.**

O título do periódico não deve ser abreviado e recomenda-se um total de 20 a 30 referências. **EVITE CITAR RESUMOS E TRABALHOS APRESENTADOS E PUBLICADOS EM CONGRESSOS E SIMILARES.**

Citações de autores no texto: devem ser observadas as normas da ABNT, NBR 10520 de agosto/2002.

Ex: Com 1(um) autor, usar Torres (2008) ou (TORRES, 2008); com 2 (dois) autores, usar Torres e Marcos Filho (2002) ou (TORRES; MARCOS FILHO, 2002); com 3 (três) autores, usar França, Del Grossi e Marques (2009) ou (FRANÇA; DEL GROSSI; MARQUES, 2009); com mais de três, usar Torres et al. (2002) ou (TORRES et al., 2002).

REGRAS DE CITAÇÕES DE AUTORES

**** Até 3 (três) autores**

Mencionam-se todos os nomes, na ordem em que aparecem na publicação, separados por ponto e vírgula.

Ex: TORRES, S. B.; PAIVA, E. P. PEDRO, A. R. Teste de deterioração controlada para avaliação da qualidade fisiológica de sementes de jiló. **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 0, n. 0, p. 00-00, 2010.

**** Acima de 3 (três) autores**

Menciona-se apenas o primeiro nome, acrescentando-se a expressão **et al.** Ex: BAKKE, I. A. et al. Water and sodium chloride effects on *Mimosa tenuiflora*(Willd.) poiret seed germination. **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 19, n. 3, p. 261-267, 2006.

**** Grau de parentesco**

HOLANDA NETO, J. P. **Método de enxertia em cajueiro-anão-precoce sob condições de campo em Mossoró-RN.** 1995. 26 f. Monografia (Graduação em Agronomia) – Escola Superior de Agricultura de Mossoró, Mossoró, 1995.

COSTA SOBRINHO, João da Silva. Cultura do melão. **Cuiabá:** Prefeitura de Cuiabá, 2005.

MODELOS DE REFERÊNCIAS

a) Artigos de Periódicos: Elementos essenciais:

AUTOR. Título do artigo. **Título do periódico**, Local de publicação (cidade), n.º do volume, n.º do fascículo, páginas inicial-final, ano.

Ex: BAKKE, I. A. et al. Water and sodium chloride effects on *Mimosa tenuiflora*(Willd.) poiret seed germination. **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 19, n. 3, p. 261-267, 2006.

b) Livros ou Folhetos, no todo: Devem ser referenciados da seguinte forma: AUTOR. **Título:** subtítulo. Edição. Local (cidade) de publicação: Editora, data. Número de páginas ou volumes.(nome e número da série).

Ex: RESENDE, M. et al. **Pedologia:** base para distinção de ambientes. 2. ed. Viçosa, MG: NEPUT, 1997. 367 p.

OLIVEIRA, A. I.; LEONARDOS, O. H. **Geologia do Brasil.** 3. ed. Mossoró: ESAM, 1978. 813 p. (Coleção mossoroense, 72).

c) Livros ou Folhetos, em parte (Capítulo de Livro):

AUTOR DO CAPÍTULO. Título do capítulo. In: AUTOR DO LIVRO. **Título:** subtítulo do livro. Número de edição. Local de publicação (cidade): Editora, data. Indicação de volume, capítulo ou páginas inicial-final da parte.

Ex: BALMER, E.; PEREIRA, O. A. P. Doenças do milho. In: PATERNIANI, E.; VIEGAS, G. P. (Ed.). **Melhoramento e produção do milho.** Campinas: Fundação Cargill, 1987. v. 2, cap. 14, p. 595-634.

d) Dissertações e Teses: (somente serão permitidas citações recentes, PUBLICADAS NOS ÚLTIMOS TRÊS ANOS QUE ANTECEDEM A REDAÇÃO DO ARTIGO). Referenciam-se da seguinte maneira:

AUTOR. **Título:** subtítulo. Ano de apresentação. Número de folhas ou volumes. Categoria (grau e área de concentração) - Instituição, local.

Ex: OLIVEIRA, F. N. **Avaliação do potencial fisiológico de sementes de girassol (*Helianthus annuus* L.).** 2011. 81 f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia: Área de Concentração em Tecnologia de Sementes) – Universidade Federal Rural do Semi-Árido, Mossoró, 2011.

e) Artigos de Anais ou Resumos: (DEVEM SER EVITADOS)

NOME DO CONGRESSO, n.º., ano, local de realização (cidade). Título... subtítulo. Local de publicação (cidade): Editora, data de publicação. Número de páginas ou volumes.

Ex: BALLONI, A. E.; KAGEYAMA, P. Y.; CORRADINI, I. Efeito do tamanho da semente de *Eucalyptus grandis* sobre o vigor das mudas no viveiro e no campo. In: CONGRESSO FLORESTAL BRASILEIRO, 3., 1978, Manaus. **Anais...** Manaus: UFAM, 1978. p. 41-43.

f) Literatura não publicada, mimeografada, datilografada etc.:

Ex: GURGEL, J. J. S. **Relatório anual de pesca e piscicultura do DNOCS.** Fortaleza: DNOCS, 1989. 27 p. Datilografado.

g) Literatura cuja autoria é uma ou mais pessoas jurídicas:

Ex: ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 6023:** informação e documentação – referências – elaboração. Rio de Janeiro, 2002. 24 p.

h) Literatura sem autoria expressa:

Ex: NOVAS Técnicas – Revestimento de sementes facilita o plantio. **Globo Rural,** São Paulo, v. 9, n. 107, p. 7-9, jun. 1994.

i) Documento cartográfico:

Ex: INSTITUTO GEOGRÁFICO E CARTOGRÁFICO (São Paulo, SP). **Regiões de governo do Estado de São Paulo**. São Paulo, 1994. 1 atlas. Escala 1:2.000.

J) Em meio eletrônico (CD e Internet): Os documentos /informações de **acesso exclusivo por computador** (online) compõem-se dos seguintes elementos essenciais para sua referência:

AUTOR. Denominação ou título e subtítulo (se houver) do serviço ou produto, indicação de responsabilidade, endereço eletrônico entre os sinais <> precedido da expressão – Disponível em: – e a data de acesso precedida da expressão – Acesso em:.

Ex: BRASIL. Ministério da Agricultura e do abastecimento. **SNPC – Lista de Cultivares protegidas**. Disponível em: <<http://agricultura.gov.br/scpn/list/200.htm>>. Acesso em: 08 set. 2008.

GUNCHO, M. R. A educação à distância e a biblioteca universitária. In: SEMINÁRIO DE BIBLIOTECAS UNIVERSITÁRIAS, 10., 1998, Fortaleza. **Anais...** Fortaleza: Tec Treina, 1998. 1 CD-ROM.

UNIDADES E SÍMBOLOS DO SISTEMA INTERNACIONAL ADOTADOS PELA REVISTA CAATINGA

Grandezas básicas	Unidades	Símbolos	Exemplos
Comprimento	metro	m	
Massa quilograma	quilograma	kg	
Tempo	segundo	s	
Corrente elétrica	amper	A	
Temperatura termodinâmica	Kelvin	K	
Quantidade de substância	mol	mol	
Unidades derivadas			
Velocidade	---	$m s^{-1}$	$343 m s^{-1}$
Aceleração	---	$m s^{-2}$	$9,8 m s^{-2}$
Volume	Metro cúbico, litro	M^3, L^*	$1 m^3, 1\ 000 L^*$
Frequência	Hertz	Hz	10 Hz
Massa específica	---	$Kg m^{-3}$	$1.000 kg m^{-3}$
Força	newton	N	15 N
Pressão	pascal	pa	$1,013.10^5 Pa$
Energia	joule	J	4 J

Calor específico	---	$\text{J (kg } ^\circ\text{C)}^{-1}$	$4186 \text{ J (kg } ^\circ\text{C)}^{-1}$
Calor latente	---	J kg^{-1}	$2,26 \cdot 10^6 \text{ J kg}^{-1}$
Carga elétrica	coulomb	C	1 C
Potencial elétrico	volt	V	25 V
Resistência elétrica	ohm	Ω	29Ω
Intensidade de energia	Watts/metros quadrado	W m^{-2}	$1,372 \text{ W m}^{-2}$
Concentração	Mol/metro cúbico	Mol m^{-3}	500 mol m^{-3}
Condutância elétrica	siemens	S	300 S
Condutividade elétrica	desiemens/metr o	dS m^{-1}	5 dS m^{-1}
Temperatura	Grau Celsius	$^\circ\text{C}$	$25 ^\circ\text{C}$
Ângulo	Grau	$^\circ$	30°
Porcentagem	---	%	45%

Números mencionados em sequência devem ser separados por **ponto e vírgula (;)**. Ex: 2,5;
4,8; 5,3

MARTA RIBEIRO BARBOSA

ESTRATÉGIAS FISIOLÓGICAS À RESTRIÇÃO HÍDRICA DE *Cnidoscolus quercifolius* Pohl COM E SEM TRICOMAS

RECIFE

2017

MARTA RIBEIRO BARBOSA

ESTRATÉGIAS FISIOLÓGICAS À RESTRIÇÃO HÍDRICA DE *Cnidoscolus quercifolius* Pohl COM E SEM TRICOMAS

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia - Melhoramento Genético de Plantas - Universidade Federal Rural de Pernambuco, como parte dos requisitos para obtenção do título de doutora em Agronomia: área de concentração Melhoramento Genético de Plantas.

Orientadora: Dra. Terezinha Rangel Camara

Coorientadora: Dra. Cláudia Ulisses de Carvalho Silva

RECIFE

2017

Ficha catalográfica

B238e Barbosa, Marta Ribeiro
 Estratégias fisiológicas à restrição hídrica de *Cnidoscolus quercifolius* Pohl
 com e sem tricomas / Marta Ribeiro Barbosa. – 2017.
 86 f. : il.

 Orientadora: Terezinha Rangel Camara.

 Coorientadora: Cláudia Ulisses de Carvalho Silva.

 Tese (Doutorado) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Programa
 de Pós-Graduação em Agronomia – Melhoramento Genético de Plantas, Recife,
 BR-PE, 2017.

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

 1. Ajustamento osmótico 2. Enzimas antioxidantes 3. Faveleira
 I. Camara, Terezinha Rangel, orient. II. Silva, Cláudia Ulisses de
 Carvalho, coorient. III. Título

CDD 581.1

MARTA RIBEIRO BARBOSA

ESTRATÉGIAS FISIOLÓGICAS À RESTRIÇÃO HÍDRICA DE *Cnidocolus quercifolius* Pohl COM E SEM TRICOMAS

Tese defendida e aprovada pela banca examinadora em 25/07/2017

Orientadora:

Dra. Terezinha Rangel Camara

Professora do Departamento de Química - UFRPE

Dra. Cynthia Cavalcanti de Albuquerque

Professora do Departamento de Biologia - UERN

Dra. Isabelle Maria Jaqueline Meunier

Professora do Departamento de Ciências Florestais - UFRPE

Dra. Marciana Bizerra de Moraes

Departamento de Genética - UFPE

Dr. Péricles de Albuquerque Melo Filho

Professor do Departamento de Agronomia – UFRPE

“Aqueles que passam por nós não vão sós. Deixam um pouco de si, levam um pouco de nós.”
Antoine de Saint-Exupéry

“Feliz aquele que transfere o que sabe e aprende o que ensina.”
Cora Coralina

*A todos os que contribuíram para
o meu crescimento pessoal e
profissional de alguma maneira.*

Dedico

AGRADECIMENTOS

À minha querida família, meus irmãos e meu pai pela base tanto na educação como por me ensinar a amar e respeitar. Por toda a união, carinho, aconchego e alegria.

À Profa. Terezinha Câmara pelas orientações e inestimáveis contribuições científicas, as quais foram de valor incontestável para o meu crescimento profissional. Pelo direcionamento e apoio durante a realização desta pesquisa e pelo suporte diante das dificuldades surgidas no percurso.

À Profa. Lilia Willadino a qual sempre agradecerei pelo incentivo, apoio e ensinamentos transmitidos desde a minha graduação, os quais muito contribuem para a minha formação profissional e crescimento pessoal.

À Profa. Cláudia Ulisses, pela amizade, contribuições científicas e direcionamentos. Por me apoiar e estar sempre prestes a me ajudar.

Ao Prof. Olaf Bakker por ter me recebido com muita atenção, me orientado nas coletas das sementes utilizadas nesta pesquisa e por ter também disponibilizado algumas dessas sementes.

À Wellington e Lindomar pelo grande apoio com as análises no Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais e pela grande amizade.

Aos amigos do grupo LCTV (Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais), os que já passaram por lá e os que estiveram presentes durante o período que estive trabalhando no laboratório: Lind, Godo (Rodolfo), Mima, Nat, Marci, Neto, Mayana, Ronald, Rafa, Igor, Well e as professoras. Por essa boa convivência e amizade, companheirismo e espírito de colaboração. Agradeço com muita alegria por participar do convívio dessa “grande família”.

À Danilo do Laboratório de Solos pelo apoio técnico com as análises de potencial osmótico.

A todos os meus amigos, pelos momentos de descontração, apoio moral e compreensão dos momentos que fui ausente, por sempre torcerem pela vitória em todos os desafios da minha vida.

A todos os que colaboraram direta ou indiretamente para a realização deste doutorado.

MUITO OBRIGADA!!

RESUMO

A faveleira é uma arbórea, pioneira exclusiva das matas xerófilas do Nordeste brasileiro e devido as suas características de resistência a seca e seus múltiplos usos pelas comunidades do semiárido nordestino, a espécie é indicada para plantios em lavouras xerófilas. A espécie possui tricomas urticantes que dificultam seu manuseio, mas, poucos indivíduos sem tricomas ocorrem na natureza e podem ser utilizados para a melhor exploração dos potenciais da espécie. Os mecanismos de tolerância utilizados pela faveleira têm sido alvo de pesquisas e geram informações importantes para programas de melhoramento. O objetivo desta pesquisa foi avaliar respostas adaptativas de tolerância, sobretudo o ajustamento osmótico ocasionado pelo acúmulo de solutos compatíveis e as alterações dos sistemas de defesa antioxidante em plantas de faveleira com e sem tricomas submetidas ao déficit hídrico. Para tanto, foram consideradas duas abordagens: o efeito de solutos compatíveis e as respostas das plantas ao estresse oxidativo durante o crescimento inicial. O experimento foi realizado em casa de vegetação na UFRPE. Mudanças de faveleira com e sem tricomas foram cultivadas sob dois regimes hídricos: rega a 80% da capacidade de pote (controle - C) até 105 dias e suspensão de rega (SR) até 60 dias com posterior reposição de rega a 80% da capacidade de pote até o 105º dia após início dos tratamentos. O delineamento estatístico foi inteiramente casualizado em arranjo fatorial 2 x 2 (dois fenótipos e dois regimes hídricos). Na primeira abordagem foram avaliados altura da planta, diâmetro do coleto e número de folhas emitidas a cada 15 dias e calculada a taxa de crescimento absoluto (TCA). Nesta pesquisa, para averiguar o acúmulo de solutos compatíveis e seus efeitos, aos 60 e 105 dias foram avaliados potencial osmótico (Ψ_s) e teores dos solutos compatíveis, carboidratos solúveis totais, sacarose, prolina e glicina betaína. O déficit hídrico provocou redução no crescimento. A suspensão da rega provocou também a diminuição da emissão de folhas, a qual demonstrou ser a variável mais sensível aos efeitos do déficit hídrico. A faveleira adotou como estratégia de tolerância o ajuste osmótico, o que foi evidenciado pela diminuição do Ψ_s e elevação do acúmulo de solutos compatíveis no tratamento SR. A espécie demonstrou ser acumuladora de glicina betaína, uma vez que foi observado o acúmulo do composto nas plantas expostas ao déficit hídrico. Para os estudos acerca do estresse oxidativo, foram avaliadas biomassa seca da parte aérea e das raízes, teor relativo de água (TRA), percentagem de extravasamento de eletrólitos (EE), percentual de integridade absoluta de membrana (PIA), teores dos pigmentos fotossintetizantes, clorofilas "a" (C_{loa}) e "b" (C_{lob}) e carotenóides (Car), teor de malondialdeído (MDA), teor de peróxido de hidrogênio (H₂O₂) e as atividades das enzimas superóxido dismutase (SOD), ascorbato peroxidase (APX) e catalase (CAT). O decréscimo nas relações C_{loa}/b, no TRA e no PIA e elevação no EE e nos teores de H₂O₂ e MDA indicaram a ocorrência de estresse oxidativo nas plantas expostas ao déficit hídrico. A elevação nos teores de carotenóides e nas atividades enzimáticas da SOD, APX e CAT nas plantas sob estresse hídrico demonstram a ativação da defesa contra o estresse oxidativo nestas plantas. A utilização do ajustamento osmótico através do acúmulo de solutos compatíveis e a ativação dos sistemas de defesa antioxidantes não enzimáticos e enzimáticos foram estratégias adotadas pela faveleira como estratégias de tolerância ao estresse hídrico independente da presença de tricomas na espécie.

Palavras-chave: Ajustamento osmótico, Enzimas antioxidantes, Faveleira

ABSTRACT

Faveleira is an arboreal species, an exclusive pioneer of the xerophilous forests of Brazilian Northeast. Due to its characteristics of resistance to drought and multiple uses by communities of the northeastern semi-arid region, the species is indicated for plantations in xerophilous cultivation. The faveleira has stinging trichomes that hinder its handling, but few individuals without trichomes occur in nature and can be used to better exploit the species' potentials. The tolerance mechanisms used by the faveleira have been the subject of researches that generate important information for breeding programs. Thus, the aim of this research was to evaluate adaptive tolerance responses, mainly the osmotic adjustment caused by the accumulation of compatible solutes and the alterations of the antioxidant defense systems in faveleira plants with and without trichomes submitted to water deficit. For this, two approaches were considered using the two phenotypes: the effect of compatible solutes and the plant responses to oxidative stress during initial growth. The experiment was carried out in a greenhouse at UFRPE. Faveleira seedlings with and without trichomes were cultivated under two water regimes: watering at 80% of the pot capacity (C - control) up to 105 days and irrigation suspension (SR) until 60 days and later watering replacement at 80% of the pot capacity until the 105th day after starting the treatments. The statistical design was completely randomized in factorial arrangement (two phenotypes and two water regimes). The first approach was to evaluate plant height, stem diameter and number of leaves emitted every 15 days, and the absolute growth rate (TCA) was calculated. In this research, to evaluate the accumulation of compatible solutes and their effects, at 60 and 105 days, the osmotic potential (Ψ_s) and the contents of the compatible solvents total soluble carbohydrates, sucrose, proline and glycine betaine, were evaluated. The water deficit caused a reduction in growth. The suspension of irrigation also caused a decrease in leaf emission, which proved to be the most sensitive variable to the effects of the water deficit. The faveleira adopted as a tolerance strategy the osmotic adjustment which was indicated by decrease of Ψ_s and elevation of the accumulation of compatible solutes in the SR treatment. The species was shown to be glycine betaine accumulator, since the accumulation of the compound in plants exposed to the water deficit. For the studies on oxidative stress, dry shoot and root biomass, relative water content (TRA), percentage of electrolyte extravasation (% EE), percentage of absolute membrane integrity (PIA), pigment contents Photosynthesizers, chlorophyll a (Chla) and b (Chlb) and carotenoids (Car), malondialdehyde content (MDA), hydrogen peroxide (H_2O_2) content and enzyme activities superoxide dismutase (SOD), ascorbate peroxidase (APX) and catalase (CAT). The decrease in Cloa / b, TRA and PIA ratios and elevation of EE and H_2O_2 and MDA levels indicated the occurrence of oxidative stress in plants exposed to water deficit. The elevation carotenoids levels and in the enzymatic activities of SOD, APX and CAT in plants under water stress demonstrate the activation of the defense against oxidative stress in these plants. The use of osmotic adjustment through compatible solutes accumulation and activation of non enzymatic and enzymatic antioxidant defense systems were strategies adopted by faveleira as stress tolerance strategies independent of the presence of trichomes in the species.

Keywords: Osmotic adjustment, Antioxidant enzymes, Faveleira.

LISTA DE EQUAÇÕES

CAPÍTULO I – INTRODUÇÃO GERAL E REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Equação 1. Redução e oxidação do íon ferro na presença de superóxido e oxigênio reversivamente	30
Equação 2. Formação do radical hiroxila (OH^\cdot) pela reação de Fenton	30
Equação 3. Formação do radical hiroxila (OH^\cdot) pela reação de Haber-Weiss	30

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO I – INTRODUÇÃO GERAL E REVISÃO DE LITERATURA

- Figura 1.** Formação de ROS pela redução tetravalente do oxigênio molecular à água . 29
- Figura 2.** Representação esquemática da geração de ROS no fotossistema I e sua eliminação pelas enzimas SOD, APX e CAT e ciclo do ascorbato-glutationa. AsA – ascorbato; MDHA – monodeidroascorbato; DHA – deidroascorbato; DHAR – deidroascorbato redutase; GSH – glutatona reduzida; GSSG – glutatona oxidada; Fd – ferredoxina 31
- Figura 3.** Formação do H₂O₂ nos peroxissomos durante a fotorrespiração 32

CAPÍTULO II – CRESCIMENTO INICIAL E ACÚMULO DE SOLUTOS COMPATÍVEIS EM FAVELEIRA COM E SEM TRICOMAS SOB DÉFICIT HÍDRICO

- Figura 1.** Perfis médios de altura da planta (A), diâmetro do coleto (B) e número de folhas emitidas (C) em função dos tempos de avaliação em plantas de *Cnidoscolus quercifolius* Pohl submetidas a dois regimes hídricos (Controle = rega contínua; SR = suspensão de rega). A seta indica o início do retorno da rega no tratamento SR 50

CAPÍTULO III - RESPOSTAS ANTIOXIDATIVAS EM FAVELEIRA COM E SEM TRICOMAS SOB DÉFICIT HÍDRICO

- Figura 1.** Biomassa seca: parte aérea (A) e raízes (B) aos 60 dias após o início dos tratamentos; parte aérea (C) e raízes (D) aos 105 dias após o início dos tratamentos (45 dias após o retorno da rega) de mudas de *Cnidoscolus quercifolius* Pohl com e sem tricomas 66
- Figura 2.** Alocação de biomassa: parte aérea e raiz (A) aos 60 dias após o início dos tratamentos; parte aérea e raiz (B) aos 105 dias após o início dos tratamentos (45 dias após o retorno da rega) de mudas de *Cnidoscolus quercifolius* Pohl submetidas a dois regimes hídricos (controle e suspensão de rega) 67

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO II – CRESCIMENTO INICIAL E ACÚMULO DE SOLUTOS COMPATÍVEIS EM FAVELEIRA COM E SEM TRICOMAS SOB DÉFICIT HÍDRICO

Tabela 1. Médias quinzenais de altura da planta, diâmetro do coleto e número de folhas emitidas em plantas de *Cnidosc ulus quercifolius* Pohl submetidas a dois regimes hídricos (controle e suspensão de rega) 48

Tabela 2. Médias da taxa de crescimento absoluto (TCA) em diâmetro do coleto de plantas de *Cnidosc ulus quercifolius* Pohl (com e sem tricomas) após período de restrição hídrica 51

Tabela 3. Médias de potencial osmótico (Ψ_s) e teores de carboidratos solúveis totais (CST), sacarose (SAC), prolina livre (Pro) e glicina betaína (GB) de plantas de *Cnidosc ulus quercifolius* Pohl submetidas a dois regimes hídricos após períodos de estresse hídrico e de recuperação 52

CAPÍTULO III - RESPOSTAS ANTIOXIDATIVAS EM FAVELEIRA COM E SEM TRICOMAS SOB DÉFICIT HÍDRICO

Tabela 1. Médias do teor relativo de água (TRA), taxa de extravasamento de eletrólitos (EE) e percentual de integridade absoluta de membrana (PIA) em plantas de *Cnidosc ulus quercifolius* Pohl submetidas a dois regimes hídricos (controle e suspensão da rega) em dois períodos de avaliação (60 e 105 dias) 68

Tabela 2. Médias dos teores de clorofila “a” (C_{loa}), clorofila “b” (C_{lob}), clorofilas a+b (C_{loa+b}) e de carotenoides (Car) e relação entre as clorofilas “a” e “b” (C_{loa/b}) em plantas de *Cnidosc ulus quercifolius* Pohl, submetidas a dois regimes hídricos (controle e suspensão da rega) em dois períodos de avaliação (60 e 105 dias) 70

Tabela 3. Médias das atividades enzimáticas da superóxido dismutase (SOD), ascorbato peroxidase (APX) e catalase (CAT) e teores de peróxido de hidrogênio (H₂O₂) e de malondialdeído (MDA) em plantas de *Cnidosc ulus quercifolius* Pohl, submetidas a dois regimes hídricos (controle e suspensão da rega) em dois períodos de avaliação (60 e 105 dias) 72

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

- $^1\text{O}_2$ - Oxigênio singleto
2PG - 2-fosfoglicolato
 $^3\text{Chl}^*$ - Clorofila tripleto
ABA - Ácido abcísico
APX - Ascorbato peroxidase
AsA - Ácido ascórbico
Car – Carotenóides
CAT - Catalase
Cloa – Clorofila a
Clob – Clorofila b
Clob – Relação entre as clorofilas “a” e “b”
CST – Carboidratos solúveis totais
DHA - deidroascorbato
DHAR - deidroascorbato redutase
EE - extravasamento de eletrólitos
EUA - Eficiência no uso da água
Fd - ferredoxina
GB - Glicina betaína
GR - Glutathione redutase
GSH - Glutathione
GSH - glutathione reduzida
GSSG - glutathione oxidada
 H_2O_2 - Peróxido de hidrogênio
 HO^\bullet - Radical hidroxila
 K_M - Michaelis-Menten
MDA - Malondialdeído
MDHA - monodeidroascorbato
MPa – Mega pascal
 NADP^+ - Nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato
NADPH - Nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato reduzida
NBT - Nitro blue tetrazolium
 $\text{O}_2^\bullet^-$ - Radical superóxido
P5CS - *Pirrolina-5-carboxilato sintetase*

P5CSI - Genes que codifica a enzima *pirrolina-5-carboxilato sintetase*

P5CS2 - Genes que codifica a enzima *pirrolina-5-carboxilato sintetase*

PIA – Percentual de integridade absoluta de membrana

Pro – Prolina

PS – fotosistema

PS5 - *Pirrolina-5-carboxilato*

PSI – Fotossistema um

PSII – Fotossistema dois

RFA - Radiação fotossinteticamente ativa

ROS - Espécies reativas de oxigênio

SAC – Sacarose

SOD - Superóxido dismutase

TBA – Tiobarbitúrico

TCA - Taxa de crescimento absoluto

TCA - Ácido tricloroacético

TRA - Teor relativo de água

Ψ_s - Potencial osmótico

SUMÁRIO

CAPÍTULO I	15
1 INTRODUÇÃO GERAL	16
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	18
2.1 Características botânicas e importância socioeconômica da faveleira	18
2.2 Estratégias de tolerância ao estresse hídrico em plantas	20
2.3 Estresse oxidativo por seca em plantas	28
3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	33
CAPÍTULO II	40
Crescimento inicial e acúmulo de solutos compatíveis em faveleira com e sem tricomas sob déficit hídrico	41
RESUMO	42
ABSTRACT	43
INTRODUÇÃO	44
MATERIAL E MÉTODOS	45
RESULTADOS E DISCUSSÃO	47
CONCLUSÕES	54
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	54
CAPÍTULO III	58
Respostas antioxidativas em faveleira com e sem tricomas sob déficit hídrico	59
RESUMO	60
ABSTRACT	61
INTRODUÇÃO	62
MATERIAL E MÉTODOS	63
RESULTADOS E DISCUSSÃO	66
CONCLUSÕES	74
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	74
ANEXO	79
INSTRUÇÕES PARA SUBMISSÃO DOS ARTIGOS PARA A REVISTA CAATINGA	80

CAPÍTULO I

INTRODUÇÃO GERAL E REVISÃO DE LITERATURA

1 INTRODUÇÃO GERAL

Cnidoscolus quercifolius Pohl é uma Euphorbiacea arbórea xerófita, pioneira e de rápido crescimento capaz de vegetar em solos secos, sob baixos índices pluviométricos por longos períodos e está frequentemente exposta a fortes irradiações em ambientes semiáridos (DUQUE, 2004; MELO; SALES, 2008). A faveleira, como é conhecida em quase todo o Nordeste brasileiro, representa grande potencial econômico, social e ecológico para a região semiárida, onde se destaca por sua multiplicidade de usos. Neste contexto, a espécie apresenta potencial etnomedicinal, energético (BELTRÃO; OLIVEIRA, 2007; MELO-BATISTA; OLIVEIRA, 2014), alimentício e forrageiro (BELTRÃO; OLIVEIRA, 2007; SOUZA et al., 2012).

A presença de tricomas urticantes na faveleira pode dificultar o manuseio e a utilização da sua matéria fresca como forragem, limitando a exploração dos seus potenciais (MELO; SALES, 2008). Alguns indivíduos sem tricomas, entretanto, são encontrados em baixa frequência em populações nativas e podem favorecer a exploração dos potenciais da espécie. Nesta perspectiva, a introdução da faveleira com e sem tricomas como lavoura xerófila e o aumento da frequência gênica do caráter sem tricomas são apontados como alternativas para a melhor exploração do potencial agrônômico da espécie (CANDEIA et al., 2010; ALOUFA MEDEIROS et al., 2016) e para a sua inserção em programas de melhoramento de plantas é importante que se tenha o conhecimento a respeito das estratégias utilizadas pela espécie frente à escassez hídrica.

Devido à importância da faveleira, algumas pesquisas têm sido realizadas na tentativa de ampliar os conhecimentos acerca das estratégias de tolerância utilizadas pela espécie (SILVA et al. 2005; ARRIEL et al. 2006; OLIVEIRA et al. 2014; MEDEIROS et al. 2013). O interesse pelas vantagens da faveleira sem tricomas também têm incentivado a realização de pesquisas envolvendo esse fenótipo (VIANA; CARNEIRO, 1991; RIBEIRO-FILHO et al. 2007; SALES et al. 2008; CANDEIA et al. 2010; CAVALCANTE; BORA, 2010; CAVALCANTI et al. 2011; OLIVEIRA et al. 2012). No entanto, as pesquisas sobre a tolerância da faveleira ao estresse, principalmente a do fenótipo sem tricomas ainda são escassas.

Na região semiárida brasileira, as condições climáticas são representadas pelo clima tropical seco, onde a evaporação excede a precipitação e ocorrem chuvas sazonais em baixa frequência e curtos períodos em anos alternados. Esses fatores promovem à baixa disponibilidade hídrica na região e têm sido agravados pelas mudanças climáticas decorrentes do acúmulo de gases de efeito estufa na atmosfera. Contudo, a vegetação predominante neste ambiente possui características adaptativas de tolerância à seca e apresentam alto grau de xerofitismo (FRANCISCO, 2013; SILVA et al., 2014; MORAIS et al., 2015; FELLER, 2016).

Os mecanismos de tolerância ao estresse em plantas envolvem modificações tanto no desenvolvimento e nas taxas de crescimento, como respostas fisiológicas das plantas e culminam em alterações no metabolismo celular. A produção de compostos osmorreguladores é um exemplo de resposta fisiológica que envolve alterações bioquímicas no metabolismo celular de plantas expostas ao estresse. Um dos mecanismos fisiológicos mais eficazes no enfrentamento de plantas ao estresse hídrico, o ajustamento osmótico ocorre através do acúmulo de solutos compatíveis com o metabolismo celular tais como açúcares solúveis, prolina, glicina betaína, entre outros. Este processo evita a perda de água por aumentar o potencial osmótico da célula, promovendo assim, a homeostase osmótica (WANI et al., 2013; VAN-DEN-ENDE; EL-ESAWI, 2014; SAMI et al., 2016).

Além da osmorregulação, os solutos compatíveis podem exercer outras funções como é o caso da glicina betaína a qual apresenta função de proteção de membranas e de macromoléculas e na defesa contra o estresse oxidativo (GIRI, 2011; ROYCHOUDHURY; BANERJEE, 2016). Neste sentido, algumas plantas são classificadas como acumuladoras de glicina betaína como característica de tolerância a estresses abióticos (WANI et al., 2013). A prolina também exerce outras funções envolvidas com a tolerância ao estresse hídrico, como estabilidade de estruturas protéicas e eliminação de radicais livres (HOSSAIN; et al., 2014 ; KISHOR et al., 2015; KHAN et al., 2015; DAWOOD, 2016).

A exposição de plantas ao déficit hídrico pode resultar em perturbações em componentes celulares, as quais são provocadas pelo desequilíbrio entre a geração de espécies reativas de oxigênio (ROS) e a produção de compostos antioxidantes. ROS como oxigênio singlete (1O_2), radical superóxido ($O_2^{\cdot-}$), peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e radical hidroxila (HO^{\cdot}), são capazes de provocar estresse oxidativo, o qual caracteriza-se por danos oxidativos em macromoléculas e estruturas celulares (CAVERZAN et al., 2016).

Para evitar ocorrências de danos oxidativos, as plantas são capazes de ativar o sistema de defesa enzimático através de alterações nas atividades de enzimas como superóxido dismutase (SOD, EC 1.15.1.1), catalase (CAT, EC 1.11.1.6), ascorbato peroxidase (APX, EC 1.11.1.1), glutatona redutase (GR, EC 1.6.4.2), as peroxidases (POD, EC 1.11.1) e não enzimático pela regulação de compostos como glutatona (GSH), ácido ascórbico (AsA), α -tocoferol (vitamina E), carotenóides entre outros (SOFO, et al., 2015; CAVERZAN et al., 2016). Assim, os níveis de produtos do estresse oxidativo como MDA e a avaliação do balanço entre os níveis de ROS e as atividades das enzimas do sistema antioxidante representam importante ferramenta para entender as resposta das plantas em defesa do estresse oxidativo. Diante do exposto, esta pesquisa teve como objetivo avaliar respostas adaptativas de tolerância, sobretudo o ajustamento osmótico ocasionado pelo acúmulo de solutos compatíveis e as alterações dos sistemas de defesa antioxidante, em plantas de faveleira com e sem tricomas submetidas ao déficit hídrico.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Características botânicas e importância socioeconômica da faveleira

C. quercifolius Pohl pertence à família Euphorbiaceae, subfamília Crotonoideae e gênero *Cnidoscolus*, o qual possui número de cromossomos $n = 18$ ou $2n = 36$ (MELO; SALES, 2008). Conhecida como faveleira em grande parte do Nordeste, é uma espécie monóica e apresenta protoginia, um tipo de dicogamia que dificulta a autopolinização, o que a leva a ser considerada preferencialmente alógama, embora possa conservar certo grau de autocompatibilidade (SILVA et al., 2006). A inflorescência é do tipo cimeiras axilares com flores brancas e o fruto, do tipo cápsula tricoca, é deiscente e recoberto por tricomas urticantes (MEDEIROS, 2013).

A faveleira pode apresentar-se como arbusto, arvoreta ou árvore e chega a alcançar entre 8 a 12 m de altura. É uma espécie decídua, heliófila, seletiva higrófila, pioneira e exclusiva das matas xerófitas do Nordeste brasileiro, onde ocorre com elevada frequência e irregular dispersão e consegue vegetar em áreas de solo seco, pedregoso e sem húmos, em condições pluviométricas abaixo de 600 mm anuais de precipitação e exposta a fortes irradiações (DUQUE, 2004; MEDEIROS, 2013). Sua distribuição geográfica abrange os estados do Piauí, Ceará, Rio Grande do Norte, Paraíba, Pernambuco, Alagoas, Sergipe e Bahia (MELO; SALES, 2008).

Dotada de grande resistência à seca, dentre outras espécies da Caatinga, a faveleira é indicada para plantios em lavouras xerófilas, por possuir características como acúmulo de reservas, sobrevivência aos anos de escassez hídrica e ainda assim, apresentar safras contínuas (DUQUE, 2004). Em plantios realizados em áreas caracterizadas por altas intensidades de aridez em meio à Caatinga, Medeiros (2013) ressalta a viabilidade da espécie para repovoamento de áreas degradadas com fins econômicos.

O bioma Caatinga foi apontado pelo MMA (Ministério do Meio Ambiente) como área prioritária para a conservação da biodiversidade. O nível de prioridade foi considerado com base em três critérios de importância: social, econômico e ambiental. O órgão deu ênfase à necessidade do uso sustentável do bioma, onde algumas espécies estão listadas como alvo. Neste contexto, a faveleira está inserida como uma das espécies de alta prioridade, embora muitas vezes o potencial que a espécie oferece não seja bem aproveitado (PAREYN, 2010). Assim, o aproveitamento dos potenciais socioeconômicos e ambientais da espécie é apontado como estratégia para promover o desenvolvimento sustentável do semiárido do Nordeste brasileiro (ALOUFA; MEDEIROS, 2016).

As espécies da família Euphorbiaceae estão entre as utilizadas com mais frequência pelas comunidades na região semiárida brasileira e destacam-se tanto pelos seus múltiplos usos como pela quantidade de espécies utilizadas, incluindo as do gênero *Cnidoscolus* (CREPALDI, et al., 2016). Neste cenário, a faveleira está inserida por apresentar potencial etnomedicinal, energético, alimentício e forrageiro, além de ser utilizada em construções residenciais e como matéria prima para produção de biodiesel (BELTRÃO; OLIVEIRA, 2007; FERRAZ et al., 2012; SOUZA, et al., 2012; MELO-BATISTA; OLIVEIRA, 2014). A faveleira apresenta riqueza nutricional caracterizada por altos valores proteicos e minerais em várias partes da planta. As sementes, além de apresentarem riqueza proteica e nutricional, também são ricas em carboidratos e delas é extraído um óleo comestível com propriedades comparadas com as do azeite de oliva (CAVALCANTI et al., 2009; CAVALCANTI; BORA, 2010; RIBEIRO-FILHO, et al., 2011).

Apesar dos múltiplos usos pelas comunidades do semiárido brasileiro, a faveleira possui uma característica indesejável que é a presença de tricomas urticantes. Localizados em quase todas as partes vegetativas e florais, os tricomas provocam fortes dores quando entram em contato com a pele, podendo causar urticárias e até desmaios (MELO; SALES, 2008). Nessas estruturas estão presentes também substâncias antinutricionais que limitam o uso da matéria fresca da faveleira como forragem (CANDEIA, et al, 2010). Assim, a ausência de tricomas pode facilitar o manuseio da planta possibilitando sua melhor utilização e consumo.

Na natureza são encontrados alguns exemplares de faveleira sem tricomas, mas em baixa frequência. Estes indivíduos podem ser aproveitados para a introdução da cultura através de programas de melhoramento visando o aumento da frequência do caráter sem tricomas em populações de polinização aberta. Neste sentido, plantas de faveleira sem tricomas são indicadas para serem cultivadas isoladamente nessas populações, com o intuito de obter sementes melhoradas para a ausência do caráter tricomas. As progênies dessas populações podem ser utilizadas em programas de melhoramento para o aproveitamento de outras características e para ampliar o potencial sócio-econômico da cultura através do seu aproveitamento agrícola (CANDEIA et al., 2010; ALOUFA; MEDEIROS, 2016).

Programas de melhoramento empregados em populações de cruzamento aberto, objetivando o aumento da frequência gênica de caracteres de interesse, impulsionam a elevação da homozigose nas progênies, podendo gerar depressão endogâmica, fenômeno que compromete o desempenho fisiológico em plantas. A depressão endogâmica é caracterizada pela perda de vigor de descendentes, ocasionada pelo cruzamento entre parentais estreitamente relacionados e pode ocorrer por duas vias, ambas envolvidas com o aumento nos níveis de homozigidade: elevação do número de alelos recessivos deletérios e

BARBOSA, M.R. Estratégias fisiológicas à restrição hídrica de *Cnidoscolus quercifolius*... 20
diminuição de alelos que expressam vantagens heterozigóticas (CHARLESWORTH;
WILLIS, 2009).

Algumas pesquisas têm voltado a atenção para o entendimento da tolerância da faveleira ao estresses hídrico e têm sido direcionada para auxiliar programas de melhoramento da espécie. Em estudo acerca da tolerância ao estresse hídrico e divergência genética de faveleira, Arriel et al., (2006) constataram que a redução na disponibilidade hídrica afetou negativamente todos os caracteres de crescimento, e que estes contribuem pouco para a divergência entre famílias de faveleira frente ao estresse. Oliveira et al. (2014), avaliando a eficiência fotoquímica do fotossistema II e potencial hídrico em faveleira em períodos chuvosos e secos na Caatinga, atrelaram o ajustamento osmótico utilizado pela espécie para minimizar os efeitos da seca aos menores valores do potencial hídrico. Em investigação realizada por Medeiros et al. (2013) acerca de estratégias de tolerância à seca em faveleira, foi enfatizada a resistência da espécie à intempéries do ambiente semiárido, devido a sua capacidade de recuperar-se rapidamente mediante a ocorrência de baixos índices pluviométricos após períodos de seca severa.

2.2 Estratégias de tolerância ao estresse hídrico em plantas

O estresse biológico é de definição ainda complexa na literatura. Lichtenthaler (1998) refere-se ao termo “estresse” como uma disfunção no metabolismo, crescimento e desenvolvimento de plantas, ocorrida por uma condição desfavorável provocada por fatores naturais ou antropogênicos. Já Vince e Zoltán (2011) consideram o estresse um efeito adverso na fisiologia ou uma disfunção metabólica da planta, provocado por mudanças repentinas na condição ambiental ótima, o que pode chegar a provocar uma perturbação na homeostase celular.

O desvio de determinada condição ótima pode também não resultar em estresse. Segundo Soni et al. (2014), o estresse pode ser visto como uma alteração da condição fisiológica, causada por um desequilíbrio provocado por fatores externos. Os autores também consideram que a “tensão” é uma alteração física ou química provocada por algum tipo de estresse e pode desencadear respostas que variam desde alterações na expressão de genes e no metabolismo celular até mudanças no crescimento e na produtividade das plantas. Assim, o tipo de resposta desencadeada por plantas em condição de estresse pode ser definido de acordo com a duração e a gravidade imposta pelo agente estressor (SONI et al., 2014).

Para se defender dos efeitos negativos causados pelo estresse hídrico as plantas possuem adaptações envolvidas como três estratégias: 1- escape à seca, estratégia utilizada

para evitar a exposição ao estresse, na qual as plantas aceleram a reprodução e o desenvolvimento finalizando o seu ciclo de vida antes da chegada do período seco, garantindo dessa forma a perpetuação da espécie; 2 - prevenção da seca, utilizada para evitar a desidratação durante períodos transitórios de seca e pode ocorrer através da eficiência do uso da água, redução da transpiração, limitação do crescimento vegetativo e regulação do crescimento radicular; 3 - tolerância à seca, característica presente em plantas para suportar as condições estressantes. Neste caso as plantas realizam altas atividades metabólicas quando expostas a estresses moderados, e baixas sob estresse severo (KOOYERS, 2015). Neste sentido, o ajustamento osmótico pelo acúmulo de moléculas osmorreguladoras e a autorregulação de enzimas de defesa antioxidante que agem na eliminação de espécies reativas de oxigênio (ROS), representam modificações fisiológicas e metabólicas utilizadas como estratégias de tolerância ao estresse (KOOYERS, 2015; SIMOVA-STOILOVA, et al., 2016).

O estresse hídrico é comumente sentido pelas plantas, por longos ou curtos períodos na natureza. Contudo, as plantas possuem mecanismos adaptativos em resposta ao estresse que garantem seu crescimento e/ou sobrevivência durante a escassez de água e sua posterior recuperação. Neste caso, as plantas, como organismos sésseis, para evitar as intempéries do ambiente necessitam adaptar-se por meio de mecanismos evolutivos eficazes para evitar ou reduzir possíveis danos causados por tensões provocadas por mudanças climáticas (ARVE et al., 2011).

A tolerância das plantas ao estresse refere-se a sua aptidão para enfrentar um ambiente desfavorável. Essa adaptação ao estresse ambiental é refletida em uma gama de eventos interligados que ocorrem em diferentes níveis de organização, desde modificações morfológicas até respostas que envolvem alterações no metabolismo celular (SALEHILISAR; BAKHSHAYESHAN-AGDAM, 2016). Segundo Simova-Stoilova et al. (2016), o desempenho global de plantas tolerantes à seca no início do estresse moderado, pode decair mais do que o das plantas sensíveis, porém, a recuperação do estresse nos genótipos tolerantes pode ocorrer de forma mais rápida. Isso se deve ao decréscimo nas atividades fisiológicas dessas plantas durante o estresse, evento que pode ampliar suas chances de sobrevivência após a fase do estresse.

Características como alongamento e ramificação de raízes, assim como a sua capacidade de adquirir e liberar nutrientes, podem ser consideradas como importantes parâmetros de seleção de plantas tolerantes ao estresse hídrico. A dinâmica do crescimento nas raízes em plantas tolerantes dá-se de diferentes formas. Algumas espécies tolerantes promovem o alongamento das raízes para melhorar a captação de águas profundas como

resposta ao déficit hídrico. No entanto, algumas espécies podem não alongar e até reduzir as taxas de crescimento das raízes para uma melhor captação da água presente nas camadas superficiais do solo. Assim, a dinâmica do crescimento das raízes em plantas tolerantes depende de modificações climáticas durante o período de seca (SIMOVA-STOILOVA et al., 2016).

Mudanças morfológicas e anatômicas nas folhas também estão correlacionadas com o estresse hídrico na maioria das espécies. Características como, redução no tamanho das folhas e no número de estômatos, regulação da abertura estomática, espessamento das paredes celulares de tecidos foliares, subdesenvolvimento de sistemas condutores, cutinização da superfície foliar, submersão de estômatos, são exemplos de alterações morfoanatômicas que podem ocorrer em plantas como respostas a condições de estresse hídrico (LISAR et al., 2012; SIMOVA-STOILOVA et al., 2016). Para resistir à dessecação, plantas tolerantes podem desenvolver alterações estruturais relacionadas à sua capacidade para armazenar e diminuir a perda de água, conhecida como eficiência do uso da água. Assim, modificações anatômicas como a presença de ceras cuticulares na superfície foliar podem melhorar o uso da água e amenizar a transpiração, bem como prevenir fotoinibição através do aumento da refletância foliar (DE-MICCO; ARONNE, 2012).

Em plantas expostas a condições de estresse hídrico, o potencial hídrico e o turgor celular podem sofrer redução suficiente para perturbar as funções normais da célula. Quando o estresse é resultante de uma perda moderada de água, pode levar ao fechamento estomático, limitando as trocas gasosas. A desidratação por perdas mais intensas de água pode provocar rupturas em estruturas celulares como membranas e afetar o seu metabolismo podendo degradar enzimas e levar à neutralização de importantes reações metabólicas até provocar morte celular (SONI et al., 2014).

Essencial para a manutenção da turgescência, a água é absorvida quando o potencial hídrico da planta é menor que o do solo (SILVA et al., 2014). A manutenção da turgescência celular através do ajustamento osmótico é um dos mecanismos fisiológicos mais eficazes em plantas submetidas ao estresse hídrico. O acúmulo de compostos osmorreguladores ou solutos compatíveis com o metabolismo celular evita a perda de água por aumentar o potencial osmótico da célula, promovendo assim, a homeostase osmótica através do equilíbrio hídrico entre o citosol e o ambiente externo (WANI et al., 2013; VAN-DEN-ENDE; EL-ESAWI, 2014; SAMI et al., 2016). Estes compostos podem ser encontrados na natureza em várias classes: açúcares solúveis como sacarose, glicose e frutose, polióis como manitol e sorbitol, aminoácidos como a prolina e composto quaternário de amônio, principalmente a glicina betaina (DAWOOD, 2016; HELD, SADOWSKI, 2016; ROYCHOUDHURY; BANERJEE,

A glicina betaína é um dos mais abundantes compostos quaternários de amônio acumulados em plantas superiores em resposta a estresses abióticos como o seca, alta salinidade, temperaturas extremas, entre outros (WANI et al., 2013; ROYCHOUDHURY; BANERJEE, 2016). O papel deste composto na tolerância a estresses é conhecido por duas funções básicas, o ajustamento osmótico e a compatibilidade celular. No ajuste osmótico, está envolvida com o efeito da concentração de solutos sobre a pressão osmótica, atuando na absorção da água do ambiente. Na compatibilidade celular, a água presente na célula é retida, garantindo assim o funcionamento do metabolismo celular durante o estresse (GIRI, 2011). Em plantas expostas ao estresse hídrico, a associação entre o acúmulo de glicina betaína e o decaimento de malondialdeído (MDA) indicou a atuação do composto na proteção contra danos de membranas (ROYCHOUDHURY; BANERJEE, 2016).

Famílias e gêneros de plantas superiores podem ser classificadas como acumuladoras ou não de glicina betaína (RODES; HANSON, 1993). Segundo Wani et al. (2013) algumas espécies são capazes de elevar o teor de glicina betaína quando expostas à condições de estresse, outras são conhecidas como baixo acumuladores de glicina betaína, como é o caso da soja e do arroz, as quais apresentam acúmulo médio de $5 \mu\text{mol g}^{-1}$ de matéria seca quando expostas à condições de estresse.

Em avaliação do acúmulo de glicina betaína em espécies da família Euphorbiaceae, Blunden et al. (2003), observaram baixo conteúdo do composto em algumas espécies e de modo geral apontaram a família como não-acumuladora do composto. No entanto, estes autores obtiveram altos rendimentos de glicina betaína em duas espécies do gênero *Jatropha* em sua pesquisa, o que indica que pode haver variações entre as espécies consideradas acumuladoras ou não de glicina betaína dentro da família Euphorbiaceae.

Aplicações exógenas de glicina betaína são indicadas para melhorar o desempenho frente a estresses abióticos em culturas de folhas largas como tomate, feijão e uva. Este tipo de aplicação tem ampliado até 12 vezes o acúmulo do composto, e pode melhorar a expressão de características envolvidas em mecanismos de tolerância. O efeito destas aplicações depende de fatores como espécie, estágio de desenvolvimento e tempo de aplicação (ROYCHOUDHURY; BANERJEE, 2016). A expressão de genes responsivos ao estresse como os que codificam enzimas atuantes na eliminação de ROS pode ser induzida pela aplicação de baixos níveis de glicina betaína, bem como por plantas transgênicas melhoradas para a síntese de solutos compatíveis (SOFO et al., 2015).

Introduções de genes de interesse têm sido realizadas, com vistas a promover a síntese de solutos compatíveis e melhorar a tolerância de plantas ao estresse hídrico. Neste sentido,

BARBOSA, M.R. Estratégias fisiológicas à restrição hídrica de *Cnidocolus quercifolius*... 24 plantas transgênicas de várias culturas de interesse como arroz, batata, tabaco, algodão e eucalipto foram beneficiadas e ampliaram sua capacidade de acumular glicina betaína após introgressão de gene que codificam proteínas envolvidas diretamente na síntese do composto (WANI et al., 2013; KHAN et al., 2015).

Em condições de estresse, a glicina betaína tem demonstrado também eficácia na ativação da replicação e da transcrição do DNA por promover a fusão das hélices, o que facilita o acesso ao mecanismo de transcrição de genes sensíveis ao estresse. Tanto a glicina betaína como a prolina podem atuar também na desestabilização da dupla hélice do DNA, por serem capazes de reduzir o ponto de fusão das hélices (ROYCHOUDHURY; BANERJEE, 2016). Assim como a glicina betaína, o aumento no acúmulo de prolina também tem sido estimulado em plantas transgênicas (WANI et al., 2013).

Além da ação na osmoregulação, os solutos compatíveis podem exercer também funções eficazes em outros processos vitais em plantas sob estresses abióticos, como o aumento da eficiência fotossintética através da proteção de membranas dos cloroplastos, proteínas e de paredes e membranas celulares, promovendo assim, a permeabilidade e estabilidade da organização celular, além de desempenhar importante papel na eliminação de ROS. Estas funções são possíveis devido a algumas propriedades como alta solubilidade, polaridade e hidrofiliçidade (DAWOOD, 2016; ROYCHOUDHURY; BANERJEE, 2016; SAMI et al., 2016).

A prolina é um dos 20 aminoácidos que compõem o código genético para formar cadeias polipeptídicas constituintes das proteínas. O aminoácido é codificado pelos códons CCA, CCU, CCG, os quais se baseiam na combinação das bases nitrogenadas citosina, guanina, adenina e uracila. Diferente dos outros aminoácidos, a prolina possui na sua estrutura uma amina secundária, além de apresentar uma distinta estrutura cíclica que confere rigidez na conformação de proteínas que possuem grande quantidade de prolina na sua composição (VERA, 2008; KISHOR et al., 2015).

A prolina pode ser acumulada em plantas sujeitas a estresses osmóticos, como salinos e hídricos. Dentre as funções primárias da prolina está a neutralização dos efeitos osmóticos provocados por estas tensões através da osmorregulação. O composto atua também na estabilidade de estruturas protéicas e na eliminação de radicais livres e por ser um aminoácido, serve como fonte de carbono e nitrogênio após sua degradação (KHAN et al., 2015). Contudo, a associação do acúmulo de prolina com a adaptação de plantas ao estresse tem sido questionada em várias abordagens na literatura. Assim, acredita-se que haja benefícios para a planta, com o aumento no teor do composto também na fase de recuperação do estresse (KAUR; ASTHIR, 2015; KISHOR et al., 2015; SAMI et al., 2016).

As específicas propriedades químicas da prolina, como sua natureza bipolar, pH neutro, alta compatibilidade com o meio celular e extrema solubilidade, influenciam a capacidade do aminoácido de exercer várias funções. Outro fator que influencia estas funções é o local e o metabolismo da prolina. Neste caso, a síntese e o catabolismo da prolina ocorrem em ciclos separados no cloroplasto e mitocôndrias respectivamente, cujo balanço pode depender da localização desses metabolismos em diferentes tecidos da planta (KHAN et al., 2015).

O acúmulo da prolina pode ocorrer em plantas sujeitas ou não ao estresse, pois, além de amenizar efeitos negativos gerados por condições adversas, este aminoácido pode exercer importante papel no desenvolvimento das plantas uma vez que, tem participação primordial na composição de muitas proteínas da parede celular e participa da transdução de sinais em plantas. Pesquisas envolvendo padrões de expressões genéticas sugerem que a síntese de prolina é elevada em tecidos fotossintéticos durante o estresse, enquanto o catabolismo é reduzido nestes tecidos e aumentado nas regiões meristemáticas das raízes (KISHOR et al., 2015; KHAN et al., 2015). A utilização do acúmulo de prolina como característica para monitorar o melhoramento de plantas para tolerância ao estresse hídrico, associada a características radiculares, vem sendo alvo de pesquisas na cultura da soja. Neste contexto, diferentes respostas genotípicas foram alcançadas e têm contribuído como informações importantes para o melhoramento genético da cultura (MWENYE et al., 2016).

O metabolismo da prolina envolve diferentes organelas e ocorre através da via do glutamato, na qual a biossíntese dá-se nos cloroplastos e no citosol e o catabolismo, nas mitocôndrias. Relatada como aminoácido multifuncional, a complexidade nas funções da prolina se deve também ao fato da biossíntese e degradação do composto serem realizadas em diferentes compartimentos. Nos cloroplastos o aumento na taxa da biossíntese da prolina está ligado à manutenção da homeostase redox pelo excesso do potencial de redução quando a cadeia de transporte de elétrons é saturada em condições de estresse. Já nas mitocôndrias, as funções da prolina estão relacionadas com a manutenção da energia para retomar o crescimento após o estresse e envolve o seu catabolismo, o qual está ligado à respiração oxidativa (KAUR; ASTHIR, 2015).

Alguns genes que codificam enzimas do metabolismo da prolina têm sido clonados e são encontrados em diferentes tecidos de plantas. O *P5CS2* é altamente expresso em células em células em divisão, enquanto o *P5CS1* é expresso abundantemente em várias partes da planta, mas não em células que se encontram em processo de divisão. Estes genes codificam diferentes formas da pirrolina-5-carboxilato sintetase (P5CS), enzima que atua na biossíntese

da prolina, onde catalisa a conversão do glutamato a pirrolina-5-carboxilato (PS5) a qual é reduzida à prolina (KHAN et al., 2015; KISHOR et al., 2015).

O pré-tratamento com prolina pode reduzir a toxicidade por metais pesados, pois o aminoácido está associado à redução da concentração de ROS, além de funcionar como hidrótropos (melhoria na solubilidade de espécies pouco solúveis em água) compatíveis com proteínas, mantendo as relações NADP⁺/NADPH para equilibrar a acidez citoplasmática compatível com o metabolismo celular (KAUR; ASTHIR, 2015).

Em pesquisas que abordam melhorias na tolerância à seca de *Jatropha curcas*, Yang et al., (2015) atrelaram o ajustamento osmótico à elevação nas atividades tanto de uma enzima envolvida na biossíntese de glicina betaína, como das enzimas P5CS, glutamato desidrogenase, arginase e ornitina aminotransferase, as quais participam de vias da biossíntese de prolina. Na ocasião, estes resultados foram reforçados pelo aumento na expressão de genes *P5CS*. Os autores também consideraram a osmorregulação através do acúmulo dos solutos compatíveis glicina betaína, prolina e açúcares solúveis, como fator chave na tolerância da espécie ao estresse hídrico.

Embora os solutos compatíveis exerçam funções osmorreguladoras e de proteção em membranas e paredes celulares em plantas sob estresse hídrico, estes compostos também atuam na eliminação de ROS (HOSSAIN; et al., 2014; DAWOOD, 2016). Sofo et al., (2015), associam a aplicação exógena de glicina betaína e prolina com a elevação de enzimas do sistema antioxidante na eliminação de ROS em defesa das plantas contra o estresse oxidativo.

Um dos principais motivos pelo qual o crescimento e o desenvolvimento de órgãos nas plantas são afetados negativamente pela escassez hídrica é a redução da síntese de carboidratos devido à limitação da fixação de CO₂ na fotossíntese. Mudanças nas características estomáticas como a regulação da abertura e fechamento dos estômatos, o aumento da densidade estomática e a diminuição do tamanho das células guardas, são umas das principais respostas utilizadas como estratégia por plantas submetidas ao estresse hídrico para evitar a perda de água por transpiração (CHAI, et al., 2016; JOHNSON, 2016). Em resposta a essas condições o fechamento estomático ocorre por um rápido aumento nos níveis do ABA endógeno, o que é regulado por uma rede de transdução de sinais (OSAKABE, et al., 2014; HSIE et al., 2016; DARYANTO et al., 2016).

Os baixos níveis de trocas gasosas e suas consequências na assimilação de CO₂ levam à diminuição da fotossíntese e pode refletir também em danos ao aparato fotossintético. Nessas condições algumas plantas utilizam modificações nos conteúdos dos pigmentos fotossintetizantes como estratégias de proteção do aparato fotossintético (ZARGAR et al., 2017). Pigmentos fotossintetizantes são compostos orgânicos capazes de absorver energia

luminosa ao longo do espectro de luz visível, o qual se encontra na faixa de 400 a 700 nm e é chamado de radiação fotossinteticamente ativa (RFA). Clorofilas e carotenóides são pigmentos envolvidos na fotossíntese e podem absorver energia luminosa em distintos comprimentos de ondas desde os mais energéticos (luz azul) até o menos energético (luz vermelha) (KLUGE et al., 2015).

Os pigmentos fotossintetizantes são localizados em complexos proteicos, local específico de captação de energia luminosa, os quais se encontram nos fotossistemas (PS), um conjunto de proteínas integrais inseridos nas membranas dos tilacóides que representam o sítio das reações luminosas da fotossíntese. Neles são realizadas as reações luminosas da fotossíntese em dois locais, o complexo antenas, local específico de captação de energia luminosa, e o centro de reações. Em plantas, as clorofilas estão presentes de duas formas: clorofilas *a* e *b*. Durante a captação de luz na fotossíntese, os pigmentos acessórios clorofila *b* e carotenóides, exercem a função de captação de energia luminosa e a clorofila *a*, além de captar energia luminosa, participa da transferência de energia para as reações fotoquímicas (KIM, et al., 2015; KLUGE et al., 2015; ESTEBAN et al., 2015).

Em plantas, pigmentos como clorofilas e carotenóides tem participação primordial nos processos de captação de energia luminosa para transformá-la em moléculas energéticas e redutoras como ATP e NADPH as quais são utilizadas durante a fixação do CO₂ para a produção de fotoassimilados. Na primeira fase do processo fotossintético, conhecida como etapa fotoquímica, a clorofila *a* é requerida para receber a energia de excitação absorvida pelos pigmentos acessórios nos complexos antena e iniciar a transferência de elétrons para moléculas aceptoras no centro de reações do PS II, onde parte dessa energia é utilizada na fotoxidação da água. O desbalanço entre os processos de captação e transmissão de energia luminosa pode acarretar em danos ao aparato fotossintético (KLUGE et al., 2015; KIM et al., 2016).

O direcionamento da energia de excitação da clorofila *a* como ponto de partida para as reações fotoquímicas ocorridas entre os PS II e I é conhecido como dissipação fotoquímica. Em plantas expostas a limitados conteúdos de água no solo, as taxas de fixação de carbono fotossintético diminuem enquanto a captação de luz continua. Isso provoca um desequilíbrio nas reações de oxido-redução e os produtos gerados entre os PSII e I aumentando o estado de excitação da clorofila, levando à formação de clorofila tripleto (³Chl^{*}). No estado tripleto a clorofila pode transferir energia de excitação para o O₂ e formar o oxigênio singlete (¹O₂), ROS causadora de estresse oxidativo. Neste caso, os carotenóides são capazes de prevenir a formação do ¹O₂ (MORALES et al., 2014; ESTEBAN et al., 2015; TIAN et al., 2016; ZARGAR et al., 2017).

A relação entre os conteúdos de clorofilas *a* e *b* (*Cloa/b*) tem sido evidenciado como resposta a estresses abióticos e seu decaimento pode estar associado à síntese da clorofila *b* a partir da clorofila *a*, processo que é estimulado por altos níveis de energia luminosa e ocorre no ciclo da clorofila, onde envolve as enzimas clorofila *a* oxigenase e clorofila *b* redutase na presença de NADPH (TRIPATHY; PATTANAYAK, 2012). A relação (*Cloa/b*) pode estar associada também ao aumento no tamanho do complexo de antenas do PSII, como alterações resultantes de ajustamentos no aparato fotossintético em resposta à mudanças ambientais (ESTEBAN et al., 2015).

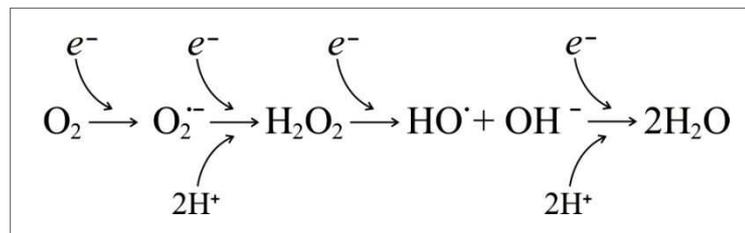
Os carotenoides são uma grande classe de isoprenóides encontrada nos tecidos fotossintetizantes das plantas, onde estão diretamente ligados aos complexos antena dos PSI e PSII nos tilacóides. Além da participação como pigmentos acessórios, onde absorvem luz nas regiões verde-azul do espectro de luz visível, os carotenóides exercem papel chave na proteção dos processos fotoquímicos quando a extinção fotoquímica de energia luminosa não é eficiente. Nestas circunstâncias, o excesso de energia da clorofila pode ser dissipado pelos carotenóides em forma de calor através de um processo conhecido como extinção não fotoquímica. Dentre os carotenóides, o β -caroteno desempenha papel primordial na extinção da energia excedente da clorofila tripleto no complexo antena do PS II, impedindo assim a geração do $^1\text{O}_2$, ROS com potencial para causar danos oxidativos em moléculas e estruturas biológicas (JALEEL et al., 2009; DI-VALENTIN et al., 2016).

2.3 Estresse oxidativo por seca em plantas

ROS (reactive oxygen species) é um termo empregado para designar moléculas que possuem átomos de oxigênio reativos ou com potencial para reatividade (DEMIDCHIK, 2015). Durante as atividades de processos metabólicos aeróbicos das plantas a geração de ROS ocorre naturalmente em vários compartimentos como cloroplastos, mitocôndrias e peroxissomos. Contudo, o excesso destes compostos pode causar danos celulares e levar a disfunções metabólicas resultando em um estresse secundário conhecido como estresse oxidativo. O estresse oxidativo acontece porque as ROS são formadas a partir da redução parcial ou da excitação do oxigênio atmosférico, o que as torna reativas e consequentemente, com potencial para causar oxidação em moléculas e componentes celulares como proteínas, ácidos nucleicos e membranas. Neste sentido, este tipo de estresse ocorre como resultado do desequilíbrio entre o acúmulo de ROS e sua eliminação pela ação de sistemas de defesa antioxidante (DEMIDCHIK, 2015; INUPAKUTIKA et al., 2016; CAVERZAN et al., 2016).

Plantas expostas a condições extremas de estresse abiótico estão sujeitas a sofrer estresse oxidativo e as ROS mais encontradas em células vegetais nestas condições são o radical superóxido ($O_2^{\cdot-}$), o peróxido de hidrogênio (H_2O_2), o oxigênio singlete (1O_2) e o radical hidroxila (OH^{\cdot}) (CAVERZAN et al., 2016; SIMOVA-STOILOVA, et al., 2016). A geração de ROS pode ocorrer através da redução parcial do oxigênio molecular e dos produtos resultantes deste processo, o qual é conhecido como redução tetravalente do oxigênio molecular à água. A redução do O_2 com um elétron (univalente) que escapa da cadeia de transporte de elétrons em cloroplastos e mitocôndrias resulta na formação do radical superóxido ($O_2^{\cdot-}$) (Figura 1) (BHATTACHARJEE, 2010; DEMIDCHIK, 2015; INUPAKUTIKA et al., 2016).

Figura 1. Formação de ROS pela redução tetravalente do oxigênio molecular à água.

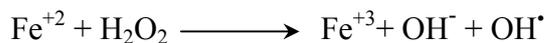
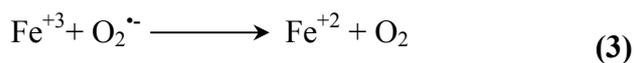


Em condições de déficit hídrico, o declínio nas taxas de assimilação de CO_2 devido ao fechamento estomático, pode levar a baixos níveis de CO_2 interno e acarretar na diminuição da oxidação do NADPH durante a etapa de fixação do CO_2 na fotossíntese. Este evento tem como consequência uma queda da geração de $NADP^+$ e quando isto ocorre, os elétrons da ferredoxina, o qual seria utilizado para reduzir o $NADP^+$ no final da cadeia de transporte de elétrons, migram para moléculas de O_2 presentes no estroma, formando o $O_2^{\cdot-}$, numa reação denominada “reação de Mehler” (ROACH; KRIEGER-LISZKAY, 2014; CAVERZAN et al., 2016; PUTHUR, 2016).

ROS podem ser formadas também pela transferência de energia de excitação da clorofila tripleto para o O_2 formando 1O_2 . Em plantas sujeitas ao déficit hídrico, o 1O_2 é gerado na etapa fotoquímica da fotossíntese, durante a ativação fotoquímica da clorofila *a*, processo estimulado por uma diminuição na oxidação do NADPH acumulado no final da cadeia de transporte de elétrons por causa das baixas taxas de fixação de CO_2 nessas plantas. Este evento acarreta em um desequilíbrio entre a captação de energia luminosa e sua extinção fotoquímica formando clorofila tripleto, a qual transfere sua energia excedente para O_2 formando 1O_2 (MOR et al., 2014; ESTEBAN et al., 2015; KIM et al., 2016).

O H_2O_2 é considerada uma ROS moderadamente reativa por não possuir elétron desemparelhado mas, pode representar potencial perigo quando acumulados em grande quantidade devido ao seu pequeno tamanho, o que facilita a sua travessia através de membranas permitindo sua migração entre diferentes compartimentos. Além disso, o H_2O_2 possui ação deletéria por atuar na formação do OH^\bullet quando reage com metais de transição como o Fe^{2+} em uma reação conhecida por reação de Fenton (Equação 2). Por outro lado, o H_2O_2 exerce importante papel na sinalização de genes regulados por tensões ambientais como a seca, além de participar de processos metabólicos envolvidos no crescimento e desenvolvimento de plantas. Os níveis de H_2O_2 são considerados bons marcadores do estresse oxidativo e tem sido utilizado em vários estudos acerca de tolerância de plantas à condições de seca (OSAKABE, et al., 2014; ROACH; KRIEGER-LISZKAY, 2014; DEMIDCHIK, 2015; SOFO, et al., 2015; CAVERZAN et al., 2016).

Os altos níveis de $\text{O}_2^{\bullet-}$ provocados por condições de estresse em plantas, podem acarretar em danos severos por estresse oxidativo ocasionados pelo HO^\bullet , uma vez que o $\text{O}_2^{\bullet-}$ pode reagir com Fe-S de proteínas liberando íons Fe os quais são utilizados nas reações de Fenton e Haber-Weis e formar HO^\bullet . Na presença de Fe^{+3} o $\text{O}_2^{\bullet-}$ pode gerar OH^\bullet pela conversão do H_2O_2 através das reações de Fenton e de Haber-Weis (Equações 1, 2 e 3) (DEMIDCHIK, 2015; CAVERZAN et al., 2016).



Equação 1. Redução e oxidação do íon ferro na presença de superóxido e oxigênio reversivamente. **Equação 2.** Formação do radical hidroxila (OH^\bullet) pela reação de Fenton. **Equação 3.** Formação do radical hidroxila (OH^\bullet) pela reação de Haber-Weiss.

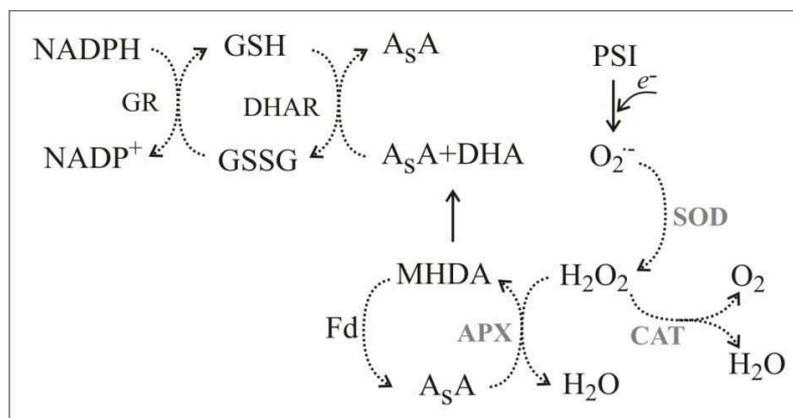
O OH^\bullet é considerado o oxidante mais reativo dentre as ROS e portanto altamente prejudicial ao funcionamento celular. Devido sua alta reatividade, o OH^\bullet é capaz de retirar átomos de hidrogênio de ácidos graxos insaturados da camada bilipídica tornando-os reativos. Este processo conhecido como peroxidação lipídica ocasiona a lise de membranas celulares comprometendo sua integridade e tem como um dos principais produtos finais o

malondialdeído (MDA), molécula reconhecida como um dos principais marcadores do estresse oxidativo em plantas.

Para se proteger contra os efeitos deletérios do estresse oxidativo, as plantas procuram manter baixos níveis de ROS através da ativação dos sistemas de defesa antioxidante que podem ser ou não de natureza enzimática. Neste caso, o funcionamento deste sistema pode se dar através de alterações nos níveis de compostos não-enzimáticos como glutathiona (GSH), ácido ascórbico (AsA), o α -tocoferol (vitamina E) e carotenóides, e nas atividades de enzimas antioxidantes como superóxido dismutase (SOD, EC 1.15.1.1), catalase (CAT, EC 1.11.1.6), ascorbato peroxidase (APX, EC 1.11.1.1), glutathiona redutase (GR, EC 1.6.4.2), dentre outras (CAVERZAN et al., 2016).

A SOD atua na linha de frente em combate a ROS e é responsável pela dismutação do $O_2^{\cdot-}$, quando o mesmo se encontra em altos níveis em compartimentos celulares como cloroplastos, mitocôndrias, citosol e peroxissomos. Nesta ação a enzima converte o $O_2^{\cdot-}$ a H_2O_2 e O_2 . O H_2O_2 gerado pela SOD pode ser convertido a moléculas de H_2O e O_2 pela enzima CAT e de H_2O pela APX através de uma rede de reações denominada via do ascorbato glutathiona (Figura 2). Assim, o equilíbrio das atividades destas enzimas é crucial para amenizar os níveis de ROS em plantas, sobretudo nas expostas a estresses (DEMIDCHIK, 2015; CAVERZAN et al., 2016).

Figura 2. Representação esquemática da geração de ROS no fotossistema I e sua eliminação pelas enzimas SOD, APX e CAT e ciclo do ascorbato-glutathiona. AsA – ascorbato; MDHA – monodeidroascorbato; DHA – deidroascorbato; DHAR – deidroascorbato redutase; GSH – glutathiona reduzida; GSSG – glutathiona oxidada; Fd – ferredoxina.



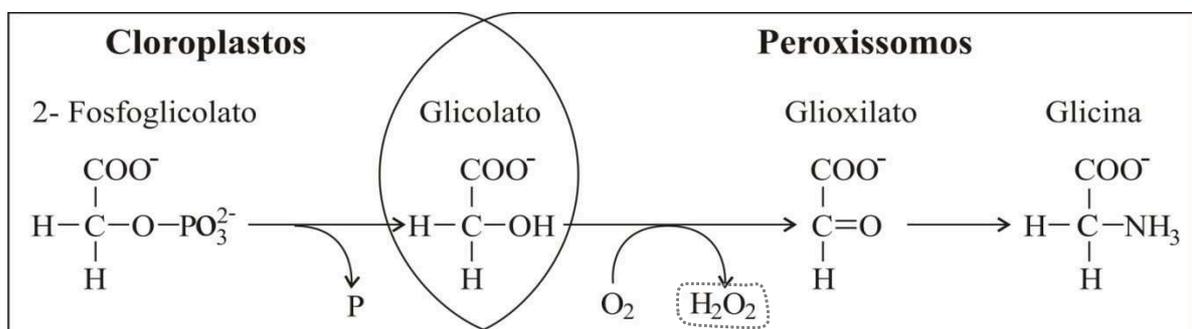
Para diminuir o acúmulo de H_2O_2 e evitar os danos acarretados pelo estresse oxidativo, plantas acionam alterações nas atividades das enzimas APX e CAT. A APX é uma enzima da família das peroxidases e suas isoformas podem atuar no citosol, cloroplastos,

mitocôndrias e peroxissomos. Nos cloroplastos exerce um determinante papel na conversão do H_2O_2 em H_2O no ciclo do ascorbato glutaciona, um importante sistema de eliminação do H_2O_2 em plantas sob estresse abiótico (Figura 2) (SOFO et al., 2015; CAVERZAN et al., 2016).

A APX executa um importante papel na eliminação rápida de H_2O_2 uma vez que possui alta afinidade com o composto, o que permite a sua eliminação mesmo quando presente em baixas concentrações. Esta afinidade dá-se porque a cinética enzimática da enzima tem uma constante de Michaelis-Menten (K_M) na ordem de μM , uma vez que requer apenas uma molécula de H_2O_2 para convertê-lo em H_2O na presença do ascorbato como doador de elétron. Diferente da APX, a CAT age na eliminação do H_2O_2 quando a molécula se encontra em maiores concentrações devido a sua K_M a qual apresenta-se na grandeza de mM. Neste processo a enzima requer $2H_2O_2$ para formar $2H_2O$ e O_2 sem a presença de poder redutor (BARBOSA et al. 2014; PUTHUR, 2016).

A atuação da CAT na detoxificação do H_2O_2 ocorre principalmente no peroxissomos durante a fotorrespiração. Os peroxissomos são considerados como o principal sítio de produção de H_2O_2 gerado pela fotorrespiração em função do decréscimo da assimilação do CO_2 em plantas C_3 expostas a estresses abióticos como a seca. Neste caso, as baixa concentrações de CO_2 interno provocadas pelo fechamento estomático promove o decréscimo na relação CO_2/O_2 ativando a função oxigenase da enzima ribulose-1,5-bifosfato (Rubisco). Na via respiratória o H_2O_2 é gerado como produto secundário quando o 2-fosfoglicolato (2PG) oriundo dos cloroplastos é exportado para os peroxissomos onde é convertido à glioxilato (Figura 3), (SOFO et al., 2015; EISENHUT et al., 2017).

Figura 3. Formação do H_2O_2 nos peroxissomos durante a fotorrespiração.



O glioxilato formado nos peroxissomos dá seguimento a uma série de reações envolvendo as mitocôndrias e cloroplastos para gerar 3-fosfoglicerato, molécula intermediária do processo de fixação do carbono da fotossíntese. Em plantas C_3 sob condições de estresse hídrico, a fotorrespiração ocorre para o melhor aproveitamento do carbono fixado na

BARBOSA, M.R. Estratégias fisiológicas à restrição hídrica de *Cnidoscolus quercifolius*... 33 molécula do 2PG. No final do processo uma molécula de CO₂ em cada duas de 2PG é liberada, por isso a fotorrespiração diminui a eficiência fotossintética e é considerada desvantajosa. Contudo, algumas pesquisas vêm revelando a importância da via respiratória como auxílio à fotossíntese em plantas sob estresse (SOFO et al., 2015; KIM et al., 2016; EISENHUT et al., 2017).

A regulação das enzimas do sistema antioxidante está relacionada com a tolerância a estresses abióticos como a seca e pode garantir a proteção contra estresse oxidativo estabilizando processos metabólicos como a fotossíntese em inúmeras espécies e variedades de plantas tolerantes (SIMOVA-STOILOVA et al., 2016). A avaliação do balanço entre as atividades de enzimas dos sistemas antioxidantes como SOD, APX e CAT, bem como dos níveis de ROS como o H₂O₂ e dos produtos gerados durante o estresse secundário como MDA, são importantes fontes de informações acerca da dinâmica da tolerância à seca em plantas. A importância de se traçar um perfil de respostas é a obtenção de marcadores bioquímicos relacionados com a defesa do estresse em questão, os quais possam servir para selecionar genótipos agronomicamente desejáveis. Além disso, a utilização desses marcadores com o auxílio de técnicas de biologia molecular pode acelerar programas de melhoramento para reduzir perdas na agricultura.

3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALOUFA, M.A.I.; MEDEIROS, J.A. Valorização e preservação da faveleira (*C. quercifolius*) para o desenvolvimento sustentável do semiárido brasileiro. **Revista OKARA: Geografia em debate**, João Pessoa, v. 10, n. 3, p. 453-476, 2016.

ARRIEL, E.F.; PAULA, R.C.; RODRIGUES, T.J.D.; BAKKE, O.A.; ARRIEL, N.H.C. Divergência genética entre progênies de *Cnidoscolus phyllacanthus* submetidas a três regimes hídricos. **Revista Científica**, v. 34, n. 2, p. 229-237, 2006.

ARVE, L.E.; TORRE, S.; OLSEN, J.E.; TANINO, K.K. Stomatal responses to drought stress and air humidity. In: SHANKER, A.K.; VENKATESWARLU, B (ed.). **Abiotic stress in plants – mechanisms and adaptations**. Rijeka: In Tech, 2011. p. 267-280.

BARBOSA, M.R.; SILVA, M.M.A.; WILLADINO, L.; ULISSES, C.; CAMARA, T.R. Geração e desintoxicação enzimática de espécies reativas de oxigênio em plantas. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 44, n. 3, p. 453-460, 2014.

BELTRÃO, N.E.M.; OLIVEIRA, M.I.P. Oleaginosas potenciais do Nordeste para a produção de biodiesel. Brasília: **Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária**, 2007. 18p. (Boletim Técnico, 177).

BHATTACHARJEE, S. Sites of generation and physicochemical basis of formation of reactive oxygen species in plant cell. In: GUPTA, S.D. **Reactive oxygen species and antioxidants in higher plants**. Enfield: Science Publishers, 2010. cap. 1, p. 1-30.

BLUNDEN, G.; PATEL, A.V. ; ROMERO, M.A.; CUERVO, A.C.; AI-AMOUDI, O.A.; MUTAWIE, H.H. Betaine distribution in the Euphorbiaceae. **Umm Al-Qura Journal for Science, Medicine, and Engineering**, v. 15, n. 1, p. 37-42, 2003.

CANDEIA, B.L.; BAKKE, O.A.; ARIEL, E.F.; BAKKE, I.A. Production of thornless *Cnidoscolus phyllacanthus* progenies from open pollinated native trees. **Pesquisa Florestal Brasileira**, Colombo. v. 30, n. 62, p. 147-152, 2010.

CAVALCANTI, M.T.; BORA, P.S. Análise das proteínas e estudo reológico dos isolados protéicos das amêndoas da faveleira (*Cnidoscolus Phyllacanthus* (Mart.) Pax et K. Hoffm.) com e sem espinhos. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**. v. 69, n. 2, p. 243-251, 2010.

CAVALCANTI, M.T.; BORA, P.S.; CARVAJAL, J.C.L. Propriedades funcionais das proteínas de amêndoas da faveleira (*Cnidoscolus phyllacanthus* (Mart.) Pax. et K. Hoffm.) com e sem espinhos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 29, n. 3, p. 597-602, 2009.

CAVALCANTI, M.T.; SILVEIRA, D.C.; FLORENTINO, E.R.; MARACAJÁ, P.B. Caracterização biométrica e físico-química das sementes e amêndoas da faveleira (*Cnidoscolus phyllacanthus* (Mart.) Pax. et K. Hoffm.) com e sem espinhos. **Revista Verde**, v. 6, n. 1, p. 41-45, 2011.

CAVERZAN, A.; CASASSOLA, A.; BRAMMER, S.P. Reactive oxygen species and antioxidant enzymes involved in plant tolerance to stress. In: SHANKER, A.K; SHANKER, C (ed.). **Abiotic and biotic stress in plants - recent advances and future perspectives**. Publisher: InTech, Chapters published, 2016. cap. 20, p. 463-480.

CHAI, Q.; GAN, Y.; ZHAO, C.; XU, H.; WASKOM, R.M.; NIU, Y.; SIDDIQUE, K.H.M. Regulated deficit irrigation for crop production under drought stress. A review. **Agronomy for Sustainable Development**, v. 36, n. 3, 2016.

CHARLESWORTH, D.; WILLIS, J.H. The genetics of inbreeding depression. **Nature Reviews Genetics**, v. 10, p. 783-796, 2009.

CREPALDI, C.G.; CAMPOS, J.L.A.; ALBUQUERQUE, U.P. Richness and ethnobotany of the family Euphorbiaceae in a tropical semiarid landscape of Northeastern Brazil. **South African Journal of Botany**, Pietermaritzburgo, v. 102, p. 157–165, 2016.

DARYANTO, S.; WANG, L.; JACINTHE, P.A. Drought effects on root and tuber production: a meta-analysis. **Agricultural Water Management**, v. 176, p. 122-131, 2016.

DAWOOD, M.G. Influence of osmoregulators on plant tolerance to water stress. **Scientia Agriculturae**, v. 13, n. 1, p. 42-58, 2016.

DE-MICCO, V.; ARONNE, G. Morpho-anatomical traits for plant adaptation to drought. In: AROCA, R. (ed.): **Plant responses to drought stress – from morphological to molecular features**. Berlin: Springer, 2012. cap. 2. p. 37-61.

DEMIDCHIK, V. Mechanisms of oxidative stress in plants: from classical chemistry to cell biology. **Environmental and Experimental Botany**, v. 109, p. 212-228, 2015.

DI-VALENTIN, M.; DAL FARRA, M.G.; GALAZZO, L.; ALBERTINI, M.; SCHULTE, TIM.; HOFMANN, E.; CARBONERA, D. Distance measurements in peridinin-chlorophyll *a*-protein by light-induced PELDOR spectroscopy. Analysis of triplet state localization. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1857, p. 1909-1916, 2016.

DUQUE, G. **O Nordeste e as lavouras xerófilas**. 4. ed. Fortaleza: Banco do Nordeste do Brasil, 330 p, 2004.

EISENHUT, M.; BRAUTIGAM, A.; TIMM, S.; FLORIAN, A.; TOHGE, T.; FERNIE, A.R.; BAUWE, H.; WEBER, A.P.M. Photorespiration is crucial for dynamic response of photosynthetic metabolism and stomatal movement to altered CO₂ availability. **Molecular Plant**, v. 10, p. 47-61, 2017.

ESTEBAN, R.; BARRUTIA, O.; ARTETXE, U.; FERNÁNDEZ-MARÍN, B.; HERNÁNDEZ, A.; GARCÍA-PLAZAOLA, J. I. Internal and external factors affecting photosynthetic pigment composition in plants: a meta-analytical approach. **New Phytologist**, v. 206, p. 268-280, 2015.

FERRAZ, J.S.F.; FERREIRA, R.L.C. SANTOS, M.V.F.; MEUNIER, I.M.J. Usos de especies leñosas de la Caatinga del municipio de Floresta en Pernambuco, Brasil: conocimiento de los indios de la aldea Travessão do Ouro. **Bosque**, Valdivia, v. 33, n. 2, p. 183-190, 2012.

FRANCISCO, P.R.M. Os limites do semiárido brasileiro. In: PEREIRA, F.C.; SANTANA, M.; PEREIRA, D.D.; LIMA, A.V.O.; VERAS, R.P (Org.). **Manejo de plantas xerófilas do semiárido**. Campina Grande: EDUFPG, 2013. p.163-181.

GIRI, J. Glycinebetaine and abiotic stress tolerance in plants. **Plant Signaling & Behavior**, v. 6, n. 11, p. 1746-1751, 2011.

HELD, C.; SADOWSKI, G. Compatible solutes: Thermodynamic properties relevant for effective protection against osmotic stress. **Fluid Phase Equilibria**, v. 407, p. 224–235, 2016.

HOSSAIN, M.A.; HOQUE, M.A.; BURRITT, D.J.; FUJITA, M. Proline protects plants against abiotic oxidative stress: biochemical and molecular mechanisms. In: AHMAD, P. (Ed): **Oxidative damage to plants**. San Diego: Elsevier Inc, 2014. Cap. 16, p. 477-522.

HSIE, B.S.; MENDES, K.R.; ANTUNES, W.C.; ENDRES, L.; CAMPOS, M.L.O.; SOUZA, F.C.; SANTOS, N. D.; SINGH, B.; ARRUDA, E.C.P. ; POMPELLI, M.F. *Jatropha curcas* L. (Euphorbiaceae) modulates stomatal traits in response to leaf-to-air vapor pressure deficit. **Biomass and Bioenergy**, v. 81, p. 273-281, 2015.

INUPAKUTIKA, M.A.; SENGUPTA, S.; DEVIREDDY, A.R.; AZAD, R.K.; MITTLER, R. The evolution of reactive oxygen species metabolism. **Journal of Experimental Botany**, v. 67, n. 21, p. 5933-5943, 2016.

JALEEL, C.B.; MANIVANNAN, P.; WAHID, A.; FAROOQ, M.; AL-JUBURI, H.J.; SOMASUNDARAM; R.; PANNEERSELVAM, R. Drought stress in plants: a review on morphological characteristics and pigments composition. **International Journal of Agriculture & Biology**, v. 11, n. 1, p. 100-105, 2009.

JOHNSON, M.P. Photosynthesis. **Essays in Biochemistry**, v. 60, p. 255-273, 2016.

KAUR, G.; ASTHIR, B. Proline: a key player in plant abiotic stress tolerance. **Biologia Plantarum**, v. 59, n. 4, p. 609-619, 2015.

KHAN, M.S.; AHMAD, D.; KHAN, M.A. Utilization of genes encoding osmoprotectants in transgenic plants for enhanced abiotic stress tolerance. **Electronic Journal of Biotechnology**, v. 18, p. 257-266, 2015.

KIM, Y.; LEE, J. H.; HA, H.; IM, S.W.; NAM, K.T. Material science lesson from the biological photosystem. **Nano Convergence**, v. 3, n. 19, p. 1-11, 2016.

KISHOR, P.B.K.; KUMARI, P. H.; SUNITA, M.S.L.; SREENIVASULU, N. Role of proline in cell wall synthesis and plant development and its implications in plant ontogeny. **Frontiers in Plant Science**, v. 6, p. 1-17, 2015.

KLUGE, R.A.; TEZOTTO-ULIANA, J.V.; SILVA, P.P.M. Aspectos fisiológicos e ambientais da fotossíntese. **Revista Virtual de Química**, v. 7, n. 1, p. 56-73, 2015.

KOOYERS, N.J. The evolution of drought escape and avoidance in natural herbaceous populations. **Plant Science**, Chicago, v. 234, p. 155-162, 2015.

LICHTENTHALER, H.K. The stress concept in plants: an introduction. **Annals of New York Academy of Sciences**, v. 851, p. 187-198, 1998.

LISAR, S.Y.S., MOTAFAKKERAZAD, R., HOSSAIN, M.M., RAHMAN, I.M.M. Water stress in plants: causes, effects and responses. In: RAHMAN, I.M.M. (ed.): **Water Stress**. Pp. 1-15. Intech. Publ., Rijeka, 2012.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas do Brasil**. 2. ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum de Estudos da Flora, v. 2. 2002. 368p.

MEDEIROS, J.A. Introdução da favela (*Cnidoscolus phyllacanthus*) em meio à caatinga no núcleo de desertificação Seridó, na seca de 2012. **Revista OKARA: Geografia em debate**, João Pessoa, v. 7, n. 2, p. 241-254, 2013. ISSN: 1982-3878.

MELO, A.L.; SALES, M.F. O gênero *Cnidoscolus* Pohl (Crotonoideae-Euphorbiaceae) no Estado de Pernambuco, Brasil. **Acta botânica brasileira**. v. 22, n. 3, p. 806-827, 2008.

MELO-BATISTA, A.A.; OLIVEIRA, C.R.M. Plantas utilizadas como medicinais em uma comunidade do semiárido baiano: saberes tradicionais e a conservação ambiental. **Enciclopédia Biosfera**, Goiânia, v. 10, n. 18; p. 74-88, 2014.

MOR, A.; KOH, E.; WEINER, L.; ROSENWASSER, S.; SIBONY-BENYAMINI, H.; FLUHR, R. Singlet oxygen signatures are detected independent of light or chloroplasts in response to multiple stresses. **Plant Physiology**, v. 165, p. 249-261, 2014.

MORALES, F.; ABADÍA, J.; ABADÍA, A. Thermal energy dissipation in plants under unfavorable soil conditions. In: DEMMIG-ADAMS, B.; GARAB, G.; ADAMS III, W.; GOVINDJEE. (eds) **Non-photochemical quenching and energy dissipation in plants, algae and cyanobacteria**. Springer, Dordrecht, 2014. P. 605-630.

MWENYE, O.J.; VAN-RENSBURG, L.; VAN-BILJON, A.; VAN-DER-MERWE, R. The role of proline and root traits on selection for drought-stress tolerance in soybeans: a review. **South African Journal of Plant and Soil**. v. 33, n. 4, p. 245-256, 2016.

OLIVEIRA, E.C.S.; COSTA-JÚNIOR, E.O.; FERNANDES, P.D.; TRAJANO, E.V.A. Photochemical efficiency of photosystem II (PSII) and water potential of *Cnidoscolus quercifolius* Pohl in areas of Caatinga paraibana. **IHERINGIA**, Série Botânica, Porto Alegre, v. 69, n. 2, p. 479-487, 2014.

OSAKABE, Y.; OSAKABE, K.; SHINOZAKI, K.; TRAN, L.S.P. Response of plants to water stress. **Frontiers in Plant Science**, v. 5, n. 86, p. 1-8, 2014.

PAREYN, F.G.C. A importância da produção não-madeireira na Caatinga. In: GARIGLIO, M.A.; SAMPAIO, E.V.S.B.; CESTARO, L.A.; KAGEYAMA, P.Y. (Org.). **Uso sustentável e conservação dos recursos florestais da Caatinga**. 2ª ed. Brasília: Serviço Florestal Brasileiro, 2010. cap. 1.1, p. 29-48.

PUTHUR, J.T. Antioxidants and cellular antioxidation mechanism in plants. **South Indian Journal of Biological Sciences**, v. 2, n. 1, p. 14-17.

RIBEIRO, K.; SOUSA-NETO, E.R.; CARVALHO-JUNIOR, J.A.; LIMA, J.R.S.; MENEZES, R.S.C.; DUARTE-NETO, P.J.; GUERRA, G.S.; OMETTO, J.P.H.B. Land cover changes and greenhouse gas emissions in two different soil covers in the Brazilian Caatinga. **Science of the Total Environment**, v. 571, p. 1048-1057, 2016.

RIBEIRO-FILHO, N.M.; FLORÊNCIO, I.M.; BRITO, A.C.; DANTAS, J.P.; CAVALCANTI, M.T. Avaliação nutricional de raízes de faveleira e cenoura em períodos equidistantes de coleta. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v. 13, n. 2, p. 169-175, 2011.

ROACH, T.; KRIEGER-LISZKAY, A. Regulation of photosynthetic electron transport and photoinhibition. **Current Protein and Peptide Science**, v. 15, p. 351-362, 2014.

RODAL, M.J.N.; SAMPAIO, E.V.S.B. A vegetação do bioma caatinga. In: SAMPAIO, E. V.S.B.; GIULIETTI, A.M. VIRGÍNIO, J.; GAMARRA-ROJAS, C.F.L. (Ed.). **Vegetação e flora da caatinga**. Recife: PNE/CNIP, 2002. p. 11-24.

RODES, D.; HANSON, A.D. Quaternary ammonium and tertiary sulphonium compounds in higher plants. **Annual Reviews of Plants Physiology and Plant Molecular Biology**, v. 44, p. 357-383, 1993.

ROYCHOUDHURY, A.; BANERJEE, A. Endogenous glycine betaine accumulation mediates abiotic stress tolerance in plants. **Tropical plant research**, v. 3, n. 1, p. 105-111, 2016.

SALEHI-LISAR, S.Y.; BAKHSHAYESHAN-AGDAM, H. Drought stress in plants: causes, consequences, and tolerance. In: HOSSAIN, M.A. et al. (Eds.). **Drought stress tolerance in plants: physiology and biochemistry**. New York: Springer International Publishing, 2016. v. 1, cap. 1, p. 1-16.

SALES, F.C.V.; BAKKE, O.A.; ARRIEL, E.F.; BAKKE, I.A.B. Enxertia da faveleira (*Cnidoscolus phyllacanthus*) sem espinhos. **Ciência Rural**, v. 38, n. 5, p. 1443-1446, 2008.

SAMI, F.; YUSUF, M.; FAIZAN, M.; FARAZ, A.; HAYAT, S. Role of sugars under abiotic stress. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 109, p. 54-61, 2016.

SANTOS, C.M.; VERISSIMO, V.; WANDERLEY-FILHO, H.C.L.; FERREIRA, V.M.; CAVALCANTE, P.G.S.; ROLIM, E.V.; ENDRES, L. Seasonal variations of photosynthesis,

gas exchange, quantum efficiency of photosystem II and biochemical responses of *Jatropha curcas* L. grown in semi-humid and semi-arid areas subject to water stress. **Industrial Crops and Products**, v. 41, p. 203- 213, 2013.

SILVA, L.M.M.; AGUIAR, I.B.; MORAIS, D.L.; VIEGAS, R.A.; SILVEIRA, J.A.G. Storage of seeds of *Cnidoscolus phyllacanthus* Pax & K. Hoffm. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 9, n. 4, p. 591-595, 2005.

SILVA, L.M.M.; AGUIAR, I.B.; VIEGAS, R.A.; MENDONÇA, I.F.C. Biologia reprodutiva de *Cnidoscolus juercifolius* Pax & K. Hoffm (Euphorbiaceae). **Revista de Biologia e Ciências da Terra**, v. 6, n. 2, p. 25-34. 2006.

SILVA, T.C.; SANTOS, E.M; MARTINS, R.; PINHO, A.; CAMPOS, F.S.; OLIVEIRA, J.S.; MACEDO, C.H.O.; PERAZZO, A.F.; BEZERRA, H.F.C. Conservação de forrageiras xerófilas. **Revista Eletrônica de Veterinária**, v. 15, n. 3, p. 1-10, 2014.

SIMOVA-STOILLOVA, L.; VASSILEVA, V.; FELLER, U. Selection and breeding of suitable crop genotypes for drought and heat periods in a changing climate: which morphological and physiological properties should be considered? **Agriculture**, v. 6, n. 26, p. 1-19, 2016.

SOFO, A.; SCOPA, A.; NUZZACI, M.; VITTI, A. Ascorbate peroxidase and catalase activities and their genetic regulation in plants subjected to drought and salinity stresses. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 16, p. 13561-13578, 2015.

SONI, P.; SHARMA, R.; RIZWAN, M.; SINGH, G. Classification of plant responses to drought stress. **Research in Environment and Life Sciences**, v. 7, n. 2, p. 69-80, 2014.

SOUZA, B.B; BATISTA, N.L.; OLIVEIRA, G.J.C. Utilização da faveleira (*Cnidoscolus phyllacanthus*) como fonte de suplementação alimentar para caprinos e ovinos no semiárido brasileiro. **Agropecuária Científica no Semiárido**, v. 8, n. 3, p. 01-05, 2012.

TIAN, L.; XU, P.; CHUKHUTSINA, V.U.; HOLZWARTH, A.R.; CROCE, R. Zeaxanthin-dependent nonphotochemical quenching does not occur in photosystem I in the higher plant *Arabidopsis thaliana*. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, Early Edition, p. 1-5, 2016.

TRIPATHY, B.C.; PATTANAYAK, G.K. Chlorophyll biosynthesis in higher plants. In: EATON-RYE, J.J.; TRIPATHY, B.C; SHARKEY, T.D. (eds.). **Photosynthesis: Plastid Biology, Energy Conversion and Carbon Assimilation**. Springer. p. 63-94, 2012.

VAN-DEN-ENDE, W.; EL-ESAWI, S.K. Sucrose signaling pathways leading to fructan and anthocyanin accumulation: a dual function in abiotic and biotic stress responses? **Environmental and Experimental Botany**, v. 108, p. 4-13, 2014.

VERA, L.F. El código genético cumple 40 años. **Revista de la Real Academia de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales**, v. 102, n. 1, p. 201-213, 2008.

VIANA, O.J.; CARNEIRO, M.S.S. Plantas forrageiras xerófilas - I faveleira inerme, *Cnidoscolus phyllacanthus* (Mart.) Pax & K. Hoffm., no semi-árido cearense. **Ciência Agrônômica**, v. 22 n. 1/2, p. 17-21, 1991.

VINCE, O.; ZOLTÁN, M. **Plant Physiology**: Plant stress physiology, 2011. Disponível em: <http://www.tankonyvtar.hu/en/tartalom/tamop425/0010_1A_Book_angol_01_novenelettan/ch04s05.html>. Acesso em: 11 set. 2016.

WANI, S.H.; SINGH, N.B.; HARIBHUSHAN, A.; MIR, J.I. Compatible solute engineering in plants for abiotic stress tolerance - role of glycine betaine. **Current Genomics**, v. 14, p. 157-165, 2013.

YANG, S.L.; CHEN, K.; WANG, S.S.; GONG, M. Osmoregulation as a key factor in drought hardening-induced drought tolerance in *Jatropha curcas*. **Biologia Plantarum**, v. 59, n. 3, p. 529-536, 2015.

ZARGAR, S.M.; NANCY GUPTA, A.; NAZIRA, M.; MAHAJAN, R.; MALIK, F.A.; SOFI, N.R.; SHIKARI, A.B.; SALGOTRA, R.K. Impact of drought on photosynthesis: molecular. **Plant Gene**, <http://dx.doi.org/10.1016/j.plgene.2017.04.003>. 2017.

CAPÍTULO II

CRESCIMENTO INICIAL E ACÚMULO DE SOLUTOS COMPATÍVEIS EM FAVELEIRA COM E SEM TRICOMAS SOB DÉFICIT HÍDRICO

**Crescimento inicial e acúmulo de solutos compatíveis em faveleira com e sem tricomas
sob déficit hídrico**

Marta Ribeiro Barbosa², Francisco Wellington de Oliveira Carneiro³, Cláudia Ulisses de
Carvalho Silva⁴, Terezinha Rangel Camara^{3*}

*Autor para correspondência

1. Recebido em xxxxx

Artigo extraído do trabalho de conclusão de curso do primeiro autor.

2. Departamento de Agronomia - Melhoramento Genético de Plantas - Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE). Rua Dom Manoel de Medeiros S/N, CEP: 52171-900 - Dois Irmãos, Recife, Pernambuco – Brasil.

3. Departamento de Química da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE).

4. Departamento de Biologia da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE).

CRESCIMENTO INICIAL E ACÚMULO DE SOLUTOS COMPATÍVEIS EM FAVELEIRA COM E SEM TRICOMAS SOB DÉFICIT HÍDRICO

RESUMO - Nas regiões semiáridas a vegetação possui estratégias adaptativas de tolerância à seca. Dentre elas, destaca-se o ajustamento osmótico, fenômeno que ocorre através do acúmulo de solutos compatíveis. *Cnidoscolus quercifolius* é uma arbórea exclusiva das matas xerófilas do Nordeste brasileiro e destaca-se por sua tolerância à seca e por seus múltiplos usos. O objetivo desta pesquisa foi avaliar o efeito de solutos compatíveis durante o crescimento inicial de faveleira com e sem tricomas submetidas ao déficit hídrico e a posterior reposição da rega. As mudas foram mantidas sob dois regimes hídricos: rega a 80% da capacidade de pote (controle - C) até 105 dias e suspensão de rega (SR) até 60 dias com posterior reposição de água a 80% da capacidade de pote até o 105º dia. Foram avaliadas, altura da planta, diâmetro do coleto e número de folhas emitidas a cada 15 dias, taxa de crescimento absoluto (TCA) aos 105 dias e potencial osmótico (Ψ_s) e solutos compatíveis aos 60 e 105 dias. No tratamento SR houve diminuição do Ψ_s e acúmulo de solutos compatíveis, indicando a utilização do ajustamento osmótico pela faveleira. O número de folhas demonstrou maior sensibilidade ao estresse e destacou-se também durante a recuperação do estresse. Com o retorno da rega, a recuperação do crescimento, elevação do Ψ_s e diminuição dos teores de solutos compatíveis indicaram a influência do ajustamento osmótico na recuperação do estresse. A faveleira acumula solutos compatíveis para amenizar os efeitos do estresse hídrico através do ajustamento osmótico como estratégia de tolerância.

Palavras-chave: Ajustamento osmótico. *Cnidoscolus quercifolius*. Estratégia de tolerância.

**INITIAL GROWTH AND COMPATIBLE SOLUTE ACCUMULATION IN
FAVELEIRA WITH AND WITHOUT TRICHOMES UNDER WATER DEFICIT**

ABSTRACT – The vegetation of semi arid regions have adaptive strategies to tolerate drought. Among these strategies, osmotic adjustment is a phenomenon caused by the accumulation of compatible solutes. *Cnidoscolus quercifolius* Is an exclusive tree of xerophilous forests of Northeast Brazil and stands out for its drought tolerance and its multiple uses. The aim of this research was to evaluate the effect of compatible solutes on the initial growth of faveleira with and without trichomes submitted to the water deficit and the subsequent irrigation replacement. The seedlings were maintained under two water regimes: irrigation at 80% of pot capacity (control – C) up to 105 days and watering suspension (SR) up to 60 days with subsequent replacement of water at 80% of the pot capacity until the 105th day. Were evaluated plant height, stem diameter and number of leaves emitted every 15 days, absolute growth rate (AGR) at 105 days, and osmotic potential (Ψ_s) and compatible solutes at 60 and 105 days. In the SR treatment there was a decrease in Ψ_s and accumulation of compatible solutes, indicating the use of the osmotic adjustment by the faveleira. The number of leaves showed greater sensitivity to stress and also stood out during recovery from stress. With the return of watering, recovery of growth, Ψ_s elevation and decrease of compatible solutes indicated the influence of osmotic adjustment on the recovery of stress. The faveleira accumulates compatible solutes to ameliorate the effects of water stress through osmotic adjustment as a tolerance strategy.

Keywords: Osmotic adjustment. *Cnidoscolus quercifolius*. Tolerance strategy.

INTRODUÇÃO

Altas ondas de calor e maiores frequências de secas geradas pelas mudanças climáticas acarretam déficit hídrico no solo e vêm apontando para um alerta acerca da sobrevivência de plantas nas regiões áridas e semiáridas. Grande parte da vegetação desses ambientes apresenta alto grau de xerofitismo e possui estratégias adaptativas de tolerância à seca que permitem o desenvolvimento dessas espécies sob as condições climáticas dessas regiões, tais como, redução nas taxas de crescimento e das atividades fisiológicas, regulação do fechamento estomático, ajustamento osmótico, dentre outras. A avaliação da velocidade de recuperação de plantas após períodos de seca é uma importante ferramenta na seleção e no melhoramento de genótipos que se adaptam aos ambientes secos (FRANCISCO, 2013; SIMOVA-STOILOVA; VASSILEVA; FELLER, 2016).

O ajustamento osmótico, um dos mecanismos mais eficazes em plantas submetidas ao estresse hídrico, ocorre através do acúmulo de solutos compatíveis com o metabolismo celular. Estes compostos atuam como osmólitos por aumentar a capacidade das células de reter água em função da redução do potencial osmótico da planta, sem prejudicar seu funcionamento metabólico. Este evento promove a homeostase osmótica através do equilíbrio hídrico entre o citosol e o ambiente externo (WANI et al., 2013; DAWOOD, 2016; SAMI et al., 2016).

O acúmulo de açúcares solúveis como glicose, sacarose e frutose agem na regulação do ajustamento osmótico, melhorando a tolerância de plantas a estresses osmóticos. A prolina, um dos principais metabólitos acumulados em resposta a estresses ambientais, além de atuar como osmólito, pode agir como antioxidante em defesa contra o estresse oxidativo ou estabilizando estruturas celulares e biomoléculas. A glicina betaína também exerce outras funções, além da osmorreguladora uma vez que atua na integridade de membranas e de enzimas. (SONI et al., 2014; SAMI et al., 2016). Solutos como prolina, glicina betaína e açúcares solúveis tem sido acumulados em respostas adaptativas ao estresse hídrico em algumas espécies da família Euphorbiaceae relatadas como tolerantes a seca (BABITA et al., 2010; MOURA et al., 2016; YANG et al., 2015), assim como em espécies endêmicas do bioma Caatinga (COSTA et al., 2015; SILVA et al., 2004).

Cnidoscolus quercifolius Pohl, espécie da família Euphorbiaceae que vem ganhando destaque pela sua multiplicidade de usos em populações da Caatinga (CREPALDI, et al., 2016; FERRAZ et al., 2012), é uma arbórea pioneira exclusiva das matas xerófilas do Nordeste brasileiro, onde vegeta sob baixos índices pluviométricos e apresenta rusticidade e rápido crescimento. Apesar de representar potencial socioeconômico para as populações do

semiárido a faveleira, como é conhecida, apresenta tricomas urticantes que dificultam seu manuseio, limitando seus diversos usos. Exemplares sem tricomas são encontrados em baixa frequência na natureza e para o melhor aproveitamento da espécie, são recomendados como lavoura xerófila, através da ampliação da sua base genética em populações de cruzamento aberto (ALOUFA; MEDEIROS, 2016; CANDEIA, et al., 2010).

Incentivados pela preocupação com os efeitos das mudanças climáticas, programas de melhoramento tem focado nas pesquisas acerca das respostas de variedades de plantas com maior capacidade para enfrentar condições de seca. Apesar de algumas pesquisas abordarem acerca de respostas a condição de déficit hídrico da faveleira, poucas estudos estão direcionados aos mecanismos de tolerância à seca da espécie, sobretudo ao acúmulo de solutos compatíveis e seus efeitos no crescimento. Assim, o objetivo desta pesquisa foi avaliar o efeito de solutos compatíveis durante o crescimento inicial de faveleira com e sem tricomas submetidas ao déficit hídrico e a posterior reposição da rega.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido em casa de vegetação na UFRPE, em Recife (08° 03' 14" S e 34° 52' 52" W), no período de dezembro de 2015 a março de 2016, onde as médias de temperatura e umidade relativa no período foram de 32 °C e 68,9 %, respectivamente, e a radiação fotossinteticamente ativa (PAR) média no local foi 757,0 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{seg}^{-1}$.

Foram utilizadas mudas de faveleira com quatro meses de idade, as quais foram padronizadas quanto à altura (± 20 cm) e ao número de folhas (± 9) e transplantadas para sacos de polietileno medindo 40 cm x 20 cm, com perfurações na base, com capacidade para 6 L. Os sacos foram preenchidos por uma mistura de areia lavada+substrato comercial Plantimax[®]+solo (1:1:1). As plantas foram irrigadas com solução nutritiva com a seguinte composição: 0,37 g.L⁻¹ de fertilizante solúvel Kristalon[®] (1,5% N; 5,5% P₂O₅; 19% K₂O; 2% MgO; 5,5% S; 0,012% B; 0,002% Mo; 0,005% Cu-EDTA; 0,012% Zn-EDTA,; 0,035% Fe-EDTA e 0,02% Mn-EDTA) e 0,42 g.L⁻¹ de Calcinit[®] (7,75% N e 9,5% Ca).

As regas ocorreram diariamente, porém com alternância de dias de regas com água ou com solução nutritiva. A umidade foi mantida em aproximadamente 80 % da capacidade de pote e as plantas permaneceram nestas condições, durante 15 dias, antes de iniciar a aplicação dos tratamentos. Para a obtenção da capacidade de pote, três amostras de sacos de polietileno contendo o substrato seco foram pesadas para a determinação do peso seco. Em seguida, a base dos sacos foi imersa em água até a saturação total do substrato. Após completa

drenagem, os sacos foram pesados novamente para a determinação do peso úmido (100 % da capacidade de pote) que foi calculada pela diferença entre os pesos à saturação e o peso do substrato seco.

As mudas foram mantidas sob dois regimes hídricos, constituídos pelos tratamentos: controle - regime de rega contínua com manutenção de 80% da capacidade de pote ao longo do período experimental (105 dias) e suspensão de rega – suspensão total do suprimento hídrico. Para as avaliações foram considerados dois períodos: o de imposição do estresse hídrico, durante 60 dias e o de reposição da rega, que foi dos 60 aos 105 dias, quando as plantas expostas ao estresse hídrico passaram a receber água procurando-se manter o mesmo regime do tratamento controle.

Para as avaliações biométricas, as variáveis altura da planta e diâmetro do coleto foram mensuradas com o auxílio de trena graduada e paquímetro, respectivamente e o número de folhas emitidas foi obtido através de contagem direta. Os valores médios destas variáveis foram utilizados para as avaliações das velocidades do crescimento em altura e em diâmetro através da taxa de crescimento absoluto (TCA), pela equação: $TCA = \frac{V_2 - V_1}{t_2 - t_1}$ onde, TCA = taxa de crescimento absoluto; V_1 = medida da altura ou diâmetro no tempo₁; V_2 = medida da altura ou diâmetro no tempo₂; t_1 = tempo inicial da avaliação (0 dias); e t_2 = tempo final da avaliação (105 dias) de acordo com Benincasa (2003).

Para a estimativa do potencial osmótico, folhas do terço médio da planta foram coletadas e maceradas para a obtenção da seiva, a qual foi centrifugada a 10.000 g por 10 minutos a 4 °C. Do sobrenadante foram utilizados 10 µL para a determinação da osmolalidade das amostras através de leituras em osmômetro de pressão de vapor Vapro 5520 (Wescor, Inc., Logan, UT, USA). Dos valores obtidos, expressos em osmolalidade (mmol kg^{-1}), foram calculados os potenciais osmóticos expressos em mega pascal (MPa), através da equação de Van't Hoff, pela fórmula: $\Psi_s = -RTC$ em que, Ψ_s = potencial osmótico (atm); R = constante geral dos gases perfeitos ($8,32 \text{ J mol}^{-1} \text{ }^\circ\text{K}^{-1}$); T = temperatura ($^\circ\text{K}$); C = concentração (mol L^{-1}).

Para análise de solutos compatíveis, foram determinados os teores de carboidratos solúveis totais (YEMM; WILLIS, 1954) e sacarose (VAN HANDEL, 1968) pelos métodos da antrona, a estimativa do teor de glicina betaína, realizada pela quantificação de complexos quaternários de amônio-periodeto de potássio de acordo com Grieve e Grattan (1983) e a do teor de prolina livre, seguindo o método do ácido sulfossalicílico descrito por Bates, Waldren e Teare (1973).

As variáveis altura da planta, diâmetro do coleto e número de folhas foram avaliadas ao longo do período experimental, a cada 15 dias, até o 105º dia, resultando em oito tempos de

avaliação em quatro repetições. Os dados foram submetidos ao teste de esfericidade de Mauchly, o qual resultou em significativo, com $p - valor < 0,05$, indicando que as análises não devem ser realizadas univariadamente como parcelas subdivididas no tempo. Assim, os dados foram submetidos à análise multivariada (MANOVA) com medidas repetidas, e as médias comparadas pelo teste Tukey a 5% de probabilidade por meio do programa estatístico SAS (Statistical Analysis System).

A avaliação das variáveis TCA, Ψ_s e teor dos solutos compatíveis foram realizadas aos 60 e 105 dias após a aplicação dos tratamentos, o que correspondeu aos finais dos períodos de estresse e de recuperação, respectivamente, para as plantas do tratamento SR. Para a análise estatística dessas variáveis foi adotado o esquema fatorial 2 x 2 (dois genótipos e dois regimes hídricos) resultando em quatro tratamentos para cada período. O delineamento utilizado foi inteiramente casualizado, com três repetições para os solutos compatíveis e quatro para as demais variáveis. Cada repetição foi representada por uma muda. Os dados foram submetidos à análise da variância (ANOVA) e as médias comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade, utilizando o software SISVAR 5.6. Os dados de TCA em altura da planta e teor de prolina livre foram previamente transformados em \sqrt{x} e $\log(x)$, respectivamente.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As análises permitiram avaliar a relação entre o crescimento e o ajustamento osmótico como estratégia fisiológica de plantas de faveleira submetidas à restrição hídrica. A partir do 30º dia de suspensão de rega as variáveis de crescimento, altura e diâmetro do coleto apresentaram decréscimo em relação ao controle. Já a emissão de folhas diminuiu logo após os primeiros 15 dias sem rega, demonstrando ser a variável mais sensível aos efeitos do déficit hídrico (Tabela 1).

Tabela 1. Médias quinzenais de altura da planta, diâmetro do coleto e número de folhas emitidas em plantas de *Cnidoscolus quercifolius* Pohl submetidas a dois regimes hídricos (controle e suspensão de rega)

Dias após o início dos tratamentos	Altura da planta (cm)		Diâmetro do coleto (mm)		Número de folhas emitidas	
	Controle	Suspensão de rega	Controle	Suspensão de rega	Controle	Suspensão de rega
0	21,00 a	21,38 a	5,08 a	5,65 a	1,0 a	1,0 a
15	26,94 a	22,66 a	6,41 a	6,12 a	3,0 a	1,8 b
30	33,06 a	23,58 b	7,54 a	6,18 b	6,5 a	2,4 b
45	41,12 a	23,62 b	8,89 a	6,25 b	9,9 a	2,5 b
*60	45,38 a	23,69 b	9,78 a	6,42 b	12,8 a	2,9 b
75	51,81 a	27,25 b	10,56 a	6,91 b	16,8 a	5,4 b
90	61,81 a	36,88 b	11,89 a	7,87 b	21,0 a	9,2 b
105	74,56 a	49,75 b	13,55 a	9,41 b	25,0 a	13,1 b

Médias seguidas pelas mesmas letras, nas linhas de uma mesma variável, não diferem significativamente pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

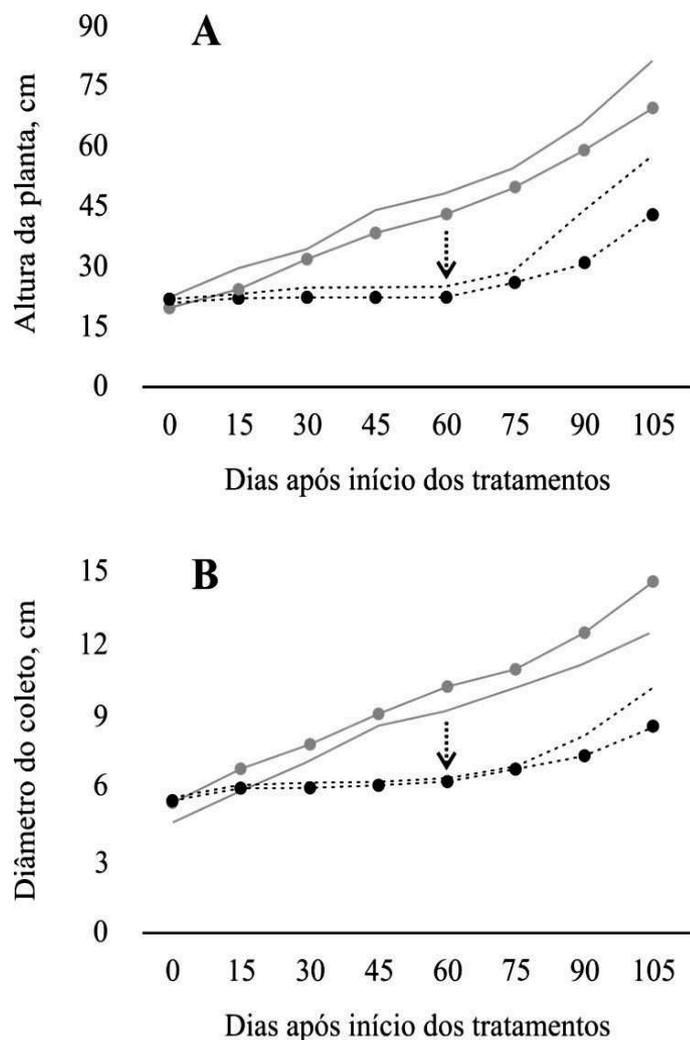
*Reposição da rega nas plantas do tratamento suspensão de rega.

A emissão de folhas também destacou-se na fase de recuperação das plantas do tratamento SR apresentando aumento da ordem de 46 % já nos primeiros 15 dias após o retorno da rega (dos 60 aos 75 dias), enquanto que a altura e o diâmetro aumentaram cerca de 13 e 9 %, respectivamente. Quarenta e cinco dias após a reposição de rega (105º dia após o início dos tratamentos), observou-se um incremento médio de 52,4 % em altura e 31,8 % em diâmetro do coleto. A emissão de folhas, entretanto, foi 78 % maior aos 105 dias em relação ao período sem rega confirmando ser a variável que melhor evidencia a estratégia de recuperação das plantas ao tratamento aplicado (Tabela 1).

A rápida emissão de folhas na recuperação da seca é evidenciada como uma característica de tolerância em faveleira. Ao avaliar a sobrevivência da espécie em períodos secos na Caatinga, Medeiros (2013) observou rápida recuperação da emissão de folhas na faveleira após exposição a períodos de seca acompanhados de chuvas em baixos índices pluviométricos (< 200 mm) por curto período (menos de 60 dias). Na ocasião, o autor indicou a espécie como resistente as intempéries do semiárido. Aloufa e Moura (2016) também relataram que uma das características de tolerância à seca em faveleira é o início da emissão de novas folhas logo nos primeiros dias após a ocorrência das chuvas enfatizando o envolvimento da emissão de folhas na recuperação da espécie após exposição à seca.

O crescimento em plantas é diretamente afetado pelo acúmulo de biomassa. Como a folha representa o principal sítio da fotossíntese, o acréscimo na emissão de folhas resulta no aumento da fotossíntese e por consequência no acúmulo de biomassa, influenciando negativamente o crescimento das plantas (SIMOVA-STOILOVA; VASSILEVA; FELLER, 2016). No presente experimento, a rápida recuperação da emissão de folhas na fase de retorno da rega no tratamento SR, é apontada como estratégia utilizada pela faveleira para influenciar positivamente a retomada do crescimento nesta fase.

Os perfis de crescimento das plantas com e sem tricomas são apresentados em gráficos na Figura 1, e permitiram perceber comportamentos ascendentes (perfis não horizontais) para altura da planta, diâmetro do coleto e emissão de folhas no tratamento controle e uma fase estacionária (perfis horizontais) nas plantas expostas a 60 dias de suspensão de rega. Essas plantas também apresentaram acúmulo de solutos compatíveis e redução no potencial osmótico foliar no último dia da fase de suspensão de rega (60 dias após o início dos tratamentos) (Tabela 3).



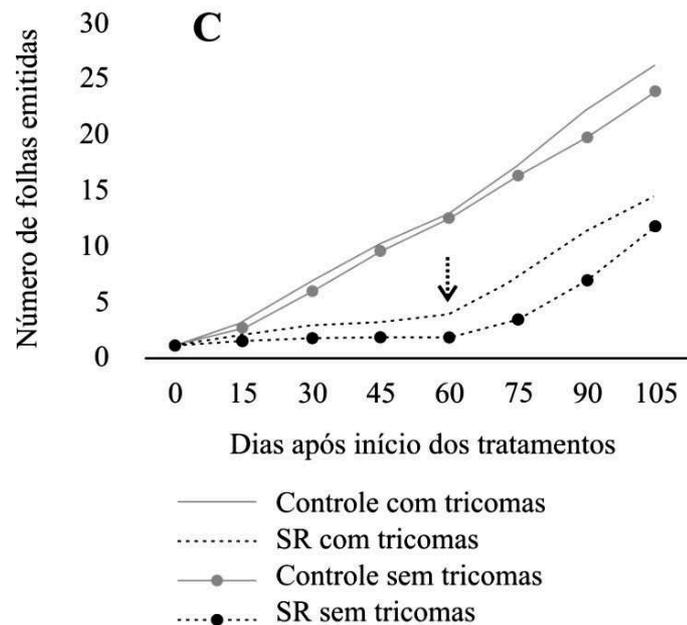


Figura 1. Perfis médios de altura da planta (A), diâmetro do coleto (B) e número de folhas emitidas (C) em função dos tempos de avaliação em plantas de *Cnidoscolus quercifolius* Pohl submetidas a dois regimes hídricos (Controle = rega contínua; SR = suspensão de rega). A seta indica o início do retorno da rega no tratamento SR.

No período de retorno da rega (60 aos 105 dias) a retomada do crescimento e da emissão de folhas das plantas do tratamento SR é percebida pela elevação dos perfis médios (não horizontais) a partir do 75º dia (Figura 1), indicando a recuperação dessas plantas com o retorno da disponibilidade hídrica.

As taxas de crescimento absoluto (TCA) foram calculadas a partir da altura da planta e do diâmetro do coleto, representando, respectivamente, o crescimento primário e secundário das plantas de faveleira. Não houve efeito da interação dos fatores sobre a TCA em altura das plantas, porém a suspensão da rega reduziu a velocidade de crescimento das plantas, de maneira que a TCA das plantas do tratamento SR ($0,63 \text{ cm dia}^{-1}$) foi praticamente a metade daquela exibida pelas plantas do tratamento controle ($1,19 \text{ cm dia}^{-1}$), independente da presença de tricomas. A TCA em diâmetro do coleto também diminuiu com a suspensão de rega e, entre as plantas que passaram pela restrição hídrica, a TCA em diâmetro foi menor naquelas sem tricomas (Tabela 2).

Tabela 2. Médias da taxa de crescimento absoluto (TCA) em diâmetro do coleto de plantas de *Cnidoscolus quercifolius* Pohl (com e sem tricomas) após período de restrição hídrica

TRATAMENTOS	TCA Ø coleto (mm dia ⁻¹)	
	Com tricomas	Sem tricomas
Controle	0,17 bA	0,20 aA
Suspensão da rega	0,10 aB	0,07 bB
CV %	13,8	

Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas nas linhas e maiúsculas nas colunas, não diferem significativamente pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

A capacidade das plantas em recuperar o crescimento e desenvolvimento após exposição a condições estressantes podem ser expressas de diferentes formas entre e dentro de espécies, dependendo do genótipo (MAIA et al., 2013). Nas condições da presente pesquisa, os fenótipos com e sem tricomas apresentaram o mesmo comportamento no padrão de crescimento, uma vez que diferença significativa entre as velocidades do crescimento das plantas com e sem tricomas foi detectada apenas na TCA em diâmetro do coleto (Tabela 2). Isso implica que a capacidade de recuperação da faveleira após exposição ao déficit hídrico não está relacionada com a expressão da característica tricomas, pois, embora, de acordo com Larcher (2006), o crescimento em diâmetro em espécies arbóreas seja considerado de grande importância para o desenvolvimento da planta por apresentar função de sustentação dos ramos e expansão da copa, ele referir-se ao crescimento secundário, o qual se dá de forma muito lenta com relação ao crescimento em altura (crescimento primário), implicando em uma variável pouco sensível.

Com relação ao potencial osmótico (Ψ_s) e ao acúmulo de solutos compatíveis, apenas o fator regime hídrico afetou as respostas das plantas, as quais apresentaram diminuição do Ψ_s acompanhada de acúmulo de solutos compatíveis quando exposta aos 60 dias de suspensão de rega. Aos 105 dias após o início dos tratamentos (45 dias após a retomada da rega) os teores dos solutos compatíveis e o potencial osmótico no tratamento SR igualaram-se aos das plantas do tratamento controle, com exceção do teor de prolina (Tabela 3).

Tabela 3. Médias de potencial osmótico (Ψ_s) e teores de carboidratos solúveis totais (CST), sacarose (SAC), prolina livre (Pro) e glicina betaína (GB) de plantas de *Cnidoscolus quercifolius* Pohl submetidas a dois regimes hídricos após períodos de estresse hídrico e de recuperação

Tratamentos	Ψ_s (MPa)	CST (mg g ⁻¹ MS)	SAC (mg g ⁻¹ MS)	Pro (μ mol g ⁻¹ MF)	GB (μ mol g ⁻¹ MS)
----- 60 dias após o início dos tratamentos -----					
Controle	-2,1 a	75 b	56 b	119 b	16 b
Suspensão de rega	-2,9 b	169 a	89 a	382 a	64 a
CV %	8,3	25,7	17,5	16,9	24,0
----- 105 dias após o início dos tratamentos -----					
Controle	-2,3 a	108 a	66 a	196 b	36 a
Suspensão de rega	-2,5 a	118 a	61 a	289 a	32 a
CV %	9,1	19,0	10,0	25,4	27,7

Médias seguidas da mesma letra não diferem estatisticamente pelo testes de Tukey ($p \leq 0,05$). Dados de Pro transformados por log (x).

Estas respostas demonstram a busca dessas plantas em manter o equilíbrio osmótico com o substrato quando o mesmo apresentava baixa disponibilidade hídrica. A absorção de água pelas plantas ocorre quando o seu potencial hídrico está menor que o do solo. Neste caso, as plantas tendem a acumular solutos compatíveis para manter o equilíbrio osmótico (DAWOOD, 2016). O ajustamento osmótico foi sugerido por Oliveira et al. (2014) como estratégia utilizada pela faveleira para amenizar os efeitos do déficit hídrico quando avaliaram a espécie em períodos de seca na Caatinga. Na ocasião, estes autores não avaliaram o acúmulo de solutos compatíveis, diferente do que ocorreu no presente experimento, onde foi observada a contribuição destes solutos no ajustamento osmótico das plantas expostas ao déficit hídrico (Tabela 1), como observado por Yang et al. (2015) ao avaliar plantas de *Jatropha curcas*, Euphorbiaceae considerada como tolerante à seca, perceberam a contribuição dos açúcares solúveis totais, prolina e glicina betaína no ajuste osmótico nas plantas sujeitas ao déficit hídrico.

A suspensão da rega afetou negativamente o crescimento e a emissão de folhas caracterizando o estresse hídrico nas plantas (Figura 1), ao mesmo tempo provocou redução do Ψ_s , a qual foi induzida pelo o ajustamento osmótico através do acúmulo dos solutos compatíveis (Tabela 3). Posteriormente, com a reposição da rega nestas plantas, a retomada do crescimento e da emissão de folhas ocorreu ao mesmo tempo em que houve elevação do Ψ_s e diminuição dos teores dos solutos compatíveis (Figura 1 e Tabela 3), indicando não haver mais a necessidade de ajustamento osmótico nestas plantas. Esses resultados apontam

para a ação dos solutos compatíveis para amenizar os impactos negativos ocorridos durante o estresse hídrico, e a sua influência na recuperação destas plantas com o retorno da disponibilidade hídrica. Segundo Dawood (2016), além de função osmorreguladora, estes osmólitos podem agir também na proteção de membranas e paredes celulares, assim como na estabilidade de proteínas, o que resulta na manutenção da permeabilidade e da organização celular. Os autores também relatam que estas ações garantem os processos vitais das plantas sob estresse, melhorando a recuperação dessas plantas, mesmo que o crescimento geral seja comprometido.

Após o retorno da rega apenas a prolina não alcançou os valores médios do tratamento controle (Tabela 2), evento que pode estar envolvido com outras funções inerentes ao aminoácido, além da sua função primária como osmoregulação, como estabilidade de estruturas proteicas e sua atuação na eliminação de radicais livres. A prolina está envolvida também numa importante rede nas vias do metabolismo do nitrogênio em associação com o armazenamento de carbono, durante o desenvolvimento de plantas (MAJUMDAR et al., 2016). Neste sentido, o acúmulo de prolina pode trazer benefícios para plantas também após o estresse. No entanto, ainda existem vários questionamentos a respeito das funções da prolina e suas relações com estresses abióticos (KAUR; ASTHIR, 2015).

No presente experimento a faveleira demonstrou ser uma espécie acumuladora de glicina betaína uma vez que apresentou aumento no teor do composto nas plantas expostas ao tratamento suspensão de rega aos 60 dias (Tabela 3). As plantas superiores podem ser classificadas de acordo com o acúmulo de glicina betaína. Wani et al. (2013) mencionam que plantas conhecidas como acumuladoras naturais, contêm baixos níveis do composto em condições normais e maiores em condições estressantes e que em algumas espécies a glicina betaína não é detectável em condições normais nem estressantes. Embora Blunden et al. (2003) tenham apontado a família Euphorbiaceae como não-acumuladora de betaína, os autores observaram maior rendimento de glicina betaína em duas espécies de *Jatropha*, gênero que, assim como o da faveleira (*Cnidoscolus*), pertence à subfamília *Crotonoideae*. No presente experimento, a faveleira comportou-se como espécie acumuladora do composto (Tabela 3), resultado que corrobora com os observados por Yang et al. (2015), quando detectou acúmulo de glicina betaína em *Jatropha curcas*, espécie que assim como a faveleira, pertence à subfamília *Crotonoideae* e família Euphorbiaceae. Assim como na presente pesquisa, estes autores também inferiram a efetividade do composto no ajuste osmótico das plantas submetidas ao estresse hídrico.

Algumas espécies consideradas não acumuladoras de glicina betaína, passaram a acumular após aplicação exógena do composto. Genes que catalisam as vias biossintéticas de

BARBOSA, M.R. Estratégias fisiológicas à restrição hídrica de *Cnidoscolus quercifolius*... 54 glicina betaína e prolina têm amenizado também as tensões provocadas por estresses abióticos como seca em plantas transgênicas. Em arábida, algodão e batata a introgressão de genes envolvidos na síntese de glicina betaína melhorou a tolerância ao déficit hídrico. Em plantas transgênicas de tabaco, o acúmulo de prolina também foi estimulado (KHAN; AHMAD; KHAN, 2015; WANI et al., 2013).

Os resultados obtidos na presente pesquisa demonstraram que a faveleira adotou como estratégia de tolerância o ajustamento osmótico através do acúmulo dos solutos compatíveis glicina betaína, prolina, carboidratos solúveis e sacarose, para amenizar os efeitos nocivos causados pelo déficit hídrico, bem como a rápida emissão de novas folhas para impulsionar a recuperação do crescimento após exposição ao estresse. Através destes resultados foi possível observar também que os fenótipos com e sem tricomas não responderam de forma diferente as condições de déficit hídrico impostas nesta pesquisa, com relação às variáveis estudadas.

CONCLUSÕES

O ajustamento osmótico através do acúmulo dos solutos compatíveis glicina betaína, prolina, carboidratos solúveis e sacarose e o fato da espécie demonstrar ser acumuladora de glicina betaína representam características utilizadas pela faveleira como estratégia de tolerância ao estresse hídrico. Essas respostas, assim como a rápida emissão de novas folhas com o retorno da disponibilidade hídrica após exposição ao estresse, demonstram influenciar na capacidade de recuperação da espécie ao estresse hídrico.

A semelhança nas respostas dos fenótipos com e sem tricomas da faveleira, representam uma vantagem, uma vez que a utilização do fenótipo sem tricomas pode ser utilizado para a melhor exploração dos potenciais da espécie. Estas informações também podem ser utilizadas em planejamentos de programas de melhoramento que visem aumentar a frequência de indivíduos com a característica sem tricomas. No entanto, maiores explicações acerca de outras características devem ser consideradas.

REFERÊNCIAS

ALOUFA, M. A. I.; MEDEIROS, J. A. Valorização e preservação da faveleira (*C. quercifolius*) para o desenvolvimento sustentável do semiárido brasileiro. **Revista OKARA: Geografia em debate**, João Pessoa, v.10, n. 3, p. 453-476, 2016.

- BARBOSA, M.R. Estratégias fisiológicas à restrição hídrica de *Cnidoscolus quercifolius*... 55
- BABITA, M. et al. Osmotic adjustment, drought tolerance and yield in castor (*Ricinus communis* L.) hybrids. **Environmental and Experimental Botany**, Amsterdam, v. 69, p. 243-249, 2010.
- BATES, L.; WALDREN, R. P.; TEARE, I. D. Rapid determination of free proline for water-stress studies. **Plant and Soil**, Amsterdam, v. 39, p. 205-207, 1973.
- BENINCASA, M. M. P. **Análise de crescimento de plantas: noções básicas**. Jaboticabal: FUNEP, 2003. 41p.
- BLUNDEN, G. et al. Betaine distribution in the Euphorbiaceae. **Umm Al-Qura Journal for Science, Medicine, and Engineering**, Meca, v. 15, n. 1, p. 37-42, 2003.
- CANDEIA, B. L. et al. Production of thornless *Cnidoscolus phyllacanthus* progenies from open pollinated native trees. **Pesquisa Florestal Brasileira**, Colombo, v. 30, n. 62, p. 147-152, 2010.
- COSTA, A. S. et al. Respostas fisiológicas e bioquímicas de plantas de aroeira (*Myracrodruon urundeuva* Allemão) ao déficit hídrico e posterior recuperação. **Irriga, Botucatu**, v. 20, n. 4, p. 705-717, 2015.
- CREPALDI, C. G. et al. Richness and ethnobotany of the family Euphorbiaceae in a tropical semiarid landscape of Northeastern Brazil. **South African Journal of Botany**, Pietermaritzburgo, v. 102, p. 157–165, 2016.
- DAWOOD, M. G. Influence of osmoregulators on plant tolerance to water stress. **Scientia Agriculturae**, Okara, v. 13, n. 1, p. 42-58, 2016.
- FERRAZ, J. S. F. et al. Usos de especies leñosas de la Caatinga del municipio de Floresta en Pernambuco, Brasil: conocimiento de los indios de la aldea *Travessão do Ouro*. **Bosque**, Valdivia, v. 33, n. 2, p. 183-190, 2012.
- FRANCISCO, P. R. M. Os limites do semiárido brasileiro. In: PEREIRA, F. C.; SANTANA, M.; PEREIRA, D. D.; LIMA, A. V. O.; VERAS, R. P (Org.). **Manejo de plantas xerófilas do semiárido**. Campina Grande: EDUFCEG, 2013. p. 163-181.

GRIEVE, C. M.; GRATTAN, S. R. Rapid assay for determination of water soluble quaternary ammonium compounds. **Plant and Soil**, v. 70, p. 303-307, 1983.

KAUR, G.; ASTHIR, B. Proline: a key player in plant abiotic stress tolerance. **Biologia Plantarum**, Praga, v. 59, n. 4, p. 609-619, 2015.

KHAN, M. S.; AHMAD, D.; KHAN, M. A. Utilization of genes encoding osmoprotectants in transgenic plants for enhanced abiotic stress tolerance. **Electronic Journal of Biotechnology**, Valparaíso, v. 18, p. 257-266, 2015.

LARCHER, W. **Ecofisiologia vegetal**. Tradução: Prado, C. H. B. A. São Carlos: Ed. Rima, 2006. 531p.

MAIA, A. J. et al. Efeito do estresse hídrico no crescimento de plantas de feijão de corda. **Enciclopédia biosfera**, Goiânia, v. 9, n. 17, p. 876-886, 2013.

MAJUMDAR, R. et al. Glutamate, ornithine, arginine, proline, and polyamine metabolic interactions: the pathway is regulated at the post-transcriptional level. **Frontiers in Plant Science**, Lausana, v. 7, art.78, p. 1-17, 2016.

MEDEIROS, J. A. Introdução da favela (*Cnidoscolus phyllacanthus*) em meio à caatinga no núcleo de desertificação Seridó, na seca de 2012. **Revista OKARA: Geografia em debate**, João Pessoa, v. 7, n. 2, p. 241-254, 2013.

MOURA, A. R. et al. Relações hídricas e solutos orgânicos em plantas jovens de *Jatropha curcas* L. sob diferentes regimes hídricos. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 26, n. 2, p. 345-354, 2016.

OLIVEIRA, E. C. S. et al. Photochemical efficiency of photosystem II (PSII) and water potential of *Cnidoscolus quercifolius* Pohl in areas of caatinga paraibana. **Iheringia, Série Botânica**, Porto Alegre, v. 69, n. 2, p. 479-487, 2014.

SAMI, F. et al. Role of sugars under abiotic stress. **Plant Physiology and Biochemistry**, Paris, v. 109, p. 54-61, 2016.

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

SIMOVA-STOILOVA, L.; VASSILEVA, V. ; FELLER, U. Selection and breeding of suitable crop genotypes for drought and heat periods in a changing climate: which morphological and physiological properties should be considered? **Agriculture**, Basileia, v. 6, n. 26, p. 1-19, 2016.

SONI, P. et al. Classification of plant responses to drought stress. **Research in Environment and Life Sciences**, Lucknow, v. 7, n. 2, p. 69-80, 2014.

VAN HANDEL, E. Direct microdetermination of sucrose. **Analytical Biochemistry**, New York, v. 22, p. 280-283, 1968.

WANI, S. H. et al. Compatible solute engineering in plants for abiotic stress tolerance - role of glycine betaine. **Current Genomics**, Paris, v. 14, p. 157-165, 2013.

YANG, S.L. et al. Osmoregulation as a key factor in drought hardening-induced drought tolerance in *Jatropha curcas*. **Biologia Plantarum**, Praga, v. 59, n. 3, p. 529-536, 2015.

YEMM, E. W.; WILLIS, A. J. The estimation of carbohydrates in plants by anthrone. **Biochemical Journal**, Londres, v. 57, p. 508-514, 1954.

CAPÍTULO III

RESPOSTAS ANTIOXIDATIVAS EM FAVELEIRA COM E SEM TRICOMAS SOB DÉFICIT HÍDRICO

Respostas antioxidativas em faveleira com e sem tricomas sob déficit hídrico

Marta Ribeiro Barbosa², Lindomar Maria de Souza⁴, Cláudia Ulisses⁴, Terezinha Rangel Camara^{3*}

*Autor para correspondência

1. Recebido em xxxxx

Artigo extraído do trabalho de conclusão de curso do primeiro autor.

2. Departamento de Agronomia - Melhoramento Genético de Plantas - Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE). Rua Dom Manoel de Medeiros S/N, CEP: 52171-900 - Dois Irmãos, Recife, Pernambuco – Brasil.

3. Departamento de Química da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE).

4. Departamento de Biologia da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE).

RESPOSTAS ANTIOXIDATIVAS EM FAVELEIRA COM E SEM TRICOMAS SOB DÉFICIT HÍDRICO

RESUMO – A faveleira é conhecida por sua tolerância à seca e pelos seus diversos usos pelas comunidades do semiárido brasileiro. O entendimento das respostas de tolerância da faveleira pode auxiliar programas de melhoramento da espécie. O objetivo desta pesquisa foi avaliar as respostas antioxidativas de plantas de faveleira com e sem tricomas submetidas ao estresse hídrico, bem como a recuperação do estresse nessas plantas. Mudanças de faveleira com e sem tricomas foram submetidas a dois regimes hídricos: 105 dias de irrigação (controle = C) e 60 dias sem irrigação, seguidos por 45 dias de retorno da irrigação (suspensão de rega = SR). Avaliou-se biomassa seca das partes aérea e raízes, teor relativo de água (TRA), extravasamento de eletrólitos (EE), percentual de integridade absoluta de membrana (PIA), clorofilas “a” e “b”, e carotenoides, malondialdeído, peróxido de hidrogênio e atividades de enzimas do sistema antioxidante. O déficit hídrico diminuiu a biomassa seca da parte aérea e da raiz, alocação de biomassa da raiz, TRA, PIA, teor de Cloa e a Cloa/b, ao mesmo tempo que elevou o EE, o MDA, o teor de carotenoides e as atividades das enzimas SOD, APX e CAT. Com o retorno da disponibilidade hídrica a recuperação do estresse oxidativo nas plantas foi indicada pelo aumento no PIA e redução no EE e no MDA. As respostas antioxidativas na faveleira independem do caráter tricomas. A faveleira foi capaz de acionar os sistemas antioxidantes enzimático e não enzimático em combate ao estresse oxidativo como resposta de tolerância ao estresse hídrico.

Palavras-chave: *Cnidoscolus quercifolius*. Enzimas antioxidantes. Integridade de membrana.

**ANTIOXIDANT RESPONSE IN FAVELE WITH AND WITHOUT TRICOMAS
UNDER WATER DEFICIT**

ABSTRACT – The faveleira is known for its telerância to the drought and for its diverse uses by the communities of the Brazilian semiarid. The understanding of the tolerance responses of the faveleira can support breeding programs of the species. The objective of this research was to evaluate the antioxidative respnoss of faveleira plants with and without trichomes submitted to water stress, as well as the stress recovery in these plants. Faveleira seedlings with and without trichomes were submitted to two water regimes: 105 days of irrigation with 80% of pot capacity (control treatment = C) and 60 days without irrigation followed by 45 days of irrigation return (irrigation suspension treatment) = SR). It was evaluated: dry biomass of shoot and roots, relative water content (TRA), extravasation of electrolytes (EE), percentage of absolute membrane integrity (PIA), chlorophylls "a" and "b", and carotenoids, malondialdehyde, hydrogen peroxide and antioxidant enzyme activity. The water deficit decreased the dry biomass of shoot and root, root biomass allocation, TRA, PIA, Chla content and Chla/b, while increasing EE, MDA, carotenoids content and SOD, APX and CAT enzymes activities. The return of water availability mitigated the oxidative stress in the plants, which was indicated by the increase in the PIA and reduction in the EE and MDA. The antioxidative responses in the faveleira are independent of the trichomes character. The faveleira was able to activate the enzymatic and non-enzymatic antioxidant systems in the defense against oxidative stress as a tolerance response to water stress.

Keywords: *Cnodoscolus quercifolius*. Antioxidant enzymes. Membrane integrity.

INTRODUÇÃO

A seca é um dos principais fatores ambientais que afetam o crescimento e o desenvolvimento das plantas. No semiárido brasileiro, região marcada pela seca, a vegetação apresenta mecanismos de tolerância que garantem sua sobrevivência frente às condições adversas deste ambiente (ALOUFA; MEDEIROS, 2016). Algumas plantas possuem estratégias adaptativas que envolvem mecanismos de tolerância interligados que ocasionam mudanças morfológicas, fisiológicas, bioquímicas e moleculares e permitem o enfrentamento ao estresse hídrico (SALEHI-LISAR; BAKHSHAYESHAN-AGDAM, 2016). Alguns mecanismos envolvem a manutenção da absorção e utilização da energia luminosa pelos pigmentos fotossintetizantes (clorofilas e carotenoides), assim como a defesa do aparato fotossintético pelos carotenoides contra a formação de espécies reativas de oxigênio (ROS) (KLUGE; TEZOTTO-ULIANA; DA SILVA, 2015; SOFO et al., 2015).

ROS são moléculas reativas de oxigênio geradas normalmente pelo metabolismo celular. O excesso de ROS como peróxido de hidrogênio (H_2O_2), o radical superóxido ($O_2^{\cdot-}$), radical hidroxila (OH^{\cdot}) e o oxigênio singleto (1O_2) em plantas sob condições de estresse leva ao estresse oxidativo, evento caracterizado por danos em moléculas e estruturas celulares como proteínas, ácidos nucleicos e membranas. Para evitar ou combater esse estresse, as plantas podem ativar enzimas do sistema antioxidante como superóxido dismutase (SOD), ascorbato peroxidase (APX) e catalase (CAT), e o balanço das atividades dessas enzimas é crucial para a eliminação de ROS (SIMOVA-STOILOVA; VASSILEVA; FELLER, 2016; SOFO et al., 2015). O (OH^{\cdot}) e o (1O_2), são ROS altamente deletéria e podem provocar peroxidação lipídica, processo no qual ocorre a ruptura de membranas celulares e que tem como subproduto o malondialdeído (MDA), composto considerado marcador do estresse oxidativo (DEMIDCHIK, 2015).

Algumas variáveis, como níveis de pigmentos fotossintetizantes, percentual de integridade absoluta de membrana (PIA), teores de MDA e de H_2O_2 e atividades das enzimas SOD, APX e CAT, têm servido de base para a compreensão das respostas de plantas em condições de estresse, sobretudo do enfrentamento dessas plantas ao estresse oxidativo. Essas variáveis têm sido utilizadas na avaliação da tolerância ao estresse hídrico, tanto de espécies de ocorrência na Caatinga como *Myracrodruon urundeuva* (MARIANO et al., 2009), como em outras espécies da família Euphorbiaceae, tais como *Jatropha curcas* (POMPELLI, et al., 2010; ARCOVERDE et al., 2011; SILVA et al., 2015), *Ricinus communis* (MORAES et al., 2015) entre outras.

A faveleira (*Cnidoscolus quercifolius* Pohl), Euphorbiaceae xerófita arbórea e pioneira, de ocorrência na Caatinga, é conhecida por seus múltiplos usos e resistência à seca e apresenta grande significado socioeconômico para as comunidades do semiárido brasileiro. A presença de tricomas urticantes localizados em quase todas as partes da planta, contudo,

limita a utilização de seus potenciais (ALOUFA; MEDEIROS, 2016). Indivíduos de faveleira sem tricomas são encontrados em baixa frequência em populações nativas e, para a obtenção de sementes melhoradas, é recomendada a ampliação de sua base genética em plantios de polinização aberta (CANDEIA et al., 2010). O entendimento dos mecanismos de tolerância ao estresse hídrico utilizados pela faveleira com e sem tricomas pode auxiliar programas de melhoramento genético voltados para a sua introdução em lavouras xerófilas. Esta pesquisa teve como objetivo, O objetivo desta pesquisa foi avaliar as respostas antioxidativas de plantas de faveleira com e sem tricomas submetidas ao estresse hídrico, bem como a recuperação do estresse nessas plantas.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido em casa de vegetação localizada na UFRPE em Recife (08° 03' 14" S e 34° 52' 52" W) no período de dezembro de 2015 a março de 2016, quando a temperatura média local era de 32 °C e a umidade relativa de 68,9 %. Mudanças de faveleira dos fenótipos com e sem tricomas com quatro meses de idade, foram padronizadas com base na altura média (20,0 cm) e no número médio de folhas (8) e cultivadas em sacos de polietileno com capacidade para 6 L, medindo 40 x 20 cm, contendo uma mistura de areia lavada+substrato comercial Plantimax[®]+solo, na proporção 1:1:1. Durante 15 dias, foram realizadas regas com 80 % da capacidade de pote, a qual foi determinada por método gravimétrico. As regas foram realizadas em dias alternados, sendo uma vez com água e outra com uma solução nutritiva contendo 0,37 g.L⁻¹ de fertilizante solúvel Kristalon[®] (1,5% N; 5,5% P₂O₅; 19% K₂O; 2% MgO; 5,5% S; 0,012% B; 0,002% Mo; 0,005% Cu-EDTA; 0,012% Zn-EDTA; 0,035% Fe-EDTA e 0,02% Mn-EDTA) e 0,42 g.L⁻¹ de Calcinit[®] (7,75% N e 9,5% Ca).

Após 15 dias de cultivo sob as condições descritas anteriormente, foram aplicados dois tratamentos: o controle (C), caracterizado pela manutenção da rega com 80 % da capacidade de pote durante 105 dias; o tratamento de suspensão de rega (SR), definido pela supressão total da rega durante 60 dias seguidos por um período de retomada da rega com 80 % da capacidade de pote, durante 45 dias, perfazendo 105 dias de experimento. Ao final dos períodos de 60 e 105 dias após o início dos tratamentos, foram realizadas avaliações para estudar os efeitos do estresse hídrico e da recuperação ao estresse, respectivamente.

O crescimento das plantas foi avaliado a partir da produção de biomassa seca da parte aérea e das raízes e pela alocação de biomassa seca. A biomassa seca da parte aérea e das raízes foram obtidas por pesagens em balança analítica das biomassas frescas após secagem em estufa de aeração forçada até a obtenção dos pesos constantes. A partir dos valores de

biomassa seca, foram calculadas as alocações de biomassa para a parte aérea (ABPA) e para as raízes (ABR) através das equações: $ABPA = \text{peso da biomassa da parte aérea} / \text{peso da biomassa total} \times 100$ e $ABR = \text{peso da biomassa das raízes} / \text{peso da biomassa total} \times 100$ de acordo com Benincasa (2003).

Para avaliar o status hídrico, determinou-se o teor relativo de água (TRA), o qual foi calculado de acordo com Barrs e Weatherley (1962) a partir da equação $TRA = (MF-MS) / (MT-MS) \times 100$, onde a massa fresca (MF) foi obtida pela pesagem de 10 discos foliares medindo $0,5 \text{ cm}^2$ cada. Em seguida os discos foram mantidos, por 24 horas, em placas de Petri contendo água destilada para posterior pesagem e obtenção da massa túrgida (MT). Esses discos foram submetidos à secagem a $60 \text{ }^\circ\text{C}$ por 72 h e pesados para obtenção da massa seca (MS).

A intensidade de dano à membranas foi avaliada por meio do extravasamento de eletrólitos (EE) e do percentual de integridade absoluta de membrana (PIA). Para a obtenção do EE, 10 discos foliares medindo $0,5 \text{ cm}^2$ foram mantidos em tubos de ensaio contendo 30 mL de água destilada deionizada por 24 horas. Após esse período mensurou-se a condutividade elétrica livre (CEI dS m^{-1}) utilizando condutivímetro de bancada. Após este procedimento, os tubos foram mantidos a $80 \text{ }^\circ\text{C}$ em banho-maria por 1 hora. Após resfriamento até atingir temperatura ambiente ($\pm 25 \text{ }^\circ\text{C}$), foi realizada a leitura da condutividade elétrica total (CEt dS m^{-1}). A partir desses dados o EE foi calculado o através da equação: $EE = (CEI/CEt) \times 100$ e o PIA utilizando a equação: $PIA = 1 - CEI/CEt \times 100$, de acordo com Pimentel et al. (2002).

O teor de MDA foi analisado para avaliar a peroxidação lipídica e junto com o de H_2O_2 serviu como parâmetro para avaliar os níveis de estresse oxidativo. Para a obtenção dos teores de MDA e H_2O_2 , 0,2 g de amostras frescas de lâminas foliares foram macerados em N_2 líquido na presença de ácido tricloroacético (TCA) a 0,1% e 20% de polivinilpirrolidona (PVP). As amostras foram centrifugadas a 10.000 rpm por 15 minutos em centrífuga refrigerada a $4 \text{ }^\circ\text{C}$ e o sobrenadante utilizado como extrato. As leituras foram realizadas utilizando espectrofotômetro UV-vis.

A quantificação do teor de MDA foi baseada na metodologia descrita por Heath e Packer (1968). Utilizaram-se 250 μL do extrato ao qual foi adicionada 1,0 mL de uma mistura de ácido tricloroacético (TCA) a 10% e tiobarbitúrico (TBA) a 0,25%. As amostras foram incubadas em banho-maria a $95 \text{ }^\circ\text{C}$ por 30 minutos e, após resfriamento, foram centrifugadas por 10 minutos a 10.000 g e utilizadas para as leituras das absorbâncias a 560 e 600 nm.

Os teores de H_2O_2 foram quantificados de acordo com Alexieva et al. (2001), método através do qual amostras da mistura contendo 200 μL dos extratos, 200 μL de tampão fosfato de potássio a 0,1 M (pH 7,5) e 800 μL de solução 1,0 M de iodeto de potássio, permaneceram por 1 hora em gelo no escuro. Em seguida as amostras foram retiradas do escuro e mantidas a temperatura ambiente para serem utilizadas nas leituras a 390 nm de absorbância.

Para averiguar os efeitos do estresse no aparato fotossintético foram obtidos os teores dos pigmentos fotossintetizantes clorofila a (Cloa), clorofila b (Clob) e carotenoides (Car), os quais foram determinados por espectrofotometria de acordo com o método de Arnon (1949), homogeneizando 0,1 g de tecido fresco em 80 % (v/v) de solução aquosa de acetona e calculados com base nas equações descritas por Lichtenthaler (1987): clorofila *a* = $12,72 \times A_{663} - 2,59 \times A_{645}$; clorofila *b* = $22,88 \times A_{645} - 4,67 \times A_{663}$ e carotenoides = A partir dos valores dos teores de clorofilas calculou-se a razão entre os teores das clorofilas “a” e “b” (Cloa/b) e o somatório (Cloa+b).

As atividades das enzimas SOD, APX e CAT e o teor de carotenoides foram realizados para averiguar a ativação do sistema antioxidativo. Para as atividades das enzimas do sistema antioxidativo macerou-se 0,2 g de tecido fresco por amostra em nitrogênio (N₂) líquido com a adição de PVP e tampão fosfato de potássio pH 7,5 100 mM contendo ácido etilenodiaminotetracético (EDTA) e ditioneitol (DTT). O homogenizado foi centrifugado a 10.000 rpm por 20 minutos em centrífuga refrigerada a 4 °C. O sobrenadante foi utilizado como extrato enzimático para as análises, as quais foram determinadas por espectrofotometria utilizando espectrofotômetro UV-vis.

A atividade da SOD foi obtida determinando a inibição da redução fotoquímica do nitro blue tetrazolium (NBT) pela enzima, seguindo a metodologia de Giannopolitis e Reis (1977). Amostras contendo 3 mL da mistura reacional composta por 50 µL do extrato enzimático, tampão fosfato de potássio a 85 mM (pH 7,8), NBT a 75 µM, riboflavina a 5 µM, metionina 13 a mM, EDTA 0,1 a mM, foram acondicionadas em tubos de vidro e expostas a luz branca por 5 minutos. Posteriormente, as leituras foram efetuadas a 560 nm de absorbância. Uma unidade de SOD foi definida como a quantidade de enzima que inibiu 50 % da formazana por grama de massa fresca.

A quantificação da atividade da APX foi realizada conforme Nakano e Asada (1981), baseada no consumo do ascorbato, através da medida da variação da absorbância a 290 nm de uma solução reacional contendo 75 µL do extrato enzimático, 1335 µL de tampão fosfato de potássio a 0,05 M (pH 6,0), 75 µL de ácido ascórbico a 0,01 M e 15 µL de H₂O₂ a 0,1 M.

A atividade da CAT foi obtida com base na metodologia descrita por Berris e Sizer (1952), pelo declínio da absorbância do H₂O₂ consumido a 240 nm, de uma solução composta por 25 µL do extrato enzimático, 1390 µL de tampão fosfato de potássio a 0,01 mM (pH 7,0) e 50 µL de H₂O₂ a 0,5 M.

Para as análises estatísticas, adotou-se um esquema fatorial 2 x 2, considerando dois fenótipos (com e sem tricomas) e dois regimes hídricos (controle e suspensão de rega), o que gerou quatro tratamentos para cada período. As unidades experimentais, constituídas por uma planta por vaso, foram dispostas em delineamento inteiramente casualizado com quatro repetições. Os dados foram submetidos à análise da variância (ANOVA), e as médias comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. Coeficientes de correlação

de Pearson (r) foram calculados para as combinações entre todas as variáveis. As análises estatísticas foram realizadas utilizando o software SISVAR 5.6.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O tratamento de suspensão de rega durante 60 dias causou redução na produção de biomassa das plantas submetidas ao estresse. O déficit hídrico não afetou as plantas com e sem tricomas de maneira distinta, pois, diferente comportamento ocorreu apenas no acúmulo de biomassa das plantas mantidas com rega contínua até os 105 dias, quando a faveleira sem tricomas apresentou mais biomassa seca na parte aérea e menos na raiz, em relação à plantas com tricomas (Figura 1).

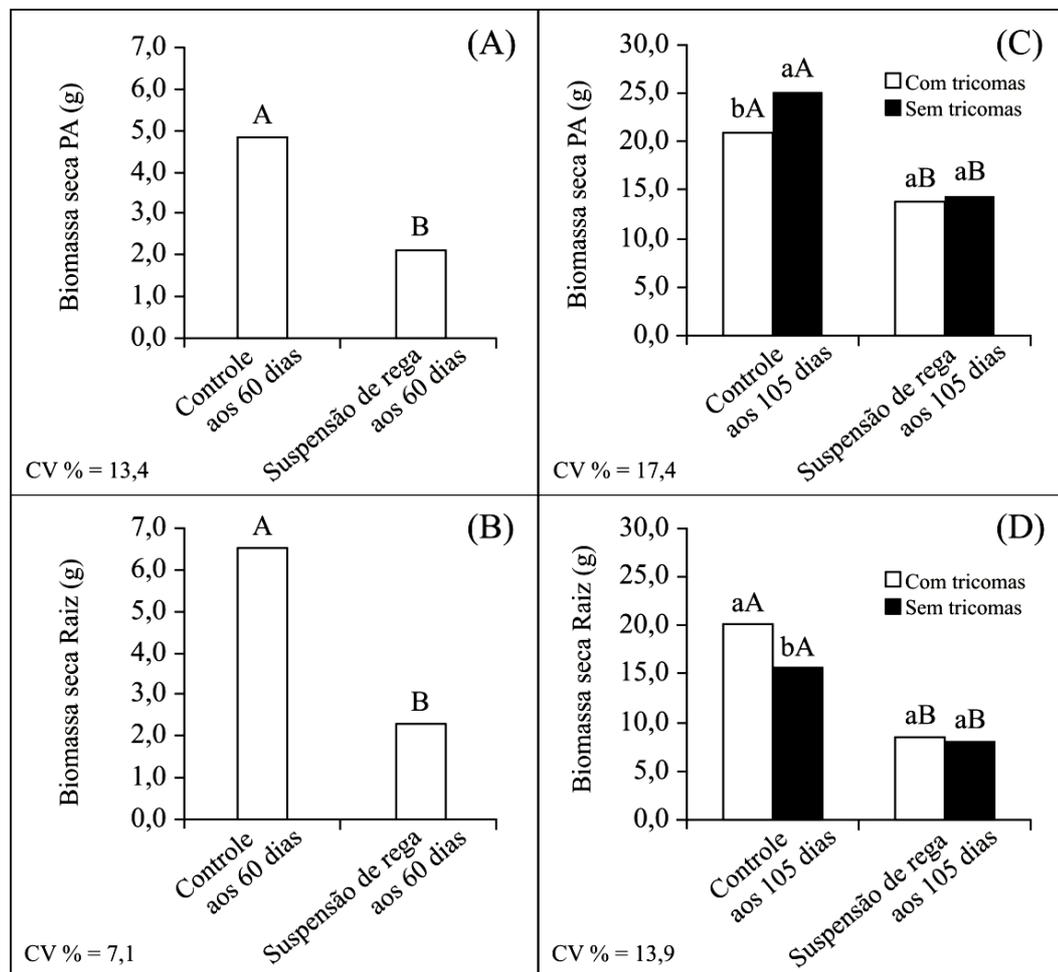


Figura 1. Biomassa seca: parte aérea (A) e raízes (B) aos 60 dias após o início dos tratamentos; parte aérea (C) e raízes (D) aos 105 dias após o início dos tratamentos (45 dias após o retorno da rega) de mudas de *Cnidoscolus quercifolius* Pohl com e sem tricomas submetidas a dois regimes hídricos (controle e suspensão de rega). Letras minúsculas iguais não diferem estatisticamente entre as plantas com e sem tricomas, e as maiúsculas não diferem entre os tratamentos, pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

A redução da biomassa atrelada aos baixos teores de água é um comportamento comum em plantas sob déficit hídrico. Neste caso, para evitar perda de água por transpiração algumas plantas adotam a restrição da abertura estomática o que dificultam a difusão de CO₂ para o interior da folha, o que limita a geração de carboidratos pela fotossíntese, e como consequência, reduz o acúmulo de biomassa (SIMOVA-STOILOVA; VASSILEVA; FELLER, 2016).

Embora o retorno da rega não tenha proporcionado a recuperação completa da biomassa seca das plantas, incrementos de aproximadamente 85 % da biomassa seca da parte aérea e de 72 % da biomassa seca da raiz, em comparação com as plantas sob suspensão de rega, indicam que estas plantas estão em fase de recuperação, após serem expostas ao estresse. Essa recuperação do incremento da biomassa seca nestas plantas, demonstra o retorno das atividades metabólicas envolvidas com o crescimento como indicativo de recuperação do estresse (Figura 1).

A suspensão da rega promoveu menores percentuais de alocação de biomassa para as raízes aos 60 dias em comparação com o tratamento controle. Este resultado foi mantido aos 105 dias após o início dos tratamentos, período que representa 45 dias de retorno da rega nas plantas sujeitas ao déficit hídrico (Figura 2).

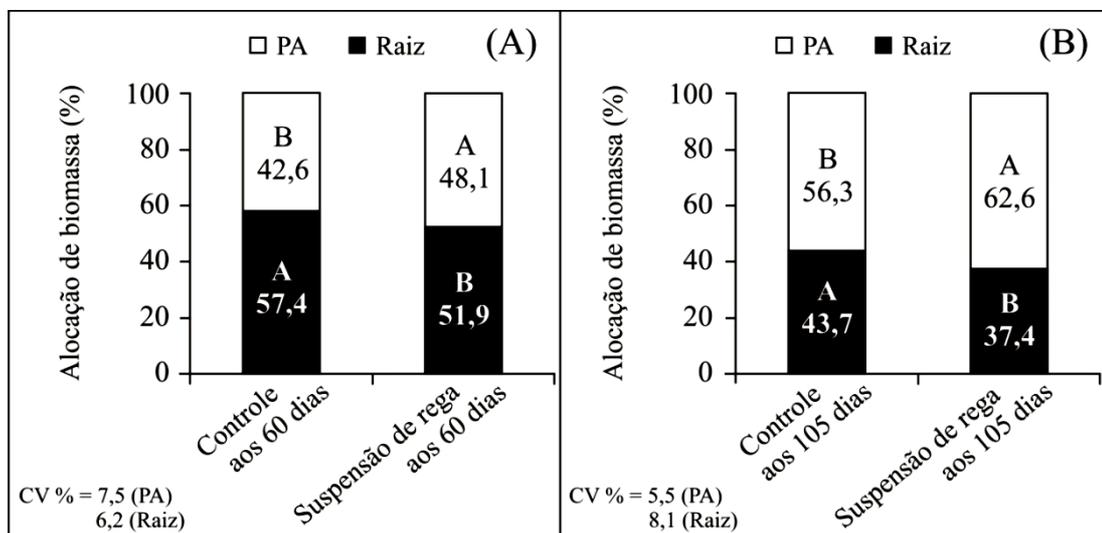


Figura 2. Alocação de biomassa: parte aérea e raiz (A) aos 60 dias após o início dos tratamentos; parte aérea e raiz (B) aos 105 dias após o início dos tratamentos (45 dias após o retorno da rega) de mudas de *Cnidoscopus quercifolius* Pohl submetidas a dois regimes hídricos (controle e suspensão de rega). Letras iguais não diferem estatisticamente entre os tratamentos, pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

No período de retorno da rega (105 dias após o início dos tratamentos) nas plantas do tratamento SR o maior investimento em crescimento foi na parte aérea (62,6 %) e não nas

raízes (37,4 %), em comparação com o período do estresse no qual essas plantas alocaram 48,1 % da biomassa para a parte aérea e 51,9 % para as raízes (Figura 1 C e F). Em plantas tolerantes à seca o crescimento das raízes pode ser direcionado para proporcionar melhor absorção de água nas camadas superficiais do solo (BASU et al., 2016). Segundo Aloufa e Moura (2016) as raízes da faveleira alcançam pouca profundidade como estratégia para favorecer a captação dos pequenos volumes de água superficiais das primeiras chuvas, após períodos de seca na Caatinga. Neste sentido, os autores relatam que este comportamento impulsiona o rápido desenvolvimento de novas folhas na faveleira no início dos períodos chuvosos. Estas observações também sugerem que a maior alocação de biomassa para a parte aérea com o retorno da disponibilidade hídrica nas plantas do presente experimento é reflexo da capacidade de rápida recuperação do estresse hídrico apresentada pela faveleira (Figura 2).

Nas plantas expostas aos 60 dias de suspensão de rega foi evidenciado efeito negativo do déficit hídrico no TRA. Após período de reidratação, esse efeito foi eliminado pelo retorno da disponibilidade hídrica nestas plantas (Tabela 1).

Tabela 1. Médias do teor relativo de água (TRA), taxa de extravasamento de eletrólitos (EE) e percentual de integridade absoluta de membrana (PIA) em plantas de *Cnidoscopus quercifolius* Pohl submetidas a dois regimes hídricos (controle e suspensão da rega) em dois períodos de avaliação (60 e 105 dias)

Tratamentos	TRA (%)	EE (%)	PIA (%)
----- 60 dias após o início dos tratamentos -----			
Controle	82,1 a	18,5 b	81,5 a
Suspensão de rega	71,4 b	23,6 a	76,4 b
CV %	5,5	3,3	0,9
----- 105 dias após o início dos tratamentos -----			
Controle	79,2 a	20,8 a	81,6 a
Suspensão de rega	76,4 a	18,4 b	79,2 b
CV %	3,4	8,5	2,1

Médias seguidas pelas mesmas letras, nas colunas, não diferem significativamente pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

A disponibilidade de água é um dos fatores chave para a manutenção das atividades metabólicas e da turgescência celular, e assim como o CO₂, representa um componente primordial para o crescimento em plantas (BARTLETT; SCOFFONI; SACK, 2012; KLUGE; TEZOTTO-ULIANA; DA SILVA, 2015). Neste caso, os maiores valores de TRA,

acompanhados do incremento na biomassa seca nas plantas irrigadas, no presente estudo, indicam a influência positiva da hidratação na manutenção do crescimento dessas plantas (Tabela 1 e Figura 1). Redução no conteúdo relativo de água foi verificada também em plantas de *Jatropha curcas* expostas ao estresse hídrico (ARCOVERDE et al., 2014; MOURA et al., 2016). Arcoverde et. al., (2014) também verificaram posterior recuperação das plantas de *J. curcas* quando passaram a ser reidratadas, após período de estresse hídrico. Estes autores relataram que houve influência do maior conteúdo relativo de água na manutenção do crescimento das plantas irrigadas.

A integridade das membranas foi afetada negativamente pela suspensão da rega, o que pode ser percebido pelo aumento do EE e redução do PIA (Tabela 1). Neste tratamento, forte correlação positiva entre o PIA e o TRA ($r = 8,0$) foi detectada. Estes resultados indicam que a desidratação nestas plantas foi suficiente para influenciar na ocorrência de danos nas membranas celulares dos tecidos (Tabela 1). Segundo Pimentel et al., (2002), menores percentuais de integridade absoluta de membrana (PIA), indicam maior taxa de liberação de eletrólitos, o que corrobora com os resultados obtidos no presente experimento. Este tipo de resposta é um sinal de ruptura das membranas celulares, o que pode ser promovido por peroxidação lipídica provocada por danos oxidativos em plantas sob estresses abióticos (DEMIDCHIK, 2015). Em plantas de *Myracrodruon urundeuva*, espécie da Caatinga, foi observada redução dos PIA quando as plantas foram submetidas ao déficit hídrico, em comparação com as irrigadas diariamente (MARIANO et al., 2009). Assim como a faveleira, embora a espécie seja tolerante a seca, a integridade das membranas é comprometida, caracterizando os efeitos do estresse hídrico (Tabela 1).

Embora o TRA tenha aumentado com o retorno da rega por 45 dias, a hidratação das plantas até este período não foi suficiente para promover a recuperação completa da integridade das membranas nas plantas sob estresse. Contudo, foi observada uma queda de 6,3 % no PIA nas plantas sujeitas aos 60 dias de suspensão de rega em comparação com as plantas irrigadas durante este período. Durante 45 dias do retorno da rega (aos 105 dias após o início dos tratamentos), essa queda reduziu para menos da metade (2,9 %) (Tabela 1). Estes resultados indicam que as plantas reidratadas se encontravam em fase de recuperação da integridade das membranas.

A suspensão do fornecimento de água não afetou os teores de clorofila b e clorofilas a+b, mas, provocou diminuição nos teores de clorofila “a” e na razão entre as clorofilas “a” e “b” e elevação no teor de carotenoides nas plantas (Tabela 2).

Tabela 2. Médias dos teores de clorofila “a” (Cloa), clorofila “b” (Clob), clorofilas a+b (Cloa+b) e de carotenoides (Car) e relação entre as clorofilas “a” e “b” (Cloa/b) em plantas de *Cnidoscopus quercifolius* Pohl, submetidas a dois regimes hídricos (controle e suspensão da rega) em dois períodos de avaliação (60 e 105 dias)

Tratamentos	Cloa (mg.g ⁻¹ MF)	Clob (mg.g ⁻¹ MF)	Cloa/b	Cloa+b (mg.g ⁻¹ MF)	Car (mg.g ⁻¹ MF)
----- 60 dias após o início dos tratamentos -----					
Controle	22,5 a	10,3 a	2,3 a	32,8 a	0,456 b
Suspensão de rega	18,6 b	12,5 a	1,5 b	31,1 a	0,599 a
CV %	9,0	19,7	26,4	9,1	15,6
----- 105 dias após o início dos tratamentos -----					
Controle	21,7 a	12,7 a	1,9 a	34,6 a	0,455 a
Suspensão de rega	22,0 a	12,2 a	1,9 a	34,3 a	0,454 a
CV %	13,3	25,4	31,2	8,7	10,6

Médias seguidas pelas mesmas letras nas colunas não diferem significativamente pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$)

A clorofila *a* participa de reações fotoquímicas no primeiro estágio do processo fotossintético. Em plantas submetidas ao estresse hídrico a dissipação fotoquímica da energia luminosa é limitada e o acúmulo dessa energia promove a formação de ROS (SOFO et al., 2015). Assim, nas plantas expostas a 60 dias de suspensão de rega, a queda no teor de Cloa pode ter ocorrido para diminuir a captação de energia luminosa direcionada para a fotossíntese, como proteção contra estresse oxidativo (Tabela 2).

A queda no teor de Cloa proporcionou menor relação Cloa/b nas plantas submetidas aos 60 dias de déficit hídrico. Posteriormente, quando estas plantas voltaram a ser irrigadas (aos 105 dias), os valores médios do teor de Cloa e da relação Cloa/b equipararam-se aos do tratamento controle (Tabela 2). O decaimento da relação Cloa/b envolve diferentes processos, os quais podem ser estimulados pelo estresse hídrico, como a degradação das clorofilas (HÖRTENSTEINER; KRÄUTLER, 2011), a síntese da Clob a partir da Cloa, a qual ocorre no ciclo da clorofila na presença de NADPH (TRIPATHY; PATTANAYAK, 2012), o balanço na estequiometria entre o PSI e PSII e o ajustamento do tamanho do complexo de antenas do PSII (ESTEBAN et al., 2015). Avaliando plantas de *J. curcas* expostas à seca, Sapeta et al. (2016) também destacaram a síntese de Clob como principal causa na redução da relação Cloa/b. Estes autores associaram a regulação negativa de uma enzima do ciclo da degradação da clorofila (CAO) com a rápida recuperação do aparato fotossintético depois que as plantas foram reidratadas.

Danos no PSII em populações naturais de faveleira durante período de estiagem na Caatinga foram observados por Oliveira et al. (2014), resultado que foi evidenciado pelos

baixos valores médios da eficiência quântica fotossintética nestas plantas. Na presente pesquisa, a redução da relação $Cloa/b$ sugere a ocorrência da síntese de $Clob$ a partir de $Cloa$ na faveleira, como estratégia de proteção do aparato fotossintético contra estresse oxidativo. No final do período de retomada da rega (105 dias após o início dos tratamentos), foi observada recuperação completa do aparato fotossintético das plantas de faveleira expostas ao déficit hídrico, já que não houve diferença significativa entre os tratamentos com relação aos valores médios de $Cloa$, $Clob$, $Cloa+b$, relação $Cloa/b$ e carotenoides (Tabela 2).

A suspensão da rega provocou aumento no teor de MDA (Tabela 3), no EE, e menor PIA (Tabela 1). Estes resultados evidenciam a ocorrência de peroxidação lipídica, evento caracterizado por danos oxidativos nas membranas celulares o qual pode ser ocasionado pelo oxigênio singleto (1O_2), ROS que reage com seus ácidos graxos das membranas tornando-os reativos e gerando o MDA como subproduto (DEMIDCHIK, 2015). A produção do 1O_2 se dá quando a limitação nas taxas de fixação de carbono causa um desequilíbrio no balanço entre a produção e o consumo de energia (dissipação fotoquímica) em plantas em condições de estresse hídrico, provocando excesso de energia luminosa nos fotossistemas (PS). Esse excesso pode ser dissipado em forma de calor (dissipação não fotoquímica) pelos carotenoides para evitar a formação do 1O_2 (ESTEBAN et al., 2015; TIAN et al., 2016). Este evento foi observado na presente pesquisa com a elevação no teor de carotenoides nas plantas expostas à 60 dias de déficit hídrico, o que demonstrou a ativação do sistema antioxidante não enzimático no combate aos efeitos deletérios do estresse oxidativo. Na ocasião o pigmento demonstrou eficiência na dissipação não fotoquímica do excesso de energia provocado pelo déficit hídrico sob a clorofila *a* (Tabela 2). Em plantas de *J. curcas*, aumento nos teores de carotenoides foi observado apenas quando as plantas foram submetidas a menores períodos de exposição ao estresse hídrico (4 dias) e declínio quando expostas a maiores períodos (8 dias) (POMPELLI et al., 2010).

Nas plantas submetidas aos 60 dias de estresse hídrico, a atividade das enzimas SOD, APX e CAT e o teor de MDA foram elevados, enquanto o teor de H_2O_2 foi diminuído (Tabela 3).

Tabela 3. Médias das atividades enzimáticas da superóxido dismutase (SOD), ascorbato peroxidase (APX) e catalase (CAT) e teores de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e de malondialdeído (MDA) em plantas de *Cnidoscopus quercifolius* Pohl, submetidas a dois regimes hídricos (controle e suspensão da rega) em dois períodos de avaliação (60 e 105 dias)

Tratamentos	SOD (U.g MF ⁻¹)	APX (mmol AsA. min ⁻¹ .g MF ⁻¹)	CAT (μ mol H_2O_2 . min ⁻¹ .g MF ⁻¹)	MDA (nmol.g MF ⁻¹)	H_2O_2 (μ mol.g MF ⁻¹)
----- 60 dias após o início dos tratamentos -----					
Controle	328 b	19 b	302 b	1,9 b	30 a
Suspensão de rega	571 a	51 a	525 a	4,4 a	19 b
CV %	20,2	19,1	30,7	32,1	23,1
----- 105 dias após o início dos tratamentos -----					
Controle	239 b	31 a	289 b	1,2 a	33 a
Suspensão de rega	415 a	22 b	395 a	0,7 b	25 b
CV %	37,1	26,9	27,9	32,1	18,8

Médias seguidas pelas mesmas letras nas colunas não diferem significativamente pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

A SOD é considerada a primeira linha de defesa contra ROS e atua na eliminação do radical superóxido ($O_2^{\bullet-}$), molécula moderadamente reativa, mas, potencialmente perigosa, por participar da formação do radical hidroxila OH^{\bullet} , ROS causadora de efeitos deletérios em proteínas, ácidos nucleicos e membranas celulares (INUPAKUTIKA, et al., 2016). No presente experimento, a elevação na atividade da SOD nas plantas sob estresse ocorreu, provavelmente devido à limitação da captação de CO_2 causada pelo fechamento estomático (Tabela 3). Quando isso ocorre, o NADPH é acumulado durante o ciclo de Calvin e os elétrons que seriam transferidos para o NADP no final da cadeia de transportes de elétrons na fase fotoquímica, passa para o O_2 e forma ($O_2^{\bullet-}$) (BARBOSA et al., 2014).

Na presente pesquisa, observou-se correlação positiva entre SOD e APX ($r = 0,8$) e correlação inversa entre APX e H_2O_2 ($r = -0,7$) nas plantas submetidas à suspensão de rega, o que evidencia a ação da APX no controle no teor de H_2O_2 formado pela dismutação do $O_2^{\bullet-}$ pela ação da SOD para minimizar os efeitos do estresse-melhorar (Tabela 3). Embora o H_2O_2 não seja um radical livre, possui grande potencial para causar danos oxidativos, uma vez que, na presença de íons metálicos como ferro e cobre, participa da formação do OH^{\bullet} , uma das ROS mais reativas e que pode ocasionar peroxidação lipídica (DEMIDCHIK, 2015). Apesar da suspensão total de rega por 60 dias no presente experimento, a faveleira demonstrou ter sentido o estresse de forma moderada. A ação da APX é indicada como sinal de estresse moderado. Este fato pode ser explicado pela maior afinidade da enzima por moléculas de H_2O_2 , já que a mesma é ativada na presença de baixas concentrações da molécula (μ M), enquanto a CAT necessita de maiores concentrações para ser ativada (mM) (BARBOSA, et

BARBOSA, M.R. Estratégias fisiológicas à restrição hídrica de *Cnidoscolus quercifolius*... 73 al., 2014). Silva et al., (2015), avaliando plantas de *J. curcas* submetidas ao déficit hídrico, enfatizaram o eficiente mecanismo da eliminação do H₂O₂ exercido pela APX em defesa do estresse hídrico moderado.

Embora a atividade da CAT tenha elevado nas plantas submetidas à suspensão de rega (Tabela 3), não foi observada correlação entre a atividade da enzima e o teor de H₂O₂ ($r = -0,4$). Esta alta atividade pode estar atrelada a eliminação do H₂O₂ gerado na via fotorrespiratória, uma vez que a enzima é uma das principais eliminadoras do H₂O₂ nesta via, processo que ocorre em plantas expostas ao déficit hídrico, onde a concentração de CO₂ é reduzida ativando a função oxigenase da enzima ribulose-1,5-bifosfato carboxilase/oxigenase (Rubisco) (SOFO et al., 2015; EISENHUT et al., 2017). Neste sentido, Silva et al., (2015) destacaram o importante papel da fotorrespiração na proteção do aparato fotossintético em plantas de *J. curcas* expostas ao déficit hídrico. Pompelli et al. (2010) também associaram a alta atividade da CAT com a fotorrespiração em plantas de *J. curcas* submetidas ao estresse hídrico.

O estresse oxidativo provocado pelo excesso de ROS em plantas expostas a estresses abióticos causa danos celulares que podem ser revertidos ou não, o que depende do grau de tolerância do genótipo ou da espécie (SIMOVA-STOILOVA; VASSILEVA; FELLER, 2016). As plantas de faveleira, com e sem tricomas, demonstraram ser capazes de reverter os sintomas do estresse pela ação das enzimas antioxidantes SOD, APX e CAT, o que foi evidenciado pela diminuição do teor de MDA nas plantas reidratadas, indicando o declínio da peroxidação lipídica (Tabela 3). Estes resultados podem ser reforçados pela recuperação da integridade das membranas, evidenciada pelo aumento do PIA nestas plantas (Tabela 1). Pompelli et al., (2010) observaram aumento nas atividades das enzimas SOD, CAT e APX quando plantas de *J. curcas* foram expostas ao estresse hídrico, e posterior declínio das atividades quando reidratadas. O estresse hídrico também provocou elevação no teor de MDA na espécie, e posterior redução no conteúdo da molécula, quando as plantas foram reidratadas (POMPELLI et al., 2010; ARCOVERDE et al., 2011). Estes autores apontaram a ação das enzimas antioxidantes em combate a ROS para evitar a peroxidação lipídica.

O alto conteúdo de água nas células durante o déficit hídrico em plantas tolerantes a seca acarreta na manutenção de suas funções metabólicas. Sapeta et al. (2013), consideraram o intervalo entre 70-80 % de TRA elevado em plantas de *J. curcas*. Os autores apontaram a influência destes valores de TRA na manutenção de altos níveis de hidratação nestas plantas, mesmo quando elas se encontravam sob estresse hídrico. Assim, os valores médios de TRA obtidos pela faveleira exposta ao déficit hídrico nas condições do presente experimento demonstram que o grau de desidratação nestas plantas não foi elevado o suficiente para afetar

a manutenção do seu metabolismo celular, uma vez que as plantas conseguiram ativar os sistemas antioxidantes enzimático e não enzimático em defesa do estresse oxidativo como estratégia de tolerância ao estresse hídrico, o que influenciou positivamente na capacidade da faveleira em recuperar-se após exposição ao estresse.

CONCLUSÕES

A estabilidade nos níveis de H₂O₂ e de MDA pelas alterações nos sistemas de defesa antioxidativo enzimático e não enzimático na faveleira, demonstram a capacidade da espécie em combater o estresse oxidativo provocado por déficit hídrico, como respostas de tolerância à seca, o que contribui para a recuperação do estresse hídrico na espécie. As respostas da faveleira independente da presença do caráter tricomas, representam informações que podem ser consideradas vantajosas para a recomendação da faveleira sem tricomas como lavoura xerófila, visando tanto o melhor aproveitamento da espécie pelas comunidades do semiárido nordestino, bem como importantes para contribuir em planejamentos de programas de melhoramento da espécie.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALEXIEVA, V. et al. The effect of drought and ultraviolet radiation on growth and stress markers in pea and wheat. **Plant, Cell and Environment**, v. 24, p. 1337-344, 2001.

ALOUFA, M. A. I.; MEDEIROS, J. A. Valorização e preservação da faveleira (*C. quercifolius*) para o desenvolvimento sustentável do semiárido brasileiro. **Revista OKARA: Geografia em debate**, João Pessoa, v. 10, n. 3, p. 453-476, 2016.

ARCOVERDE, G.B. et al. Water relations and some aspects of leaf metabolism of *Jatropha curcas* young plants under two water deficit levels and recovery. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, v.23, n.2, p. 123-130, 2011.

ARNON, D.I. Copper enzymes in isolated chloroplasts: polyphenoloxidases in *Beta vulgaris*. **Plant Physiology**, Maryland, v.24, p. 1-15, 1949.

BARBOSA, M.R. Estratégias fisiológicas à restrição hídrica de *Cnidocolus quercifolius*... 75

BARBOSA, M.R. et al. Geração e desintoxicação enzimática de espécies reativas de oxigênio em plantas. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.44, n.3, p.453-460, 2014.

BARRS, H. D.; P. E. WEATHERLEY. A re-examination of the relative turgidity technique for estimating water deficits in leaves. **Australian Journal of Biological Sciences**, Melbourne, v. 15, p. 413-428, 1962.

BARTLETT, M.K.; SCOFFONI, C; SACK, L. The determinants of leaf turgor loss point and prediction of drought tolerance of species and biomes: a global meta-analysis. Los Angeles. **Ecology Letters**, v.15, p.393-405, 2012.

BASU, S. et al. Plant adaptation to drought stress. **Crop, Soil, and Environmental Sciences**, v. 5, p. 1-10, 2016.

BENINCASA, M. M. P. **Análise de crescimento de plantas: noções básicas**. Jaboticabal: FUNEP, 2003. 41p.

BERRS, L.S.J.R; SIZER, I.W. A spectrophotometric method for measuring the breakdown of hydrogen peroxide by catalase. **Journal of Biological Chemistry**, v. 195, n. 1, p. 133-140, 1952.

CANDEIA, et al. Production of thornless *Cnidocolus phyllacanthus* progenies from open pollinated native trees. **Pesquisa Florestal Brasileira**, Colombo. v.30, n.62, p. 147-152, 2010.

DEMIDCHIK, V. Mechanisms of oxidative stress in plants: from classical chemistry to cell biology. **Environmental and Experimental Botany**, v.109, p. 212-228, 2015.

EISENHUT, M. et al. Photorespiration is crucial for dynamic response of photosynthetic metabolism and stomatal movement to altered CO₂ availability. **Molecular Plant**, v. 10, p. 47-61, 2017.

ESTEBAN, R. et al. Internal and external factors affecting photosynthetic pigment composition in plants: a meta-analytical approach. **New Phytologist**, v. 206, p. 268-280, 2015.

GIANNOPOLITIS, C.N.; RIES, S.K. Superoxide Dismutases. I. Occurrence in Higher Plants. **Plant Physiology**, v.59, p. 309-314, 1977.

HEATH, R.L.; PACKER, L. Photoperoxidation in isolated chloroplast. I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v.125. p.189-198, 1968.

HÖRTENSTEINER, S.; KRÄUTLER, B. Chlorophyll breakdown in higher plants. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1807, p. 977-988, 2011.

INUPAKUTIKA, M.A. et al. The evolution of reactive oxygen species metabolism. **Journal of Experimental Botany**, v. 67, n. 21, p. 5933–5943, 2016.

KLUGE, R. A.; TEZOTTO-ULIANA, J. V.; DA SILVA, P. P. M. Aspectos fisiológicos e ambientais da fotossíntese. **Revista Virtual de Química**, v. 7, n. 1, p. 56-73, 2015.

LICHTENTHALER, H. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. **Methods in Enzymology**, v.148, p.350-382, 1987.

MARIANO, K. R. S. et al. Fotossíntese e tolerância protoplasmática foliar em *Myracrodruon urundeuva* Fr. All. **Revista Floresta**, Curitiba, PR, v. 39, n. 4, p. 853-859, 2009.

MORAES, P. F. et al. Expressão gênica diferencial em genótipos de mamona (*Ricinus communis* L.) submetidos a déficit hídrico induzido por PEG. **Bragantia**, Campinas, v.74, n. 1, p.25-32, 2015.

MOURA, A.R. et al. Relações hídricas e solutos orgânicos em plantas jovens de *Jatropha curcas* L. sob diferentes regimes hídricos. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 26, n. 2, p. 345-354, 2016.

NAKANO, Y.; ASADA, K. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. **Plant Cell Physiology**, v. 22, p. 867-880, 1981.

BARBOSA, M.R. Estratégias fisiológicas à restrição hídrica de *Cnidoscolus quercifolius*... 77

OLIVEIRA, E.C.S. et al. Photochemical efficiency of photosystem II (PSII) and Water Potential of *Cnidoscolus quercifolius* Pohl in areas of Caatinga paraibana. **IHERINGIA**, Série Botânica, Porto Alegre, v. 69, n. 2, p. 479-487, 2014.

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

POMPELLI, M.P. et al. Photosynthesis, photoprotection and antioxidant activity of purgingnut under drought deficit and recovery. **Biomass and bioenergy**, Oxford, v. 34, p. 1207-1215, 2010.

SALEHI-LISAR, S. Y.; BAKHSHAYESHAN-AGDAM, H. Drought Stress in Plants: Causes, Consequences, and Tolerance. In.: HOSSAIN, M. A. et al. (Eds.). **Drought Stress Tolerance in Plants: Physiology and Biochemistry**. New York: Springer International Publishing, 2016. v. 1, cap.1, p. 1-16.

SAPETA, H. et al. Drought stress response in *Jatropha curcas*: growth and physiology. **Environmental and Experimental Botany**, v. 85, p. 76-84, 2013.

SAPETA, H. et al. Transcriptomics and physiological analyses reveal co-ordinated alteration of metabolic pathways in *Jatropha curcas* drought tolerance. **Journal of Experimental Botany**, v. 67, n. 3, p. 845-860, 2016.

SILVA, E. N. et al. Photoprotective function of energy dissipation by thermal processes and photorespiratory mechanisms in *Jatropha curcas* plants during different intensities of drought and after recovery. **Environmental and Experimental Botany**, v. 110, p. 36-45, 2015.

SIMOVA-STOILOVA, L.; VASSILEVA, V.; FELLER, U. Selection and breeding of suitable crop genotypes for drought and heat periods in a changing climate: which morphological and physiological properties should be considered? **Agriculture**, Switzerland, v.6, n.26, p.1-19, 2016.

BARBOSA, M.R. Estratégias fisiológicas à restrição hídrica de *Cnidocolus quercifolius*... 78

SOFO, A. et al. A. Ascorbate peroxidase and catalase activities and their genetic regulation in plants subjected to drought and salinity stresses. **International Journal of Molecular Sciences**, Switzerland, v. 16, p. 13561-13578, 2015.

TIAN, L. et al. Zeaxanthin-dependent nonphotochemical quenching does not occur in photosystem I in the higher plant *Arabidopsis thaliana*. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, Early Edition, p.1-5, 2016.

TRIPATHY, B. C.; PATTANAYAK, G. K. Chlorophyll biosynthesis in higher plants. In: **EATON-RYE, J. J.; TRIPATHY, B. C; SHARKEY, T. D.** (eds.). Photosynthesis: plastid biology, energy conversion and carbon assimilation. The Netherlands: **Springer**, 2012. p. 63-94.

SOFO, A. et al. A. Ascorbate peroxidase and catalase activities and their genetic regulation in plants subjected to drought and salinity stresses. **International Journal of Molecular Sciences**, Switzerland, v. 16, p. 13561-13578, 2015.

TIAN, L. et al. Zeaxanthin-dependent nonphotochemical quenching does not occur in photosystem I in the higher plant *Arabidopsis thaliana*. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, Early Edition, p.1-5, 2016.

TRIPATHY, B. C.; PATTANAYAK, G. K. Chlorophyll biosynthesis in higher plants. In: **EATON-RYE, J. J.; TRIPATHY, B. C; SHARKEY, T. D.** (eds.). Photosynthesis: plastid biology, energy conversion and carbon assimilation. The Netherlands: **Springer**, 2012. p. 63-94.

ANEXO

INSTRUÇÕES PARA SUBMISSÃO DOS ARTIGOS



APRESENTAÇÃO E PREPARO DOS MANUSCRITOS

Os artigos submetidos à Revista Caatinga devem ser originais, ainda não relatados ou submetidos à publicação em outro periódico ou veículo de divulgação. **A Revista Caatinga publica ARTIGO, NOTA TÉCNICA E REVISÃO DE LITERATURA.**

FORMAS DE ENVIO

Os artigos são submetidos, apenas eletronicamente, na página da Revista Caatinga. Podem ser ENVIADOS em Português, Inglês ou Espanhol. Porém, após a aprovação do manuscrito pelo Comitê Editorial, o autor será contactado para traduzir o artigo para a língua inglesa. Caso o trabalho seja submetido em inglês, após a aprovação desse pelo comitê editorial, o autor será comunicado para que realize a revisão do idioma inglês. **A publicação será exclusivamente em Inglês.** Fica a critério do autor a escolha da empresa ou pessoa física que irá realizar a tradução do manuscrito. Porém, é **obrigatória** a realização da **REVISÃO do idioma inglês** por umas das empresas indicadas pela Revista Caatinga. Abaixo seguem as indicações:

<http://www.proof-reading-service.com>
<http://www.academic-editing-services.com/>
<http://www.publicase.com.br/formulario.asp>
<http://www.editage.com.br/manuscriptediting/index.html>
<http://www.journalexerts.com>
<http://www.webshop.elsevier.com/languageservices>
<http://wsr-ops.com>
<http://www.journaleditorsusa.com>
<http://www.queensenglishediting.com/>
<http://www.canalpage.com>
<http://www.stta.com.br/servicos.php>
<http://americanmanuscripteditors.com/>

PREPARO DO MANUSCRITO

- **Digitação:** o texto deve ser composto em programa Word (DOC) ou compatível e os gráficos em programas compatíveis com o Windows, como Excel, e formato de imagens: Figuras (GIF) e Fotos (JPEG). Deve ter no máximo 20 páginas, tamanho A4, digitado com espaçamento 1,5, fonte Times New Roman, estilo normal, tamanho 12 e parágrafo recuado por 1 cm. Todas as margens deverão ter 2,5 cm. Páginas e linhas devem ser numeradas; os

números de páginas devem ser colocados na margem inferior, à direita e as linhas numeradas de forma contínua. Se forem necessárias outras orientações, entre em contato com o Comitê Editorial. As Notas Técnicas devem apresentar até 12 páginas, incluindo tabelas e figuras.

- **Tamanho:** o manuscrito não deverá ultrapassar 2,0 MB.
- **Organização:** o artigo científico deverá ser organizado em título, nome do(s) autor(es), resumo, palavras-chave, título em inglês, abstract, keywords, introdução, material e métodos, resultados e discussão, conclusão, agradecimentos (opcional), e referências.

Título: deve ser escrito em maiúsculo, negrito, centralizado na página, no **máximo com 15 palavras**, não deve ter subtítulo e abreviações. O nome científico deve ser indicado no título apenas se a espécie for desconhecida. Os títulos das demais seções da estrutura (resumo, abstract, introdução, material e métodos, resultados e discussão, conclusão, agradecimentos e referências) deverão ser escritos em letra maiúscula, negrito e justificado à esquerda.

Autores(es): nomes completos, sem abreviaturas, em letra maiúscula, um após o outro, separados por vírgula e centralizados. Essas informações deverão constar apenas na versão final do artigo. **Na primeira versão do artigo submetido, os nomes dos autores e a nota de rodapé com os endereços deverão ser omitidos.**

Para a inclusão do(s) nome(s) do(s) autor(es) e do(s) endereço(s) na **versão final do artigo** deve-se, como nota de rodapé na primeira página, indicar, para cada autor, afiliação completa (Unidade/Setor, Instituição, Cidade, Estado, País), endereço completo e e-mail de todos os autores. O autor correspondente deverá ser indicado por um “*”.

No rodapé devem constar informações sobre a natureza do trabalho (se extraído de tese/dissertação) e referências às instituições colaboradoras. Exemplo:

*Autor para correspondência

1Recebido para publicação em xx/xx/xxxx ; aceito em xx/xx/xxxx.

Especificação (natureza) do trabalho (ex.: Pesquisa apoiada pela FAPESP e pelo CNPq; Trabalho de Mestrado,...)

2Unidade/Setor (por extenso), Instituição (por extenso e sem siglas), Cidade, Estado(sigla), País; E-mail (s).

OBS.: Caso dois ou mais autores tenham as mesmas especificações, não precisa repetir as informações, basta acrescentar, apenas, o e-mail ao final.

Só serão aceitos, no máximo, 5(cinco) autores por artigo submetido: ressaltamos que, salvo algumas condições especiais, poderá ser incluído um sexto autor (não mais que isso) mediante apresentação de justificativas. A justificativa deverá ser anexada, no ato da submissão, em “Documentos Suplementares”, para que o Comitê Editorial proceda com a devida análise. Caso isso não ocorra, a submissão de artigo com número superior a 5 (cinco) autores não será aceita.

** Não serão permitidas mudanças nos nomes de autores *a posteriori*.

** Todos os autores deverão, OBRIGATORIAMENTE, cadastrarem-se no sistema.

Resumo e Abstract: no mínimo 100 e no máximo 250 palavras.

Palavras-chave e Keywords: a primeira letra maiúscula. Devem ter, no mínimo, três e, no máximo, cinco palavras, não constantes no Título/Title e separadas por ponto (consultar modelo de artigo).

Obs.: Em se tratando de artigo escrito em idioma estrangeiro (Inglês ou Espanhol), o título, resumo e palavras-chave deverão, também, constar em Português, mas com a sequência alterada, vindo primeiro no idioma estrangeiro.

Introdução: no máximo, 550 palavras, contendo citações atuais que apresentem relação com o assunto abordado na pesquisa.

Conclusão: deve ser em texto corrido, sem tópicos.

Agradecimentos: logo após as conclusões, poderão vir os agradecimentos a pessoas ou instituições, indicando, de forma clara, as razões pelas quais os faz.

- **Tabelas:** sempre **com orientação em “retrato”**. Serão numeradas consecutivamente com algarismos arábicos na parte superior. **Não usar linhas verticais**. As linhas horizontais devem ser usadas para separar o título do cabeçalho e este do conteúdo, além de uma no final da tabela. Cada dado deve ocupar uma célula distinta. Não usar negrito ou letra maiúscula no cabeçalho. Recomenda-se que **as tabelas apresentem 8,2 cm de largura, não ultrapassando 17 cm**.

- **Figuras:** sempre **com orientação em “retrato”**. Gráficos, fotografias ou desenhos levarão a denominação geral de **Figura** sucedida de numeração arábica crescente e legenda na parte inferior. Para a preparação dos gráficos deve-se utilizar “softwares” compatíveis com “Microsoft Windows”. A resolução deve ter qualidade máxima com pelo menos 300 dpi. **As figuras devem apresentar 8,5 cm de largura, não ultrapassando 17 cm**. A fonte empregada deve ser a Times New Roman, corpo 10 e não usar negrito na identificação dos eixos. As linhas dos eixos devem apresentar uma espessura de 1,5 mm de cor preta. A Revista Caatinga reserva-se ao direito de não aceitar tabelas e/ou figuras com **ORIENTAÇÃO** na forma “paisagem” ou que apresentem mais de 17 cm de largura. **Tabelas e Figuras devem ser inseridas logo após a sua primeira citação**.

- **Equações:** devem ser digitadas usando o editor de equações do Word, com a fonte Times New Roman. As equações devem receber uma numeração arábica crescente. As equações devem apresentar o seguinte padrão de tamanho:

Inteiro = 12 pt

Subscrito/sobrescrito = 8 pt

Sub-subscrito/sobrescrito = 5 pt

Símbolo = 18 pt

Subsímbolo = 14 pt

Estas definições são encontradas no editor de equação no Word.

REFERÊNCIAS

Devem ser digitadas em espaço 1,5 cm e separadas entre si pelo mesmo espaço (1,5 cm). Precisam ser apresentadas em ordem alfabética de autores; justificar (Ctrl + J). Este periódico utiliza a **NBR 6023 de agosto/2002 da ABNT. UM PERCENTUAL DE 60% DO TOTAL DAS REFERÊNCIAS DEVERÁ SER ORIUNDO DE PERIÓDICOS CIENTÍFICOS INDEXADOS COM DATA DE PUBLICAÇÃO INFERIOR A 10 ANOS.**

O título do periódico não deve ser abreviado e recomenda-se um total de 20 a 30 referências. **EVITE CITAR RESUMOS E TRABALHOS APRESENTADOS E PUBLICADOS EM CONGRESSOS E SIMILARES.**

Citações de autores no texto: devem ser observadas as normas da ABNT, NBR 10520 de agosto/2002.

Ex: Com 1(um) autor, usar Torres (2008) ou (TORRES, 2008); com 2 (dois) autores, usar Torres e Marcos Filho (2002) ou (TORRES; MARCOS FILHO, 2002); com 3 (três) autores, usar França, Del Grossi e Marques (2009) ou (FRANÇA; DEL GROSSI; MARQUES, 2009); com mais de três, usar Torres et al. (2002) ou (TORRES et al., 2002).

REGRAS DE CITAÇÕES DE AUTORES

**** Até 3 (três) autores**

Mencionam-se todos os nomes, na ordem em que aparecem na publicação, separados por ponto e vírgula.

Ex: TORRES, S. B.; PAIVA, E. P. PEDRO, A. R. Teste de deterioração controlada para avaliação da qualidade fisiológica de sementes de jiló. **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 0, n. 0, p. 00-00, 2010.

**** Acima de 3 (três) autores**

Menciona-se apenas o primeiro nome, acrescentando-se a expressão **et al.** Ex: BAKKE, I. A. et al. Water and sodium chloride effects on *Mimosa tenuiflora*(Willd.) poiret seed germination. **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 19, n. 3, p. 261-267, 2006.

**** Grau de parentesco**

HOLANDA NETO, J. P. **Método de enxertia em cajueiro-anão-precoce sob condições de campo em Mossoró-RN.** 1995. 26 f. Monografia (Graduação em Agronomia) – Escola Superior de Agricultura de Mossoró, Mossoró, 1995.

COSTA SOBRINHO, João da Silva. Cultura do melão. **Cuiabá:** Prefeitura de Cuiabá, 2005.

MODELOS DE REFERÊNCIAS

a) Artigos de Periódicos: Elementos essenciais:

AUTOR. Título do artigo. **Título do periódico**, Local de publicação (cidade), n.º do volume, n.º do fascículo, páginas inicial-final, ano.

Ex: BAKKE, I. A. et al. Water and sodium chloride effects on *Mimosa tenuiflora*(Willd.) poiret seed germination. **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 19, n. 3, p. 261-267, 2006.

b) Livros ou Folhetos, no todo: Devem ser referenciados da seguinte forma: AUTOR. **Título:** subtítulo. Edição. Local (cidade) de publicação: Editora, data. Número de páginas ou volumes.(nome e número da série).

Ex: RESENDE, M. et al. **Pedologia:** base para distinção de ambientes. 2. ed. Viçosa, MG: NEPUT, 1997. 367 p.

OLIVEIRA, A. I.; LEONARDOS, O. H. **Geologia do Brasil.** 3. ed. Mossoró: ESAM, 1978. 813 p. (Coleção mossoroense, 72).

c) Livros ou Folhetos, em parte (Capítulo de Livro):

AUTOR DO CAPÍTULO. Título do capítulo. In: AUTOR DO LIVRO. **Título:** subtítulo do livro. Número de edição. Local de publicação (cidade): Editora, data. Indicação de volume, capítulo ou páginas inicial-final da parte.

Ex: BALMER, E.; PEREIRA, O. A. P. Doenças do milho. In: PATERNIANI, E.; VIEGAS, G. P. (Ed.). **Melhoramento e produção do milho.** Campinas: Fundação Cargill, 1987. v. 2, cap. 14, p. 595-634.

d) Dissertações e Teses: (somente serão permitidas citações recentes, PUBLICADAS NOS ÚLTIMOS TRÊS ANOS QUE ANTECEDEM A REDAÇÃO DO ARTIGO). Referenciam-se da seguinte maneira:

AUTOR. **Título:** subtítulo. Ano de apresentação. Número de folhas ou volumes. Categoria (grau e área de concentração) - Instituição, local.

Ex: OLIVEIRA, F. N. **Avaliação do potencial fisiológico de sementes de girassol (*Helianthus annuus* L.).** 2011. 81 f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia: Área de Concentração em Tecnologia de Sementes) – Universidade Federal Rural do Semi-Árido, Mossoró, 2011.

e) Artigos de Anais ou Resumos: (DEVEM SER EVITADOS)

NOME DO CONGRESSO, n.º., ano, local de realização (cidade). Título... subtítulo. Local de publicação (cidade): Editora, data de publicação. Número de páginas ou volumes.

Ex: BALLONI, A. E.; KAGEYAMA, P. Y.; CORRADINI, I. Efeito do tamanho da semente de *Eucalyptus grandis* sobre o vigor das mudas no viveiro e no campo. In: CONGRESSO FLORESTAL BRASILEIRO, 3., 1978, Manaus. **Anais...** Manaus: UFAM, 1978. p. 41-43.

f) Literatura não publicada, mimeografada, datilografada etc.:

Ex: GURGEL, J. J. S. **Relatório anual de pesca e piscicultura do DNOCS.** Fortaleza: DNOCS, 1989. 27 p. Datilografado.

g) Literatura cuja autoria é uma ou mais pessoas jurídicas:

Ex: ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 6023:** informação e documentação – referências – elaboração. Rio de Janeiro, 2002. 24 p.

h) Literatura sem autoria expressa:

Ex: NOVAS Técnicas – Revestimento de sementes facilita o plantio. **Globo Rural,** São Paulo, v. 9, n. 107, p. 7-9, jun. 1994.

i) Documento cartográfico:

Ex: INSTITUTO GEOGRÁFICO E CARTOGRÁFICO (São Paulo, SP). **Regiões de governo do Estado de São Paulo**. São Paulo, 1994. 1 atlas. Escala 1:2.000.

J) Em meio eletrônico (CD e Internet): Os documentos /informações de **acesso exclusivo por computador** (online) compõem-se dos seguintes elementos essenciais para sua referência:

AUTOR. Denominação ou título e subtítulo (se houver) do serviço ou produto, indicação de responsabilidade, endereço eletrônico entre os sinais <> precedido da expressão – Disponível em: – e a data de acesso precedida da expressão – Acesso em:.

Ex: BRASIL. Ministério da Agricultura e do abastecimento. **SNPC – Lista de Cultivares protegidas**. Disponível em: <<http://agricultura.gov.br/scpn/list/200.htm>>. Acesso em: 08 set. 2008.

GUNCHO, M. R. A educação à distância e a biblioteca universitária. In: SEMINÁRIO DE BIBLIOTECAS UNIVERSITÁRIAS, 10., 1998, Fortaleza. **Anais...** Fortaleza: Tec Treina, 1998. 1 CD-ROM.

UNIDADES E SÍMBOLOS DO SISTEMA INTERNACIONAL ADOTADOS PELA REVISTA CAATINGA

Grandezas básicas	Unidades	Símbolos	Exemplos
Comprimento	metro	m	
Massa quilograma	quilograma	kg	
Tempo	segundo	s	
Corrente elétrica	amper	A	
Temperatura termodinâmica	Kelvin	K	
Quantidade de substância	mol	mol	
Unidades derivadas			
Velocidade	---	$m s^{-1}$	$343 m s^{-1}$
Aceleração	---	$m s^{-2}$	$9,8 m s^{-2}$
Volume	Metro cúbico, litro	M^3, L^*	$1 m^3, 1\ 000 L^*$
Frequência	Hertz	Hz	10 Hz
Massa específica	---	$Kg m^{-3}$	$1.000 kg m^{-3}$
Força	newton	N	15 N
Pressão	pascal	pa	$1,013.10^5 Pa$
Energia	joule	J	4 J

Calor específico	---	$\text{J (kg } ^\circ\text{C)}^{-1}$	$4186 \text{ J (kg } ^\circ\text{C)}^{-1}$
Calor latente	---	J kg^{-1}	$2,26 \cdot 10^6 \text{ J kg}^{-1}$
Carga elétrica	coulomb	C	1 C
Potencial elétrico	volt	V	25 V
Resistência elétrica	ohm	Ω	29Ω
Intensidade de energia	Watts/metros quadrado	W m^{-2}	$1,372 \text{ W m}^{-2}$
Concentração	Mol/metro cúbico	Mol m^{-3}	500 mol m^{-3}
Condutância elétrica	siemens	S	300 S
Condutividade elétrica	desiemens/metr o	dS m^{-1}	5 dS m^{-1}
Temperatura	Grau Celsius	$^\circ\text{C}$	$25 ^\circ\text{C}$
Ângulo	Grau	$^\circ$	30°
Porcentagem	---	%	45%

Números mencionados em sequência devem ser separados por **ponto e vírgula (;)**. Ex: 2,5;
4,8; 5,3