

MARIA FERNANDA DA COSTA OLIVEIRA

**Avaliação da hidratação descontínua em
sementes de *Sarcomphalus joazeiro* Mart.
Hauenschmid (Rhamnaceae) e sua influência
nas respostas de plântulas submetidas ao
déficit hídrico**

Dissertação apresentada ao Instituto
de Pesquisas Ambientais da
Secretaria de Infraestrutura e Meio
Ambiente, como parte dos requisitos
exigidos para a obtenção do título de
MESTRE em BIODIVERSIDADE
VEGETAL E MEIO AMBIENTE,
na área de Concentração de Plantas
Vasculares em Análises Ambientais.

SÃO PAULO, 2022

MARIA FERNANDA DA COSTA OLIVEIRA

**Avaliação da hidratação descontínua em
sementes de *Sarcomphalus joazeiro* Mart.
Hauenschmid (Rhamnaceae) e sua influência
nas respostas de plântulas submetidas ao
déficit hídrico**

Dissertação apresentada ao Instituto
de Pesquisas Ambientais da
Secretaria de Infraestrutura e Meio
Ambiente, como parte dos requisitos
exigidos para a obtenção do título de
MESTRE em BIODIVERSIDADE
VEGETAL E MEIO AMBIENTE,
na área de Concentração de Plantas
Vasculares em Análises Ambientais.

ORIENTADOR: DR EMERSON ALVES DA SILVA

Ficha Catalográfica elaborada pelo NÚCLEO DE BIBLIOTECAS E MAPOTECAS

O48a Oliveira, Maria Fernanda da Costa
 Avaliação da hidratação descontínua em sementes de *Sarcomphalus joazeiro*
 Mart. Hauenschmid (Rhamnaceae) e sua influência nas respostas de plântulas
 submetidas ao déficit hídrico / Maria Fernanda da Costa Oliveira - - São Paulo,
 2022.
 65p. il.

Dissertação (Mestrado) -- Instituto de Pesquisas Ambientais da Secretaria de
Infraestrutura e Meio Ambiente, 2022.

Bibliografia.

1. Caatinga. 2. Troca gasosas. 3. Sementes. I. Título

CDU: 581.526.42

À memória da minha amada vó Ninha,
que foi e sempre será minha maior inspiração.

AGRADECIMENTOS

Ao Programa de Biodiversidade Vegetal e Meio Ambiente do Instituto de Pesquisas Ambientais, e ao apoio financeiro proporcionado pela CNPq através da concessão da bolsa.

Ao meu orientador Dr. Emerson Alves da Silva pelo acolhimento, paciência, pela confiança desde o primeiro momento e por todo conhecimento adquirido através de seus ensinamentos preciosos.

À Dra. Elizamar Ciríaco por toda orientação, apoio, confiança, incentivo e ensinamentos, que desde 2015 me acompanham.

Aos pesquisadores do Instituto de Pesquisas Ambientais pelo acolhimento e toda ajuda, em especial aos que fazem parte do Núcleo de Fisiologia e Bioquímica, Dr. Marco Aurelio Tiné, Dra. Marília Gaspar e Dra. Luce Brandão.

Aos membros da banca de qualificação Dr. Marcos Meiado, Dr. Danilo Centeno e Dra. Catarina Carvalho que contribuíram com sugestões para a melhoria do nosso trabalho.

A Rede de Sementes de Caatinga (UNIVASF, CRAD/MINISTÉRIO DA INTEGRAÇÃO SOCIAL) e ao LAFISE (Laboratório de Fisiologia de Sementes da Universidade Federal de Sergipe) pela doação das sementes utilizadas no presente trabalho.

Ao Dr. Evandro Vieira por todas as contribuições e dicas valiosas para que o trabalho pudesse ser realizado.

Aos funcionários do Núcleo de Fisiologia e Bioquímica por todo apoio, em especial ao técnico Pedro que sempre me auxiliou em momentos de muitas dúvidas.

Aos meus colegas discentes dos demais núcleos, Geane, Regina, Mateus, Victória e Alessandra pelos momentos de companheirismo e energia positiva, a receptividade de vocês foi muito importante.

As minhas amigas e companheiras de estufa e de bancada Ingrid e Ana Karla, sem vocês não teria conseguido, obrigada por todos os momentos de muito aprendizado, trabalho e boas risadas, vocês foram as melhores companheiras que eu poderia ter, gratidão.

Aos meus familiares, em especial a minha mãe, pai, meus irmãos Phelipe, Laís e Karen, muito obrigada pelo apoio de sempre. É por vocês.

Aos meus amigos e amigas por todo o apoio estando longe ou perto, em especial, Victória, Marjorie, Santiago, Lucas, Dayane, Ariel, Sávio, Salatiel, João Paulo, Alice, Joana, Rafael, Geovane e Iracema, seja em Aracaju ou São Paulo, sinto sempre o amor de vocês, obrigada pela torcida.

Ao meu namorado Bruno, por todo carinho e apoio, e pela incrível capacidade de fazer sempre com o que eu me sinta em paz.

É na sobreposição entre o divino, Deus, e a biosfera que finalizo meus agradecimentos. A Ele, por todas as coisas e por ter criado o meu objeto de estudo, A Vida. Por ter me proporcionado discernimento para entender parte dos seus mistérios os quais fazem do universo, tão perfeito e misterioso, complemento da existência de todos os seres.

Gratidão!

RESUMO

A baixa disponibilidade hídrica afeta diretamente o banco de sementes presente na Caatinga e a sua capacidade de germinação. Assim, sendo a água um fator abiótico essencial para o processo de embebição, diversas espécies da Caatinga apresentam nas suas sementes uma estratégia fisiológica reportada na literatura como memória hídrica, utilizada para mitigar os efeitos da irregularidade pluvial existente nesse ambiente. Sendo assim o objetivo do presente trabalho foi avaliar a ocorrência de memória hídrica em sementes de *Sarcomphalus joazeiro* através da análise das alterações bioquímicas em sementes submetidas a ciclos de hidratação e desidratação – HD e à hidratação contínua e sua influência em plantas jovens oriundas dessas sementes submetidas a déficit hídrico, através de análises de parâmetros ecofisiológicos, bioquímicos e anatômicos. As sementes passaram por escarificação química com ácido sulfúrico, durante 120min, e foram submetidas a diferentes ciclos (0, 1, 2 e 3) de hidratação e desidratação – HD, correspondendo a 12 horas de hidratação e 48 horas de secagem, valores determinados através das curvas de hidratação e desidratação, e à hidratação contínua por um período de 183h, foram utilizadas 310 sementes por tratamento, o experimento foi realizado três vezes, sendo assim uma triplicata biológica. Foram realizadas coletas em cada ponto dos ciclos de hidratação e desidratação e ao longo do período de hidratação contínua e em diferentes intervalos de tempo (controle, 13h, 61h, 74h, 122h, 135h e 183h), após o início da hidratação das sementes, totalizando 7 coletas, sendo 30 sementes coletadas em cada uma, posteriormente foram congeladas com nitrogênio líquido e mantidas em ultrafreezer a -80°C para posteriores análises bioquímicas. As demais sementes dos tratamentos de hidratação descontínua e hidratação contínua foram colocadas para germinar, sendo 4 repetições de 25 sementes cada para cada tratamento, totalizando 100 sementes por ciclos de HD e 100 sementes provenientes da hidratação contínua, as plantas oriundas das sementes submetidas a hidratação contínua não apresentaram germinação suficiente para obtenção de plantas para a montagem do experimento, as que foram oriundas de sementes que passaram pelos ciclos de HD foram submetidas a diferentes ciclos de suspensão de rega (Controle- rega diária, E7- a cada 7 dias, E14- a cada 14 dias, E21 a cada 21 dias e RE- plantas que depois de 28 dias de suspensão de rega foram reidratadas). Análises bioquímicas foram realizadas, além de análises dos parâmetros fotossintéticos, status hídrico e anatomia foliar das plantas jovens. Os resultados mostraram que sementes

submetidas a ciclos de HD apresentaram maior germinabilidade, maior índice de velocidade de emergência, menores valores de T_{50} e acumularam maiores teores de prolina. As plantas jovens oriundas de 0, 1 e 2 ciclos de HD apresentaram redução da assimilação líquida de carbono (A) somente quando submetidas a estresse severo após 21 dias de suspensão da rega, as plantas oriundas de sementes que passaram por 3 ciclos de HD não apresentaram redução significativa aos 21 dias de estresse hídrico para esse mesmo parâmetro. As análises anatômicas demonstraram que em condições de seca notou-se que, inicialmente nas plântulas oriundas de sementes que passaram por 0, 1 e 2 ciclos de HD, apresentaram sintomas como perda de turgor nas células epidérmicas da face abaxial e/ou redução na quantidade de grãos de amido dos cloroplastos, após reidratação notou-se que nas plântulas oriundas de sementes que não passaram pelos ciclos de hidratação e desidratação – HD, as células epidérmicas da face abaxial não completaram totalmente o processo de reidratação plena. Os resultados obtidos comprovaram que os ciclos de HD das sementes conferiram uma maior tolerância à seca nas plantas comprovando a existência de memória hídrica nas mesmas.

Palavras-chave: Caatinga, trocas gasosas, potencial hídrico, anatomia foliar, sementes.

ABSTRACT

Low water availability directly affects the seed bank present in the Caatinga and its germination capacity. Thus, as water is an essential abiotic factor for the imbibition process, several Caatinga species present in their seeds a physiological strategy reported in the literature as seed hydration memory, used to mitigate the effects of rainfall irregularity existing in this environment. Thus, the objective of this work was to evaluate the occurrence of water memory in *Sarcomphalus joazeiro* seeds through the analysis of biochemical changes in seeds submitted to cycles of hydration and dehydration - HD and continuous hydration and its influence on young plants from these seeds subjected to water deficit, through analysis of ecophysiological, biochemical and anatomical parameters. The seeds underwent chemical scarification with sulfuric acid, for 120 minutes, and were submitted to different cycles (0, 1, 2 and 3) of hydration and dehydration - HD, corresponding to 12 hours of hydration and 48 hours of drying, values determined through hydration and dehydration curves, and continuous hydration for a period of 183h, 310 seeds were used per treatment, the experiment was carried out three times, thus being a biological triplicate. Samples were taken at each point of the hydration and dehydration cycles and throughout the period of continuous hydration and at different time intervals (control, 13h, 61h, 74h, 122h, 135h and 183h), after the beginning of seed hydration, totaling 7 collections, with 30 seeds collected in each one, subsequently frozen with liquid nitrogen and kept in an ultrafreezer at -80°C for further biochemical analysis. The other seeds from the discontinuous hydration and continuous hydration treatments were placed to germinate, with 4 repetitions of 25 seeds each for each treatment, totaling 100 seeds per HD cycles and 100 seeds from continuous hydration, the plants originating from the seeds subjected to hydration continuous did not show enough germination to obtain plants for the experiment, those that came from seeds that went through the HD cycles were submitted to different water suspension cycles (Control- daily watering, E7- every 7 days, E14 - every 14 days, E21 at 21 days and RE- plants that were rehydrated after 28 days of withholding water). Biochemical analyzes were performed, in addition to analyzes of photosynthetic parameters, water status and leaf anatomy of young plants. The results showed that seeds subjected to HD cycles showed greater germinability, higher emergence speed index, lower T₅₀ values and accumulated higher proline contents. Young plants from 0, 1 and 2 HD cycles showed a reduction in net carbon assimilation

(A) only when subjected to severe stress after 21 days of water suspension, plants from seeds that underwent 3 HD cycles did not show a significant reduction after 21 days of water stress for the same parameter. Anatomical analyzes showed that under drought conditions, it was noted that, initially, seedlings originating from seeds that underwent 0, 1 and 2 cycles of HD, showed symptoms such as loss of turgor in the epidermal cells of the abaxial surface and/or reduction in the amount of starch grains from chloroplasts, after rehydration it was noted that in seedlings originating from seeds that did not go through discontinuous hydration, the epidermal cells of the abaxial face did not completely complete the full rehydration process. The results obtained proved that the HD cycles of the seeds conferred a greater tolerance to drought in the plants, proving the existence of seed hydration memory in them.

Keywords: Caatinga, gas exchange, water potential, leaf anatomy, seeds.

LISTA DE ABREVIATURAS

| | |
|--|-----------------------------|
| <i>A</i> – Assimilação líquida de CO ₂ | PSII– Fotossistema II |
| AST – Açúcares solúveis totais | SP– Parênquima lacunoso |
| AR – Açúcares redutores | TRA – Teor relativo de água |
| ANOVA- Análise de Variância | VB– Feixe vascular |
| <i>Ci</i> - Concentração de carbono intercelular | X- Xilema |
| C– CórTEX | |
| <i>E</i> – Transpiração foliar | |
| Fi – Fibras | |
| F ₀ – Fluorescência inicial | |
| F _m - Fluorescência máxima | |
| F _v – Fluorescência variada | |
| F _v /F _m – Rendimento quântico máximo do fotossistema II | |
| G – Germinabilidade | |
| gs – Condutância estomática | |
| HD – Hidratação e desidratação | |
| HPLC – Cromatografia líquida de alta eficiência | |
| IEM- Índice de estabilidade da membrana | |
| IRGA – Analisador de gás infravermelho | |
| IVE – Índice de velocidade de emergência | |
| M – Mesófilo | |
| PAR – Radiação fotossinteticamente ativa | |
| Ph– Floema | |
| PP– Parênquima paliçádico | |

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1:** Curva de resposta das taxas de assimilação líquida do carbono (A , $\mu\text{mols CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) à densidade do fluxo de fótons fotossintéticamente ativos (DFFFA, $\mu\text{mol fótons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) obtida em plantas jovens de *Sarcomphalus joazeiro* cultivadas sob condições ótimas de disponibilidade hídrica.....22
- Figura 2:** Curva de embebição de sementes de *Sarcomphalus joazeiro* Mart. submetidas a escarificação química.....25
- Figura 3:** Curva de secagem de sementes de *Sarcomphalus joazeiro* Mart. em dessecador com sílica em gel.....26
- Figura 4:** Concentração de prolina livre (mg g^{-1} MS) em sementes de *Sarcomphalus joazeiro* Mart., submetidas a ciclos de hidratação e desidratação (HD) e a embebição constante. Letras iguais, minúsculas entre os tratamentos no mesmo período de avaliação e maiúsculas comparando os tratamentos ao longo das coletas, letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P<0,05$).....28
- Figura 5:** Concentração de açúcares redutores (mg g^{-1} MS) em sementes de *Sarcomphalus joazeiro* Mart., submetidas a ciclos de hidratação e desidratação (HD) e a embebição constante. Letras iguais, minúsculas entre os tratamentos no mesmo período de avaliação e maiúsculas comparando os tratamentos ao longo das coletas, letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P<0,05$).....29
- Figura 6:** Concentração de açúcares solúveis totais (mg g^{-1} MS) em sementes de *Sarcomphalus joazeiro* Mart., submetidas a ciclos de hidratação e desidratação (HD) e a embebição constante. Letras iguais, minúsculas entre os tratamentos no mesmo período de avaliação e maiúsculas comparando os tratamentos ao longo das coletas, letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P<0,05$).....30
- Figura 7:** Concentração de glicose, frutose e sacarose (mg g^{-1} MS) em sementes de *Sarcomphalus joazeiro* Mart., submetidas a hidratação descontínua. Letras maiúsculas entre os períodos de avaliação e letras minúsculas entre os carboidratos analisados em cada coleta. Letras iguais não diferem pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.....31
- Figura 8:** Concentração de sacarose, glicose e frutose (mg g^{-1} MS) em sementes de *Sarcomphalus joazeiro* Mart submetidas a embebição constante durante um período total de 183 horas. Letras maiúsculas entre os períodos de avaliação e letras minúsculas entre

os carboidratos analisados em cada coleta. Letras iguais não diferem pelo teste de Tukey probabilidade.....32

Figura 9: Concentração de açúcares solúveis totais (mg g^{-1} MS) de massa fresca em folhas de *Sarcomphalus joazeiro* Mart., oriundas de sementes submetidas a ciclos de hidratação e desidratação – HD (0C, 1C, 2C e 3C) e submetidas a diferentes tratamentos hídricos (Controle – plantas regadas diariamente, Estresse moderado – plantas regadas entre intervalos de 7 dias e 14dias, Estresse severo – plantas regadas entre intervalos de 21 dias e RE– plantas submetidas a reidratação após 21 dias de suspensão de rega). A – primeira coleta, B– segunda coleta. Letras iguais minúsculas entre ciclos de HD e letras maiúsculas entre tratamentos hídricos, não diferiram entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.....35

Figura 10: Assimilação líquida de CO_2 (a) em plantas de *Sarcomphalus joazeiro* Mart. oriundas de sementes que passaram por ciclos de hidratação e desidratação – HD (0-A, 1-B, 2-C e 3-C ciclos de HD) submetidas a um ciclo de seca (A) através de diferentes tratamentos hídricos (Controle – plantas regadas diariamente, Estresse moderado – plantas regadas entre intervalos de 7 dias e 14dias, Estresse severo – plantas regadas entre intervalos de 21 dias e RE– plantas submetidas a reidratação após 21 dias de suspensão de rega). Letras iguais minúsculas entre ciclos de HD e letras maiúsculas entre tratamentos hídricos, não diferiram entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.....37

Figura 11: Concentração interna de CO_2 (ppm de CO_2) em plantas de *Sarcomphalus joazeiro* Mart. oriundas de sementes que passaram por ciclos de hidratação e desidratação – HD (0-A, 1-B, 2-C e 3-C ciclos de HD) submetidas a um ciclo de seca (A) através de diferentes tratamentos hídricos (Controle – plantas regadas diariamente, Estresse moderado – plantas regadas entre intervalos de 7 dias e 14dias, Estresse severo – plantas regadas entre intervalos de 21 dias e RE– plantas submetidas a reidratação após 21 dias de suspensão de rega). Letras iguais minúsculas entre ciclos de HD e letras maiúsculas entre tratamentos hídricos, não diferiram entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.....38

Figura 12: Condutância estomática (gs , $\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$) em plantas de *Sarcomphalus joazeiro* Mart. oriundas de sementes que passaram por ciclos de hidratação e desidratação – HD (0-A, 1-B, 2-C e 3-C ciclos de HD) submetidas a um ciclo de seca (A) através de diferentes tratamentos hídricos (Controle – plantas regadas diariamente, Estresse moderado – plantas regadas entre intervalos de 7 dias e 14dias, Estresse severo – plantas regadas entre intervalos de 21 dias e RE– plantas submetidas a reidratação após 21 dias de suspensão de rega). Letras iguais minúsculas entre ciclos de HD e letras maiúsculas entre tratamentos hídricos, não diferiram entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.....39

Figura 13: Transpiração foliar (E_{foliar} , $\mu\text{mol H}_2\text{O m}^{-2}\text{s}^{-1}$) em plantas de *Sarcomphalus joazeiro* Mart. oriundas de sementes que passaram por ciclos de hidratação e desidratação

HD (0-A, 1-B, 2-C e 3-C ciclos de HD) submetidas a um ciclo de seca (A) através de diferentes tratamentos hídricos (Controle – plantas regadas diariamente, Estresse moderado – plantas regadas entre intervalos de 7 dias e 14dias, Estresse severo – plantas regadas entre intervalos de 21 dias e RE– plantas submetidas a reidratação após 21 dias de suspensão de rega). Letras iguais minúsculas entre ciclos de HD e letras maiúsculas entre tratamentos hídricos, não diferiram entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.....40

Figura 14: Eficiência intrínseca do uso da água (A/g , $\mu\text{mol mol}^{-1}$), em plantas de *Sarcomphalus joazeiro* Mart. oriundas de sementes que passaram por ciclos de hidratação e desidratação HD (0-A, 1-B, 2-C e 3-C ciclos de HD) submetidas a um ciclo de seca (A) através de diferentes tratamentos hídricos (Controle – plantas regadas diariamente, Estresse moderado – plantas regadas entre intervalos de 7 dias e 14dias, Estresse severo – plantas regadas entre intervalos de 21 dias e RE– plantas submetidas a reidratação após 21 dias de suspensão de rega). Letras iguais minúsculas entre ciclos de HD e letras maiúsculas entre tratamentos hídricos, não diferiram entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.....43

Figura 15: Fluorescência inicial (F_0) em plantas de *Sarcomphalus joazeiro* Mart. oriundas de sementes que passaram por ciclos de hidratação e desidratação HD (0-A, 1-B, 2-C e 3-C ciclos de HD) submetidas a um ciclo de seca (A) através de diferentes tratamentos hídricos (Controle – plantas regadas diariamente, Estresse moderado – plantas regadas entre intervalos de 7 dias e 14dias, Estresse severo – plantas regadas entre intervalos de 21 dias e RE– plantas submetidas a reidratação após 21 dias de suspensão de rega). Letras iguais minúsculas entre ciclos de HD e letras maiúsculas entre tratamentos hídricos, não diferiram entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.....45

Figura 16: Fluorescência máxima (F_m) em plantas de *Sarcomphalus joazeiro* Mart. oriundas de sementes que passaram por ciclos de hidratação e desidratação HD (0-A, 1-B, 2-C e 3-C ciclos de HD) submetidas a um ciclo de seca (A) através de diferentes tratamentos hídricos (Controle – plantas regadas diariamente, Estresse moderado – plantas regadas entre intervalos de 7 dias e 14dias, Estresse severo – plantas regadas entre intervalos de 21 dias e RE– plantas submetidas a reidratação após 21 dias de suspensão de rega). Letras iguais minúsculas entre ciclos de HD e letras maiúsculas entre tratamentos hídricos, não diferiram entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.....46

Figura 17: Eficiência quântica máxima do FSII (F_v/F_m) da clorofila “a” em plantas de *Sarcomphalus joazeiro* Mart. oriundas de sementes que passaram por ciclos de hidratação e desidratação – HD (0-A, 1-B, 2-C e 3-C ciclos de HD) submetidas a um ciclo de seca (A) através de diferentes tratamentos hídricos (Controle – plantas regadas diariamente, Estresse moderado – plantas regadas entre intervalos de 7 dias e 14dias, Estresse severo – plantas regadas entre intervalos de 21 dias e RE– plantas submetidas a reidratação após 21 dias de suspensão de rega). Letras iguais minúsculas entre ciclos de HD e letras

maiúsculas entre tratamentos hídricos, não diferiram entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.....47

Figura 18: Anatomia foliar de *Sarcomphalus joazeiro* Mart. em plântulas oriundas de sementes submetidas a diferentes ciclos de hidratação e desidratação – HD (0, 1, 2 e 3 ciclos) cultivadas sob rega diária (controle). 1 ciclo de HD (A-B, D), 0 ciclo de HD (C), 3 ciclos de HD (E). A. Aspecto geral da nervura central. B. Detalhe da nervura central evidenciando o feixe vascular e células corticais. C e E. Aspectos gerais da região entre nervura central e margem. D. Aspecto geral da margem. (Setas indicam cristais; Pontas de seta indicam grãos de amido em células corticais; quadrado indica células corticais; C, córtex; Es, estômato; Fi, fibras; M, mesofilo; Ph, floema; PP, parênquima paliçádico; SP, parênquima lacunoso; VB, feixe vascular; X, xilema). Barras: A (100 µm); B-E (50 µm).....48

Figura 19: Anatomia foliar de *Sarcomphalus joazeiro* Mart. em plântulas oriundas de sementes submetidas a diferentes ciclos de hidratação e desidratação – HD (0, 1, 2 e 3 ciclos) e submetidas a suspensão hídrica de 21 dias. 2 ciclos HD (A-B, D), 0 ciclo HD (C), 3 ciclos HD (E). A. Aspecto geral da nervura central. B. Detalhe da nervura central evidenciando o feixe vascular; nota-se a coloração mais escura das fibras. C-E. Aspectos gerais da região entre nervura central e margem: em C nota-se perda de turgor nas células epidérmicas da face abaxial; em E nota-se perda de turgor nas células epidérmicas da face abaxial e do mesofilo; em D e E nota-se que as células do mesofilo são espaçadas; nas três imagens é mostrado que o mesofilo apresenta coloração mais clara, indicando diminuição na quantidade de grãos de amido nos cloroplastos. (Setas indicam cristais; Pontas de seta indicam grãos de amido em células corticais; C, córtex; Fi, fibras; M, mesofilo; Ph, floema; PP, parênquima paliçádico; SP, parênquima lacunoso; VB, feixe vascular; X, xilema). Barras: A (100 µm); B-E (50µm).....49

Figura 20. Anatomia foliar de *Sarcomphalus joazeiro* Mart. em plântulas oriundas de sementes submetidas a diferentes ciclos de hidratação e desidratação – HD (0, 1, 2 e 3 ciclos). Tratamentos de reirrigação: ciclo 0 (A, C), ciclo 2 (B), ciclo 1 (D), ciclo 3 (E). A. Aspecto geral da nervura central. B. Detalhe da nervura central. C-E. Aspectos gerais da região entre nervura central e margem mostrando que as células retomam turgidez e que os cloroplastos voltam a apresentar mais grãos de amido; em C nota-se que a perda de turgor ainda pode estar presente nas células epidérmicas da face abaxial. (Setas indicam cristais; Pontas de seta indicam grãos de amido em células corticais; C, córtex; Fi, fibras; M, mesofilo; Ph, floema; PP, parênquima paliçádico; SP, parênquima lacunoso; VB, feixe vascular; X, xilema). Barras: A (100 µm); BE (50 µm)..... 50

LISTA DE TABELAS

| | |
|--|----|
| Tabela 1. Germinabilidade (%), índice de velocidade de emergência (IVE) e número de dias para germinação de 50% das sementes (T_{50}) de <i>Sarcomphalus joazeiro</i> Mart. submetidas a diferentes tratamentos pré germinativos (0, 1, 2 e 3 ciclos de hidratação e desidratação – HD e a embebição constante) | 27 |
| Tabela 2. Teor relativo de água (%) em plantas de <i>Sarcomphalus joazeiro</i> Mart. oriundas de sementes que passaram por ciclos de hidratação e desidratação – HD (0, 1, 2, e 3) submetidas a um ciclo de seca através de diferentes tratamentos hídricos (Controle – plantas regadas diariamente, Estresse moderado – plantas regadas entre intervalos de 7 dias e 14dias, Estresse severo – plantas regadas entre intervalos de 21 dias e RE– plantas submetidas a reidratação após 21 dias de suspensão de rega). Letras iguais minúsculas entre ciclos de HD e letras maiúsculas entre tratamentos hídricos, não diferiram entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade | 33 |
| Tabela 3. Umidade do solo em plantas de <i>Sarcomphalus joazeiro</i> Mart. oriundas de sementes que passaram por ciclos de hidratação e desidratação – HD (0, 1, 2 e 3 ciclos de HD) submetidas a diferentes tratamentos hídricos (Controle – plantas regadas diariamente, Estresse moderado – plantas regadas entre intervalos de 7 dias e 14dias, Estresse severo – plantas regadas entre intervalos de 21 dias e RE– plantas submetidas a reidratação após 21 dias de suspensão de rega). Letras iguais minúsculas entre ciclos de HD e letras maiúsculas entre tratamentos hídricos, não diferiram entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade..... | 39 |
| Tabela 4. Efeitos do estresse hídrico em folhas de <i>Sarcomphalus joazeiro</i> submetidas a diferentes tratamentos hídricos (Controle, seca – 21 dias de suspensão hídrica, e reidratação) oriundas de sementes que passaram por ciclos de hidratação e desidratação (0, 1, 2 e 3), para cada ciclo duas repetições. A intensidade de cada efeito é indicada como ausente (-), moderada (+) ou forte (++) | 47 |
| Tabela 5. Matéria seca da raiz (MSR), matéria seca do caule (MSC), matéria seca da folha (MSF), e matéria seca total (MST) em plantas de <i>Sarcomphalus joazeiro</i> Mart. oriundas de sementes que passaram por ciclos de hidratação e desidratação HD (0-A, 1-B, 2-C e 3-C ciclos de HD) submetidas a um ciclo de seca através de diferentes tratamentos hídricos (Controle – plantas regadas diariamente, Estresse moderado – plantas regadas entre intervalos de 7 dias e 14dias, Estresse severo – plantas regadas entre intervalos de 21 dias e RE– plantas submetidas a reidratação após 21 dias de suspensão de rega). Letras iguais minúsculas entre ciclos de HD e letras maiúsculas entre tratamentos hídricos, não diferiram entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade..... | 50 |

SUMÁRIO

| | |
|--|-----------|
| 1. INTRODUÇÃO..... | 1 |
| 2.OBJETIVO..... | 4 |
| 3. MATERIAIS E MÉTODOS | 5 |
| 3.1 Biomassa seca e teor de umidade | 5 |
| 3.2 Curvas de embebição e desidratação..... | 5 |
| 3.3 Ciclos de hidratação e desidratação– HD | 6 |
| 3.5 Obtenção de extratos | 7 |
| 3.6 Análises Bioquímicas Sementes..... | 7 |
| 3.6.1 Prolina livre | 7 |
| 3.6.2 Açúcares solúveis totais (AST) e Redutores..... | 7 |
| 3.6.3 HPLC – Análise do perfil de carboidratos das sementes..... | 8 |
| 3.6.4 Germinação e obtenção de mudas | 8 |
| 3.6.5 Tratamentos hídricos – Plântulas | 9 |
| 3.6.6 Potencial Hídrico, Umidade do solo e Fotossíntese Líquida..... | 9 |
| 3.6.7 Fluorescência da clorofila “a” | 10 |
| 3.6.8 Teor relativo de água e danos membranares | 11 |
| 3.6.9 Aspectos anatômicos das folhas de <i>S. joazeiro</i> em resposta a diferentes ciclos de disponibilidade hídrica | 11 |
| 3.6.10 Matéria seca | 12 |
| 3.6.11 Análises estatísticas | 12 |
| 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO..... | 13 |
| 4.1 Curva de embebição | 13 |
| 4.2 Parâmetros germinativos | 14 |
| 4.3 Análises Bioquímicas | 15 |
| 4.3.1 Prolina | 15 |
| 4.3.2 Açúcares Redutores..... | 16 |
| 4.3.3 Açúcares Solúveis Totais | 17 |
| 4.3.4 Análise de Carboidratos HPLC | 18 |
| 4.4 Status hídrico | 20 |

| | |
|--|-----------|
| 4.5 Açúcares Solúveis Totais..... | 24 |
| 4.6 Trocas gasosas foliares | 26 |
| 4.7 Anatomia foliar | 34 |
| 5. CONSIDERAÇÕES FINAIS..... | 42 |
| 6. REFERÊNCIAS | 43 |

1. INTRODUÇÃO

A floresta tropical seca brasileira – Caatinga - é caracterizada por um clima semiárido com altas temperaturas e baixo índice pluviométrico, baixa capacidade do solo em armazenar água, o que torna esse ambiente uma região que apresenta múltiplos fatores de estresse abióticos, sendo o déficit hídrico um dos que mais afetam as taxas de sobrevivência dos vegetais encontrados nesse habitat, isto porque a água é um recurso essencial para garantir a vitalidade dos organismos vegetais e a sua baixa disponibilidade afeta diretamente o crescimento e desenvolvimento das plantas (Wilson e Witkowsky 1998, Meiado 2013).

Fases iniciais do desenvolvimento vegetal, que incluem o processo de germinação são sensíveis a baixa disponibilidade hídrica, exigindo das espécies oriundas desse ambiente, estratégias morfológicas, anatômicas e fisiológicas que garantam o seu desenvolvimento mesmo diante dessas condições adversas, desde os processos germinativos até o estabelecimento e desenvolvimento da planta. Mudanças no padrão de desenvolvimento radicular, perda das folhas durante a estação mais seca, diminuição da taxa fotossintética e acúmulo de solutos orgânicos, dentre outras, são respostas encontradas na vegetação da Caatinga para mitigar os efeitos da seca presente nesse ambiente (Medeiros, 2013).

A baixa disponibilidade hídrica afeta diretamente o banco de sementes presente na Caatinga e a sua capacidade de germinação tendo em vista que a água é essencial para o processo de embebição que acontece nas sementes, garantindo que as modificações fisiológicas e bioquímicas que antecedem a germinação ocorram. Em regiões semi-áridas é necessário que as sementes sejam tolerantes a dessecação e consigam se desenvolver mediante a níveis pequenos de umidade. Os períodos irregulares e escassos de chuvas na estação chuvosa e as breves e esporádicas chuvas durante a estação seca, (Sampaio, 1995; Prado, 2003) podem interromper o processo de embebição das sementes, o que impedirá ou retardará o processo de germinação (Lima e Meiado, 2017). O metabolismo inicial das sementes ocorrido durante esse curto período de hidratação é interrompido e o processo de desidratação das sementes se inicia, perdendo água para o solo seco retardando o desenvolvimento do embrião e a protrusão da radícula.

Estudos recentes (Lima, 2018; Santos e Meiado, 2018; Melo 2019) mostraram que diversas espécies da Caatinga apresentam nas suas sementes uma estratégia fisiológica para mitigar os efeitos da irregularidade pluvial existente nesse ambiente, sendo capazes de manter as alterações fisiológicas que ocorrem durante os períodos de hidratação mesmo quando passam por períodos de desidratação, pausando o seu metabolismo, e desta maneira, conseguem aumentar as suas taxas de germinação. Segundo Dubrosky (1996), estudando espécie da família Cactaceae esta estratégia fisiológica é denominada memória de hidratação de sementes.

A avaliação da ocorrência dessa estratégia nas sementes pode ser feita a partir de vários parâmetros como, por exemplo, através da taxa de germinação, índice de velocidade de emergência e do índice de sincronia das sementes germinadas. O conhecimento acerca das substâncias envolvidas na tolerância a dessecação das sementes que passam por ciclos de hidratação e desidratação ainda é limitado, sendo necessários estudos que contribuam para a elucidação dos mecanismos bioquímicos envolvidos nessa resposta fisiológica (Meiado, 2013).

O acúmulo de solutos orgânicos como açúcares solúveis, redutores, e aminoácidos durante estresses abióticos são descritos na literatura como uma importante estratégia bioquímica, visto a função osmorregulador que esses metabolitos possuem em situações de déficit hídrico. Os carboidratos podem contribuir para a estabilização das membranas por promoverem a formação de um estado vítreo em situações de estresse, sendo, portanto, um importante parâmetro de avaliação da tolerância a períodos de seca em vegetais (Medeiros *et al.*, 2018; De Andrade, 2020).

A literatura reporta que a variação nos teores de carboidratos pode ser específica a depender da espécie, algumas sementes por exemplo, podem diminuir a concentração desses açúcares em situações de baixa disponibilidade de água visando maiores taxas de germinação e a utilização desses compostos como reserva energética (Dias *et al.*, 2013).

Desta forma, uma avaliação da dinâmica da composição bioquímica de sementes que passam por hidratação descontínua por ser uma importante ferramenta de análise comparativa para materiais biológicos em condições ótimas de sobrevivência e em condições consideradas estressantes (Willians *et al.*, 2013) análises qualitativas de solutos bioquímicos podem elucidar diversas questões acerca de mecanismos de sobrevivência em situações hídricas desfavoráveis (Xu *et al.*, 2014).

Alguns estudos recentes (Freitas *et al.*, 2021; Santos Junior *et al.*, 2021; Lima e Meiado, 2018) evidenciaram a ocorrência dessa memória em sementes de ambientes

semiáridos e a propagação dessa estratégia fisiológica nas plântulas, proporcionando-as maior tolerância à seca durante seu estágio inicial de crescimento (Rito *et al.*, 2009).

Uma forma simples de avaliar alterações morfológicas no crescimento das plantas é por meio da avaliação de medidas biométricas, por necessitar de poucos recursos. O acúmulo de matéria seca é o mais importante dos fatores fisiológicos nas avaliações do crescimento (Peixoto *et al.*, 1988; Benincasa, 2003).

O decréscimo nos parâmetros fotossintéticos também tem sido utilizado para avaliar plantas expostas ao estresse hídrico, sendo considerado um sintoma próprio dessa condição (Smirnoff, 1995). Quando há um prolongamento do tempo em que a planta está submetida ao déficit hídrico, pode haver inibição da produção de clorofila a e b, dependendo da reação de cada espécie (Chernyad' Ev, 2005). Os carotenóides, pigmentos que possuem funções de absorção de energia da luz, transferem para os centros de reações dos fotossistemas I e II, protegendo-os contra os problemas causados pelo excesso de luz, como a fotooxidação (Chernyad' Ev, 2005; Cseke *et al.*, 2006). Esse processo pode vir a acarretar, em plantas sobre estresse, a diminuição da taxa fotossintética geralmente explicada pelas limitações estomáticas ou não estomáticas (Zlatev; Yordanov, 2004).

Componente da flora da floresta tropical seca brasileira, o Juazeiro (*Sarcomphalus joazeiro* Mart.), conhecido popularmente por uma variedade de nomes (juá-bravo, joazeiro, juá-de-boi), é uma espécie pertencente à classe *Magnoliopsida* (Dicotyledona), à ordem *Rhamnales*, família *Rhamnaceae*, é uma espécie de grande valor econômico e pode ser utilizada na alimentação de animais, isso por ter a peculiaridade de permanecer sempre verde, tornando-se alimento aos rebanhos nas épocas de seca. Além de ser importante produto medicinal na produção de remédios para problemas no estômago, limpeza de dentes e um poderoso clareador facial. Seus frutos (o juá) também são utilizados na alimentação humana, tanto ao natural como em forma de doce (Soares, 2022; Lorenzi, 2002; Carvalho, 2007).

Possui sementes que apresentam dormência tegumentar e baixa taxa de germinação tornando desafiadora a produção de mudas dessa espécie sendo necessários tratamentos pré-germinativos que garantam a quebra da dormência e possibilitem que a água consiga embeber o embrião da semente (Diógenes *et al.*, 2010; Rocha *et al.*, 2015), estudos fisiológicos sobre a espécie são de fundamental importância para elucidar acerca da taxa de sobrevivência nas regenerações de comunidades naturais e embasar protocolos de produção de mudas e garantir a preservação da espécie, através da inserção da mesma em projetos de restauração de áreas degradadas (Silva, 2011).

2. OBJETIVO

Avaliar a ocorrência de memória hídrica em sementes de *Sarcomphalus joazeiro* submetidas a hidratação descontínua e sua influência na tolerância à seca de plantas jovens oriundas dessas sementes submetidas ao déficit hídrico no solo.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

Os experimentos de ciclos de hidratação e desidratação (HD) das sementes e de ciclos de déficit hídrico nas plantas de *Sarcomphalus joazeiro* foram conduzidos no Laboratório de Fisiologia e Bioquímica do Instituto de Pesquisas Ambientais (IPA) de São Paulo, as sementes utilizadas foram cedidas pela Rede de Sementes de Caatinga (UNIVASF, CRAD/MINISTÉRIO DA INTEGRAÇÃO SOCIAL) e pelo LAFISE (Laboratório de Fisiologia de Sementes da Universidade Federal de Sergipe).

3.1 Massa seca (MS) e teor de umidade (TU) das sementes

Para determinar a massa seca (mg) e o teor de umidade (%) foram utilizadas 250 sementes divididas em 5 repetições, as quais foram secas em estufa a 105°C por 48h sendo o TU determinado por meio da fórmula: $TU = (MF-MS) / MF \times 100$, em que MF e MS representam os valores de biomassa fresca e seca, respectivamente (DUBROVSKY, 1988).

3.2 Curvas de embebição e desidratação

Para avaliar o padrão de embebição das sementes da espécie estudada, foram utilizadas 100 sementes divididas em quatro repetições de 25 sementes cada. Inicialmente, as sementes foram imersas com ácido sulfúrico por 120 minutos, para a superação da dormência tegumentar (Diógenes et al., 2010), lavadas com água corrente e pesadas em balança analítica e colocadas para embeber em placas de Petri de 9 cm contendo duas camadas de papel de filtro umedecidas com 10 mL de água destilada. Os recipientes foram mantidos em laboratório a temperatura ambiente (média entre 25 e 30°C). Em intervalos de uma hora as sementes foram retiradas da placa, secas em papel absorvente e pesadas para determinação da massa fresca e novamente colocadas nas placas de Petri até completarem o ciclo de embebição. A embebição foi estimada através da variação da biomassa das sementes nos diferentes intervalos de tempo avaliados.

Para a realização da curva de desidratação, foram pesadas quatro repetições de 25 sementes em balança analítica para obtenção do peso inicial. Posteriormente, cada repetição foi colocada em placas de Petri de 9 cm de diâmetro contendo duas camadas de papel de filtro umedecidas com 10 mL de água destilada durante um período correspondente a 26 horas onde as sementes absorveram a quantidade máxima de água

antes da germinação, dado obtido através da curva de embebição. Após a hidratação, as repetições foram retiradas do contato com a água, colocadas para secar em bandejas colocadas em dessecadores, pesadas em balança analítica em intervalos de uma hora, até que o peso das repetições voltasse ao peso inicial.

3.3 Experimentos de ciclos de hidratação e desidratação (HD) e hidratação constante (HC) das sementes de *Sarcomphalus joazeiro*

Para avaliar os efeitos dos ciclos de hidratação e desidratação (HD) na germinação, sobrevivência e desenvolvimento das plântulas de *Sarcomphalus joazeiro* Mart. as sementes foram submetidas a 0, 1, 2 e 3 ciclos de HD correspondendo a 13h de hidratação em água destilada e 48 horas de secagem, valores determinados através das curvas de hidratação e desidratação, onde o tempo de hidratação corresponde à metade do tempo necessário para que ela chegasse na fase I. (Lima *et al.*, 2018). Foram utilizadas 310 sementes por tratamento. A fase de hidratação das sementes foi realizada em placas de Petri, as quais foram mantidas em condições de laboratório sob temperatura ambiente (média 25°C). Para a fase de desidratação, as sementes foram colocadas para secar em placas de Petri com uma camada de papel filtro e mantidas no dessecador por 48h ou até que as mesmas retornassem ao peso inicial antes da embebição. Em cada ponto do ciclo de hidratação e desidratação 30 sementes foram retiradas, totalizando 7 coletas, posteriormente congeladas com nitrogênio líquido e mantidas em ultrafreezer a -80°C para posteriores análises bioquímicas.

Para avaliar os efeitos da hidratação constante na germinação, sobrevivência e desenvolvimento das plântulas de *Sarcomphalus joazeiro* Mart., 200 sementes foram submetidas a 183 horas de embebição, esse tratamento foi realizado em 8 placas de Petri contendo 10 ml de água e 25 sementes em cada, as quais foram mantidas em condições de laboratório sob temperatura ambiente (média 25°C). Foram realizadas 7 coletas ao longo do período total de embebição em diferentes intervalos de tempo (controle, 13h, 61h, 74h, 122h, 135h e 183h), após o início da hidratação das sementes. Em cada ponto de coleta durante a embebição 30 sementes foram retiradas e congeladas com nitrogênio líquido e levadas a resfriamento em uma temperatura de +/- 80°C para posteriores análises.

3.5 Obtenção de extratos das sementes

Os extratos foram obtidos a partir de 100 mg de massa seca das sementes. As sementes previamente criopreservadas foram liofilizadas e moídas em moinho de bolas. As amostras foram trituradas por maceração em almofariz com pistilo, utilizando-se 5 mL de solução tampão fosfato monobásico 0,1M, pH 7, contendo EDTA a 0,01M, filtrado em malha de nylón, e centrifugado a 4000 rpm por 10 minutos. Após centrifugação, o sobrenadante foi transferido para tubos de eppendorf com capacidade para 2 mL, sendo congelados até o momento das análises bioquímicas.

3.6 Análises Bioquímicas Sementes

3.6.1 Prolina livre

O teor de prolina livre nas sementes foi determinado conforme Bates et al., (1973). As amostras foram extraídas em ácido sulfossilicílico (3% m/v). O extrato foi centrifugado (3600 rpm 15 min) recuperando-se o sobrenadante (2 ml) ao qual foram adicionados 2 mL de ninhidrina ácida e 2 mL de ácido acético glacial. O meio de reação foi incubado em banho maria (100°C/1h), sendo a reação paralisada por imersão em banho de gelo. Após este procedimento, foram acrescentados 4 mL de tolueno, seguido de agitação vigorosa (20 s) e recuperação do sobrenadante aspirado da fase aquosa para leitura em espectrofotômetro (520 nm). Os resultados foram expressos em mg/g prolina g⁻¹ peso fresco.

3.6.2 Açúcares solúveis totais (AST) e Redutores (AR)

O teor de carboidratos solúveis foi determinado conforme Dubois et al., (1956), com uma alíquota de 500 µL do extrato das sementes, adição de 500 µL de fenol (5%) e 2,5 mL de H₂SO₄ (concentrado) em tubos de vidro que foram agitados em vórtex, após um período de repouso (cerca de 20min) as leituras foram realizadas em um espectrofotômetro (490nm).

O teor de açúcares redutores foi determinado através do método Somogyi-Nelson (Nelson, 1944), com uma alíquota de 500 µL do extrato das sementes.

Os cálculos das concentrações foram realizados com a equação obtida para a curva padrão e os resultados foram expressos em mg g⁻¹ massa seca da semente.

3.6.3 HPLC – Análise do perfil de carboidratos das sementes

Para a determinação dos açúcares solúveis pelo método fenol-sulfúrico, 2ml das amostras foram separadas para a purificação realizada em colunas de troca iônica Dowex 50 × 8 catiônica (100–200 mesh) e Dowex 1 × 8 aniônica (52–100 mesh). As amostras foram liofilizadas e ressuspendidas em 5 ml de água deionizada, após a quantificação de açúcares a concentração de cada amostra foi ajustada para 100 µg mL⁻¹. Em seguida, foi realizada a cromatografia líquida de troca aniônica com detecção amperométrica pulsada (HPAEC-PAD) (Coluna HPLC C18, 250x4.6mm, 5µm) com gradiente de eluição de Hidróxido de Sódio (625mM), Água ultrapura (Milli Q) e Acetato de Sódio (0,5M). Cada corrida HPAEC/PAD teve duração de 20 minutos, onde foram realizadas a identificação das concentrações de sacarose, glicose e frutose, comparando os tempos de eluição do pico da amostra com os padrões comerciais dos açúcares.

3.6.4 Germinação e obtenção de mudas de *Sarcomphalus joazeiro*

Após serem submetidas aos cinco tratamentos pré-germinativos (0, 1, 2 e 3 ciclos de HD e embebição constante) parte das sementes utilizadas nos experimentos de HD e HC foram colocadas para germinar em bandejas contendo vermiculita e levadas a câmara de germinação do tipo BOD onde foram submetidas a um fotoperíodo de 16 horas de luz e 8 horas de escuro. A germinação foi acompanhada a cada dois dias, foi calculada a germinabilidade (G=%), o índice de velocidade de emergência (IVE) utilizando o software GerminaQuant (Marques et al., 2015) e o tempo para obter a germinação de metade das sementes colocadas para germinar (T_{50} - dias) de acordo com a equação: $T_{50} = t_i + [(N/2 - n_i)(t_j - t_i)] / (n_j - n_i)$, onde N é número final de sementes germinadas e n_j é o número acumulado de sementes germinadas por contagens adjacentes nos tempos t_j e t_i , respectivamente, quando $n_i < N/2 < n_j$ (Farooq et al., 2005).

O transplantio para vasos de 7L contendo substrato orgânico (Natus Flora) foi realizado quando as plântulas que emergiram apresentavam o primeiro par de folhas. As mudas foram aclimatadas durante 60 dias no interior de uma Casa de Vegetação do Laboratório de Pesquisa em Fisiologia e Bioquímica do Instituto de Pesquisas Ambientais de São Paulo sendo regadas diariamente durante este período de aclimatação, o experimento na casa de vegetação teve a duração de 120 dias, nas estações de verão e outono (março a junho de 2021).

3.6.5 Experimento da influência de ciclos de déficit hídrico na tolerância à seca de plantas de *Sarcomphalus joazeiro*

Foram utilizadas plântulas provenientes de sementes que passaram pelos ciclos de HD (0, 1, 2 e 3) para avaliar os efeitos do déficit hídrico. Após o período de aclimatação as plântulas oriundas dos ciclos de hidratação e desidratação – HD, foram submetidas a seca intermitente através de cinco tratamentos hídricos (controle – plântulas regadas diariamente, E7 – plântulas regadas em intervalos de sete dias, E14 – plântulas regadas em intervalos de 14 dias, E21 – plântulas regadas em intervalos de vinte e um dias e RE – plântulas reidratadas após completarem um período de 21 dias de suspensão hídrica e coletadas 7 dias depois no 28º dia de experimento). Uma vez que a germinação das sementes oriundas de sementes que passaram por embebição constante como tratamento pré-germinativo foi de apenas 12% não foi suficiente para a obtenção de mudas suficientes para a montagem do experimento.

3.6.6 Umidade do solo ($U_{\text{sol}}^{\text{o}}$) e Potencial Hídrico foliar (Ψ_{wf}), e Taxa de Assimilação Líquida do Carbono (A)

A $U_{\text{sol}}^{\text{o}}$ foi medida pelo método de Reflectometria no Domínio do Tempo (TDR), utilizando-se um sensor modelo ML2-x Delta-T Devices (Theta-Probe, Cambridge, UK). Após aferida a umidade do solo, a cada sete dias, para as plantas E7 e a cada 14 dias, para as plantas do tratamento E14, a cada 21 dias para o tratamento E21 e após a reidratação ao final de 21 dias de suspensão hídrica para o tratamento RE as plantas foram reirrigadas e a umidade aferida novamente 1 hora após a reposição de água, até que o solo retornasse a valores próximos da capacidade de campo (em torno de 20% de umidade).

O Ψ_{wf} (Mpa) foi medido em folhas completamente expandidas do terceiro par a partir do ápice de ramos, no período da antemanhã utilizando-se uma bomba de pressão do tipo Scholander (modelo 1000, PMS InstrumentCo).

Medidas instantâneas das taxas de assimilação líquida do carbono (A , $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), condutância estomática (gs , $\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), transpiração (E , $\mu\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) e a concentração de CO_2 intracelular (C_i , μL^{-1}) foram avaliadas com a utilização de um analisador de gás infravermelho – IRGA (LCpro+, ACD BioScientific Ltd., Herts, UK), semanalmente em quatro plantas por tratamento, totalizando 80 plantas. As medições ocorreram entre às 8 e 11 h, na porção média das terceiras folhas completamente expandidas a partir do ápice durante todo o período experimental utilizando-se umidade

relativa, CO₂ e temperatura do ar ambiente. A radiação fotossinteticamente ativa (PAR) utilizada para aferir as taxas fotossintéticas foi 1200 mmol m⁻²s⁻¹ estimada através da curva de luz (Fig 1.) realizada em cinco plântulas de *Sarcomphalus joazeiro* em condições ótimas de irrigação. A eficiência intrínseca do uso da água (EUAi) das plantas foi obtida pela razão A/gs.

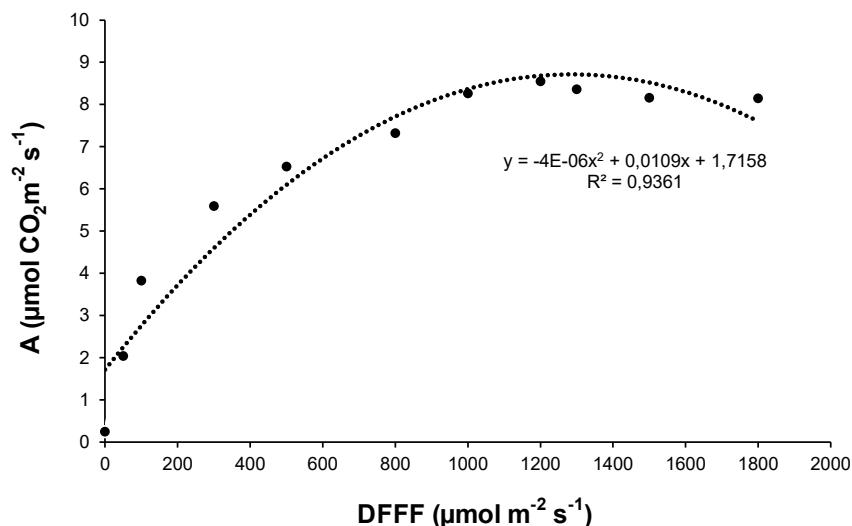


Figura 1. Curva de resposta das taxas de assimilação líquida do carbono (A , $\mu\text{mols CO}_2 \text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$) à densidade do fluxo de fótons fotossinteticamente ativos (DFFF, $\mu\text{mol fótons m}^{-2} \text{s}^{-1}$) obtida em plantas jovens de *Sarcomphalus joazeiro* cultivadas sob condições ótimas de disponibilidade hídrica.

3.6.7 Fluorescência da clorofila “a”

A emissão da fluorescência da clorofila “a” foi realizada em folhas adaptadas ao escuro por 30 min em uma câmara escura. As medidas foram realizadas utilizando-se um fluorômetro portátil (OS5p Opti-Sciences, Hudson, NH, USA). As folhas, previamente adaptadas ao escuro, foram inicialmente expostas a um fraco pulso de luz vermelho-distante ($1-2 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), para determinação da fluorescência mínima emitida (F_0), quando todos os centros de reação do FSII estão na forma oxidada. Em seguida, um pulso de luz saturante, com irradiação de $3000 \mu\text{mol fotons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ e duração de 1s foi aplicado para promover, temporariamente, a máxima redução do acceptor primário de elétrons do FSII (Q_a), determinando-se, assim, a fluorescência máxima (F_m) emitida pelas amostras adaptadas ao escuro. A partir dessas medidas, a máxima eficiência fotoquímica do PSII ($F_v/F_m = (F_m - F_0)/F_m$) foi calculada (Schreiber *et al.*, 1994).

3.6.8 Teor relativo de água e danos membranares

Para determinar o teor relativo de água (TRA) foram feitos 10 discos no limbo foliar, pesados e posteriormente colocadas em água limpa durante vinte e quatro horas para obtenção do peso túrgido. Finalmente, foram colocadas em sacos de papel identificados e levados à estufa em temperatura de 70° por um período de três dias, para obtenção do peso seco. O TRA foi avaliado ao final do primeiro ciclo de seca no período máximo de suspensão hídrica (21 dias) e após 7 dias para avaliar os efeitos da reidratação, e depois do segundo ciclo de seca, quando as plantas foram submetidas ao mesmo período máximo de suspensão hídrica. Os valores de TRA foram calculados pela fórmula: TRA (%) = PF-PS/PT-PS x 1000, onde, PF representa o peso fresco das folhas, PT é o peso túrgido das folhas, PS denota o peso seco das folhas e 100 indica o cálculo em porcentagem.

Para a estimativa de danos membranares oito discos foliares de 10mm de diâmetro foram colocados submersos em 8 ml de água deionizada, e deixados em repouso por 8 horas. Após o período foi determinada a condutividade elétrica da solução. Posteriormente os tubos com os discos foram colocados em banho-maria até a fervura durante um período de 1 hora. Em seguida os tubos hermeticamente fechados foram mantidos em bancada para resfriamento até alcançarem a temperatura ambiente, sendo aferida a condutividade elétrica da solução novamente. Foi aferida a percentagem de integridade absoluta – PIA por meio da condutividade livre (CL) e condutividade total (CT), através da fórmula: PIA= 100 – (CL × 100/CT) (PIMENTEL et al., 2002).

3.6.9 Aspectos anatômicos das folhas de *S. joazeiro* em resposta a diferentes ciclos de disponibilidade hídrica

Para as análises anatômicas foram amostradas folhas completamente expandidas do terceiro nó de cada planta, de três tratamentos hídricos (controle, estresse severo - 21 dias de seca e reidratação) com duas repetições para cada ciclo de hidratação e desidratação nas sementes (0, 1, 2 e 3) totalizando 24 folhas. As folhas das plântulas provenientes dos tratamentos controle e as reidratadas foram fixadas em paraformaldeído 4%, seguidas por desidratação em série etílica (10 – 70%). Para o tratamento de seca as folhas foram armazenadas em etanol 100% para evitar reidratação. Posteriormente, fragmentos da lâmina foliar incluindo nervura central, margem e região entre margem e nervura central foram obtidos e submetidos à desidratação em álcool n-butílico e

incluídos em historresina (Leica Historesin Embedding Kit, Leica, Germany). Secções transversais com espessura de 5 µm foram obtidas com micrótomo rotativo (RM 2155, Leica) e dispostas em lâminas histológicas. Essas lâminas foram submetidas ao processo de coloração com ácido periódico – reativo de Schiff (PAS) e azul de toluidina e montadas com Entellan (Merck, Germany). As lâminas foram analisadas e fotografadas com microscópio de luz (Zeiss Axioskop 40 HBO 50, Zeiss, Germany) e software AxioVision (Version 4.8.2.0).

3.6.10 Massa seca das plantas

Para a determinação da massa seca, as plantas foram coletadas e separadas em folhas, caule e raiz, acondicionadas em sacos de papel e levadas a estufa de circulação forçada de ar até atingirem peso constante para a determinação do peso da massa seca (PMS). Com os dados de massa seca, foi calculada a partição de biomassa para os diversos órgãos e a relação parte aérea/raiz.

3.6.11 Análises estatísticas

Os parâmetros germinativos foram calculados com a utilização do software GerminaQuant 1.0 (Marques *et al.*, 2015) e os diferentes ciclos de hidratação e desidratação – HD foram comparados por meio de análise de variância e depois com o teste Tukey. Para analisar o desenvolvimento das plântulas os dados foram submetidos a uma análise de variância fatorial (ANOVA com dois fatores), sendo esses um referente aos ciclos de HD e aos diferentes tratamentos de rega das plântulas. As médias foram comparadas pelo teste de Tukey ($p<0,05$). Todas as análises estatísticas foram realizadas com o software SISVAR a 5% de significância e os gráficos foram plotados no software SigmaPlot11.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Curvas de embebição e de secagem das sementes de *Sarcomphalus joazeiro*

Durante o período de avaliação (78 horas) a curva apresentou uma tendência de ajuste ao padrão trifásico encontrado em muitas espécies, havendo protusão radicular após 72 horas de avaliação o que permite a identificação da fase III. As sementes de *Sarcomphalus joazeiro* absorveram a maior quantidade de água antes da observação de um platô que caracteriza a fase II da embebição em um período de 26 horas. Através da curva de embebição foi determinado o tempo de hidratação para a realização dos ciclos de hidratação e desidratação – HD correspondendo a metade da fase I (Lima, 2018) sendo, portanto, 13 horas o período de hidratação utilizado para os ciclos de HD.

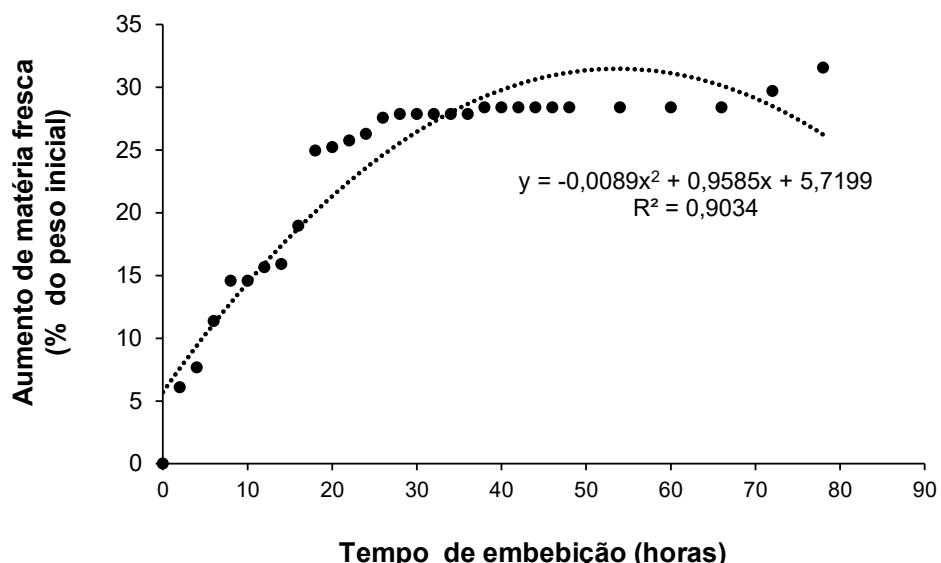


Figura 2. Curva de embebição de sementes de *Sarcomphalus joazeiro* Mart. submetidas a escarificação química.

Através curva de desidratação (Fig. 3) analisando a diminuição da matéria fresca as sementes atingiram o peso inicial (aproximadamente 5,4g) após 48 horas de secagem em sílica em gel, tempo utilizado para os períodos de secagem que as sementes foram submetidas durante os ciclos de hidratação e desidratação

O tempo elevado para desidratação pode ser explicado pelas características do tegumento das sementes de *Sarcomphalus joazeiro*, que é bastante resistente, sendo uma barreira física para retardar as perdas dos níveis de água em situação de desidratação.

Avaliando as características das curvas de embebição e desidratação de *Tabebuia aurea*, Silva Santos *et al.*, obteve um padrão trifásico na curva de embebição, tal qual a do presente trabalho, e em relação ao tempo necessário para as sementes retornarem ao peso inicial o tempo encontrado foi de apenas 3 horas, o que pode ser explicado pelas características morfoanatômicas das sementes, uma vez que possuem uma dispersão anemocórica e não possuem um tegumento muito resistente.

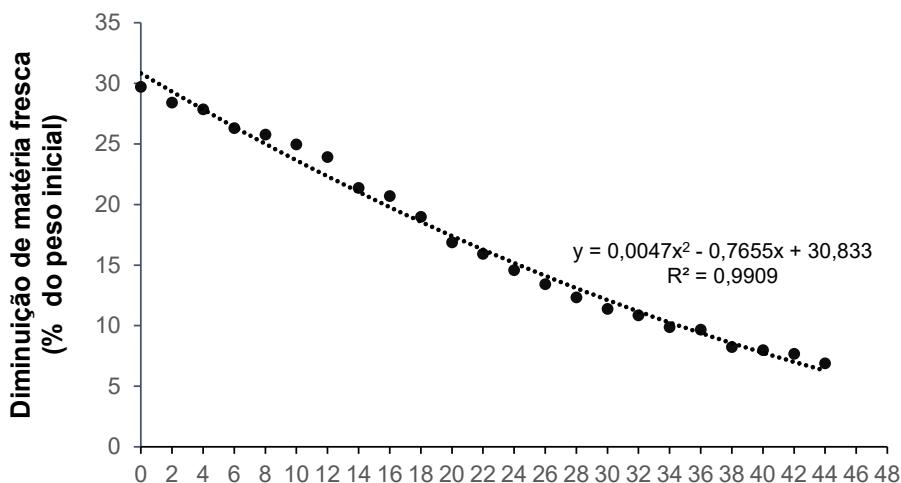


Figura 3. Curva de secagem de sementes de *Sarcomphalus joazeiro* Mart. em dessecador com sílica em gel.

4.2 Parâmetros germinativos

As sementes de juazeiro possuem dormência tegumentar (Ursulino *et al.*, 2019) e apesar da escarificação mecânica, sugerida em muitos trabalhos como forma de uniformizar e acelerar a germinação de sementes, sem tratamento pré-germinativo com ciclos de hidratação e desidratação (HD) a taxa de germinação foi de apenas 20% nas sementes controle. As sementes que foram submetidas a embebição constante antes da semeadura em vermiculita apresentaram taxas significativamente menores que os demais tratamentos, sendo essa 12,12%.

Os parâmetros germinativos (Tab. 1) foram avaliados durante 60 dias e foi possível observar que as sementes que passaram por três ciclos de hidratação e desidratação (HD) obtiveram uma maior taxa de germinação, as sementes que passaram por dois ciclos tiveram uma taxa de germinação menor do que as que passaram por apenas um, superando apenas as que não passaram por nenhum ciclo. Sementes que passaram por três ciclos tiveram o maior índice de velocidade de emergência (IVE), atingindo um pico aproximadamente vinte após a semeadura, comprovando a existência de memória

ídrica nessas sementes atuando diretamente na germinação das plântulas. Uma maior eficiência em parâmetros germinativos também foi observada por Rito et al., (2009); Lima & Meiado, (2017); Lima et al., (2018) ao submeterem sementes de espécies que ocorrem em ambientes semiáridos a diferentes ciclos de hidratação e desidratação.

No presente trabalho sementes que foram submetidas a três ciclos de hidratação e desidratação (HD) apresentaram uma redução significativa no T_{50} número de dias necessários para a germinação da metade das sementes semeadas, por sua vez as sementes sob embebição constante apresentaram o maior período demonstrando que os ciclos de HD favorecem a germinação. Resultados semelhantes foram encontrados por Nascimento et al., (2021) avaliando parâmetros germinativos em sementes de quatro espécies arbóreas da Caatinga (*Anadenanthera colubrina*, *Enterolobium contortisiliquum*, *Pityrocarpa moniliformis* e *Pterogyne nitens*) submetidas a diferentes temperaturas e ciclos HD onde as sementes da espécie *Pterogyne nitens* submetidas ao ciclos HD e a temperatura mais baixa apresentaram menores valores de T_{50} demonstrando que os ciclos favorecem a redução do período necessário para a germinação ocorrer.

Tabela 1. Germinabilidade (%), índice de velocidade de emergência (IVE) e número de dias para germinação de 50% das sementes (T_{50}) de *Sarcomphalus joazeiro* Mart. submetidas a diferentes tratamentos pré germinativos (0, 1, 2 e 3 ciclos de hidratação e desidratação HD e a hidratação contínua).

| Tratamentos | Germinabilidade (%) | IVE | T_{50} (dias) |
|---------------------|---------------------|--------------------|-------------------|
| 0 CICLO HD | $20,25 \pm 0,22ab$ | $0,145 \pm 0,12b$ | $33,25 \pm 0,12a$ |
| 1 CICLO HD | $24,12 \pm 0,06ab$ | $0,610 \pm 0,17ab$ | $31 \pm 0,13a$ |
| 2 CICLOS HD | $22,25 \pm 0,04ab$ | $1,140 \pm 0,09ab$ | $22,25 \pm 0,10a$ |
| 3 CICLOS HD | $61,89 \pm 1,75a$ | $5,533 \pm 0,23a$ | $15,89 \pm 0,06b$ |
| HIDRATAÇÃO CONTÍNUA | $12,12 \pm 0,16b$ | $0,147 \pm 0,17b$ | $45 \pm 1,14a$ |

4.3 Análises Bioquímicas das sementes de *Sarcomphalus joazeiro* submetidas à hidratação descontínua e à hidratação contínua (HC).

4.3.1 Prolina

Aminoácido com função osmorreguladora, a prolina determinação do teor de prolina é um parâmetro frequentemente avaliado em estudos com estresse hídrico, isto porque atua na manutenção da turgescência em diferentes tecidos vegetais submetidos a

baixa disponibilidade de água no solo (Sena et al., 2021). No presente trabalho (Fig. 4) as sementes submetidas a embebição constante não apresentaram diferença significativa no acúmulo de prolina ao longo do tempo, por sua vez houve um aumento significativo nas sementes que passaram por três ciclos de hidratação e desidratação – HD, sugerindo que a passagem pelos ciclos induz um maior acúmulo de prolina nas unidades de dispersão quando submetidas a eventos de seca.

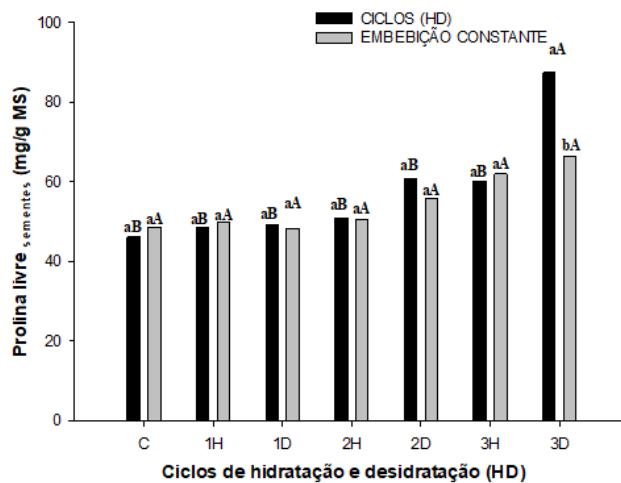


Figura 4. Concentração de prolina livre (mg g^{-1} MS) em sementes de *Sarcomphalus joazeiro* Mart., submetidas a ciclos de hidratação e desidratação (HD) e a hidratação contínua. Letras iguais, minúsculas entre os tratamentos no mesmo período de avaliação e maiúsculas comparando os tratamentos ao longo das coletas, letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P<0,05$).

4.3.2 Açúcares Redutores

Os teores de carboidratos redutores (Fig. 5) reduziram ao longo dos tempos de coletas, e foram significativamente diferentes entre os tratamentos a partir da quarta coleta, quando as sementes passaram pela segunda hidratação (2H) durante os ciclos de HD e 74 horas de embebição constante. As sementes que passaram por 3 ciclos de HD apresentaram a menor concentração de carboidratos redutores, mas em comparação ao tratamento de embebição constante no mesmo tempo de coleta, os ciclos de HD apresentaram maiores valores, demonstrando que os ciclos podem contribuir para o acúmulo desses solutos.

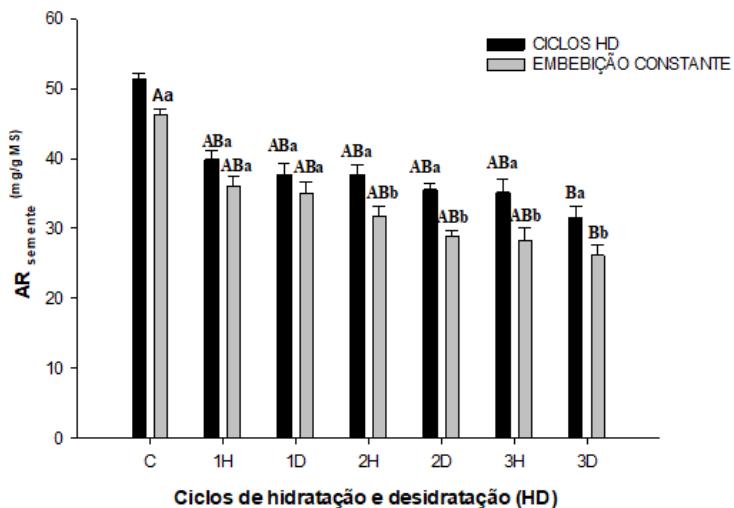


Figura 5. Concentração de açúcares redutores (mg g^{-1} MS) em sementes de *Sarcomphalus joazeiro* Mart., submetidas a ciclos de hidratação e desidratação (HD) e a embebição constante. Letras iguais, minúsculas entre os tratamentos no mesmo período de avaliação e maiúsculas comparando os tratamentos ao longo das coletas, letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P<0,05$)

4.3.3 Açúcares Solúveis Totais (ASTs)

Houve uma redução no teor de açúcares solúveis totais ao longo das coletas (Fig.6) e diferiram significativamente entre os tratamentos de ciclos HD e embebição constante na terceira coleta, quando as sementes passaram pelo primeiro ciclo de desidratação (1D).

Segundo Buckeridge et al., (2000) os carboidratos atuam como solutos capazes de diminuir as reações químicas prejudiciais as estruturas celulares durante períodos de dessecação, isso porque promove a formação de um estado vítreo. Embora houve reduções de ambos os tratamentos ao longo das coletas, as sementes que foram submetidas aos ciclos de hidratação e desidratação (HD) apresentaram menores teores de AST o que pode explicar as maiores taxas de germinação encontradas nessas sementes, tendo em vista que os AST são solutos que fornecem energia disponível necessárias para o processo de germinação (Lopes et al., 2013).

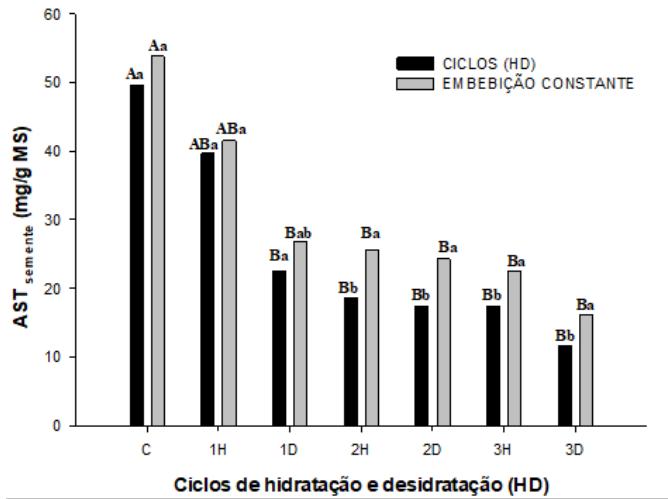


Figura 6. Concentração de açúcares solúveis totais (mg g^{-1} MS) em sementes de *Sarcomphalus joazeiro* Mart., submetidas a ciclos de hidratação e desidratação (HD) e a embebição constante. Letras iguais, minúsculas entre os tratamentos no mesmo período de avaliação e maiúsculas comparando os tratamentos ao longo das coletas, letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

4.3.4 Análise de Carboidratos por cromatografia líquida de alta performance HPLC

Segundo Buitink & Leprince (2008) durante períodos de dessecação nas sementes a sacarose preenche as regiões que as moléculas de água ocupavam, mantendo a estabilização das membranas, e conferindo as unidades de dispersão uma maior tolerância a baixa disponibilidade hídrica.

Os resultados do presente trabalho demonstraram que a sacarose apresentou um aumento da sua concentração nas sementes de *Sarcomphalus joazeiro* ao longo dos primeiros ciclos de HD (1 e 2 ciclos), respostas semelhantes foram encontradas por Santos (2019) ao avaliar sementes de *Tabebuia aurea* submetidas a dessecação, onde houve um aumento no conteúdo de açúcares não redutores.

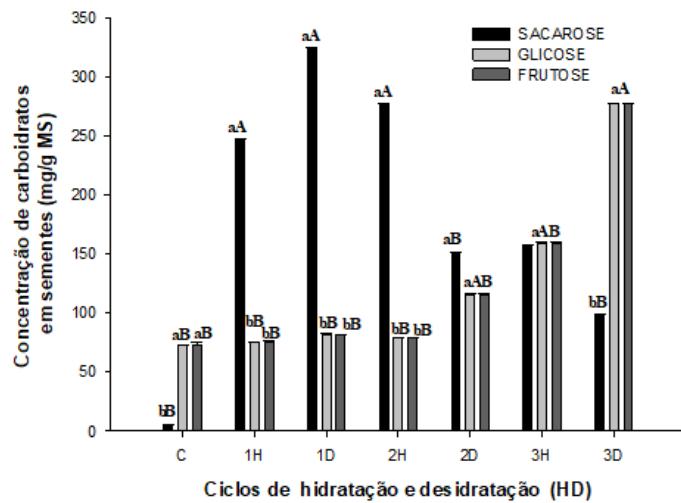


Figura 7. Concentração de glicose, frutose e sacarose (mg g^{-1} MS) em sementes de *Sarcomphalus joazeiro* Mart., submetidas a ciclos de hidratação e desidratação. Letras maiúsculas entre os períodos de avaliação e letras minúsculas entre os carboidratos analisados em cada coleta. Letras iguais não diferem pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

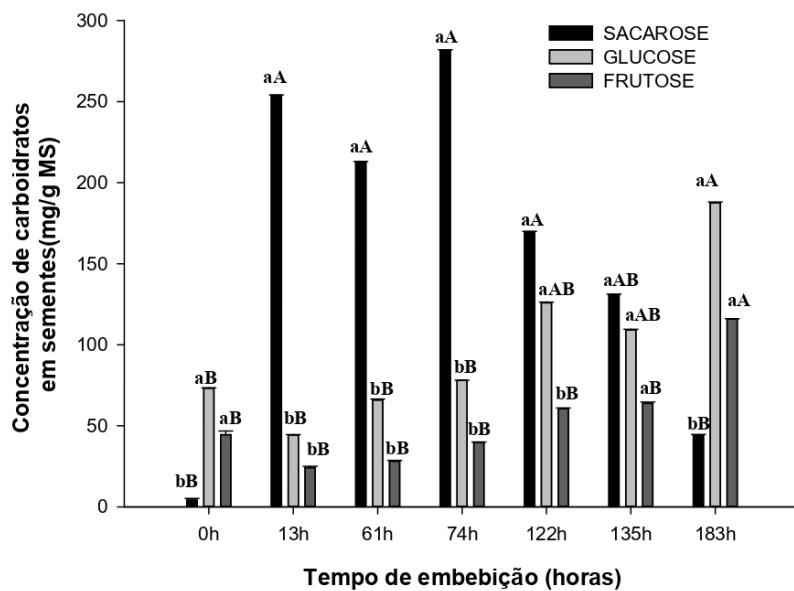


Figura 8. Concentração de sacarose, glicose e frutose (mg g^{-1} MS) em sementes de *Sarcomphalus joazeiro* Mart submetidas a embebição constante durante um período total de 183 horas. Letras maiúsculas entre os períodos de avaliação e letras minúsculas entre os carboidratos analisados em cada coleta. Letras iguais não diferem pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

4.4 Status hídrico

O teor relativo de água (TRA) (Tab. 3) nas folhas de *Sarcomphalus joazeiro* Mart. reduziu apenas aos 21 dias de estresse hídrico nas plântulas submetidas ao estresse mais severo (E21) em todos os ciclos de HD, exceto nas plantas oriundas de sementes submetidas a 3 ciclos HD, na qual o teor relativo de água não apresentou diferença entre os tratamentos hídricos variando entre 63% a 82%, demonstrando que a passagem por três ciclos de HD pode mitigar os efeitos da seca, aumentando a tolerância à seca mesmo quando submetidas a períodos mais longos de suspensão hídrica.

Analizando a percentagem de integridade absoluta (PIA) as folhas não apresentaram diferença significativa entre os tratamentos controle, E7 e E14 (estresse hídrico moderado, com intervalo entre 7 e 14 dias de rega) independente dos ciclos de hidratação e desidratação – HD (0, 1, 2 e 3) demonstrando que a espécie tolera mantendo a integridade das membranas celulares durante períodos de seca. Por outro lado, quando submetidas a um estresse mais severo de 21 dias de suspensão hídrica as plantas oriundas de sementes submetidas a 0, 1 e 2 ciclos de HD apresentaram uma redução significativa, quando comparadas com as plantas estressadas das sementes que passaram por 3 ciclos de HD que mantiveram a integridade das suas membranas mesmo na suspensão mais severa, esse resultado indica que a passagem por um número maior de ciclos de HD pode mitigar os efeitos da seca.

Silva et al., (2015) associou o aumento dos danos membranares em plantas submetidas a déficit hídrico a injúrias provenientes de danos oxidativos, avaliando *Jatropha curcas* Araújo (2014) submetidos a suspensão hídrica observou um aumento de danos membranares, diferente dos resultados do presente trabalho, o que indica que as espécies que ocorrem na Caatinga mitigam os efeitos da seca através de mecanismos variados, sendo importante estudos diversos que englobem o maior número de espécies possível para a elucidação desses diferentes mecanismos.

Tabela 2. Teor relativo de água (TRA%) e Percentagem de integridade absoluta (PIA) em plantas de *Sarcomphalus joazeiro* Mart. oriundas de sementes que passaram por ciclos de hidratação e desidratação HD (0, 1, 2, e 3) submetidas a um ciclo de seca através de diferentes tratamentos hídricos (Controle – plantas regadas diariamente, Estresse moderado – plantas regadas entre intervalos de 7 dias e 14 dias, Estresse severo – plantas regadas entre intervalos de 21 dias e RE– plantas submetidas a reidratação após 21 dias de suspensão de rega) em diferentes épocas (28 dias e 56 dias). Letras iguais minúsculas entre ciclos de HD e letras maiúsculas entre tratamentos hídricos, não diferiram entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

| Tratamentos hídricos | | 28 dias | | 56 dias | |
|----------------------|--|-----------------|----------------|----------------|----------------|
| 0 CICLO HD | | | | | |
| | | TRA (%) | PIA (%) | TRA (%) | PIA (%) |
| CONTROLE | | 83,37±1,24 Aa | 84,39±1,02 Aa | 85,37±3,02 Aa | 83,21±3,64 Aa |
| E7 | | 74,67±2,47 Aa | 86,81± 2,23 Aa | 73,77±2,21 Aa | 71,23±2,39 Aa |
| E14 | | 71,74±3,24 Aa | 84,47± 1,17 Aa | 68,72±1,03 Aa | 77,39±3,36 Aa |
| E21 | | 50,98±1,15 Ab | 87,19± 4,15 Aa | 49,41±1,12 Ab | 82,36±2,24 Aa |
| RE | | 71,74±2,81 Aa | 87,15±2,29 Aa | 67,24±3,69 Aa | 69,54±3,21 Aa |
| 1 CICLO HD | | | | | |
| | | TRA (%) | PIA (%) | TRA (%) | PIA(%) |
| CONTROLE | | 83,76 ± 2,25 Aa | 80,81±5,47 Aa | 81,76±1,09 Aa | 79,32±1,12 Aa |
| E7 | | 78,93± 3,15 Aa | 82,61±2,24 Aa | 75,42±0,96 Aa | 81,39±2,36 Aa |
| E14 | | 72,73± 3,04 Aa | 84,96±3,69 Aa | 76,55±3,67 Aa | 78,34±6,45 Aa |
| E21 | | 59,10± 2,23 Ab | 77,65±6,87 Aa | 56,15±4,10 Ab | 74,12±5,12 Aa |
| RE | | 80,24± 8,96 Aa | 89,71±3,37 Aa | 79,88±2,21 Aa | 77,39±2,23 Aa |
| 2 CICLOS HD | | | | | |
| | | TRA (%) | PIA(%) | TRA(%) | PIA (%) |
| CONTROLE | | 79,36± 1,12 Aa | 80,55±2,21 Aa | 81,22± 4,16 Aa | 78,23±3,69 Aa |
| E7 | | 65,72± 2,34 Aa | 83,61±3,36 Aa | 74,91± 2,23 Aa | 81,36±2,23 Aa |
| E14 | | 64,07± 3,41 Aa | 78,50± 4,56 Aa | 60,11± 2,37 Aa | 78,64±4,12 Aa |
| E21 | | 54,64± 4,63 Ab | 79,30± 2,25 Aa | 56,23± 1,16 Ab | 77,34±3,37 Aa |
| RE | | 79,84± 3,37 Aa | 82,67±3,96 Aa | 80,14± 1,07 Aa | 81,34±1,17Aa |
| 3 CICLOS HD | | | | | |
| | | TRA (%) | PIA(%) | TRA(%) | PIA(%) |
| CONTROLE | | 82,73±1,12 Aa | 82,51±3,36 Aa | 70,65±1,15 Aa | 80,47±1,03 Aa |
| E7 | | 77,63±3,69 Aa | 80,07±3,49 Aa | 74,53± 2,34Aa | 79,41±2,03 Aa |
| E14 | | 71,89±4,21 Aa | 76,56±2,41 Aa | 69,67±3,34 Aa | 74,32 ±3,34 Aa |
| E21 | | 63,57±3,39 Aa | 76,54±4,87 Aa | 62,43±4,27 Aa | 71,31±2,37 Aa |
| RE | | 75,75±2,25 Aa | 82,66±6,41 Aa | 79,14± 1,10 Aa | 80,26±1,19 Aa |

Em relação ao potencial hídrico (Fig 9.), houve uma redução significativa nas plantas submetidas ao estresse mais severo de 21 dias oriundas de sementes que não foram submetidas aos ciclos de HD, por sua vez as plantas submetidas a dois ciclos de HD apresentaram os maiores valores de potencial, demonstrando que a passagem por dois ciclos pode conferir uma maior tolerância à seca relacionada a manutenção do potencial hídrico foliar.

Períodos de suspensão hídrica de até 14 dias não reduziram o potencial hídrico das plantas da espécie, independe do ciclo de HD ao qual suas sementes foram submetidas, com valores variando entre -1,0 e -0,8 MPa valores semelhantes as plantas irrigadas em condições ótimas, demonstrando que o *Sarcomphalus* possui mecanismos eficientes de manutenção da energia livre da água.

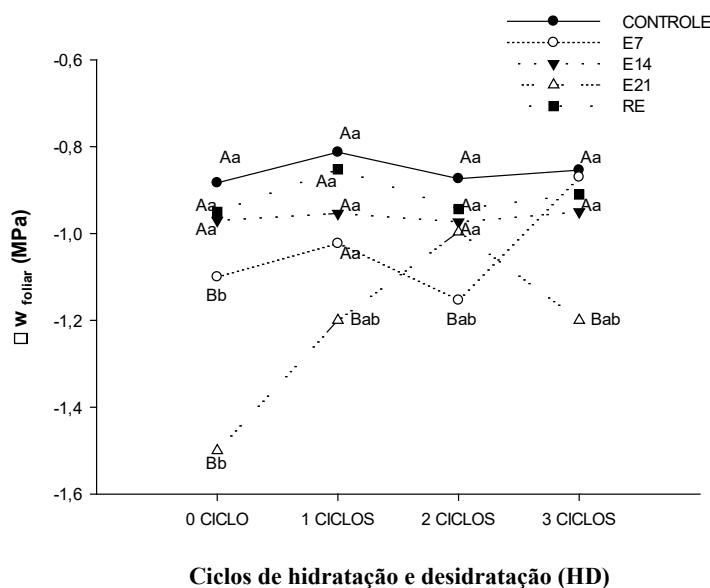


Figura 9. Potencial hídrico foliar (Ψ_w foliar Mpa) em plantas de *Sarcomphalus joazeiro* Mart. oriundas de sementes que passaram por ciclos de hidratação e desidratação HD (0-A, 1-B, 2-C e 3-C ciclos de HD) submetidas a diferentes tratamentos hídricos (Controle – plantas regadas diariamente, Estresse moderado – plantas regadas entre intervalos de 7 dias e 14 dias, Estresse severo – plantas regadas entre intervalos de 21 dias e RE – plantas submetidas a reidratação após 21 dias de suspensão de rega). Letras iguais minúsculas entre ciclos de HD e letras maiúsculas entre tratamentos hídricos, não diferiram entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

As medidas de umidade apresentadas na tabela 3 mostraram que a umidade do solo nas plântulas controle variaram em média de 28,93% a 29,8%, nas plantas do tratamento E7, após sete dias da suspensão da rega variou em média de 20,83 a 24,05%, nas plantas do tratamentos E14, após quatorze dias da suspensão da irrigação, variou em

média de 11,70% a 17,65%, nas plantas submetidas a 21 dias de suspensão hídrica a umidade variou em 5,12% e 7,69% demonstrando uma redução de mais de 50% na umidade do solo durante o período experimental.

Tabela 3: Umidade do solo em plantas de *S. joazeiro* Mart. oriundas de sementes que passaram por ciclos de hidratação e desidratação (0, 1, 2 e 3 ciclos de HD) submetidas a diferentes tratamentos hídricos (Controle – plantas regadas diariamente, estresse moderado – plantas regadas entre intervalos de 7 dias e 14 dias, estresse severo – plantas regadas entre intervalos de 21 dias e RE – plantas submetidas a reidratação após 21 dias de suspensão de rega). Letras iguais minúsculas entre ciclos de HD e letras maiúsculas entre tratamentos hídricos, não diferiram entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

| DIAS APÓS A SUSPENSÃO HÍDRICA | CICLOS HD: 0 | | | | |
|-------------------------------|----------------------|---------------|---------------|-------------|--------------|
| | TRATAMENTOS HÍDRICOS | | | | |
| | CONTROLE | E7 | E 14 | E 21 | RE |
| 7 | 28,95±2,47Aa | 24,05±2,05Aa | - | - | - |
| 14 | 27,45±0,35Aa | 22,20 ±0,42Aa | 17,65±0,42Ba | - | - |
| 21 | 27,15±1,20Aa | 21,40 ±0,99Aa | - | - | - |
| 28 | 27,50 ±0,28Aa | 20,20 ±0,42Aa | 12,65±0,49Bab | 6,32±0,49b | 16,39±1,41Aa |
| 35 | 28,85 ±1,06Aa | 24,80 ±0,42Aa | - | - | - |
| 42 | 28,90±0,71Aa | 22,05±1,34Aa | 11,70±1,41Ba | - | - |
| 56 | 28,36±0,74Aa | 23,56±0,14Aa | 12,36±0,09Ba | 5,36±0,70Ba | 17,69±0,54Aa |

| DIAS APÓS A SUSPENSÃO HÍDRICA | CICLOS HD: 1 | | | | |
|-------------------------------|----------------------|---------------|---------------|-------------|--------------|
| | TRATAMENTOS HÍDRICOS | | | | |
| | CONTROLE | E7 | E 14 | E 21 | RE |
| 7 | 25,16±0,74Aa | 23,14±2,05Aa | - | - | - |
| 14 | 27,15±0,35Aa | 21,10 ±0,12Aa | 16,55±0,32Ba | - | - |
| 21 | 28,26±0,74Aa | 23,40 ±0,99Aa | - | - | - |
| 28 | 28,10 ±0,28Aa | 19,10 ±0,22Aa | 13,55±0,39Bab | 7,75±0,19b | 20,19±1,01Aa |
| 35 | 29,75 ±1,06Aa | 23,40 ±0,42Aa | - | - | - |
| 42 | 26,25±1,20Aa | 21,07±1,64Aa | 14,30±2,41Ba | - | - |
| 56 | 28,15±2,47Aa | 22,76±0,14Aa | 11,76±0,10Ba | 6,39±0,50Ba | 24,36±0,14Aa |

| DIAS APOS A SUSPENSÃO HÍDRICA | CICLOS HD: 2 | | | | |
|-------------------------------------|----------------------|---------------|---------------|-------------|--------------|
| | TRATAMENTOS HÍDRICOS | | | | |
| | CONTROLE | E7 | E 14 | E 21 | RE |
| 7 | 26,17±0,21Aa | 22,04±1,05Aa | - | - | - |
| 14 | 28,15±0,25Aa | 21,00 ±0,01Aa | 17,35±0,12Ba | - | - |
| 21 | 28,16±0,14Aa | 23,30 ±0,19Aa | | | |
| 28 | 29,12 ±0,18Aa | 20,10 ±0,22Aa | 14,15±0,19Bab | 7,25±0,05b | 21,15±0,01Aa |
| 35 | 30,15 ±2,02Aa | 24,60 ±0,32Aa | - | - | - |
| 42 | 27,14±0,20Aa | 20,04±0,34Aa | 13,02±1,41Ba | | |
| 56 | 29,17±1,45Aa | 21,56±0,04Aa | 12,56±1,10Ba | 5,19±0,30Ba | 23,26±1,14Aa |

| DIAS APOS A SUSPENSÃO HÍDRICA | CICLOS HD: 3 | | | | |
|-------------------------------------|----------------------|---------------|---------------|-------------|--------------|
| | TRATAMENTOS HÍDRICOS | | | | |
| | CONTROLE | E7 | E 14 | E 21 | RE |
| 7 | 28,06±0,14Aa | 27,12±1,17Aa | - | - | - |
| 14 | 27,15±0,25Aa | 20,02 ±0,10Aa | 15,75±0,22Ba | - | - |
| 21 | 27,16±0,52Aa | 24,50 ±1,90Aa | | | - |
| 28 | 28,10 ±0,28Aa | 19,10 ±0,22Aa | 13,55±0,39Bab | 7,75±0,19b | 20,19±1,01Aa |
| 35 | 27,65 ±0,05Aa | 21,10 ±0,34Aa | - | - | - |
| 42 | 27,17±0,10Aa | 19,02±0,54Aa | 16,70±1,21Ba | | |
| 56 | 27,10±1,28Aa | 21,56±0,84Aa | 10,76±0,20Ba | 5,29±0,71Ba | 22,35±0,23Aa |

4.5 Açúcares Solúveis Totais

Houve um aumento da concentração de açúcares solúveis totais nas folhas submetidas aos 21 dias de suspensão hídrica em ambas as coletas, independente da época de coleta, em relação aos ciclos de HD as plantas oriundas de sementes que passaram por pelos 1, 2 e 3 ciclos apresentaram um aumento significativo em relação as que não passaram por nenhum, o que indica que a passagem por esse tratamento pré germinativo

pode favorecer o acúmulo desses solutos orgânicos e uma maior tolerância à seca, uma vez que os carboidratos contribuem para um ajustamento osmótico em espécies vegetais submetidas ao estresse hídrico.

Semelhante aos resultados encontrados no presente trabalho, Castro et al., (2007) avaliando resposta bioquímicas associadas a solutos orgânicos (prolina e carboidratos solúveis) em *Tectona grandis* também descreveram aumento nas concentrações de carboidratos solúveis ao longo do período de avaliação.

Avaliando a resposta à seca de *Ceiba glasiovii* Santos et al., (2020) encontraram resultados distintos do presente trabalho, as plântulas não acumularam carboidratos solúveis em suas folhas em resposta ao déficit hídrico imposto, em contrapartida houve a acumulação de prolina, um aminoácido reconhecido pela sua participação no ajustamento osmótico de muitas espécies submetidas a níveis reduzidos de água.

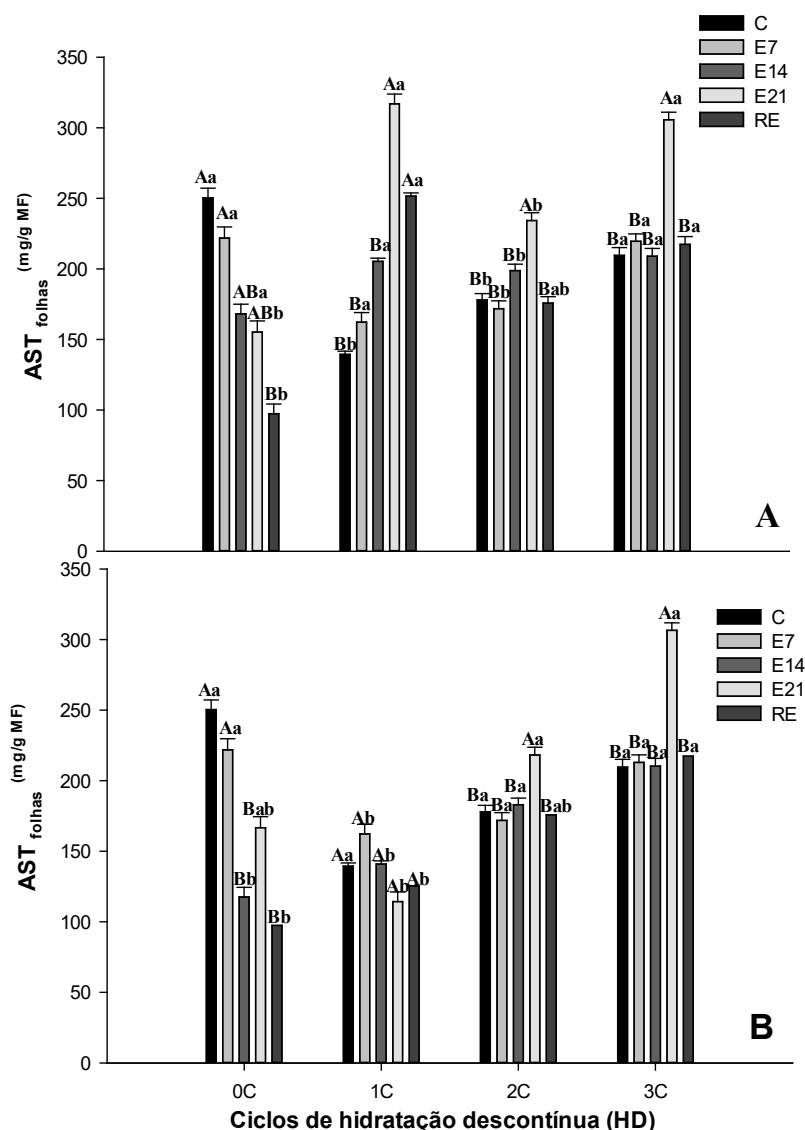


Figura 10. Concentração de açúcares solúveis totais (mg/g) de massa fresca em folhas de *Sarcomphalus joazeiro* Mart., oriundas de sementes submetidas a ciclos de hidratação e desidratação – HD (0C, 1C, 2C e 3C) e submetidas a diferentes tratamentos hídricos (Controle – plantas regadas diariamente, Estresse moderado – plantas regadas entre intervalos de 7 dias e 14 dias, Estresse severo – plantas regadas entre intervalos de 21 dias e RE– plantas submetidas a reidratação após 21 dias de suspensão de rega). A – primeira coleta, B – segunda coleta. Letras iguais minúsculas entre ciclos de HD e letras maiúsculas entre tratamentos hídricos, não diferiram entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

4.6 Trocas gasosas foliares e fluorescência da clorofila “a”

Os resultados mostraram que as plantas jovens de *S. joazeiro* apresentaram reduções significativas na assimilação líquida de carbono (*A*) aos 21 dias de estresse hídrico nas plantas oriundas das semente que passaram por OC (Fig 10-A), 1C (Fig 10-B) e 2C (Fig 10-C), em comparação com as plântulas oriundas das sementes que passaram por três ciclos de HD (Fig 10-D), nesse ciclo as plantas não mantiveram suas taxas fotossintéticas com valores que não se diferenciaram significativamente das plântulas controle mesmo após os 21 dias de suspensão hídrica.

Em relação ao regime de hidratação das plântulas, intervalos de rega de até 14 dias não afetam de forma significativa a assimilação líquida de carbono, demonstrando a tolerância do aparato fotossintético à seca, mesmo durante o período inicial do desenvolvimento. A reidratação que foi avaliada no 28º dia demonstrou que as plântulas de juazeiro apresentação recuperação das taxas de *A* mesmo depois de serem submetidas a estresses severos (21 dias de suspensão), restabelecendo as características fotossintéticas das plantas irrigadas.

Resultados semelhantes foram encontrados por Pessoa et al., (2017) avaliando as trocas gasosas em plantas de *Handroanthus impetiginosus* onde o déficit hídrico também reduziu as taxas fotossintéticas das plantas submetidas a suspensão hídrica, apresentando redução significativa em quatro dias de experimento. Nascimento et al., (2019) avaliando as respostas fotossintéticas em plantas jovens de *Hevea brasiliensis* sob déficit hídrico verificou a redução da assimilação líquida de carbono após 10 dias após a suspensão de rega, onde as plantas estressadas apresentaram valores de fotossíntese muito próximos a zero ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$).

Santos et al., (2014) analisando parâmetros fotossintéticos de *Sarcomphalus joazeiro* em condições de campo em uma região semiárida verificaram taxas de assimilação líquida de carbono (*A*) reduzindo ao longo do dia, apresentando valores

negativos após 14h, os autores associaram essa resposta a redução da umidade que proporcionou uma limitação estomática.

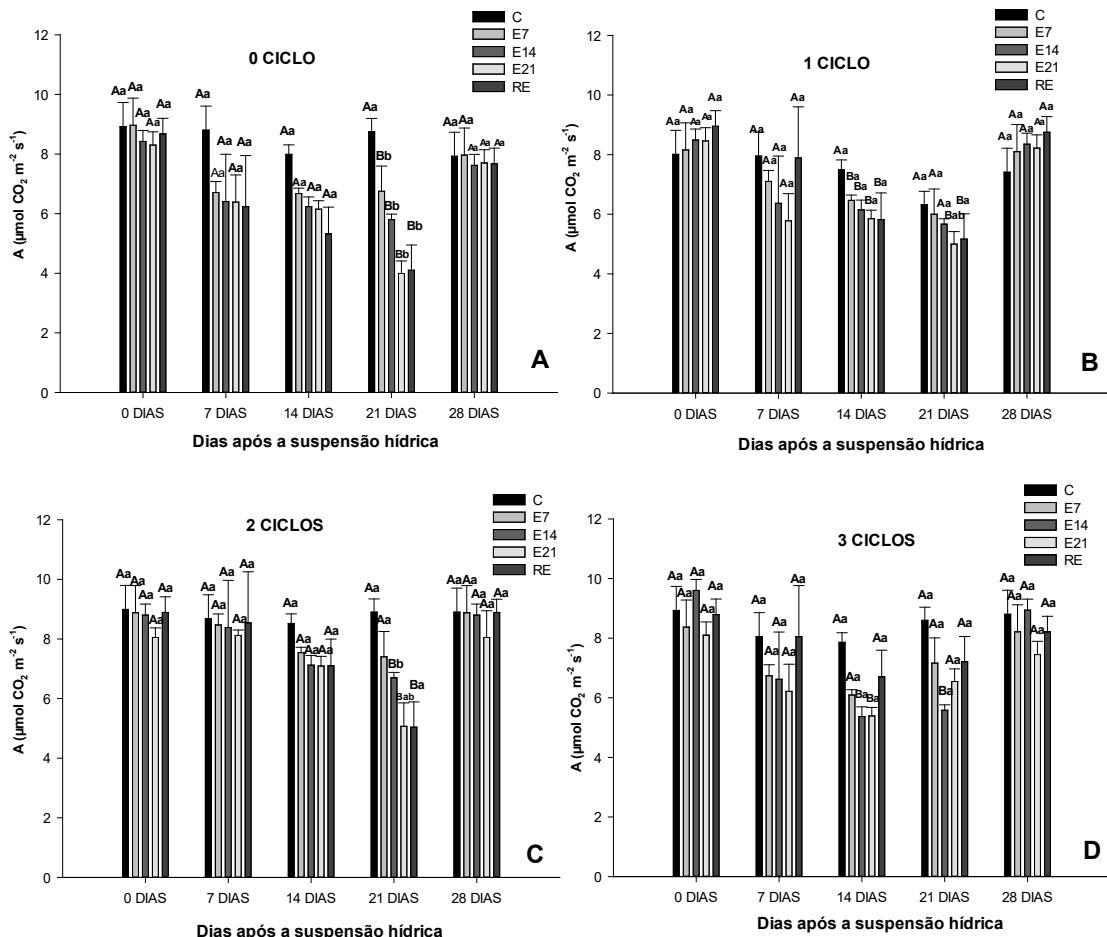


Figura 11. Assimilação líquida de CO₂ (a) em plantas de *Sarcomphalus joazeiro* Mart. oriundas de sementes que passaram por ciclos de hidratação e desidratação HD (0-A, 1-B, 2-C e 3-C ciclos de HD) submetidas a um ciclo de seca (A) através de diferentes tratamentos hídricos (Controle – plantas regadas diariamente, Estresse moderado – plantas regadas entre intervalos de 7 dias e 14 dias, Estresse severo – plantas regadas entre intervalos de 21 dias e RE – plantas submetidas a reidratação após 21 dias de suspensão de rega). Letras iguais minúsculas entre ciclos de HD e letras maiúsculas entre tratamentos hídricos, não diferiram entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Dos Santos *et al.*, (2021) avaliando plantas de pinhão manso submetidas a déficit hídrico, apresentaram reduções significativas nos parâmetros fotossintéticos de assimilação de dióxido de carbono (A), condutância estomática (gs), a combinação da redução desses dois fatores resulta na diminuição do processo fotossintético, tendo em vista o fechamento estomático que diminuiu a concentração de CO₂. Os resultados

encontrados para o *Sarcomphalus joazeiro* no presente estudo demonstraram que mesmo durante o crescimento inicial períodos de estresse moderado (7 e 14 dias) não são suficientes para atrapalharem o desempenho fotossintético, e quando as sementes passam por 3 ciclos de HD, períodos de até 21 dias de suspensão não reduzem a assimilação de CO₂, podendo indicar uma possível aquisição de memória fisiológica nas plantas, após os eventos de desidratação ocorridos nas sementes.

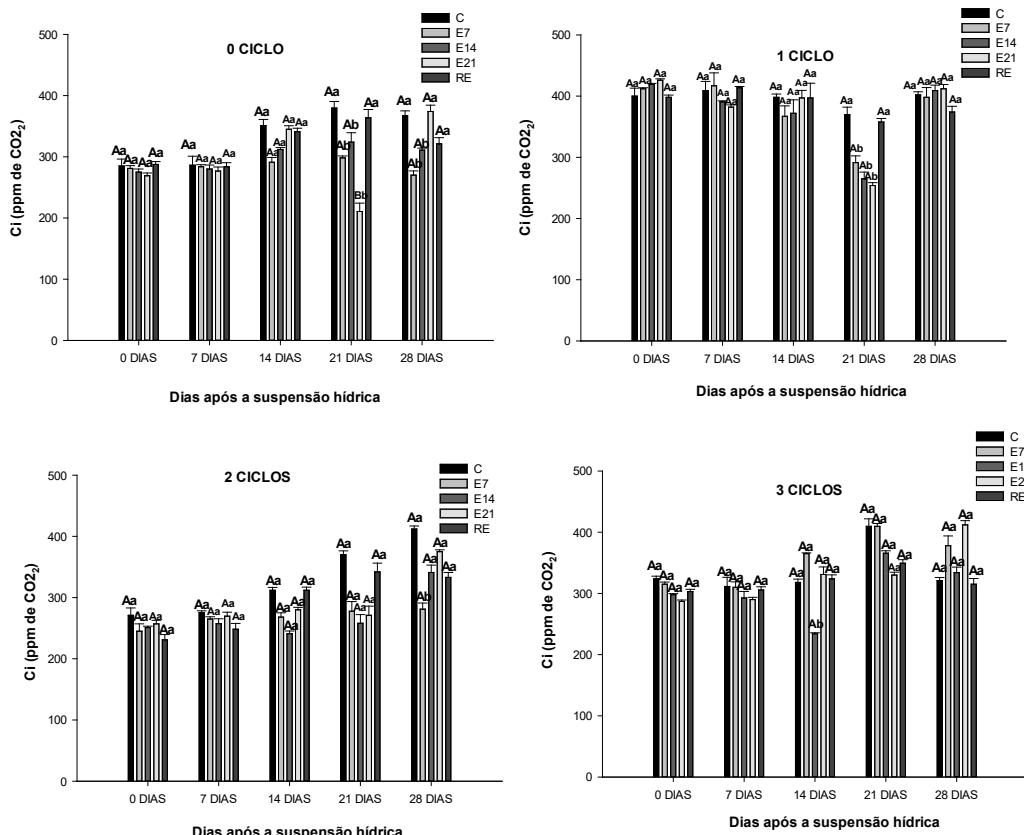


Figura 12. Concentração interna de CO₂ (ppm de CO₂) em plantas de *Sarcomphalus joazeiro* Mart. oriundas de sementes que passaram por ciclos de hidratação e desidratação HD (0-A, 1-B, 2-C e 3-C ciclos de HD) submetidas a um ciclo de seca (A) através de diferentes tratamentos hídricos (Controle – plantas regadas diariamente, Estresse moderado – plantas regadas entre intervalos de 7 dias e 14 dias, Estresse severo – plantas regadas entre intervalos de 21 dias e RE – plantas submetidas a reidratação após 21 dias de suspensão de rega). Letras iguais minúsculas entre ciclos de HD e letras maiúsculas entre tratamentos hídricos, não diferiram entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

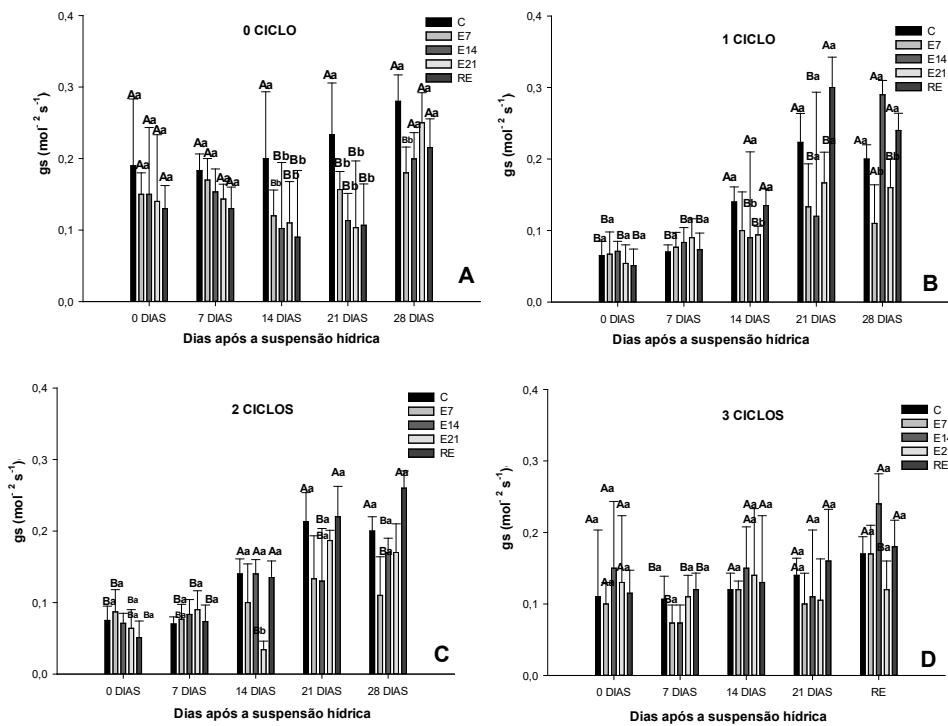


Figura 13. Condutância estomática (gs , $\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) em plantas de *Sarcomphalus joazeiro* Mart. oriundas de sementes que passaram por ciclos de hidratação e desidratação HD (0-A, 1-B, 2-C e 3-C ciclos de HD) submetidas a um ciclo de seca (A) através de diferentes tratamentos hídricos (Controle – plantas regadas diariamente, Estresse moderado – plantas regadas entre intervalos de 7 dias e 14 dias, Estresse severo – plantas regadas entre intervalos de 21 dias e RE – plantas submetidas a reidratação após 21 dias de suspensão de rega). Letras iguais minúsculas entre ciclos de HD e letras maiúsculas entre tratamentos hídricos, não diferiram entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

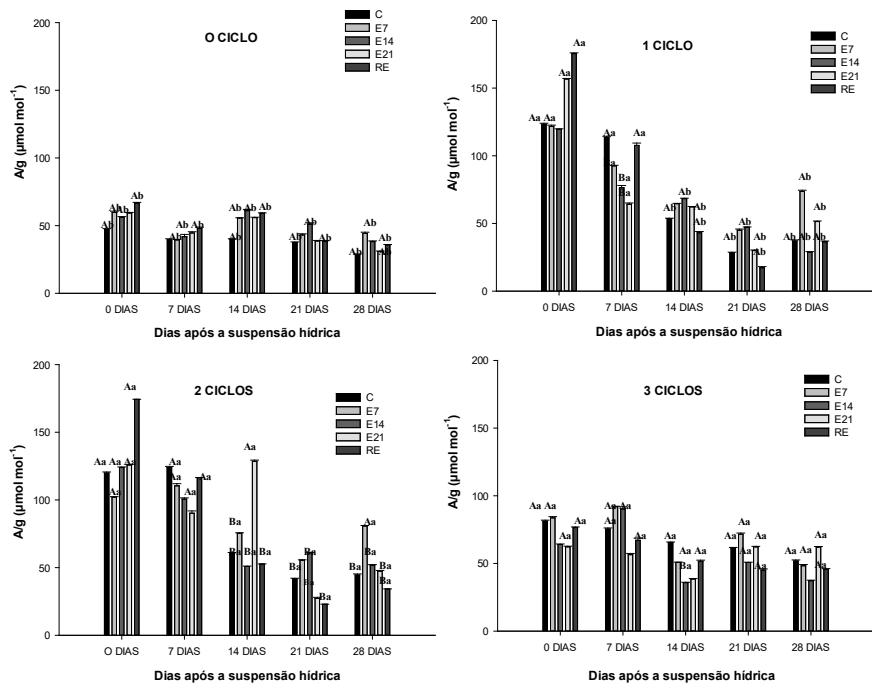


Figura 14. Eficiência intrínseca do uso da água (A/g , $\mu\text{mol mol}^{-1}$) em plantas de *Sarcomphalus joazeiro* Mart. oriundas de sementes que passaram por ciclos de hidratação e desidratação HD (0-A, 1-B, 2-C e 3-C ciclos de HD) submetidas a um ciclo de seca (A) através de diferentes tratamentos hídricos (Controle – plantas regadas diariamente, Estresse moderado – plantas regadas entre intervalos de 7 dias e 14 dias, Estresse severo – plantas regadas entre intervalos de 21 dias e RE – plantas submetidas a reidratação após 21 dias de suspensão de rega). Letras iguais minúsculas entre ciclos de HD e letras maiúsculas entre tratamentos hídricos, não diferiram entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

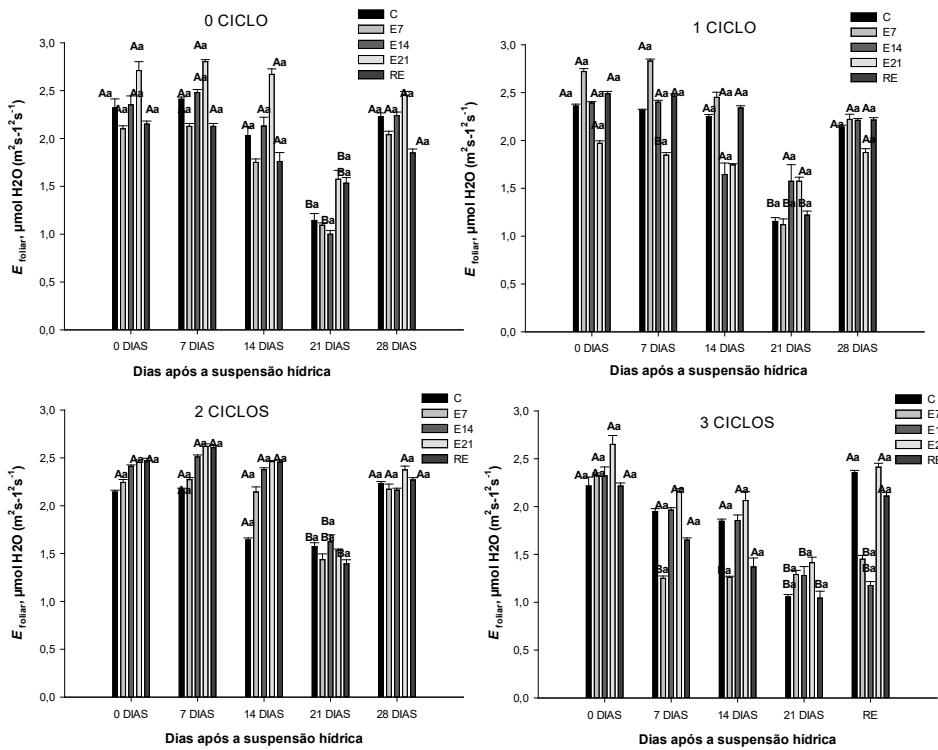


Figura 15. Transpiração foliar (E_{foliar} , $\mu\text{mol H}_2\text{O m}^{-2}\text{s}^{-1}$) em plantas de *Sarcomphalus joazeiro* Mart. oriundas de sementes que passaram por ciclos de hidratação e desidratação HD (0-A, 1-B, 2-C e 3-C ciclos de HD) submetidas a um ciclo de seca (A) através de diferentes tratamentos hídricos (Controle – plantas regadas diariamente, Estresse moderado – plantas regadas entre intervalos de 7 dias e 14 dias, Estresse severo – plantas regadas entre intervalos de 21 dias e RE – plantas submetidas a reidratação após 21 dias de suspensão de rega). Letras iguais minúsculas entre ciclos de HD e letras maiúsculas entre tratamentos hídricos, não diferiram entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Segundo Maxwell & Johnson (2000) os valores da eficiência quântica do PSII em plantas cultivadas em condições não estressantes devem variar entre 0,75 e 0,85. As plantas jovens de *S. joazeiro* apresentaram pouca variação entre os cinco tratamentos hídricos, com valores que variaram entre 0,75 e 0,79 nas submetidas a déficit hídrico (E7, E14 e E21) e 0,75 e 0,78 nas cultivadas sob condições ótimas de irrigação (Fig. 13), comprovando que não houve fotoinibição nas plantas durante o período experimental.

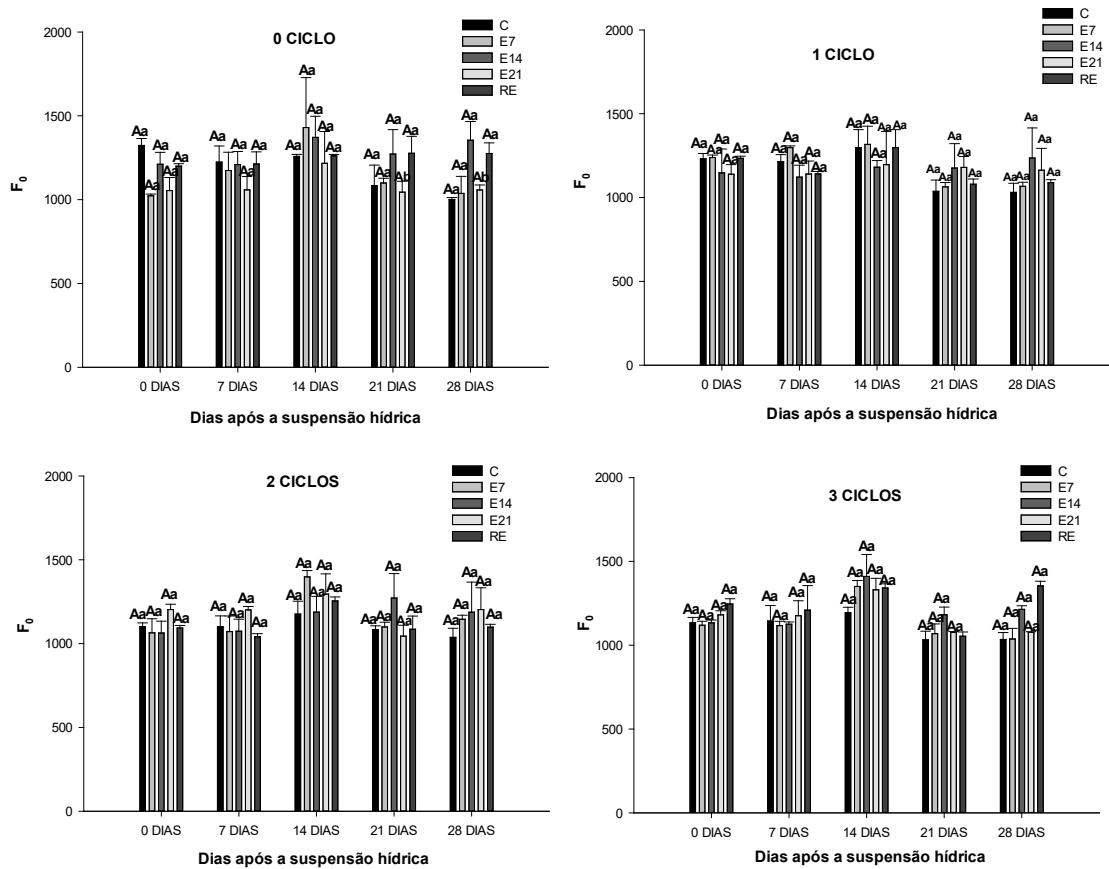


Figura 16. Fluorescência inicial (F_0) em plantas de *Sarcomphalus joazeiro* Mart. oriundas de sementes que passaram por ciclos de hidratação e desidratação HD (0-A, 1-B, 2-C e 3-C ciclos de HD) submetidas a um ciclo de seca (A) através de diferentes tratamentos hídricos (Controle – plantas regadas diariamente, Estresse moderado – plantas regadas entre intervalos de 7 dias e 14 dias, Estresse severo – plantas regadas entre intervalos de 21 dias e RE – plantas submetidas a reidratação após 21 dias de suspensão de rega). Letras iguais minúsculas entre ciclos de HD e letras maiúsculas entre tratamentos hídricos, não diferiram entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

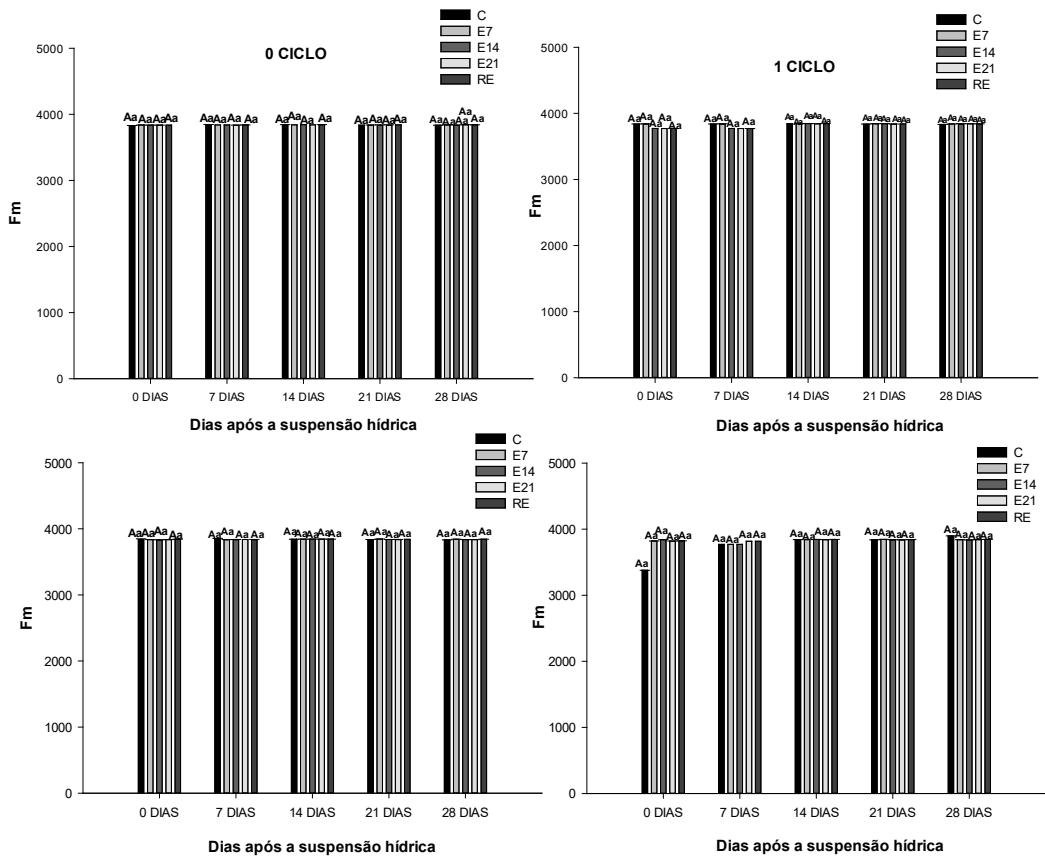


Figura 17. Fluorescência máxima (F_m) em plantas de *Sarcomphalus joazeiro* Mart. oriundas de sementes que passaram por ciclos de hidratação e desidratação HD (0-A, 1-B, 2-C e 3-C ciclos de HD) submetidas a um ciclo de seca (A) através de diferentes tratamentos hídricos (Controle – plantas regadas diariamente, Estresse moderado – plantas regadas entre intervalos de 7 dias e 14 dias, Estresse severo – plantas regadas entre intervalos de 21 dias e RE – plantas submetidas a reidratação após 21 dias de suspensão de rega). Letras iguais minúsculas entre ciclos de HD e letras maiúsculas entre tratamentos hídricos, não diferiram entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Leite (2020) avaliando as respostas fotossintéticas de plantas de *Jatropha curcas* encontrou resultados diferentes, onde as plantas submetidas a déficit hídrico reduziram a eficiência do PSII (em torno de 40%), e associaram a redução a desativação da cadeia de transporte de elétrons nos tilacóides.

Avaliando parâmetros fotossintéticos de dez espécies da Caatinga, incluindo o *S. joazeiro* Trovão *et al.*, (2007), não encontraram redução da eficiência quântica do PSII das espécies estudadas, semelhante aos resultados do presente trabalho também, todos os valores encontrados ficaram dentro da faixa proposta por Maxwell & Johnson (2000).

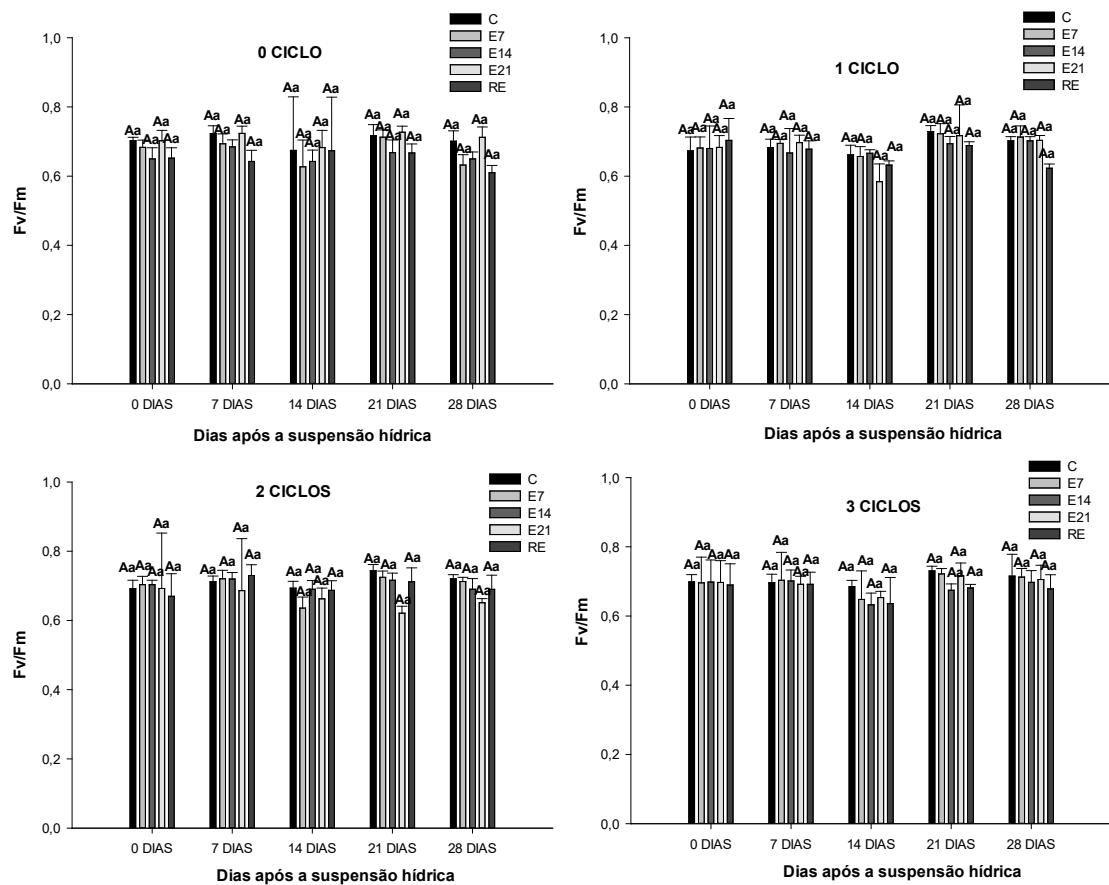


Figura 18. Eficiência quântica máxima do FSII (F_v/F_m) da clorofila “a” de plantas de *Sarcomphalus joazeiro* Mart. oriundas de sementes que passaram por ciclos de hidratação e desidratação HD (0-A, 1-B, 2-C e 3-C ciclos de HD) submetidas a um ciclo de seca (A) através de diferentes tratamentos hídricos (Controle – plantas regadas diariamente, Estresse moderado – plantas regadas entre intervalos de 7 dias e 14 dias, Estresse severo – plantas regadas entre intervalos de 21 dias e RE – plantas submetidas a reidratação após 21 dias de suspensão de rega). Letras iguais minúsculas entre ciclos de HD e letras maiúsculas entre tratamentos hídricos, não diferiram entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

4.7 Anatomia foliar

As folhas de *S. joazeiro* são planas, dorsiventrais e hipoestomáticas, com nervura central proeminente na face abaxial, apresentando contorno convexo (Fig. 15A, C-E). A epiderme é uniestratificada e possui células com paredes periclinais externas espessadas (Fig. 15A, C-E); essas células são, em geral, alongadas pericinalmente e apresentam tamanho semelhante por toda sua extensão (Fig. 15C-E), exceto na nervura central.

Na nervura central as células epidérmicas na face abaxial são menores e predomina-se o formato arredondado (Fig. 15A); estômatos não foram observados nessa região. Ainda na nervura central, é evidente um grande feixe vascular, além do mesofilo

apresentando células corticais de formato arredondado (Fig. 15A); poucas células corticais ocorrem na face adaxial (Fig. 15A-B), interrompendo a continuação do parênquima clorofiliano.

O feixe vascular da nervura central é colateral, apresentando formato arqueado e circundado por fibras (Fig. 15B). No restante da lâmina o mesofilo é diferenciado nos parênquimas paliçádico, que é uniestratificado, e lacunoso, com três a quatro camadas de células (Fig. 15C-E). Os feixes vasculares no restante da lâmina também são colaterais, mas são menores que aquele da nervura central e possuem formato arredondado. Alguns destes feixes de maior calibre também são envoltos por fibras (Fig. 15D). A margem foliar apresenta formato arredondado (Fig. 15D).

Grãos de amido ocorrem nas células corticais da nervura central e nos cloroplastos das células dos parênquimas paliçádico e lacunoso. Na nervura central os grãos de amido são observados em todos os tratamentos (Fig. 15A-B; 2A-B; 3A-B), porém sua quantidade parece variar, mesmo entre indivíduos de um mesmo tratamento; a detecção destes grãos se deu pela reação positiva ao PAS. Observa-se a ocorrência de idioblastos contendo cristais entre as células do xilema e floema (Fig. 15B; 2B), no parênquima paliçádico (Fig. 15C; 16C-D; 17D-E) e na bainha que circunda os feixes vasculares tanto na nervura central (Fig. 16B) ou em nervuras laterais (Fig. 17D). A estrutura anatômica da folha do juazeiro se manteve em todos os tratamentos (Fig. 15-3), embora alguns efeitos do estresse hídrico também possam ser evidenciados.

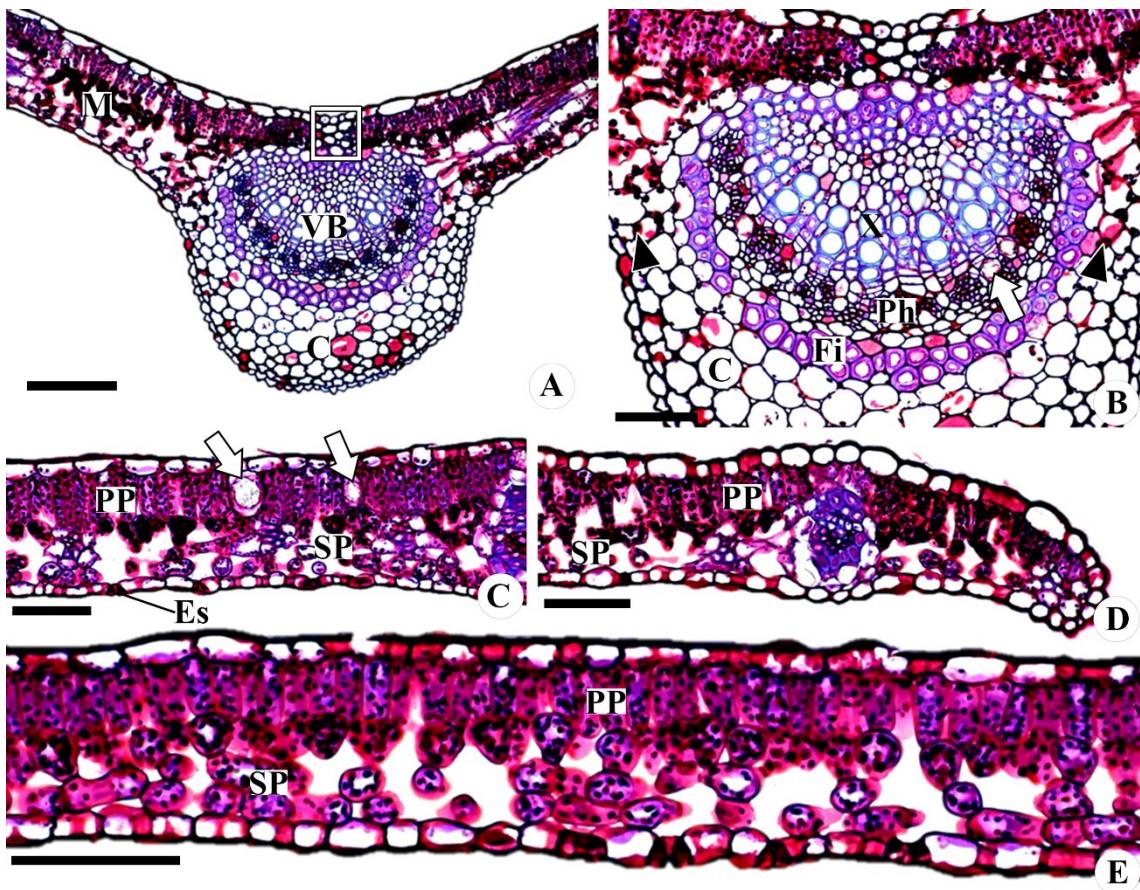


Figura 15. Anatomia foliar de *Sarcomphalus joazeiro* Mart. em plântulas oriundas de sementes submetidas a diferentes ciclos de hidratação e desidratação - HD (0, 1, 2 e 3 ciclos) cultivadas sob rega diária (controle). 1 ciclo de HD (A-B, D), 0 ciclo de HD (C), 3 ciclos de HD (E). A. Aspecto geral da nervura central. B. Detalhe da nervura central evidenciando o feixe vascular e células corticais. C e E. Aspectos gerais da região entre nervura central e margem. D. Aspecto geral da margem. (Setas indicam cristais; Pontas de seta indicam grãos de amido em células corticais; quadrado indica células corticais; C, córtex; Es, estômato; Fi, fibras; M, mesófilo; Ph, floema; PP, parênquima paliçádico; SP, parênquima lacunoso; VB, feixe vascular; X, xilema). Barras: A (100 µm); B-E (50 µm).

Nas condições controle (ciclos 0 a 3) em função da disponibilidade hídrica as células estão túrgidas e observa-se que no mesófilo as células dos parênquimas paliçádico e lacunoso apresentam grande quantidade de cloroplastos (Fig. 15C-E); tal efeito causa uma coloração mais escura nestes tecidos (Fig. 15C-E).

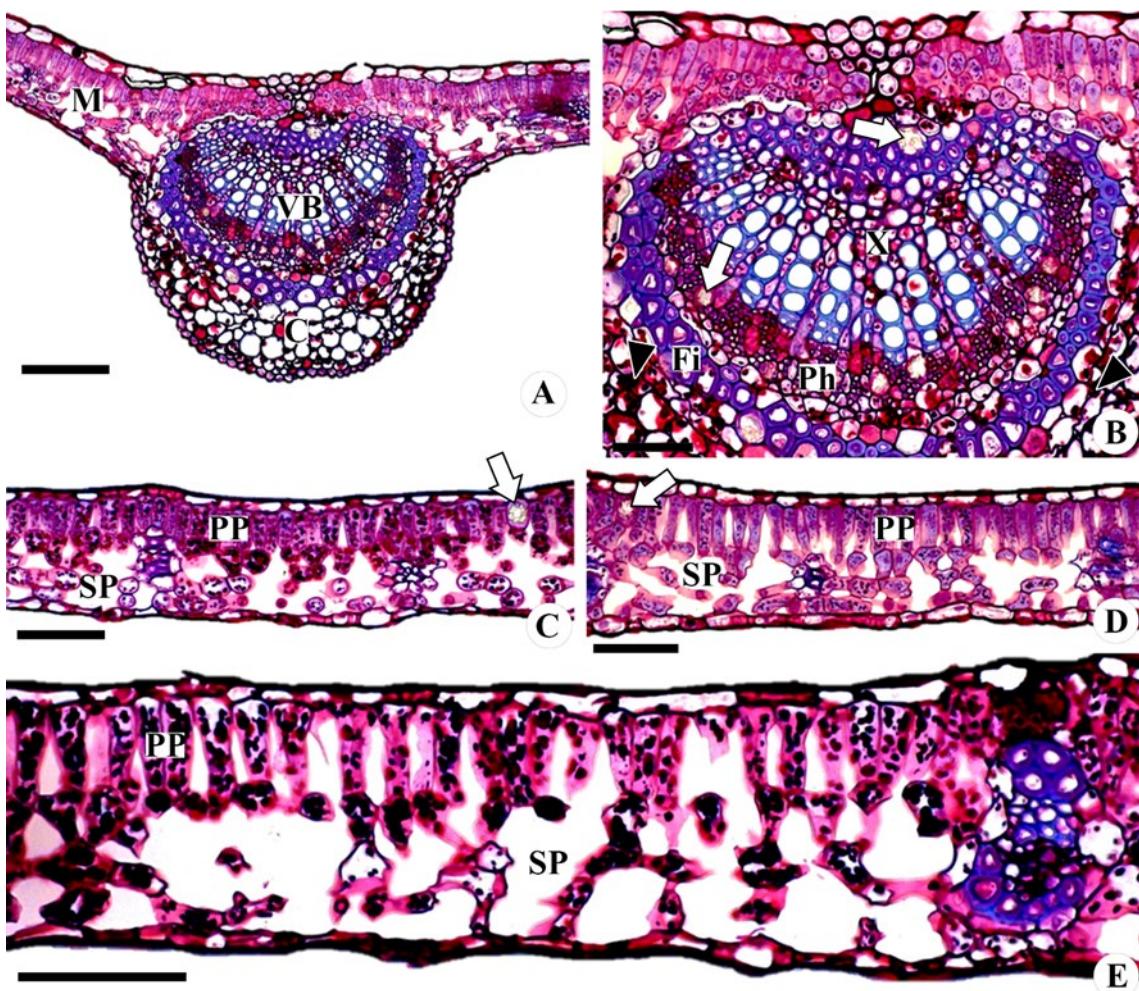


Figura 16. Anatomia foliar de *Sarcomphalus joazeiro* Mart. em plântulas oriundas de sementes submetidas a diferentes ciclos de hidratação e desidratação - HD (0, 1, 2 e 3 ciclos) e submetidas a suspensão hídrica de 21 dias. 2 ciclos HD (A-B, D), 0 ciclo HD (C), 3 ciclos HD (E). A. Aspecto geral da nervura central. B. Detalhe da nervura central evidenciando o feixe vascular; nota-se a coloração mais escura das fibras. C-E. Aspectos gerais da região entre nervura central e margem: em C nota-se perda de turgor nas células epidérmicas da face abaxial; em E nota-se perda de turgor nas células epidérmicas da face abaxial e do mesofilo; em D e E nota-se que as células do mesofilo são espaçadas; nas três imagens é mostrado que o mesofilo apresenta coloração mais clara, indicando diminuição na quantidade de grãos de amido nos cloroplastos. (Setas indicam cristais; Pontas de seta indicam grãos de amido em células corticais; C, córtex; Fi, fibras; M, mesofilo; Ph, floema; PP, parênquima paliçádico; SP, parênquima lacunoso; VB, feixe vascular; X, xilema). Barras: A (100 µm); B-E (50 µm).

Não obstante, em condições de seca nota-se que, inicialmente nas plântulas oriundas de sementes que passaram por 0, 1 e 2 ciclos de HD, os sintomas podem incluir perda de turgor nas células epidérmicas da face abaxial e/ou redução na quantidade de grãos de amido dos cloroplastos (Fig. 16C-D); essa redução é percebida pela coloração mais clara dos parênquimas paliçádico e lacunoso (Fig. 16C-E). Nestes primeiros ciclos

o mesofilo também pode apresentar células mais espaçadas, mesmo aquelas paliçádicas (Fig. 16D), formando espaços intercelulares conspícuos. Todos estes efeitos são intensificados nas plântulas oriundas das sementes que passaram por 3 ciclos HD, onde as células epidérmicas da face abaxial e do mesofilo apresentam maior perda de turgor (Fig. 16E). Em todos os tratamentos de seca observa-se que as fibras que envolvem o feixe vascular da nervura central possuem coloração mais escura (Fig. 16A-B) que aquelas dos tratamentos controle (Fig. 15A-B) e de reidratação (Fig. 3A-B).

Após a reidratação é evidente as células voltam a ficar túrgidas (Fig. 17D-E), que os cloroplastos voltam a ser abundantes, armazenando grãos de amido (Fig. 17C-E). Porém, inicialmente nas plântulas oriundas de sementes que não passaram pelos ciclos de hidratação e desidratação – HD, pode-se observar que as células epidérmicas da face abaxial não completaram totalmente o processo de reidratação plena (Fig. 17C).

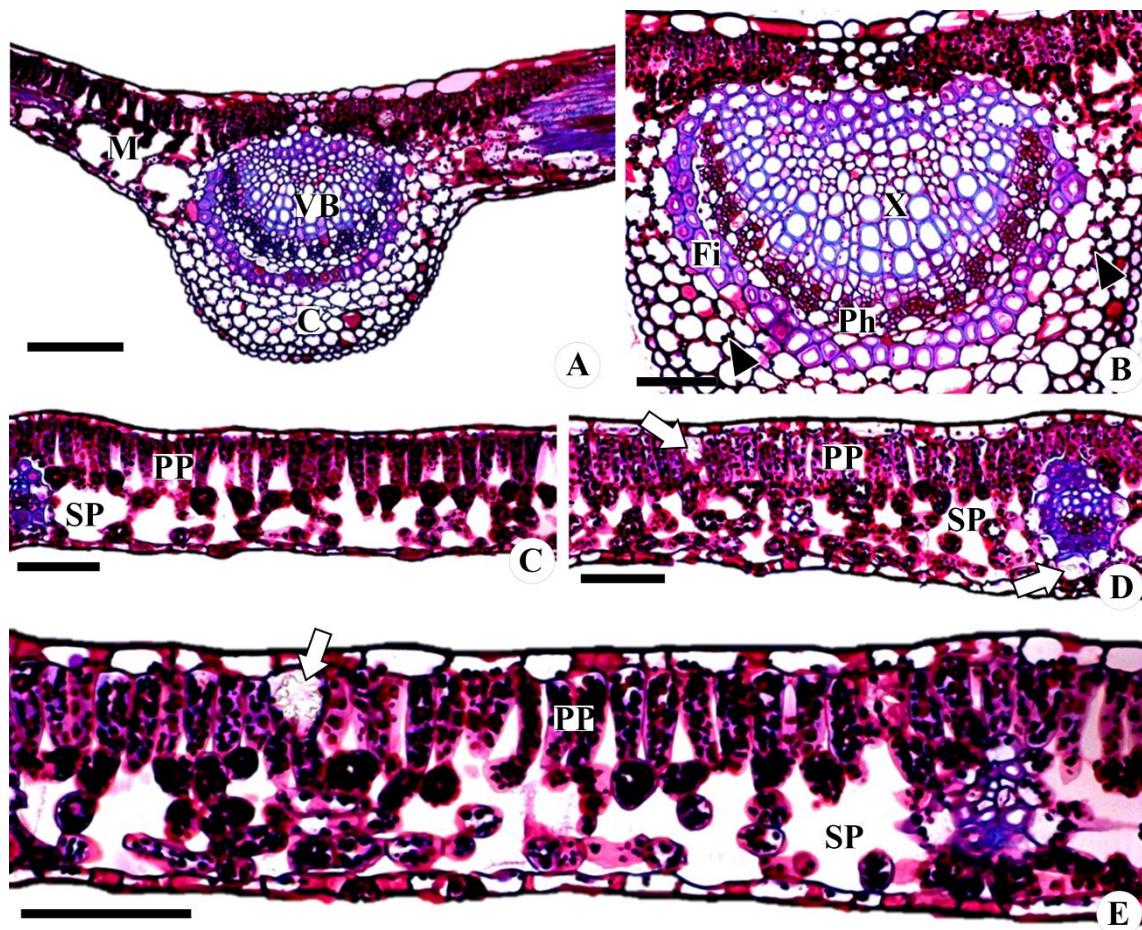


Figura 17. Anatomia foliar de *Sarcomphalus joazeiro* Mart. em plântulas oriundas de sementes submetidas a diferentes ciclos de hidratação e desidratação- HD (0, 1, 2 e 3 ciclos). Tratamentos de reirrigação: ciclo 0 (A, C), ciclo 2 (B), ciclo 1 (D), ciclo 3 (E). A. Aspecto geral da nervura central. B. Detalhe da nervura

central. C-E. Aspectos gerais da região entre nervura central e margem mostrando que as células retomam turgidez e que os cloroplastos voltam a apresentar mais grãos de amido; em C nota-se que a perda de turgor ainda pode estar presente nas células epidérmicas da face abaxial. (Setas indicam cristais; Pontas de seta indicam grãos de amido em células corticais; C, córtex; Fi, fibras; M, mesofilo; Ph, floema; PP, parênquima paliçádico; SP, parênquima lacunoso; VB, feixe vascular; X, xilema). Barras: A (100 µm); B-E (50 µm).

Comparando-se os tratamentos, nota-se que o estresse causado pela restrição hídrica pode causar efeitos, de diferentes intensidades nas células epidérmicas, no mesofilo e no feixe vascular da nervura central (Tab. 2).

Tabela 4. Efeitos do estresse hídrico em folhas de *S. joazeiro* submetidas a diferentes tratamentos hídricos (Controle, seca – 21 dias de suspensão hídrica, e reidratação) oriundas de sementes que passaram por ciclos de hidratação e desidratação – HD (0, 1, 2 e 3), para cada ciclo duas repetições. A intensidade de cada efeito é indicada como ausente (-), moderada (+) ou forte (++)

| Efeitos do estresse hídrico | Controle | | | | Seca | | | | Reidratadas | | | |
|--|-----------------|-----|-----|-----|-------------|-----|------|------|--------------------|-----|-----|-----|
| | 0C | 1C | 2C | 3C | 0C | 1C | 2C | 3C | 0C | 1C | 2C | 3C |
| Células epidérmicas com perda de turgor (face abaxial) | -/- | -/- | -/- | -/- | -/+ | -/+ | -/+ | +/++ | -/+ | -/- | -/- | -/- |
| Células do mesofilo com perda de turgor | -/- | -/- | -/- | -/- | -/- | -/- | -/- | +/+ | -/- | -/- | -/- | -/- |
| Diminuição dos cloroplastos no mesofilo | -/- | -/- | -/- | -/- | +/+ | +/+ | +/++ | +/++ | -/- | -/- | -/- | -/- |
| Mesofilo com células mais espaçadas | -/- | -/- | -/- | -/- | -/- | +/+ | +/+ | +/++ | -/- | -/- | -/- | -/- |
| Coloração mais escura nas fibras que envolvem o feixe vascular da nervura central* | | | | | Sim | Sim | Sim | Sim | | | | |

* Não foi quantificada a intensidade na variação da coloração.

4.8 Matéria seca

Houve um uma diminuição da matéria seca (foliar, caulinar e radicular) (Tab.5) nos tratamentos de suspensão hídrica a partir de 14 dias de estresse nas plântulas oriundas de sementes não passaram por nenhum ciclo de hidratação e desidratação. Após 21 dias de suspensão hídrica houve reduções significativas na matéria seca do caule em todos os ciclos de HD (1, 2 e 3). A matéria seca foliar não apresentou diferença significativa nas plantas oriundas de sementes que passaram pelos ciclos, até 14 dias de suspensão hídrica, o mesmo ocorreu com a matéria seca da raiz que apresentou redução apenas após uma suspensão hídrica mais severa de 21 dias. A matéria seca total das plantas jovens que tiveram suas sementes submetidas aos ciclos de HD não apresentou diferença significativas, por outro lado houve uma redução da matéria seca total das plantas cujas sementes não passaram por hidratação descontínua antes da germinação.

A literatura reporta que plantas submetidas a déficit hídrico geralmente apresentam menor crescimento, redução no número e expansão das folhas e menor produção de matéria seca, devido a menor aquisição de carbono e redução nos processos fotossintéticos (Silva et al., 2011), como observado por Barbosa e Prado (1991) em *Parkinsonia aculeata* e nos resultados do presente experimento após 21 dias de suspensão hídrica. A assimilação líquida de carbono das plantas do presente trabalho apresentou redução apenas após os 21 dias de suspensão hídrica, o que explica a redução da matéria seca apenas após esse período no *Sarcomphalus joazeiro*.

A água é importante para os processos do crescimento, desde a germinação e para os processos de expansão celular e atividades metabólicas. Dessa forma, todos os aspectos do crescimento e desenvolvimento das plantas são afetados pela deficiência hídrica (Silva et al., 2011). No entanto, o déficit hídrico pode induzir mudanças fisiológicas importantes, conferindo tolerância às plantas de ambientes deficitários em água.

Tabela 5. Matéria seca da raiz (MSR), matéria seca do caule (MSC), matéria seca da folha (MSF), e matéria seca total (MST) em plantas de *Sarcomphalus joazeiro* Mart. oriundas de sementes que passaram por ciclos de hidratação e desidratação HD (0-A, 1-B, 2-C e 3-C ciclos de HD) submetidas a um ciclo de seca através de diferentes tratamentos hídricos (Controle – plantas regadas diariamente, Estresse moderado – plantas regadas entre intervalos de 7 dias e 14dias, Estresse severo – plantas regadas entre intervalos de 21 dias e RE– plantas submetidas a reidratação após 21 dias de suspensão de rega). Letras iguais minúsculas entre

ciclos de HD e letras maiúsculas entre tratamentos hídricos, não diferiram entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Tratamentos hídricos

| 0 CICLO HD | | | | |
|--------------------|---------|---------|---------|---------|
| | MSR (g) | MSC(g) | MSF (g) | MST(g) |
| CONTROLE | 3,13aA | 3,14aA | 1,96aA | 11,23aA |
| E7 | 3,08aA | 2,72aA | 1,98aA | 9,16aA |
| E14 | 2,95 Aa | 1,87abB | 1,68bB | 8,15abA |
| E21 | 2,31bA | 1,24Bb | 1,05bB | 5,14bB |
| RE | 2,85aA | 2,45Aa | 1,55abB | 10,23aA |
| 1 CICLO HD | | | | |
| | MSR (g) | MSC(g) | MSF (g) | MST(g) |
| CONTROLE | 3,10aA | 3,07aA | 1,81aA | 12,24aA |
| E7 | 3,04aA | 2,84aA | 1,77aA | 10,13aA |
| E14 | 2,85aA | 2,74aA | 1,67aA | 9,64aA |
| E21 | 2,45bA | 2,23bB | 1,12bB | 8,57bA |
| RE | 2,41aA | 2,35abA | 1,54aA | 9,97abA |
| 2 CICLOS HD | | | | |
| | MSR(g) | MSC(g) | MSF(g) | MST(g) |
| CONTROLE | 2,97aA | 2,84Aa | 1,98aA | 10,21aA |
| E7 | 3,15aA | 2,75aA | 1,87aA | 11,52aA |
| E14 | 3,04aA | 2,71aA | 1,74aA | 9,67aA |
| E21 | 2,84bA | 1,88bB | 1,97aA | 10,62aA |
| RE | 2,55aA | 1,93aA | 1,57aA | 9,98aA |
| 3 CICLOS HD | | | | |
| | MSR (g) | MSC(g) | MSF(g) | MST(g) |
| CONTROLE | 3,51aA | 2,67aA | 1,81aA | 11,25aA |
| E7 | 3,47aA | 2,84aA | 1,77aA | 10,63aA |
| E14 | 2,19aA | 2,61aA | 1,67aA | 11,95aA |
| E21 | 2,07bA | 2,23bB | 1,12bB | 9,37aA |
| RE | 3,18aA | 2,35abA | 1,54aA | 10,21aA |

Os resultados obtidos no presente trabalho revelam que os ciclos de hidratação e desidratação – HD aplicados nas sementes, não apenas favoreceram a germinação como induzem um maior desempenho das plântulas em situação de déficit hídrico, o que comprova a existência de memória hídrica nas plântulas.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os ciclos de hidratação e desidratação – HD favoreceram os parâmetros germinativos da espécie estudada, onde as sementes submetidas a três ciclos de HD apresentaram um maior IVE, uma maior taxa de germinação e um menor tempo necessário para a metade das sementes germinarem (T_{50}).

Houve um acúmulo de prolina nas sementes submetidas aos ciclos de HD o que pode ser indicativo de atividade osmorreguladora desse soluto orgânico favorecendo a permanência do vigor das unidades de dispersão mesmo em situações de baixa disponibilidade hídrica.

As plantas jovens oriundas de sementes submetidas aos ciclos de HD apresentaram maiores concentrações de açúcares solúveis e prolina, importantes solutos orgânicos para osmorregulação e consequentemente mitigar os efeitos da saída de água das células vegetais.

A memória hídrica encontrada nas sementes de *S. joazeiro* conferiu as plantas jovens uma maior tolerância à seca. Os indicadores de fotossíntese da espécie estudada decresceram fortemente sob déficit hídrico aos 21 dias; a recuperação desses indicadores ocorreu no período de sete dias, restabelecendo todas as características fotossintéticas das plantas irrigadas.

Intervalos de até quatorze dias de rega não comprometem a produção e sobrevivência das plantas jovens de *Sarcomphalus joazeiro*, e associados a ciclos de hidratação e desidratação – HD nas sementes podem favorecer outros parâmetros como, por exemplo, maiores taxas germinativas, contribuindo para a produção de mudas em maiores quantidades e mais vigorosas, o que pode auxiliar em programas de restauração de áreas degradadas da Caatinga.

6. REFERÊNCIAS

- ARAÚJO, J. D. P.** 2014. Efeito dos estresses de seca e calor sobre plântulas de pinhão manso (*Jatropha curcas L.*). 2014. 21f. Dissertação (Mestrado em Ciências Florestais) - Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal.
- Barbosa, D. C. A.; Prado M. C. G.** 1991. *Quantitative analysis of ter growth of Parkinsonia aculeate L. in a greenhouse*. *Phyton*, vol. 52, n. 1, p.17-26.
- Buckeridge, M. S; Tiné, M. A. S; Lima, D. U; Santos, H. P.** 2000. Mobilisation of storage cell wall polysaccharides in seeds. *Plant Physiology and Biochemistry* 38: 141-156.
- Carvalho, N. M; Nakagawa, J.** 2000. Sementes: ciência, tecnologia e produção. Funep: Jaboticabal.
- Carvalho, P.E.R.** 2007. Juazeiro: *Ziziphus Joazeiro*. Circular técnica n° 139. Embrapa, 8p.
- Cheryad', E.V.** 2005. Effect of Water Stress on the Photosynthetic Apparatus of Plants and the Protective Role of Cytokinins: A Review. *Applied Biochemistry and Microbiology*, vol. 41, p.115-128.
- Cseke, L.J; Kirakosyan, A; Kaufman, P. B; Warber, S; Duke, J. A; Brielmann, H. L.** 2006. Natural products from plants. 2. ed. Taylor & Francis.
- Da Silva Castro, D., dos Santos, A. O., da Silva Lobato, A. K., da Silva Gouvea, D. D., Neto, C. F. O., da Cunha, R. L. M., & da Costa, R. C. L.** 2007. Concentrações de prolina e carboidratos solúveis totais em folhas de teca (*Tectona grandis L. f.*) submetida ao estresse hídrico. *Revista Brasileira de Biociências*, 5(S2), 921-923.
- De Andrade Melo, L. D. F.; Junior, J. L. D. A. M.; Santos, E. L., Soares.; L. B. F., de Alencar Paes, R.; Chaves, L. F. G., & de Assis, W. O.** 2020. Potencial fisiológico de sementes de milho crioulo submetidas ao estresse hídrico e salino. *Brazilian Journal of Development*, 6(5), 32076-32086.
- Dias, D. C. F. S; Brasileiro, B. G; Borges, E. E. L. E. Dias, L. A. S.** 2013. Alterações fisiológicas e bioquímicas em sementes de repolho (*Brassica oleracea* var. *capitata*) osmocondicionadas. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia (Produção Vegetal)) - Universidade Federal de Viçosa.
- Diniz, M. C. M.** 1999. Desenvolvimento e rebrota da cunhã (*Clitoria ternatea* L.) sob estresse hídrico, em associação com fungos micorrízicos-*Bradyrhizobium*. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife.

- Diógenes, F. E. P.; Oliveira, A. K.; Coelho, M. F. B.; Maia, S. S. S.; Azevedo, R. A. B.** 2010. Pré-tratamento com ácido sulfúrico na germinação de sementes de *Ziziphus joazeiro* Mart.: Rhamnaceae. Revista Brasileira de Plantas Medicinais, v. 12, n. 2, p. 188-194.
- Dos Santos, M. J., De Freitas, L. L., & Da Silva, E. N.** 2021. Physiological responses in *Jatropha curcas* plants subjected to water deficit. *Edição Especial.*, n.4, v.1, 2021 p.95-107.
- Dubrovsky, J.G.** 1996. Seed hydration memory in Sonoran Desert cacti and its ecological implication. *American Journal of Botany*, vol. 83, p. 624-632.
- Dubrosky, J.G.** 1998. Discontinuous hydration as a facultative requirement for seed germination in two cactus species of the Sonoran Desert. *Journal of the Torrey Botanical Society*, vol. 125, (p. 33-39).
- Dubois, M.; Gilles, K. A; Hamilton, J. K; Rebers, P. A; Smith, F.** 1956. Colorimetric method for determination of sugars and relates substantes. *Analytical Chemistry*, v. 28, p. 350-356.
- Farooq, M.; Basra, S.M.A.; Ahmad, N.; Hafeez, K.** 2005. Thermal hardening: a new seed vigor enhancement tool in rice. *Journal of Integrative Plant Biology*, v.47, n.2, p.187-193.
- Freitas, R. S; Silva, E. C. ; Meiado, M. V.** 2021. Seed discontinuous hydration does not benefit seeds germination, but improves drought tolerance of *Triplaris gardneriana* seedlings. *ACTA SCIENTIARUM. BIOLOGICAL SCIENCES (ONLINE)*, v. 43, p. e.55992.
- Hauenschild F, Matuszak S, Muellner-Riehl AN, Favre A.** 2016. Phylogenetic relationships within the cosmopolitan buckthorn family (Rhamnaceae) support the resurrection of *Sarcomphalus* and the description of *Pseudoziziphus* gen. nov. *Taxon*. 65(1):47–64.
- Kerbauy, G. B.** 2008. *Fisiologia Vegetal*. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan.
- Lima, A. T.; Meiado, M. V.** 2018. Effect of hydration and dehydration cycles on *Mimosa tenuiflora* seeds during germination and initial development. *South African Journal of Botany*, v. 116, p. 164-167, 2018.
- Lima, A. T. ; Cunha, P. H. J. ; Dantas, B. F. ; Meiado, M. V.** 2018. Does discontinuous hydration of *Senna spectabilis* (DC.) H.S. Irwin & Barneby var. *excelsa* (Schrad.) H.S. Irwin & Barneby (Fabaceae) seeds confer tolerance to water stress during seed germination? *Journal of Seed Sciences (antiga Revista Brasileira de Sementes)*, v. 40, p. 36-43.
- Lopes, L.S.; Gallão, M.I.; Bertini, C.H.C.M.** 2013. Mobilisation of reserves during germination of *Jatropha* seeds. *Revista Ciência Agronômica.*, v. 44, n. 2, p. 371-378.
- Marencó, R.A.; Lopes, N.F.** 2005. *Fisiologia Vegetal: Fotossíntese, Respiração, Relações Hídricas e Nutrição Mineral*. Viçosa: UFV.

- Maxwell, K.; Johnson, G.** 2000. Chlorophyll fluorescence-a practical guide. *Journal of Experimental Botany*, Oxford, v.51, p.659- 668.
- Meiado, M.V.** 2013. Evidências de memória hídrica em sementes da Caatinga. Pp. 89-94. In: Stelmann, J.R.; Isaias, R.M.S.; Modolo, L.V.; Vale, F.H.A. & Salino, A.
- Melo, A. F. R; Silva, E. C; Freitas, R. S; Oliveira, M. F. C; Meiado, M. V.** 2019. Influência do hidrocondionamento de sementes no crescimento de plântulas de *Enterolobium contortisiliquum* (Vell.) Morong submetidas ao déficit hídrico. In: Jéssica Aparecida Prandel. (Org.). (Org.). Desafios Teóricos e Aplicados da Ecologia Contemporânea. 1ed.: Atena Editora, v. 1, p. 41-51.
- Nogueira, S. Dos S. S; Nagai, V.** 1986. Deficiência hídrica simulada nos diferentes estádios de desenvolvimento de uma cultura precoce de soja. Porto Alegre: IV Seminário Nacional de Pesquisa de Soja.
- Paiva, R.** 2000. Textos Acadêmicos – Fisiologia de Plantas Ornamentais. Lavras: UFLA, p. 13.
- Pessoa, J. L., Freire, A. L. O., & Costa, A. S.** 2017. Trocas gasosas de plantas de *Handroanthus impetiginosus* (Mart. ex DC) Mattos submetidas ao déficit hídrico e posterior reidratação. *Revista de Ciências Agroveterinárias*, 16(3), 269-276.
- Marques, F. R. F.; Meiado, M. V.; Castro, N. M. C. R.; Campos, M. L. O.; Mendes, K. R.; Santos, O. O.; Pompelli, M. F.** 2015. GerminaQuant: A new tool for germination measurements. *Journal of Seed Science*, v. 37, n. 3, p. 248-255.
- Medeiros, J. M. S. D., Ribeiro, P. P. C., Freitas, E. P. S., Santos, J. A. B. D., & Damasceno, K. S. F. D. S. C.** 2018. Composição química da semente da faveleira (*Cnidoscolus phyllacanthus*) em diferentes períodos sazonais. *Revista Ceres*, 65, 286-290.
- Nascimento, J. P. B.; Dantas, B. F.; Meiado, M. V.** 2021. Hydropriming changes temperature thresholds for seed germination of tree species from the Caatinga, a Brazilian tropical dry forest. *Journal of Seed Science*, v. 43.
- Nascimento, N. F. D., Nascimento, L. B. D. B. D., & Gonçalves, J. F. D. C.** 2019. Respostas funcionais foliares de plantas jovens de *Hevea brasiliensis* submetidas à deficiência hídrica e à reidratação. *Ciência Florestal*, 29, 1019-1032.
- Nelson, N. A.** 1944. Photometric adaptation of the Somogyi method for the determination of glucose. *Journal of Biological Chemistry.*, v. 153, p. 375-380.

Rito, K.F.; Rocha, E.A.; Leal, I.R. & Meiado, M.V. 2009. As sementes de mandacaru têm memória hídrica? Boletín de la Sociedad Latinoamericana y del Caribe de Cactáceas y otras Suculentas 6(1): 26-31.

Santos Junior, J. L.; Freitas, R. S; da Silva, E. C. 2021. Discontinuous hydration improves germination and drought tolerance in *Annona squamosa* seedlings. RESEARCH, SOCIETY AND DEVELOPMENT, v. 10, p. e56710313706-10.

Santos, C. S. (2019). Mecanismos envolvidos na tolerância à dessecação em sementes e plântulas de *Tabebuia aurea* (Silva Manso) Benth. & Hook.f. ex S. Moore (Bignoniaceae). 2019. 85 f. Dissertação (Mestrado em Ecologia e Conservação) - Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão, SE.

Santos, R. F; Santos, C. S; Meiado, M. V. 2018. A hidratação descontínua de sementes de *Cereus jamacaru* DC. subsp. *jamacaru* (Cactaceae) confere tolerância ao estresse hídrico?. INFORMATIVO ABRATES, v. 28, p. 55-58.

Santos, L. D. J., Silva, E. C., & Silva Junior, C. D. 2014. Análise preliminar das trocas gasosas, fluorescência da clorofila e potencial hídrico de plantas de juazeiro em uma região semi-árida de Sergipe, Brasil. *Scientia Plena*, 10(2), 1-10.

Santos Junior, J. L. dos, Oliveira, M. F. da C., & Silva, E. C. da. 2020. Acúmulo de solutos orgânicos em mudas de *Ceiba glaziovii* (Kutze) Kum. em resposta à seca intermitente. *Scientia Plena*, 16(1).

Silva Santos, J. A., Trindade Lima, A., Ciríaco da Silva, E., & Vinicius Meiado, M. 2018. Caracterização das curvas de embebição e desidratação de sementes de *Tabebuia aurea* (Silva Manso) Benth. & Hook. f ex S. Moore (Bignoniaceae). *Informativo Abrates*, 28(1).

Silva, E. C. Albuquerque; M. B; Azevedo, A. D.; Silva Junior, C. D. 2013. Drought and its consequences to plants- from individual to ecosystem. In: AKINCI, S. (org.) *Responses of Organisms to Water Stress*. s. l. InTech.

Silva, E.N.; Silveira, J.A.G.; Ribeiro, R.V.; Vieira, S.A. 2015. 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.

Sena, L. M., de Arruda, J. F., de Brito, P. O. B., Costa, F. R. da S., Pontes Filho, R. A., & Gondim, F. A. 2021. Cultivo de plantas de *Erythrina velutina* em substrato contendo vermicomposto. *Nativa*, 9(3), 247-252.

- Smirnoff, N.** 1995. Metabolic flexibility in relation to the environment. In: *Environment and plant metabolism: flexibility and acclimation*. Oxford: Bios Scientific publishers. (p. 1-13).
- Soares, B. E. A. S.; Benício, V. C. ; Souza, H. M. dos S. ; Silva, E. I. G. e ; Mendes, M. L. M.; Messias, C. M. B. de O.** 2022. Physicochemical characterization of functional creamy candy from the fruit of juazeiro (*Ziziphus joazeiro* Mart.). Research, Society and Development, [S. l.], v. 11, n. 9.
- Taiz, L.; Zeiger,** 2004. E. Fisiologia Vegetal. Trad. de SANTARÉM, E.R. et al. 3. ed. Porto Alegre: ARTMED.
- Trovão, D. M. B. M.; Fernandes, P. D.; Andrade L. A.; Neto J. D.** 2007. Variações sazonais de aspectos fisiológicos de espécies da Caatinga. Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental, v.11, n.3, p.307-311.
- Ursulino, M. M., Alves, E. U., Araújo, P. C., Alves, M. M., Ribeiro, T. D. S., & Silva, R. D. S.** 2019. Superação de dormência e vigor em sementes de Fava-d'Anta (*Dimorphandra gardneriana* Tulasne). *Ciência Florestal*, 29, 105-115.
- Villagra, P. E.; Cavagnaro, J. B.** 2006. Water stress effects on the seedling growth of *Prosopisargentina* and *Prosopisalpataco*. *Journal of Arid Environments*, vol. 64, p. 390-400.
- Xu, Yong-Jiang; Wang, C.; Ho, W. E. ONG, C. N.** 2014. Recent developments and applications of metabolomics in microbiological investigations. *Trends in analytical chemistry*, v. 56, p. 37-48.
- Williams, M. D.; Reeves, R; Resar, L.S.; Hill, H, H, JR.** 2013. Metabolomics of colorectal cancer: past and current analytical platforms. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, v.405, n. 15, p. 5013-5030.
- Wilson TB e Witkowsky ETF.** 1998. Water Requirements for Germination and Early Seedling Establishment in Four African savana Woody Plant Species. *Jounal of Arid Environments*, 38(4): 541-550.
- Zlatev, Z.S.; Yordanov, I.T.** 2004. Effects of soil drought on photosynthesis and chlorophyll fluorescence in bean plants. *Journal Plant Physiology*, vol. 30, n. 3/4, (p.3-18).