

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO**  
**CENTRO DE BIOCÊNCIAS**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA VEGETAL**

**KARLA VIVIANE DE FIGUEIREDO**

**ECOFISIOLOGIA DE DUAS ESPÉCIES LENHOSAS, SEMPRE-VERDE E  
DECÍDUA: ESTUDO DE CASO COM *Cynophalla flexuosa* e *Annona leptopetala*  
EM FLORESTA TROPICAL SAZONALSECA**

**RECIFE-PE**

**2016**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO**  
**CENTRO DE BIOCIÊNCIAS**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA VEGETAL**

**KARLA VIVIANE DE FIGUEIREDO**

**ECOFISIOLOGIA DE DUAS ESPÉCIES LENHOSAS, SEMPRE-VERDE E  
DECÍDUA: ESTUDO DE CASO COM *Cynophalla flexuosa* e *Annona leptopetala*  
EM FLORESTA TROPICAL SAZONAL SECA**

Tese de doutorado submetida ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal do Centro Biociências da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito para obtenção do título de doutora.

**Orientador:** Prof. Dr. Mauro Guida dos Santos

**RECIFE**

**2016**

Catálogo na fonte

Elaine Barroso

CRB 1728

**Figueiredo, Karla Viviane de**

**Ecofisiologia de duas espécies lenhosas, sempre-verde e decídua: estudo de caso com *Cynophalla flexuosa* e *Annona leptopetala* em Floresta Tropical Sazonal Seca / Karla Viviane de Figueiredo- Recife: O Autor, 2016.**

**91 folhas : il., fig., tab.**

**Orientador: Mauro Guida dos Santos**

**Tese (doutorado) – Universidade Federal de Pernambuco.  
Centro de Biociências. Biologia Vegetal, 2016.**

**Inclui referências e anexos**

- 1. Ecofisiologia vegetal 2. Caatinga 3. Florestas tropicais I. Santos, Mauro Guida dos (orientador) II. Título**

**571.2**

**CDD (22.ed.)**

**UFPE/CCB-2016-333**

KARLA VIVIANE DE FIGUEIREDO

**ECOFISIOLOGIA DE DUAS ESPÉCIES LENHOSAS, SEMPRE-VERDE E DECÍDUA:  
ESTUDO DE CASO COM *Cynophalla flexuosa* e *Annona leptopetala* EM FLORESTA  
TROPICAL SAZONAL SECA**

APROVADA EM 22/02/2016

BANCA EXAMINADORA:

---

Prof. Dr. Mauro Guida dos Santos (ORIENTADOR) – UFPE

---

Prof. Dr. Marciel Teixeira de Oliveira – UFPE

---

Prf<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Terezinha de Jesus Rangel Camara- UFRPE

---

Prf<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Cláudia Ulisses de Carvalho Silva- UFRPE

---

Prof Dr. Antonio Fernando Moraes de Oliveira– UFPE

**RECIFE**

**2016**

“O único lugar onde sucesso vem antes do trabalho é no dicionário”. (Albert Einstein)

Dedico este trabalho à Aquele que não me  
deixou desistir e tornou tudo isso possível:  
**Deus.**

Dedico.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pela fidelidade das promessas, pelas muitas bênçãos e amor incondicional que derrama sobre mim. Agradeço a Ele também por dia-a-dia renovar minhas forças.

Ao meu orientador Mauro Guida, agradeço a confiança, paciência, ensinamentos e por todo incentivo durante o trabalho.

À minha família por toda paciência, incentivo e apoio emocional e espiritual durante o período de realização desse trabalho. Em especial a Mário Lima, meu esposo, por toda paciência, palavras de incentivo e dedicação que foram fundamentais para me ajudar a terminar este trabalho.

Agradeço especialmente a Gilberto da Silva Couto, meu pai, por cada vez que se dispôs a deixar seu trabalho e me acompanhar nas coletas, pelas inúmeras vezes em que ele foi o “MacGyver” dando jeito em tudo para que nada atrapalhasse a coleta dos dados, por ter sido meus braços e minhas pernas no campo. Também a Silvia Caroline Pereira por todo apoio durante as intermináveis idas à campo.

Agradeço a todos os amigos e colegas que de alguma forma contribuíram para a realização desse trabalho, no campo (Rebeca Rivas, Camila Dias) na bancada (Gabriela Frosi). Em especial, à Hiram Marinho Falcão, pelos conselhos, incentivo em todos os momentos que eu achei que iria dar errado e por ajudar a tornar esse trabalho melhor. Obrigada pela amizade que foi construída e que Deus continue abençoando-a.

À Mariana Lins, Mariana Oliveira e Natália Real pela campanha, amizade, pelas experiências e conhecimentos trocados; pelo conforto nos momentos difíceis, pelos conselhos e paciência.

Aos demais colegas do Laboratório de Ecofisiologia Vegetal (LEV), que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho.

Aos professores Ian Dodd (Universidade de Lancaster, UK) e Alfonso Albacete (Universidade de Murcia, CEBAS/CISIC, Espanha) pela recepção e acolhimento durante o estágio sanduíche, pelos conhecimentos trocados e pelos ótimos resultados obtidos.

À professora Gladys Flávia Melo-de-Pina (Instituto de Biociências, USP) pela recepção e acolhimento e pela oportunidade de trabalhar com alguém tão apaixonada pelo que faz. Obrigada por todos os ensinamentos.

Aos colegas e amigos que ganhei durante os estágios extras: Fernanda Cordeiro, Almudena Romeo e Anne Tomey por terem compartilhado suas casas comigo; Carlos De Ollas, Jaime Puertolas e Juan Pérez pelas experiências de laboratório trocadas, Arlete Simões e Lígia Barizon pelo companheirismo nos dias gelados de Lancaster.

Aos órgãos de fomento: Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco (FACEPE) pela concessão da bolsa de doutorado, e por não ter atrasado nenhum pagamento e tornando possível a realização desse trabalho; e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão da bolsa para doutorado sanduíche que foi fundamental para obtenção de dados inéditos e inovadores desse trabalho.



## LISTA DE FIGURAS

## Capítulo 1

- Figura 1** Variáveis ambientais em Serra Talhada (Pernambuco, Brasil). (A) Médias históricas de precipitação e temperatura; (B) Precipitação mensal acumulada nos três anos de medidas (setas indicam os meses de coleta); (C) Balanço hídrico do solo; (D) Variação sazonal do Déficit de Pressão de Vapor (DPV) e Umidade do Solo (US). Barras representam a média  $\pm$  erro padrão (n=5). Letras diferentes indicam diferenças estatísticas por teste Newman-Keul com nível de significância de 5 por cento entre as variáveis. Os dados históricos de precipitação e temperatura representa o ano de 2009-2015. ([Http://www.ipa.br/indice\\_pluv.php#calendario\\_indices](http://www.ipa.br/indice_pluv.php#calendario_indices)) 46
- Figura 2** Variação sazonal nas trocas gasosas na sempre-verde *Cynophalla flexuosa* (L.) J.Presl em uma floresta tropical seca, município de Serra Talhada, Pernambuco, Brasil. (A) Condutância estomática ( $g_s$ ); (B) Assimilação de CO<sub>2</sub> (A); (C) Potencial hídrico foliar ( $\Psi_f$ ); (D) Eficiência do uso da água (EUA=A/E). Valores representam a média  $\pm$  erro padrão (n=3). Letras diferentes indicam diferenças estatísticas por teste Newman-Keul com nível de significância de 5 por cento entre as variáveis..... 47
- Figura 3** Alterações na bioquímica foliar na sempre-verde *Cynophalla flexuosa* (L.) J.Presl em uma floresta tropical seca no Brasil ao longo das estações: (A) Carboidratos solúveis (CST); (B) Total de proteínas solúveis (PST); (C) Aminoácidos livres totais (ALT); (D) Amido; (E) Frutose; (F) Sacarose. Valores representam a média  $\pm$  erro padrão (n=5). Letras diferentes indicam diferenças estatísticas por teste Newman-Keul com nível de significância de 5 por cento entre as variáveis..... 48
- Figura 4** Variação sazonal na concentração de pigmentos foliar na sempre-verde *Cynophalla flexuosa* (L.) J.Presl em uma floresta tropical seca no Brasil: (A) Clorofila a (Clo a), (B) Clorofila b (Clo b), (C) Carotenóide (Car); (D) Clorofila a/b (Clo a/b), (E) Total de clorofila/ carotenoides (Clo (a+b)/Car). Valores representam a

média  $\pm$  erro padrão (n=5). Letras diferentes indicam diferenças estatísticas por teste Newman-Keul com nível de significância de 5 por cento entre as variáveis..... 49

- Figura 5** Variação sazonal nas concentrações foliares endógenas de fitohormônios na sempre-verde *Cynophalla flexuosa* (L.) J.Presl em uma floresta tropical seca, Serra Talhada, Pernambuco, no Brasil. (A) Ácido Abscísico (ABA); (B) Ácido jasmônico (AJ); (C) Trans-Zeatina (tZ); (D) Ácido Giberélico (GA 4); (E) Ácido Salicílico (AS); (F) Precursor do etileno ácido 1-aminociclopropano-1-carboxílico (ACC). Valores representam a média  $\pm$  erro padrão (n=3). Letras diferentes indicam diferenças estatísticas por teste Newman-Keul com nível de significância de 5 por cento entre as variáveis..... 50

- Figura 6** Anatomia foliar da uma sempre-verde *Cynophalla flexuosa* (L.) J.Presl em uma floresta tropical seca, Serra Talhada Pernambuco, Brasil. (A) Secção transversal da região mediana foliar: (1) Epiderme unisseriada com células poligonais na face adaxial; (2) Cutícula; (3) Epiderme unisseriada papilosa na face abaxial; (4) Estômato; (5) Células do parênquima paliçádico; (6) Células braciiformes do parênquima lacunoso; (7) Cordões de fibras adjacentes; (B) Secção transversal da região da nervura central da folha: (8) Cilindro vascular fechado envolvido por fibras perivasculares; (C) e (E) Face adaxial da folha vista em Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV): (9) Cera epicuticular do tipo crosta; (D) e (F) Face abaxial da folha vista em Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV): (10) Cera epicuticular do tipo filme e ornamentação da parede celular formando estrutura papiplosa e sulcada próximo aos estômatos..... 51

- Figura 7** Modelo causal utilizando modelagem de equações estruturais com resultados representados pelo método de “Path Analysis”. Modelo válido com nível de probabilidade maior que 5%. Foram usados dados da espécie sempre-verde, *Cynophalla flexuosa*, ocorrente em uma floresta tropical seca. ( $g_s$ ) condutância estomática; (A)

Assimilação líquida de CO<sub>2</sub>; Potencial hídrico foliar ( $\Psi_f$ ), (AJ) ácido jasmônico; (ABA) ácido abscísico; (ACC) Precursor do etileno ácido 1-aminociclopropano-1-carboxílico..... 53

## Capítulo 2

- Figura 1** Variáveis ambientais em Serra Talhada (Pernambuco, Brasil). **(A)** Médias históricas de precipitação e temperatura; **(B)** Precipitação mensal acumulada nos três anos de medidas; **(C)** Balanço hídrico do solo; **(D)** Variação anual do Déficit de Pressão de Vapor (DPV) e Umidade do Solo (US). Barras representam a média  $\pm$  erro padrão (n=5). Letras diferentes indicam diferenças estatísticas por teste Newman-Keul com nível de significância de 5 por cento entre as variáveis. Os dados históricos de precipitação e temperatura representa o ano de 2009-2015. ([Http://www.ipa.br/indice\\_pluv.php#calendario\\_indices](http://www.ipa.br/indice_pluv.php#calendario_indices))..... 78
- Figura 2** Alterações nas trocas gasosas e *status* hídrico foliar na decídua, *Annona leptopetala* (R. E. Fr.) H. Rainer, em uma floresta tropical seca no Brasil ao longo das estações: **(A)** condutância estomática ( $g_s$ ); **(B)** assimilação de CO<sub>2</sub> (A); **(C)** Potencial hídrico foliar ( $\Psi_f$ ); **(D)** eficiência do uso da água (EUA=A/E). Valores representam a média  $\pm$  erro padrão (n=5). Letras diferentes indicam diferenças estatísticas por teste Newman-Keul com nível de significância de 5 por cento entre as variáveis..... 79
- Figura 3** Variação anual na concentração de pigmentos foliar na decídua, *Annona leptopetala* (R. E. Fr.) H. Rainer, em uma floresta tropical seca no Brasil: **(A)** Total de Clorofila a (Clo a); **(B)** Total Clorofila b (Clo b); **(C)** Total de Carotenoides (Car); **(D)** Relação Clorofila a/b (Clo a/b), **(E)** Relação Total de Clorofila/ Carotenoides (Clo (a+b)/ Car). Valores representam a média  $\pm$  erro padrão (n=5). Letras diferentes indicam diferenças estatísticas por teste Newman-Keul com nível de significância de 5 por cento entre as variáveis..... 80
- Figura 4** Alterações anual no metabolismo primário foliar na decídua, *Annona leptopetala* (R. E. Fr.) H. Rainer, em uma floresta tropical seca no Brasil **(A)** Carboidratos solúveis (CST); **(B)** Total de

proteínas solúveis (PST); (C) Aminoácidos livres totais (ALT); (D) Amido; (E) Frutose; (F) Sacarose. Valores representam a média  $\pm$  erro padrão (n=5). Letras diferentes indicam diferenças estatísticas por teste Newman-Keul com nível de significância de 5 por cento entre as variáveis..... 81

**Figura 5** Variação anual nas concentrações foliares endógenas de fitohormônios na decídua, *Annona leptopetala* (R. E. Fr.) H. Rainer, em uma floresta tropical seca no Brasil. (A) ácido abscísico (ABA); (B) ácido 1-aminociclopropano-1-carboxílico (ACC); (C) ácido jasmônico (A.J.); (D) ácido salicílico (A.S.). Valores representam a média  $\pm$  erro padrão (n=3). Letras diferentes indicam diferenças estatísticas por teste Newman-Keul com nível de significância de 5 por cento entre as variáveis..... 82

**Figura 6** Secções transversais da região mediana foliar e Microscopia eletrônica de varredura (MEV) de fragmento foliar da decídua, *Annona leptopetala* (R. E. Fr.) H. Rainer, em uma floresta tropical seca, Serra Talhada (Pernambuco, Brasil). (A) Secção transversal da região mediana foliar: (1) Epiderme unisseriada; (2) Estômato; (3) Câmara Subestomática; (4) Parênquima paliçádico bisseriado; (5) Células braciiformes do parênquima lacunoso; (6) Espaço intercelular; (B) Destaque para Ultraestrutura da cera epicuticular na face abaxial (8); (C) Face Adaxial com presença de tricomas(7) e ausência de estômatos; (D) Face abaxial evidenciando os tricomas (7) e estômatos abundantes (2)..... 83

**Figura 7** Análise de componente principal (PCA). Dados são apresentados para primeiro e segundo eixos. Símbolos representam os períodos de coleta de dados de *Annona leptopetala* (R. E. Fr.) H. Rainer, e os vetores todos os parâmetros analisados. **A**: Assimilação líquida de CO<sub>2</sub>; **g<sub>s</sub>**: condutância estomática; **ACC**: ácido 1-aminociclopropano-1-carboxílico (precursor do Etileno); **AJ**: ácido jasmônico; **□<sub>f</sub>** : potencial hídrico foliar; **Clo a/b**: clorofila a/b; **EUA**: eficiência no uso da água; **CST**: carboidratos solúveis; **AS**: ácido salicílico; **ALT**: aminoácidos livres; **Clo(a+b)/car**: clorofila

|                                                                                   |    |
|-----------------------------------------------------------------------------------|----|
| total/carotenoides; <b>Clo tot:</b> clorofila total; <b>ABA:</b> ácido abscísico; |    |
| <b>PST:</b> total de proteínas solúveis.....                                      | 84 |

## LISTA DE TABELAS

## Capítulo 1

- Tabela 1** Coeficiente ( $r$ ) e valores de  $P$  (mostrados em parênteses) da análise de correlação linear simples (Pearson  $r$ ) entre parâmetros relacionados ao status hídrico, trocas gasosas, bioquímica e concentrações endógenas de fitohormônios relacionados ao estresse em *Cynophalla flexuosa* (L.) J.Presl sobre condições de campo. Valores de  $P$  significantes ( $<0,05$ ) são mostrados em negrito..... 54
- Tabela 2** Variação na espessura foliar (EF), dos parênquimas paliçádico (EPP) e lacunoso (EPL) e das epidermes adaxial (ADA) e abaxial (ABA) de *Cynophalla flexuosa* (L.) J.Presl em condições de campo..... 55

## Capítulo 2

- Tabela1** Coeficiente de regressão múltipla ( $R^2$ ) e valores de  $P$  (mostrados em parênteses) entre parâmetros ambientais, como déficit de pressão de vapor (VPD), densidade do fluxo de fótons fotossintetizantes (DFFF) relacionados e umidade de solo (US), e parâmetros relativos ao status hídrico, trocas gasosas, bioquímica e concentrações endógenas de fitohormônios em *Annona leptopetala* (R. E. Fr.) H. Rainer, sobre condições de campo. Valores de  $R^2$  maiores que 0,80 são mostrados em negrito..... 85
- Tabela 2** Coeficiente ( $r$ ) e valores de  $P$  (mostrados em parênteses) da análise de correlação linear simples (Pearson  $r$ ) entre parâmetros relacionados ao status hídrico, trocas gasosas, bioquímica e concentrações endógenas de fitohormônios relacionados ao estresse, em *Annona leptopetala* (R. E. Fr.) H. Rainer, sobre condições de campo. Valores de  $P$  significantes ( $<0,05$ ) são mostrados em negrito..... 86

## Resumo

Crescimento de plantas em Florestas Tropicais Sazonalmente Secas (FTSS) requer uma série de ajustes fisiológicos e morfológicos no metabolismo das plantas. Neste trabalho, foram avaliadas as variações sazonais e anuais nas trocas gasosas, no potencial hídrico foliar ( $\Psi_f$ ), no metabolismo primário, na concentração de pigmentos fotossintéticos e nos níveis endógenos de hormônios e anatomia foliar de *Cynophalla flexuosa* (sempre-verde) e *Annona leptopetala* (decídua), afim de compreender quais atributos são responsáveis pelo desencadeamento dos padrões fenológicos. Água no solo e déficit de pressão de vapor (DPV) foram fatores ambientais que mais induziram mudanças no metabolismo foliar em ambas as espécies, que também têm fechamento estomático como resposta primária à condição de seca. Na sempre-verde, o ácido jasmônico (AJ) apareceu como regulador endógeno da condutância estomática ( $g_s$ ), enquanto o ácido salicílico (AS) foi o principal regulador do  $\Psi_f$  e eficiência no uso da água (EUA). Além disso, a trans-zeatina (tZ) e precursor do etileno (ACC) parecem ser importantes para o controle metabolismo primário e pigmentos. Essas respostas hormonais refletiram na capacidade dessa espécie de manter-se ativa mesmo durante períodos de seca severa. Por outro lado, na decídua foi observado maximização da  $g_s$  e assimilação (A) nos períodos chuvosos. Maior EUA ocorreu na transição seca-chuva. Também, a sobrevivência e crescimento dessa espécie parecem estar relacionados à dinâmica entre acúmulo e consumo de compostos de carbono (carboidratos, amido, frutose e sacarose) e nitrogênio (proteína e aminoácidos). Três hormônios se destacaram na regulação das trocas gasosas e de parâmetros relacionados à fotossíntese nessa decídua: ACC, ABA e AS. Nossos dados sugerem que a interação entre ACC e ABA teve grande importância na regulação das trocas gasosas e metabolismo de *A. leptopetala*. Ainda, o AS mostrou-se especialmente importante no período de menor disponibilidade hídrica, aumentando a EUA e a remobilização de solutos. As espécies apresentaram anatomia foliar distinta: *C. flexuosa* apresentou cutícula espessa, epiderme com células papilhosas na face abaxial, pouco espaço de ar no parênquima lacunoso, parênquima paliádico com 2-3 camadas de células, e os estômatos localizados na face abaxial encontram-se envolvidos por uma estrutura formada por ornamentação da parede periclinal que gera um microclima favorável às trocas gasosas. *A. leptopetala*, ao contrário, apresentou cutícula delgada, mas com ornamentações formadas pela cera epicuticular, maior espaço intercelular, tricomas e câmara subestomática.

**Palavras-chave:** Perene, Caatinga, tolerância a seca

## Abstract

Plant growth in Seasonally Tropical Dry Forests (STDF) requires physiological and morphological adjustments in plant metabolism. In this work, the seasonal and annual variations were evaluated in gas exchange, in leaf water potential ( $\Psi_f$ ), in primary metabolism, in photosynthetic pigments contents, in endogenous hormone levels and leaf anatomy of *Cynophalla flexuosa* (evergreen) and *Annona leptopetala* (deciduous), in order to understand which traits are responsible for the onset of phenological patterns. Soil water and vapor pressure deficit (VPD) were environmental factors that induced changes in foliar metabolism in both species, which also have stomatal closure as a primary response to drought conditions. In the evergreen species, jasmonic acid (JA) appeared as an endogenous regulator of stomatal conductance ( $g_s$ ), while salicylic acid (SA) was the main regulator of  $\Psi_f$  and water use efficiency (WUE). Furthermore, trans-zeatin (tZ) and the ethylene precursor (ACC) seem to be important for the primary metabolism and pigments control. These hormonal responses reflected in the ability of this species to remain active even during periods of severe drought. Moreover, in the deciduous species a maximization of  $g_s$  and  $CO_2$  assimilation (A) was observed in the rainy periods. Most WUE occurred in the transition drought-rainy season. Also, the survival and growth of this species appear to be related to the dynamics of accumulation and consumption of carbon compounds (carbohydrates, starch, fructose and sucrose) and nitrogen (proteins and aminoacids). Three hormones stood out in the regulation of gas exchange and parameters related to photosynthesis in the deciduous species: ACC, ABA and SA. Our data suggest that the interaction between ACC and ABA played an important role in the regulation of gas exchange and metabolism in *A. leptopetala*. In addition, SA has proved especially important in periods of low water availability, increasing the WUE and solutes' remobilization. The species showed distinct leaf anatomy: *C. flexuosa* showed thick cuticle, epidermis with papillose cells in the abaxial surface, little quantity of air space in the spongy parenchyma, palisade parenchyma with 2-3 layers of cells and stomata located on the abaxial surface are engaged by a structure formed by the ornamentation of periclinal wall which generates a favorable microclimate for gas exchange. *A. Leptopetala*, presented thin cuticle, with ornamentation formed by epicuticular wax, increased intercellular space, trichomes and substomatal space.

**Key-words:** Evergreen, Caatinga, Drought Tolerance, Phytoregulator.



## SUMÁRIO

|                                                                                                                                                                                                                                       |            |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------|
| <b>AGRADECIMENTOS.....</b>                                                                                                                                                                                                            | <b>iii</b> |
| <b>LISTA DE FIGURAS.....</b>                                                                                                                                                                                                          | <b>v</b>   |
| <b>LISTA DE TABELA.....</b>                                                                                                                                                                                                           | <b>x</b>   |
| <b>RESUMO.....</b>                                                                                                                                                                                                                    | <b>xi</b>  |
| <b>ABSTRACT.....</b>                                                                                                                                                                                                                  | <b>xii</b> |
| <b>1.APRESENTAÇÃO.....</b>                                                                                                                                                                                                            | <b>1</b>   |
| <b>2.FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....</b>                                                                                                                                                                                                   | <b>3</b>   |
| <b>2.1. Floresta Tropical Sazonal Seca.....</b>                                                                                                                                                                                       | <b>4</b>   |
| <b>2.2.Mecanismos de tolerância à seca.....</b>                                                                                                                                                                                       | <b>5</b>   |
| <b>2.3 Principais hormônios vegetais envolvido na resposta à estresse abiótico.....</b>                                                                                                                                               | <b>8</b>   |
| <b>3.REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>                                                                                                                                                                                              | <b>10</b>  |
| <b>CAPÍTULO 1: Variação sazonal nas relações hídricas, balanço de fitorreguladores e anatomia foliar sob condições de floresta tropical seca: um estudo de caso em <i>Cynophalla flexuosa</i> espécie sempre verde e lenhosa.....</b> | <b>21</b>  |
| <b>Resumo.....</b>                                                                                                                                                                                                                    | <b>22</b>  |
| <b>Introdução.....</b>                                                                                                                                                                                                                | <b>23</b>  |
| <b>Materiais e métodos.....</b>                                                                                                                                                                                                       | <b>25</b>  |
| <i>Espécie estudada e local de estudo.....</i>                                                                                                                                                                                        | <i>25</i>  |
| <i>Status hídrico foliar e do solo.....</i>                                                                                                                                                                                           | <i>25</i>  |
| <i>Trocas gasosas.....</i>                                                                                                                                                                                                            | <i>26</i>  |
| <i>Análises bioquímicas.....</i>                                                                                                                                                                                                      | <i>26</i>  |
| <i>Extração e análise hormonal.....</i>                                                                                                                                                                                               | <i>27</i>  |
| <i>Análises anatômicas.....</i>                                                                                                                                                                                                       | <i>27</i>  |
| <i>Análise estatística.....</i>                                                                                                                                                                                                       | <i>28</i>  |
| <b>Resultados .....</b>                                                                                                                                                                                                               | <b>28</b>  |
| <i>Status hídrico foliar e do solo.....</i>                                                                                                                                                                                           | <i>28</i>  |
| <i>Trocas gasosas.....</i>                                                                                                                                                                                                            | <i>29</i>  |
| <i>Análises bioquímicas.....</i>                                                                                                                                                                                                      | <i>30</i>  |
| <i>Análise de fito-hormônios.....</i>                                                                                                                                                                                                 | <i>31</i>  |
| <i>Anatomia foliar.....</i>                                                                                                                                                                                                           | <i>32</i>  |
| <b>Discussão.....</b>                                                                                                                                                                                                                 | <b>33</b>  |
| <b>Agradecimentos.....</b>                                                                                                                                                                                                            | <b>38</b>  |

|                                                                                                                                                                           |           |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>Referências.....</b>                                                                                                                                                   | <b>39</b> |
| <b>ANEXOS CAPÍTULO 1.....</b>                                                                                                                                             | <b>45</b> |
| <b>CAPÍTULO 2: Aclimação do metabolismo foliar à disponibilidade hídrica da espécie lenhosa <i>Annona leptopetala</i> em uma floresta tropical sazonalmente seca.....</b> | <b>57</b> |
| <b>Resumo.....</b>                                                                                                                                                        | <b>58</b> |
| <b>Introdução.....</b>                                                                                                                                                    | <b>59</b> |
| <b>Materiais e métodos.....</b>                                                                                                                                           | <b>60</b> |
| <i>Espécie estudada e local de estudo.....</i>                                                                                                                            | <i>60</i> |
| <i>Status hídrico foliar e do solo.....</i>                                                                                                                               | <i>61</i> |
| <i>Trocas gasosas.....</i>                                                                                                                                                | <i>61</i> |
| <i>Análises bioquímicas.....</i>                                                                                                                                          | <i>62</i> |
| <i>Extração e análise hormonal.....</i>                                                                                                                                   | <i>62</i> |
| <i>Análises anatômicas.....</i>                                                                                                                                           | <i>63</i> |
| <i>Análise estatística.....</i>                                                                                                                                           | <i>63</i> |
| <b>Resultados .....</b>                                                                                                                                                   | <b>64</b> |
| <i>Status hídrico foliar e do solo.....</i>                                                                                                                               | <i>64</i> |
| <i>Trocas gasosas.....</i>                                                                                                                                                | <i>65</i> |
| <i>Análises bioquímicas.....</i>                                                                                                                                          | <i>65</i> |
| <i>Análise hormonal.....</i>                                                                                                                                              | <i>66</i> |
| <i>Anatomia foliar.....</i>                                                                                                                                               | <i>67</i> |
| <b>Discussão.....</b>                                                                                                                                                     | <b>67</b> |
| <b>Agradecimentos.....</b>                                                                                                                                                | <b>71</b> |
| <b>Referências.....</b>                                                                                                                                                   | <b>72</b> |
| <b>ANEXOS CAPÍTULO 2.....</b>                                                                                                                                             | <b>77</b> |
| <b>CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>                                                                                                                                          | <b>87</b> |
| <b>ANEXO (Normas da Revista Tree Physiology).....</b>                                                                                                                     | <b>90</b> |

## **1. APRESENTAÇÃO**

Nas últimas décadas, os estudos ecofisiológicos de árvores de florestas tropicais sazonalmente secas (FTSS) têm recebido especial atenção devido à importância do entendimento do uso da água pelas plantas nesses ecossistemas. O estresse hídrico nestas florestas tem sido atribuído, principalmente, à sazonalidade de precipitação e à alta temperatura, que refletem diretamente nos padrões fenológicos e fisiológicos das FTSS. Apesar do esforço para entender como funcionam as espécies lenhosas em formações vegetais com marcada sazonalidade climática, ainda pouco se conhece.

A Caatinga, ecossistema tipicamente brasileiro, é tratada como floresta tropical sazonal seca, uma vez que é caracterizada por elevadas temperaturas e chuvas irregulares. Diferentes padrões fenológicos são encontrados nesse ecossistema: desde espécies totalmente decíduas até sempre-verdes, hábeis para tolerar danos causados pelos períodos de estiagem.

A ocorrência simultânea de espécies sempre-verdes e decíduas mostra que a condição de seca não seria um fator limitante, contudo, deve existir algum mecanismo, com relação ao uso da água, que favoreça a condição sempre-verde e/ ou o desencadeamento das fenofases durante a estação seca. Esta situação reflete que essas plantas devem apresentar diferentes características morfológicas e fisiológicas para suportar o período de seca.

Embora nas últimas décadas os levantamentos sobre a flora da caatinga tenham avançado mostrando a riqueza de espécies do semiárido nordestino, o conhecimento a respeito da performance das plantas dentro deste ecossistema é ainda escasso. Ainda são difíceis de serem respondidas, quando se trata da Caatinga, perguntas como: Quais parâmetros fisiológicos são chaves para o desencadeamento de cada padrão fenológico ao longo da variação sazonal marcante? Quais atributos ecofisiológicos possuem uma espécie para se manter verde durante a maior parte dos meses de seca do ano? Que alterações fisiológicas ocorrem em uma espécie decídua que asseguram sua sobrevivência em cada ciclo seca/chuva?

Dessa forma, este estudo visa contribuir com informações sobre ecofisiologia de duas espécies nativas da Caatinga- *Cynophalla flexuosa* (sempre verde) e *Annona leptopetala* (caducifolia), por meio da compreensão dos mecanismos de trocas gasosas, balanço hormonal, bioquímica e caracterização anatômica que permitirão entender quais características favorecem a condição sempre-verde ou caducifolia durante a estação seca em uma área de Caatinga.

## **2.FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA**

## 2.1 Floresta Tropical Sazonal Seca

As florestas tropicais sazonais secas (FTSS) abrangem 42% das florestas tropicais do mundo, sendo que na América do Sul, eles representam apenas 22% da área florestal (MURPHY e LUGO, 1986; MILES et al 2006). A temperatura média das FTSS é de 25°C, com médias globais de precipitação anual variando de 700 mm a 2000 mm, com pelo menos três meses secos no ano (SANCHEZ-AZOFEIFA et al. 2005). Nas FTSS são encontrados uma grande variedade de comportamentos fenológicos e a co-ocorrência de espécies decíduas e sempre-verdes torna este um ambiente bastante interessante para estudos ecofisiológicos, principalmente no que diz respeito às estratégias de uso da água (HOLBROOK et al 1995; EAMUS, 1999; EAMUS et al 1999).

No Brasil, a FTSS é representada pela Caatinga, que ocupa aproximadamente 735 mil km<sup>2</sup> no Nordeste do Brasil (LIMA et al 2012). Esse ecossistema é caracterizado pela irregularidade na distribuição anual das chuvas, que varia de 240 mm a 700 mm (PRADO, 2003) e por alta evapotranspiração que excede a precipitação (SAMPAIO, 1995). A vegetação da Caatinga apresenta uma gama de deciduidade: desde espécies totalmente decíduas até sempre-verdes (LIMA e RODAL 2010; LIMA et al 2012; ALBUQUERQUE et al 2012) que está condicionada ao déficit hídrico devido à sazonalidade das chuvas, altas temperaturas e elevada intensidade luminosa, que provocam uma demanda evaporativa alta e consequentemente, dessecação do solo (TROVÃO et al, 2007). Apesar da grande diversidade fenológica encontrada em áreas de Caatinga, pouco se conhece sobre os fatores e mecanismos que levam às plantas diferenciarem seus padrões fenológicos (MILES et al 2006). A necessidade de se conhecer esses mecanismos torna-se ainda mais importante devido ao risco de possíveis mudanças climáticas que podem acarretar em reduções ainda maiores na disponibilidade de recursos hídricos para as plantas (AR4 IPCC 2007).

A água é um dos principais fatores que afeta a produção primária e a estrutura e distribuição da comunidade vegetal em FTSS (ORDOÑEZ et al 2009). A água é fundamental para processos vitais à planta, como fotossíntese (OLIVEIRA et al 2014, FIGUEIREDO et al 2015, FALCÃO et al 2015); mobilidade de nutrientes do solo para a planta, e dos fotoassimilados da folha para os órgãos dreno (DURAND; GONZALEZ-DUGO; GASTAL, 2010); servindo como solvente para várias reações nas células vegetais. Dessa forma, uma questão fundamental para a sobrevivência de plantas de FTSS

é a plasticidade fisiológica para lidar com os padrões fortemente sazonais de disponibilidade de água (ARNDT et al 2015).

## **2.2.Mecanismos de tolerância à seca**

Dos estresses bióticos e abióticos aos quais as plantas são frequentemente expostas, a seca é uma das condições mais severas para crescimento e desenvolvimento dos vegetais (MANAVALAN et al., 2009). Restrição na disponibilidade de água acarreta uma série de mudanças morfológicas, fisiológicas, bioquímicas e moleculares em todos os órgãos da planta afetando negativamente crescimento e produtividade (WANG et al., 2001).

Duas estratégias fenológicas distintas são para plantas de FTSS lidarem com variação sazonal na disponibilidade hídrica são propostas: ‘evitação’ e tolerância (WILLIAMS et al 1997; EAMUS et al 2000) e desempenham um fator chave para estabelecimento e sobrevivência de espécies arbóreas em FTSS (WORBES, BLANCHART, FICHTLER, 2013). A estratégia para evitar a seca é associada às decíduas, que perdem as folhas quando a disponibilidade hídrica no solo diminui, evitando, assim, os efeitos negativos que a deficiência hídrica pode causar no seu metabolismo. Já a tolerância, tem sido relacionada às plantas perenes, que mantém suas folhas mesmo durante a estação seca (TOMLINSON et al. 2013; EAMUS, 1999). Como perdem as folhas na estação seca, espécies decíduas suportam altas taxas fotossintéticas durante a estação chuvosa, o que acarreta em maior taxa de crescimento que as perenes. Por outro lado, as plantas perenes apresentam atributos funcionais relacionados a menor risco de cavitação dos vasos do xilema, como uma maior densidade de madeira (LIMA et al 2012), e menor perda de água por transpiração, como uma menor área foliar (KURSAR et al. 2009; WORBES, BLANCHART, FICHTLER, 2013).

A fotossíntese é um dos processos do metabolismo primário dos vegetais que é mais afetado pela restrição hídrica (LIU & HUANG, 2008). Diminuição da difusão de CO<sub>2</sub> da atmosfera para o sítio de carboxilação é geralmente considerada a principal causa da diminuição da fotossíntese em planta sob déficit hídrico moderado (FLEXAS et al., 2004). Segundo Cornic (2000) a limitação estomática é aceita como o principal fator redutor da fotossíntese. Isso porque ao absorverem CO<sub>2</sub>, inevitavelmente, as plantas perdem água pelas folhas através dos estômatos, que apresentam mecanismos para controlar o seu grau de abertura. Abertura e fechamento dos estômatos dependem da ação

coordenada do mecanismo que controla a turgescência das células-guarda e da regulação de hormônios como o Ácido abscísico (ABA), Etileno, Giberelinas (fechamento) e Citocininas (abertura) (CHAVES et al., 2003). Assim, os estômatos apresentam papel fundamental nas trocas gasosas, controlando a perda de água por transpiração e a assimilação do CO<sub>2</sub> pelas plantas (JONES, 1998).

Um controle estomático eficiente sobre as trocas gasosas pode reduzir a perda de água quando as plantas estão sobre baixa disponibilidade hídrica e elevada taxa evaporativa atmosférica assim, evitam que ocorra uma severa desidratação das folhas (SANTOS et al 2014; FIGUEIREDO et al 2015). Entretanto, quando o estresse torna-se mais intenso a planta também recorre a controles não-estomáticos, como acúmulo de solutos orgânicos (CHAPIN III, SCHULZE & MOONEY 1990; MARQUES DA SILVA & ARRABAÇA, 2004) e produção de metabólitos secundários (ALAM, 2010).

Outra resposta das plantas à baixa disponibilidade de água é a inibição de crescimento aéreo que, apesar de diminuir a área transpiracional, acaba reduzindo também a radiação interceptada durante todo o período vegetativo e, finalmente, ocorre diminuição da produção de biomassa (PEREIRA & CHAVES, 1993). Isso acompanhado por fechamento estomático e, conseqüentemente redução de gás carbônico (CO<sub>2</sub>) captado para fotossíntese, acaba induzindo um estresse oxidativo, que pode afetar o metabolismo normal através de danos oxidativos a lipídios e proteínas (OLIVEIRA et al 2014). Condições de seca severa pode ainda levar a interrupção do desenvolvimento reprodutivo, senescência, murcha, dessecação e morte de folhas imaturas (SCHULZE, 1986). Por outro lado, as concentrações e as relações, entre os pigmentos cloroplastídicos, durante períodos de déficit hídrico, pode representar um importante fator para manutenção da fotossíntese uma vez que essas mudanças podem evitar danos fotoquímicos e aumento no número de espécies reativas de oxigênio (RIVAS et al 2013).

Além disso, a perda de turgor causado pelo déficit hídrico nas plantas pode parar o crescimento vegetal, e afetar diversos processos bioquímicos como a diminuição na síntese de proteínas (HSIAO, 1973; RODRIGUES et al., 2011) e aminoácidos (RODRIGUES et al, 2011).

Depois da fotossíntese, um dos processos mais afetados durante a seca é o metabolismo de carboidratos, devido à diminuição de oferta de CO<sub>2</sub> para as enzimas carboxilases, como consequência do fechamento estomático. Análises bioquímicas



sugerem que alterações no processo de quebra de carboidratos sob estresse hídrico sejam uma resposta adaptativa (ALAM et al, 2010). Em alguns casos quando o nível de água atinge valores muito baixos observa-se não somente diminuição na taxa de metabolismo de carbono fotossintético, mas também mudanças qualitativas (MARQUES DA SILVA & ARRABAÇA, 2004).

Outro importante mecanismo de tolerância à seca é a remobilização de interna de recursos que confere à planta certa independência da disponibilidade de externa de nutrientes, permitindo rápida retomada de crescimento no início da estação chuvosa. Espécies perenes e decíduas apresentam como estratégia estoque e remobilização de compostos de carbono e nutrientes que podem suportar o crescimento mesmo em condições de restrição hídrica (CHAPIN III, SCHULZE & MOONEY 1990; CHERBUY et al 2001). No entanto, a fenologia parece influenciar o local de armazenamento e a remobilização de nutrientes (CHERBUY et al 2001). Espécies decíduas armazenam mais compostos de carbono e nitrogênio, nos caules e raízes (MILLARD & PROE, 1993), enquanto que espécies perenes parecem remobilizar esses nutrientes das folhas mais velhas para os órgãos em desenvolvimento (CHAPIN III, SCHULZE & MOONEY 1990).

Ainda, mudanças nos atributos morfo-anatômicos das folhas em resposta à restrição hídrica são fundamentais para evitar perda excessiva de água e promover maior eficiência do uso da água (FANG & XIONG, 2015). Em condições de baixa disponibilidade hídrica, plantas podem apresentar tricomas que diminuem a transpiração e aumentam a reflexão de luz (ABCLULRAHAMAN & OLADELE, 2011), espessamento da cutícula ou uma cutícula mais com predominância de compostos hidrofóbicos (FIGUEIREDO et al 2015) que podem além de limitar a perda de água por controle não-estomático, promover proteção contra a luz ultravioleta (CHARLES et al., 2008) e moderar troca gasosa (JEFFREE, 1996; FIGUEIREDO et al 2012). Por outro lado, maior investimento em tecido paliádico e feixes vasculares melhora o transporte de nutrientes e retenção de água (GUHA et al 2010).

### 2.3 Principais hormônios vegetais envolvido na resposta à estresse abiótico

Hormônios vegetais são essenciais para determinar a capacidade de uma planta em ajustar seu metabolismo a condições de estresse, incluindo seca (RIVEIRO et al 2007; ALBACETE et al 2009; MORALES et al 2015). Além dos cinco grupos já estabelecidos como hormônios: auxina (DI et al 2015), citocina (RIVERO, SHULAEV, BLUMWALD, 2009), giberelina (BASSEL; BEWLEY; MULLEN, 2008), ácido abscísico (DODD, 2005) e etileno (WILKINSON et al 1995) foram descobertas outras classes de compostos capazes de regular o desenvolvimento vegetal como brassinosteróides (MONTROYA et al., 2002), ácido jasmônico (WASTERACK, 2014) e ácido salicílico (DIEGO et al 2012).

Vários estudos têm demonstrado que estresse hídrico pode induzir um aumento expressivo no conteúdo de ABA tanto na raiz como na seiva do xilema, e este aumento está relacionado com uma diminuição na condutância estomática das folhas (ZHANG e DAVIES, 1989; ZHANG e DAVIES, 1990; ZHANG e DAVIES, 1991; TARDIEU et al., 1996). Por outro lado, TARDIEU et al. (1996) afirmaram que não existe relação absoluta entre ABA e condutância estomática nem mesmo dentro de uma mesma espécie. A relação pode variar com a hora do dia (TARDIEU et al., 1996) e o grau de estresse (CORREIA & PEREIRA, 1995). Além disso ABA também está envolvido na transcrição de genes relacionados a fotossíntese (BARTHOLOMEW, BARTLEY & SCOLNIK 1991), ao metabolismo de proteínas (BACON, WILKINSON & DAVIES 1998) e carboidratos (ROOK et al 2006).

Por outro lado, Diego et al 2012 assumem que acúmulo de ácido salicílico tem sido relacionado à tolerância à seca, atuando na manutenção do status hídrico da planta, melhora da atividade da Rubisco, ativação de enzimas antioxidantes e aumento na eficiência do uso da água (SINGH & USHA 2003; HAYAT et al 2010). Está também envolvido na regulação de genes relacionados à senescência foliar, podendo afetar a relações fonte-dreno (por exemplo, para nitrogênio e carboidratos) entre as folhas senescentes e os órgãos reprodutivos (ABREU & MUNNÉ-BOSH, 2009).

O ácido jasmônico (AJ), por outro lado, tem importante papel no controle da senescência foliar, fotossíntese, mobilidade de CO<sub>2</sub>, e na relação carbono/nitrogênio nas folhas, além de ter efeito negativo no crescimento (NOIR et al, 2013; WASTERACK, 2014), estando relacionado à inibição do crescimento através da supressão da mitose

proliferação celular (NOIR et al 2013). Atua também na regulação da sinalização do ABA e na formação de tricomas, metabólitos secundários (ex. alcaloides), defesa contra patógenos e herbívoros (WASTERNAK, 2014). Um dos primeiros efeitos fisiológicos controlados pela síntese do AJ foi controle da senescência foliar, nesse sentido, o AJ parece estar envolvido, entre outros processos, na regulação de genes que controlam a atividade da RUBISCO e da enzima clorofilase1, regulando dessa forma a partição de clorofilas (SELTMANN et al., 2010, LI et al 2012; WASTERNAK, 2014). No entanto, está também relacionado no controle do estresse oxidativo controlando a atividade de enzimas como a ascorbato peroxidase (APX) (DAR et al 2015).

Citocininas estão envolvidas em vários processos do crescimento e desenvolvimento das plantas. Síntese de citocininas tem sido associada a processos de diferenciação dos cloroplastos, estabilização da estrutura e função da maquinaria fotossintética (CHERNYAD'EV 2009), atraso na senescência foliar, remobilização de fotoassimilados, (RIVEIRO et al 2007, 2009, 2010), além de atuar no ajustamento osmótico em condições de estresse (POSPISILOVA 2003).

O etileno é considerado um sinalizador primário na regulação da resposta imune em plantas (POPP, JOHNSON & LESNEY, 1993). Este hormônio é sintetizado através de ácido 1-aminociclopropano-1-carboxílico (ACC) pela ação da ACC-oxidase (ALEXANDER & GRIERSON 2002). Etileno também regula muitos aspectos do crescimento e desenvolvimento de plantas e responde a vários tipos de estresse, bióticos e abióticos, como seca (GUO & ECKER, 2014) Aumento nos níveis de etileno sob déficit hídrico foram associados com indução de senescência (ALBACETE et al 2009). Além disso está envolvido no desenvolvimento cambial e formação de madeira (ROBERTS & MILLER 1983; KLINTBORG, EKLUND, LITTLE, 2002) e controle da abertura estomática (DAT et al. 2004; JACKSON 2002).

Estudo de Dodd (2003) e Acharya e Assmann (2009) evidenciam a importância da interação desses hormônios nas respostas de plantas a estresses abióticos. No entanto, nestes trabalhos são considerados apenas o efeito das interações no ambiente estomático, sendo ainda pouco conhecido o efeito da interação hormonal em outros processos do metabolismo, tal como bioquímica.

### **3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

- ABCLULRAHAMAN, A & OLADELE, E. Response of trichomes to water stress in two species of *Jatropha*. *Insight bot* 1:15–21. 2011
- ABREU, M.E., MUNNÉ –BOSCH, S. Salicylic acid deficiency in NahG transgenic lines and sid2 mutants increases seed yield in the annual plant *Arabidopsis thaliana*. *Jour. of Exp. Bot.*, 60(4):1261–1271. 2009. DOI 10.1093/jxb/ern363
- ACHARYA, B.R., ASSMANN, S.M. Hormone interactions in stomatal function. *Plant Molecular Biology*. 69:451–462. 2009. DOI 10.1007/s11103-008-9427-0
- ALAM, I. et al. Proteome analysis of soybean roots subjected to short-term drought stress. *Plant and Soil*, 333: 491-505, 2010.
- ALBACETE, A et al. Rootstock-mediated changes in xylem ionic and hormonal status are correlated with delayed leaf senescence, and increased leaf area and crop productivity in salinized tomato. *Plant Cell Environ.* 32:928–938. 2009. DOI 10.1111/j.1365-3040.2009.01973.x
- ALBUQUERQUE, U. et al. Caatinga Revisited: Ecology and conservation of an important Seasonal Dry Forest. *The Scientific World Journal*. 2012: 1-18. 2012. DOI:10.1100/2012/205182
- ARNDT, S.K. et al. Vulnerability of native savanna trees and exotic *Khaya senegalensis* to seasonal drought. *Tree Physiology*. 35: 783–791, 2015. doi:10.1093/treephys/tpv037
- AR4 IPCC. Climate change: the physical science basis. In: SOLOMON, S. et al. Fourth assessment report of the intergovernmental panel on climate change. Cambridge: University Press, 2007
- BACON M.A., WILKINSON S., DAVIES W.J. pH-regulated leaf cell expansion in droughted plants is abscisic acid dependent. *Plant Physiol* 118:1507–1515. 1998
- BARTHOLOMEW, D.M., BARTLEY, G.E. & SCOLNIK, P.A. Absciscic acid control of RBCS and CAB transcription in tomato leaves. *Plant Physiology* 96, 291–296. 1991.
- BASSEL, G.W.; BEWLEY, J.D.; MULLEN, R.T. *procera* is a putative della mutant in tomato (*Solanum lycopersicum*): effects on the seed and vegetative plant. *Journal of Experimental Botany*, Oxford, 59: 585-93, 2008

- CHAPIN III, F.S., SCHULZE, E.D. & MOONEY, H. A. The Ecology and Economics of Storage in Plants. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 21: 423-427. 1990
- CHARLES , M. T.; MAKHLOUF, J.; ARUL, J. Physiological basis of UV-C induced resistance to *Botrytis cinerea* in tomato fruit II. Modification of fruit surface and changes in fungal colonization. *Postharvest Biology and Technology*, 47: 21–26, 2008.
- CHAVES, M. M.; MAROCO, J. P.; PEREIRA, J. S. Understanding plant responses to drought – from genes to the whole plant. *Functional Plant Biology*, 30: 239-264, 2003.
- CHERBUY, B., JOFFRE, R., GILLON, D., RAMBAL, S. Internal remobilization of carbohydrates, lipids, nitrogen and phosphorus in the Mediterranean evergreen oak *Quercus ilex*. *Tree Physiology* 21, 9–17. 2001 DOI 10.1093/treephys/21.1.9
- CHERNYAD'EV, I.I. The Protective Action of Cytokinins on the Photosynthetic Machinery and Productivity of Plants under Stress (Review). 6838, *Applied Biochemistry and Microbiology*. 45:4, 351–362. 2009. DOI 10.1134/S0003683809040012
- CORNIC, G. Drought stress inhibits photosynthesis by decreasing stomatal aperture not by affecting ATP synthesis. *Trends Plant Science*, 5: 187-188, 2000
- CORREIA, M. J.; PEREIRA, J. S. The control of leaf conductance of White lupin by xylem ABA concentration decreases with the severity of water deficits. *Journal of Experimental Botany*, v. 46, p. 101-110, 1995.
- DAR, T. A. et al. Jasmonates counter plant stress: A Review. *Environmental and Experimental Botany* 115: 49–57. 2015
- DAT, J.F. et al. Sensing and signalling during plant flooding. *Plant Physiol Biochem.* 42: 273-282. 2014. doi:10.1016/j.plaphy.2004.02.003
- DI, W.D. et al. The biosynthesis of auxin: how many paths truly lead to IAA? *Plant Growth Regul.* 76:1-11. 2015.
- DIEGO,N.D et al. Physiological response to drought in radiata pine: phytohormone implication at leaf level. *Tree Physiology* 32: 435–449. 2012. DOI:10.1093/treephys/tps029

- DODD, I.C. Hormonal Interactions and Stomatal Responses. *J Plant Growth Regul.* 22:32–46. 2003. DOI: 10.1007/s00344-003-0023-x
- DODD, I.C. Root-to-shoot signalling: assessing the roles of ‘up’ in the up and down world of long-distance signalling in plant. *Plant Soil* 274:251–270. 2005. DOI 10.1007/s11104-004-0966-0
- DURAND, J. L.; GONZALEZ-DUGO, V.; GASTAL, F. How much do water deficits alter the nitrogen nutrition status of forage crops? *Nutrient Cycling in Agroecosystems*, v. 88, p. 231–243, 2010.
- EAMUS, D. Ecophysiological traits of deciduous and evergreen woody species in the seasonally dry tropics. *Trends Ecol. Evol.* 14:11–16. 1999
- EAMUS, D., B. Myers, G. Duff and D. Williams. x. Seasonal changes in photosynthesis of eight savanna tree species. *Tree Physiol.* 19:665–671.1999
- EAMUS, D., O’GRADY, A.P., HUTLEY, L. Dry season conditions determine wet season water use in the wet–dry tropical savannas of northern Australia. *Tree Physiology* 20, 1219–1226, 2000
- FANG, Y., XIONG, L. General mechanisms of drought response and their application in drought resistance improvement in plants. *Cell. Mol. Life Sci.* 72:673–689. 2015. DOI 10.1007/s00018-014-1767-0
- FIGUEIREDO et al. Epicuticular-wax removal influences gas exchange and water relations in the leaves of an exotic and native species from a Brazilian semiarid region under induced drought stress. *Australian Journal of Botany.* 60: 685–692. 2012
- FIGUEIREDO, K.V. et al. Changes in leaf epicuticular wax, gas exchange and biochemistry metabolism between *Jatropha mollissima* and *Jatropha curcas* under semi-arid conditions. *Acta Physiologiae Plantarum*, 37: 108. 2015. DOI 10.1007/s11738-015-1855-2
- FLEXAS, J. et al. Understanding down-regulation of photosynthesis under water stress: future prospects and searching for physiological tools for irrigation management. *Annals of Applied Biology*, 144: 273-283, 2004.

- GUHA, A. et al An integrated diagnostic approach to understand drought tolerance in mulberry (*Morus indica* L.). *Flora MorpholDistrib Funct Ecol Plants* 205:144–151. 2010.
- GUO, H., ECKER, J.R. The ethylene signaling pathway: new insights. *Curr Opin Plant Biol* 7:40–49.2014 doi:10.1016/j.pbi.2003.11.011
- HAYAT, Q., HAYAT, S. IRFAN, M., AHMAD, A. Effect of exogenous salicylic acid under changing environment: A review. *Env. and Exp Bot.* 68 (1): 14–25. 2010. DOI 10.1016/j.envexpbot.2009.08.005
- HOLBROOK, N.M.; WHITBECK, J.L. & MOONEY, H.A. Drought responses of neotropical dry forest trees. 1995. Pp. 243-276. In: S.H. Bullock; H.A. Mooney & E. Medina (Eds.). *Seasonally dry tropical forests*. Cambridge: Cambridge University Press.
- HSIAO, T. C. Plant Responses to Water Stress. *Annual Review of Plant Physiology*, 24: 519-570, 1973
- JACKSON, M.B. Long-distance signalling from roots to shoots assessed: the flooding story. *J Exp Bot* 53:175–181. 2002. doi:10.1093/jexbot/53.367.175
- JEFFREE, C. E. Structure and ontogeny of plant cuticles. In: KERSTIENS, G. *Plant cuticle: an integrated functional approach*. Bios Scientific Publishers, Oxford, 33-82, 1996.
- JONES, H. G. Stomatal control of photosynthesis and transpiration. *Journal of Experimental Botany*, 49: 387-398, 1998.
- KLINTBORG, A., EKLUND, L. & LITTLE, C.H.A. Ethylene metabolim in Scots pine (*Pinus sylvestris*) shoots during the year. *Tree Physiology*. 22: 59-66. 2002
- KURSAR, T.A., et al. Tolerance to low leaf water status of tropical tree seedlings is related to drought performance and distribution. *Functional Ecology*, 23, 93–102, 2009.
- LI Z, PENG J, WEN X, GUO H. Gene network analysis and functional studies of senescence-associated genes reveal novel regulators of Arabidopsis leaf senescence. *J Integr Plant Biol*;54:526–39. 2012



- LIMA, A.L.A. & RODAL, M.J.N. Phenology and wood density of plants growing in the semi-arid region of northeastern Brazil. *J Arid Environ* 74:1363–1373. 2010 doi:10.1016/j.jaridenv.2010.05.009
- LIMA, A.L.A., et al. Do the phenology and functional stem attributes of woody species allow for the identification of functional groups in the semiarid region of Brazil? *Trees*. 26:1605–1616. 2012 DOI 10.1007/s00468-012-0735-2
- LIU, X.; HUANG, B. Photosynthetic acclimation to high temperatures associated with heat tolerance in creeping bentgrass. *Journal of Plant Physiology*, 165: 1947–1953, 2008.
- MANAVALAN LP, GUTTIKONDA SK, TRAN LS, NGUYEN HT Physiological and molecular approaches to improve drought resistance in soybean. *Plant and Cell Physiology*. 50: 1260-1276. 2009 doi: 10.1093/pcp/pcp082
- MARQUES DA SILVA, J.; ARRABAÇA, M. C. Contributions of soluble carbohydrates to the osmotic adjustment in the C4 grass *Setaria sphacelata*: A comparison between rapidly and slowly imposed water stress. *Journal of Plant Physiology*, 161: 551–555, 2004.
- MATTOS, E. A.; HERZOG, B.; LÜTTGE, U. Chlorophyll fluorescence during CAM phases in *Clusia minor* L. under drought stress. *Journal of Experimental Botany*, 50: 253-261, 1999.
- MILES, L. et al. A global overview of the conservation status of tropical dry forests. *Journal of Biogeography*, 33: 491-502. 2006.
- MILLARD, P. & PROE, M.F. Nitrogen uptake, partitioning and internal cycling in *Picea sitchensis* (Bong.) Carr. as influenced by nitrogen supply. *New Phytol*. 125:113–119. 1993.
- MONTOYA, T. et al. Cloning the tomato curl 3 gene highlights the putative dual role of the leucine-rich repeat receptor kinase tBRI1/SR160 in plant steroid hormone and peptide hormone signaling. *Plant Cell*, Baltimore, 14: 3163-3176, 2002.
- MORALES, M., GARCIA, Q.S., MUNNÉ-BOSCH, S. Ecophysiological response to seasonal variations in water availability in the arborescent, endemic plant *Vellozia gigantea*. *Tree Physiology* 35, 253–265. 2015 DOI10.1093/treephys/tpv012

- MURPHY, P.G. & LUGO, A.E. (1986). Ecology of tropical dry forest. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 17:67 – 88
- NOIR S., et al. Jasmonate controls leaf growth by repressing cell proliferation and the onset of endoreduplication while maintaining a potential stand-by mode. *Plant Physiol*;161:1930–51. 2013.
- OLIVEIRA, M.T., et al Stress Tolerance and Ecophysiological Ability of an Invader and a Native Species in a Seasonally Dry Tropical Forest. *Plos One*, 9 (8):1-11. 2014 DOI 10.1371/journal.pone.0105514
- ORDOÑEZ, J.C., et al. A global study of relationships between leaf traits, climate and soil measures of nutrient fertility. *Global Ecology and Biogeography*, 18, 137–149. 2009
- PEREIRA, J. S.; CHAVES, M. M. Plant water deficits in Mediterranean ecosystems. *In*: SMITH, J. A. C.; GRIFFITHS, H. (Eds.) *Plant responses to water deficits - from cell to community*. Oxford: BIOS Scientific, Pp. 237–251, 1993.
- POPP, M.P. JOHNSON, J.D.& LESNEY, M.S. Changes in ethylene production and monoterpene concentration in slash pine and loblolly pine following inoculation with bark beetle vectored fungi. *Tree Physiology* 15, 807—812. 1993.
- POSPISILOVA, J. Participation of phytohormones in the stomatal regulation of gas exchange during water stress. *Biol. Plant.* 46:491–506. 2003
- PRADO, D. As caatingas da América do Sul. *In*: LEAL, I.R.; TABARELLI, M.; SILVA, J. M. C. *Ecologia e conservação da Caatinga*. Recife: Editora Universitária, Universidade Federal de Pernambuco, 2003. p. 3–73.
- RIVAS, R., OLIVEIRA, M.T., SANTOS, M.G. Three cycles of water deficit from seed to young plants of *Moringa oleifera* woody species improves stress tolerance. *Plant Physiology and Biochemistry*. 63: 200–208. 2013
- RIVERO, R.M., et al. Delayed leaf senescence induces extreme drought tolerance in a flowering plant. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 104: 19631–19636. 2007 DOI 10.1073/pnas.0709453104

- RIVERO, R.M., SHULAEV, V., BLUMWALD, E. Cytokinin-dependent photorespiration and the protection of photosynthesis during water deficit. *Plant Physiol.* 150: 1530–1540. 2009. DOI/10.1104/pp.109.139378
- RIVERO, R.M., GIMENO, J., DEYNZE, A.V., WALIA, H., BLUMWALD, E. Enhanced Cytokinin Synthesis in Tobacco Plants Expressing PSARK:IPT Prevents the Degradation of Photosynthetic Protein Complexes During Drought. *Plant Cell Physiol.* 51(11): 1929–1941 2010 DOI 10.1093/pcp/pcq143
- ROBERTS, L.W. & Miller, A.R. Is ethylene involved in xylem differentiation? *Vistas Plant Sci.* 6: 1-24. 1983.
- RODRIGUES, B. M. et al. Water relations in physic nut according to climatic seasonality, in semiarid conditions. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 46: 1112-1115, 2011.
- ROOK, F., HADINGHAM, S.A., Li, Y., BEVAN, M.W. Sugar and ABA response pathways and the control of gene expression. *Plant, Cell and Environment.* 29: 426–434. 2006. DOI: 10.1111/j.1365-3040.2005.01477.x
- SAMPAIO, E.V.S.B. Overview of the Brazilian Caatinga. Pp. 35-63. 1995. In: S.H. Bullock; H.A. Mooney & E. Medina (eds.). *Seasonally dry tropical forests*. Cambridge: Cambridge University Press.
- SANTOS, M.G. et al. Caatinga, the Brazilian dry tropical forest: can it tolerate climate changes?. *Theoretical and Experimental Plant Physiology*, 26:83-99. 2014. DOI 10.1007/s40626-014-0008-0
- SANCHEZ-AZOFEIFA, G. A. et al. Need for integrated research for a sustainable future in tropical dry forests. *Conservation Biology*, v. 19, p. 285–286, 2005.
- SCHULZE, E. D. Carbon dioxide and water vapour exchange in response to drought in the atmosphere and in the soil. *Annual Review of Plant Physiology*, 37: 247–274, 1986.
- SELTMANN M.A., et al. Differential impact of lipoxygenase 2 and jasmonates on natural and stress-induced senescence in *Arabidopsis*. *Plant Physiol.* 152:1940–50. 2010

- SINGH, B., USHA, K. Salicylic acid induced physiological and biochemical changes in wheat seedlings under water stress. *Plan. Grow. Regul.* 39: 137–141. 2003. DOI 10.1023/A:1022556103536
- TARDIEU, F.; LAFARGE, T.; SIMONNEAU, T. Stomatal control by endogenous xylem ABA in sunflower: interpretation of correlations between leaf water potential and stomatal conductance in anisohydric species. *Plant Cell Environ.*, v. 19, p.75-84, 1996.
- TOMLINSON, K.W. et al. Leaf adaptations of evergreen and deciduous trees of semi-arid and humid savannas on three continents. *Journal of Ecology*. 101: 430–440, 2013. DOI: 10.1111/1365-2745.12056.
- TROVÃO, D.M.B.M.; FERNANDES, P.D.; ANDRADE, L.A. & DANTAS NETO, J. Variações sazonais de aspectos fisiológicos de espécies da Caatinga. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, 11: 307–311. 2007
- WANG, W. X. et al. Biotechnology of plant osmotic stress tolerance: physiological and molecular consideration. *Acta Horticulturae*, 560: 285-292, 2001
- WASTERNAK, C. Action of jasmonates in plant stress responses and development-applied aspects. *Biotech. Adv.* 32: 31–39. 2014. DOI:10.1016/j.biotechadv.2013.09.009
- WILKINSON, J.Q. et al. Na ethylene-inducible component of signal transduction encoded by Never ripe. *Science*, New York, v. 270, p. 1807-1809, 1995.
- WILLIAMS R.J. et al. Leaf phenology of woody species in a northern Australian tropical savanna. *Ecology* 78, 2542–2558, 1997
- WORBES, M., BLANCHART, S., & FICHTLER, E. Relations between water balance, wood traits and phenological behavior of tree species from a tropical dry forest in Costa Rica—a multifactorial study. *Tree Physiology* .33: 527–536, 2013. doi:10.1093/treephys/tpt028
- ZHANG, J.; DAVIES, W. J. Absciscic acid produced in dehydrating roots may enable the plant to measure the water status of the soil. *Plant Cell Environ.*, v. 12, p.73-81, 1989.
- ZHANG, J.; DAVIES, W. J. Changes in the concentration of ABA in xylem sap as a function of changing soil water status can account for changes in leaf conductance and growth. *Plant Cell Environment*, v. 13, p. 271-85, 1990.

ZHANG, J.; DAVIES, W. J. Antitranspirant activity in the xylem sap of maize plants.  
Journal of Experimental Botany, v. 42, p.317-2, 1991.

1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25

## **CAPÍTULO 1**

Será submetido à Tree Physiology

**Variação sazonal nas relações hídricas, balanço de fitorreguladores e anatomia foliar sob condições de floresta tropical seca: um estudo de caso em *Cynophalla flexuosa* espécie sempre verde e lenhosa**

Karla V. Figueiredo<sup>1</sup>, Hiram M. Falcão<sup>1</sup>, Gladys F. A. Melo-de-Pina<sup>2</sup>, Alfonso Albacete<sup>3</sup>, Ian C. Dodd<sup>4</sup>, André L. A. de Lima<sup>5</sup>, Mauro G. Santos<sup>1,\*</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Botânica, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Brasil,

<sup>2</sup> Departamento de Botânica, Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, São Paulo, Brasil,

<sup>3</sup>Departamento de Nutrición Vegetal, Centro de Edafología y Biología Aplicada del Segura (CEBAS), Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC), Campus Universitario de Espinardo, Espinardo, Murcia, Spain,

<sup>4</sup>The Lancaster Environment Centre, Lancaster University, Lancaster LA1 4YQ, UK

<sup>5</sup>Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), Unidade Acadêmica de Serra Talhada (UAST)

\* Corresponding author: e-mail address: [mauro.gsantos@ufpe.br](mailto:mauro.gsantos@ufpe.br);

phone: +55 81 21268844; Fax: +55 81 21267803

**Resumo**

O crescimento de plantas em floresta tropical sazonalmente seca (FTSS) requer uma série de ajustes fisiológicos e morfológicos no seu metabolismo. Neste trabalho, foram avaliadas as variações sazonais nas trocas gasosas, no potencial hídrico foliar, no metabolismo primário, na concentração de pigmentos fotossintéticos e nos níveis endógenos do ácido abscísico (ABA), ácido jasmônico (AJ), ácido salicílico (AS), trans-Zeatina (tZ), ácido giberélico (GA4) e do precursor do etileno (ACC), afim de compreender quais estratégias *Cynophalla flexuosa*, uma espécie sempre verde nativa da FTSS brasileira, utiliza para se manter verde ao longo da marcada sazonalidade na disponibilidade hídrica no solo. Todos os parâmetros variaram em função da sazonalidade na disponibilidade hídrica. Variações na condutância estomática são principalmente influenciadas pelo déficit de pressão de vapor (DPV), e o AJ apareceu como regulador endógeno da  $g_s$ . O AS foi o principal indicador de tolerância à deficiência hídrica, controlando principalmente o  $\Psi_f$  e a eficiência no uso da água (EUA). Já a tZ e o ACC parecem ser importantes para o metabolismo de carboidratos, proteínas, aminoácidos e clorofilas. Por outro lado, o ABA, o fitorregulador com maior número de estudos em plantas sob estresse hídrico, não apresentou correlação com  $g_s$ . Acredita-se que a alta correlação do ABA com a tZ e o GA4 pode ter antagonizado o efeito do ABA sobre a abertura estomática. Essas respostas hormonais se refletiram na capacidade dessa espécie de manter-se viva mesmo durante períodos de seca severa.

**Palavras-chave:** trocas gasosas, Caatinga, Capparaceae, tolerância à seca, mudanças climáticas, metabolismo do carbono



## 68 **Introdução**

69 As Florestas Tropicais Sazonalmente Secas compreendem cerca de 42% das florestas  
70 tropicais do mundo, distribuindo-se pelas Américas, Oceania, e por parte da Ásia e da África  
71 (Miles et al. 2006). No Brasil esse bioma é representado pela Caatinga, um mosaico de  
72 vegetação arbustiva-arbórea composta principalmente por espécies decíduas caracterizado por  
73 períodos prolongados de seca e por uma forte irregularidade pluviométrica (Leal et al. 2005,  
74 Kottek et al. 2006, Albuquerque et al. 2012, Lima et al. 2012, Santos et al. 2014). No entanto,  
75 algumas espécies nesse ecossistema apresentam a capacidade de tolerar a seca, mantendo-se  
76 sempre-verdes durante a estação seca (Diego et al. 2012, Tomlinson et al. 2013, Morales et al.  
77 2015). Essa tolerância ao déficit hídrico é resultado de diversos ajustes morfológicos e  
78 fisiológicos que minimizam os possíveis danos causados pela seca (Santos et al. 2014).

79 Os estudos na FTSS brasileira acerca dos mecanismos ecofisiológicos utilizados pelas  
80 espécies sempre-verdes para tolerar a seca abordam, principalmente, as relações hídricas, as  
81 respostas estomáticas, o metabolismo primário, e proteção contra os danos causado pela  
82 formação de espécies reativas de oxigênio (Oliveira et al. 2014, Santos et al. 2014, Falcão et  
83 al. 2015, Figueiredo et al. 2015). Apesar disso, muito pouco se sabe a respeito dos efeitos do  
84 balanço e interação hormonal, e das características anatômicas da folha, no metabolismo e na  
85 determinação da tolerância à seca de espécies sempre-verdes da Caatinga.

86 Fitohormônios são essenciais para determinar a capacidade de uma planta em ajustar seu  
87 metabolismo a condições de estresse, incluindo seca (Riveiro et al. 2007, Albacete et al. 2009,  
88 Morales et al. 2015). Nesse contexto, ácido abscísico é considerado o principal sinalizador  
89 durante o déficit hídrico, atuando principalmente no controle da abertura estomática. No  
90 entanto, ácido salicílico, ácido jasmônico, citocininas e etileno podem atuar direta ou  
91 indiretamente, alterando a ação de outros hormônios, nas respostas fisiológicas ao déficit  
92 hídrico.

Acúmulo de ácido salicílico tem sido relacionado à tolerância à seca (Diego et al. 2012), atuando na manutenção do status hídrico da planta, atividade da Rubisco, ativação de enzimas antioxidantes e aumento na eficiência do uso da água (Singh e Usha 2003, Hayat et al. 2010). Ácido jasmônico, por outro lado, tem importante papel no controle da senescência foliar, fotossíntese, mobilidade de CO<sub>2</sub>, e na relação carbono/nitrogênio nas folhas, além de ter efeito negativo no crescimento (Noir et al. 2013, Wasternack 2014). As citocininas tem sido associada a processos de diferenciação dos cloroplastos, estabilização da estrutura e função da maquinaria fotossintética, remobilização de fotoassimilados e no ajustamento osmótico (Pospisilova 2003, Chernyad'ev 2009, Riveiro et al. 2010). Já o aumento nos níveis de etileno foram associados com indução de senescência (Albacete et al. 2009).

Estudos tem mostrado que existe uma associação entre adaptações anatômicas e eficiência nos processos fisiológicos, principalmente com relação ao uso da água (Rascio et al. 1990, Ashton e Berlyn 1994, Villa et al. 2001). De fato, adaptações anatômicas podem conferir melhor performance às espécies sempre verdes de ambientes sazonalmente secos, selecionando características foliares que toleram alta intensidade de luz e temperatura elevada, aumentando a longevidade de suas folhas (Tomlinson et al. 2013).

Dessa forma, o objetivo desse estudo foi identificar os ajustes fisiológicos e anatômicos realizados por uma espécie sempre-verde, nativa da Caatinga (*Cynophalla flexuosa* (L.) J.Presl), ao longo das estações seca, chuvosa e da transição entre elas, em três anos consecutivos. Para tanto, analisamos a capacidade fotossintética, o potencial hídrico, e o metabolismo primário e hormonal, além da anatomia foliar da planta. Por fim, criamos um modelo causal de interação entre algumas variáveis e a condutância estomática, a fim de tentar identificar os principais responsáveis pelo controle estomático de *C. flexuosa*.

## 118 **Materiais e métodos**

### 119 ***Espécie estudada e local de estudo***

120 O estudo foi realizado em um fragmento de Caatinga arbórea de 300 ha de extensão, no  
121 nordeste Brasileiro (7°59'31''S e 38°17'59''W). O solo é do tipo franco arenoso, e o clima é  
122 do tipo BSh segundo a classificação de Köppen-Geiger (Alvares et al. 2013), com  
123 precipitação média anual de 750 mm.

124 *Cynophalla flexuosa* (L.) J.Presl (Capparaceae) é a espécie sempre-verde, nativa do  
125 Brasil, a mais representativa nesse fragmento, e por isso foi escolhida como modelo para o  
126 estudo (Lima et al. 2012). Foram marcados 10 indivíduos, dos quais pelo menos cinco foram  
127 amostrados em cada coleta. Os dados foram coletados de novembro de 2012 a dezembro de  
128 2014. Em áreas de Caatinga podem ocorrer períodos prolongados de seca, seca durante a  
129 estação chuvosa ou eventos de chuva durante a estação seca (Abuquerque et al. 2012). Neste  
130 estudo, as coletas de dados abrangeram esses eventos, sendo novembro de 2012 caracterizado  
131 por período de seca prolongada; abril de 2013 como evento de seca durante a estação  
132 chuvosa; novembro de 2013 período seco; janeiro de 2014 transição seco-chuvoso; março e  
133 maio de 2014 período chuvoso; julho de 2014 transição chuvoso-seco; e novembro de 2014  
134 evento de chuva durante a estação seca. Histórico de precipitação e temperatura da área, bem  
135 como dados de precipitação mensal de janeiro de 2012 a dezembro de 2014 são apresentados  
136 (Fig. 1A e 1 B) (IPA 2015).

137

### 138 ***Status hídrico foliar e do solo***

139 O potencial hídrico foliar ( $\Psi_f$ ) foi mensurado com câmara de pressão de Scholander  
140 (Soilmoisture Equipment Corp., Santa Barbara, CA, USA) em ramos contendo folhas  
141 totalmente expandidas (Scholander et al.. 1964). As medidas foram realizadas pela manhã  
142 (06:00), e a tarde (13:00). A umidade gravimétrica do solo foi calculada segundo a fórmula:

143 **UGS** =  $[(MF - MS) / MS] * 100$ , onde MF e MS são as massas fresca e seca do solo,  
144 respectivamente (Fig. 1D).

145

#### 146 ***Trocas gasosas***

147 As trocas gasosas foram mensuradas utilizando um analisador de gás por infravermelho  
148 portátil (IRGA, ADC, modelo LCI-pro; Hoddesdon, UK). As medidas foram realizadas às  
149 13h, em folhas maduras, utilizando-se Densidade de Fluxo de Fótons Fotossintéticos (DFFF)  
150 constante, adaptado as condições ambientais do dia da medida. O equipamento forneceu  
151 dados de condutância estomática ( $g_s$ ), assimilação líquida do CO<sub>2</sub> ( $A$ ), e transpiração foliar  
152 ( $E$ ). A eficiência do uso da água (EUA) foi calculada pela razão entre a assimilação de CO<sub>2</sub>  
153 ( $A$ ) e transpiração ( $E$ ). O déficit de pressão de vapor (DPV) que foi calculado usando dados de  
154 umidade relativa do ar e temperatura coletados em cada data de mensuração (Fig. 1 D)  
155 (Campbell e Normam 1998).

156

#### 157 ***Análises bioquímicas***

158 Após as medidas de trocas gasosas, amostras de folhas de aproximadamente 3g de massa  
159 fresca, foram coletadas e imediatamente congeladas em nitrogênio líquido, e posteriormente,  
160 armazenadas em freezer -80°C até as análises. As folhas foram usadas para determinar  
161 carboidratos solúveis totais (CST), proteínas solúveis totais (PST), aminoácidos livres totais  
162 (ALT), e total de clorofila *a* (Clo *a*), clorofila *b* (Clo *b*) e carotenoides (CAR). As folhas  
163 foram analisadas segundo as metodologias de Dubois et al. (1956), Bradford (1976), Moore e  
164 Stein (1948), e Lichtenthaler e Buschmann (2001), respectivamente. A fração insolúvel da  
165 extração dos carboidratos foi usado para determinar o conteúdo de amido, segundo  
166 metodologia de Dubois et al. (1956). Os conteúdos de frutose e sacarose, foram analisados  
167 segundo Foreman et al. (1973) e Handel et al. (1968), respectivamente.

**168    *Extração e análise hormonal***

169        Citocinina (trans-zeatina, tZ, zeatina ribosídeo, ZR e isopentenil adenina, iP), ácido  
170    abscísico (ABA), ácido salicílico (AS), ácido jasmônico (AJ) e o precursor do etileno, ácido  
171    1-aminociclopropano-1-carboxílico (ACC), foram analisados de acordo com Albacete et al.  
172    (2008) com algumas modificações. Aproximadamente 0,1 g de material liofilizado foi  
173    submetido a extração hidro-alcoólica (metanol/água 80:20 v/v). Sólidos foram separados por  
174    centrifugação (20 000 g, 15 min), e re-extraídos por 30 min a 4°C com 0,5 mL da mesma  
175    solução de extração. A fração sobrenadante foi passada através de colunas Sep-Pak Plus †C18  
176    (SepPak Plus, Waters, USA) para remover interferência de lipídios e parte dos pigmentos  
177    foliares, e evaporado a 40°C sob vácuo até remoção do solvente orgânico. O resíduo foi  
178    solubilizado em 1 mL de metanol:água (20:80 v/v) usando banho ultra-sônico. As amostras  
179    dissolvidas foram filtradas em filtro Millex com 13 mm de diâmetro e membrana de 0,22 µm  
180    (Millipore, Bedford, MA, USA).

181        Dez µl do extrato filtrado foram injetados em U-HPLC-MS e o sistema consistia de uma  
182    série Accela U-HPLC (ThermoFisher Scientific, Waltham, MA, USA) acoplado em  
183    espectrômetro de massas (ThermoFisher Scientific, Waltham, MA, USA) usando uma  
184    interface de ionização eletrospray aquecida (HESI). Espectro de massas foi obtido usando  
185    software Xcalibur 2.2 (ThermoFisher Scientific, Waltham, MA, USA). Para quantificação dos  
186    hormônios, curvas de calibração foram contruídas para cada componente analisado (1, 10, 50,  
187    e 100 µg l<sup>-1</sup>) e corrigidos para 10 µg l<sup>-1</sup> de padrão interno deuterado.

188

**189    *Análises anatômicas***

190        Para o estudo anatômico, folhas completamente expandidas foram coletadas e fixadas em  
191    FAA 50% por 72h, e posteriormente passadas para álcool 70% até análise sob Microscópio de  
192    Luz (ML). Para análise em Microscópio Eletrônico de Varredura (MEV), fragmentos de

folhas foram fixados em solução de Karnovisk. O material foi emblocado em parafina e cortes transversais foram obtidos segundo metodologia proposta por Johansen (1940), em micrótomo rotativo (Reichert-Jung 2040 auto cut, Cambridge Instruments, Germany).

### ***Análise estatística***

Todos os dados foram testados para normalidade e homogeneidade e submetidos à análise de variância (ANOVA One-Way). Para reduzir a probabilidade de erro Tipo I para comparações múltiplas resultantes da análise simultânea de 20 atributos, foi utilizado o teste de Bonferroni com um  $\alpha$  de 0,05. Além disso, análises de correlação de Pearson foram feitas para avaliar a interações fitohormônios x status hídrico foliar; fitohormônios x trocas gasosas; fitohormônios x bioquímica. Regressão linear simples foi utilizada para verificar as relações entre parâmetros ambientais e parâmetros fisiológicos. Os dados foram analisados usando o Statistica 8.0 (StatSoft. Inc., Tulsa, OK 74104, USA).

Para testar a influência de fatores endógenos e exógenos na abertura estomática foram testados diversos modelos causais utilizando modelagem de equações estruturais e os resultados foram representados graficamente pelo método de “Path Analysis”. Esses dados foram analisados utilizando o programa IBM® SPSS® Amos 23.0.0 (Wexford, PA, USA). Foi considerado como válido o modelo que apresentou nível de probabilidade maior que 5%.

## **Resultados**

### ***Status hídrico foliar e do solo***

Diferentes condições ambientais foram observadas ao longo dos meses de coleta (Fig.1). O ano de 2012 foi caracterizado como o ano mais seco, com precipitação média anual de 220 mm, seguido do ano de 2013 que apresentou média anual de 446 mm. Já 2014 foi o ano com maior índice pluviométrico (606 mm). A umidade do solo (US) em novembro/2012 foi inferior a 1%

(v/v), e 2% e 2,5% (v/v) em abril e novembro de 2013, respectivamente. Já nos períodos de transição, US variou de 5,5% (v/v) em janeiro para 4% em julho de 2014. Nos períodos chuvosos (março e maio de 2014) a US foi de 9,5 e 14,5 % (v/v), respectivamente (Fig. 1 D). Também o DPV foi maior no período seco de 2012 (2,5 kPa), enquanto que nos períodos chuvosos de março e maio (2014) o DPV foi inferior a 0,65 kPa. Foi observado um DPV de 1,5 kPa durante a transição seca-chuva e 1,85 kPa na transição chuva-seca (julho/2014) (Fig. 1 D). Por outro lado, as maiores densidades do fluxo de fótons fotossintetizantes (DFFF) foram observadas em maio, julho e dezembro de 2014, 1479 ( $\mu\text{mol.m}^2.\text{s}^{-1}$ ), 1500 ( $\mu\text{mol.m}^2.\text{s}^{-1}$ ) e 1700 ( $\mu\text{mol.m}^2.\text{s}^{-1}$ ), respectivamente. Os demais meses apresentaram uma média de 1300 ( $\mu\text{mol.m}^2.\text{s}^{-1}$ ). Apesar das mudanças nas variáveis ambientais, o balanço hídrico no solo foi sempre negativo durante os anos de coleta (Fig. 1C), sendo novembro/12 o mês com balanço hídrico mais negativo, seguido de novembro/13, enquanto que março/14 foi o mês no qual o balanço hídrico chegou mais próximo a zero, seguido de novembro/14 e maio/14.

Foram observadas variações sazonais no potencial hídrico foliar  $\Psi_f$  e essas alterações foram fortemente influenciadas pelas mudanças no DPV ao longo das coletas ( $R^2= 0,83$   $p< 0,0001$ ), e moderadamente influenciadas pela precipitação ( $R^2= 0,54$   $p<0,0001$ ) e balanço hídrico ( $R^2= 0,60$   $p<0,0001$ ). Potenciais mais negativos foram observados nos períodos secos de novembro de 2012 e 2013, sendo 66% e 44% menores que nos períodos mais úmidos, março e maio/2014, respectivamente (Fig.2 C).

### **Trocas gasosas**

Foram observadas variações sazonais na condutância estomática ( $g_s$ ), assimilação de  $\text{CO}_2$  (A), e eficiência do uso da água (EUA) (Fig.2) nos indivíduos de *C. flexuosa*.

Nas trocas gasosas, a interação entre fatores ambientais como DPV, US e DFFF apresentou uma relação moderada com alterações na  $g_s$  e fraca relação com A nessa espécie

( $R^2 = 0,58$   $p < 0,0001$ ;  $R^2 = 0,33$   $p < 0,01$ ). Alterações na  $g_s$  apresentaram correlação moderada com mudanças na taxa de assimilação de  $CO_2$  ( $R^2 = 0,69$   $p < 0,0001$ ). Além disso, durante o período mais seco (nov/12), *C. flexuosa* apresentou forte controle estomático com redução de 78% na  $g_s$  e  $A$ , quando comparado ao período seco de novembro de 2013 (Fig.2A E 2B), mesmo com  $\Psi_f$  semelhante (Fig.2C). Comparados aos períodos úmidos do ano de 2014, março e maio, essas reduções foram de 82% e 85% para  $g_s$  e de 68% e 71% para  $A$ , respectivamente. No entanto, indivíduos de *C. flexuosa* apresentaram EUA cerca de 50% maior no período de máxima restrição hídrica (nov/12) quando comparado ao período seco seguinte (Fig.2D).

### **Análises bioquímicas**

O metabolismo de carboidratos solúveis totais (CST), proteínas solúveis totais (PST), e aminoácidos livres totais (ALT) também foi avaliado quanto à variação sazonal. De um modo geral, maiores concentrações de CST, PST e ALT foram observadas no período chuvoso de maio de 2014 ( $p < 0,00001$ ), e foram cerca de 60% (CST e PST) e 70% (ALT) maiores que no período de maior restrição hídrica (nov/12) (Fig.3 A, B e C). O período seco de novembro/13 também apresentou conteúdo de CST e ALT, cerca de 35% e 75%, maiores que o período seco de novembro de 2012, respectivamente (Fig. 3 A e C).

Além disso, *C. flexuosa* apresentou maior concentração de amido em relação à frutose e sacarose, independente do mês de coleta (Fig. 3 D, E e F). No entanto, maior concentração de frutose foi observada apenas no mês em maio/2014, quando a umidade do solo foi maior (Fig. 3 E). Nos períodos secos não houve diferenças significativas no acúmulo desses solutos, exceto em novembro de 2014, quando foi observado maior teor de sacarose (Fig.3 D, E e F).

A fim de avaliar a funcionalidade e integridade do aparato fotossintético nos diferentes meses de coleta foram calculadas as proporções de  $Clo\ a/b$  e  $Clo\ (a+b)/Car$  (Fig.4 A e B). Os



indivíduos apresentaram proporção Clo a/b entre 2,5 e 3, exceto nos meses de maio e novembro de 2014, no qual essa relação foi inferior a 2 (Fig.4 A). A redução da relação Clo a/b em maio/14 deu-se pelo aumento tanto da clorofila *a* quanto *b*, já em novembro/14 ocorreu por degradação de ambos os pigmentos. Já a proporção de Clo (a+b)/Car variou de 3-5,5 exceto no mês de maior restrição hídrica e DPV (nov/12) no qual essa relação foi inferior a 1,5 (Fig.4 B). Além disso houve aumento expressivo na concentração de carotenoides no período chuvoso de maio/2014.

### **Análise de fito-hormônios**

Em *C. flexuosa* foram observadas variações sazonais nos níveis endógenos de tZ, JA, AS e ACC ( $P < 0,001$ ) (Fig.7 A, B, C e D).

Não foi observado a ocorrência das citocininas iP e ZR nos indivíduos de *C. flexuosa*. Já Trans-zeatina (tZ) foi o hormônio mais abundante nesta espécie, com níveis endógenos entre 4.000 - 12.000 ng g<sup>-1</sup>DW (Fig.5 C). Este hormônio apresentou correlação com as concentrações de CST, porém não foi observado correlação da tZ na abertura estomática (Tabela 1).

Além disso, alterações no  $\Psi_f$  foram positivamente correlacionadas com alterações nas concentrações do AJ e AS ( $r = 0,55$   $P = 0,005$ ;  $r = 0,84$   $P < 0,0001$ , respectivamente) e negativamente correlacionado com o ABA ( $r = -0,44$   $P = 0,02$ ) (Tabela 1). Menores níveis endógenos de AJ e AS foram observados nos períodos de menor disponibilidade hídrica, principalmente para o AJ o qual apresentou reduções, em média, de 84% (Fig.5 B). Além disso, os dados sugerem que a ação desses hormônios está fortemente correlacionada ( $r = 0,75$   $P < 0,0001$ ), e que ambos apresentam uma interação moderada nas mudanças na  $g_s$  desta espécie (AJ:  $r = 0,53$   $P = 0,008$ ; AS:  $r = 0,41$   $P = 0,04$ ) (Tabela 1).

Já as variações nos conteúdos de Clo(a+b) ( $r=-0,42$   $P=0,03$ ), PST ( $r=-0,49$   $P=0,01$ ) e ALT ( $r=-0,48$   $P=0,01$ ) apresentaram correlação moderada significativa com as mudanças nos níveis endógenos de ACC (Tabela 1). A principal giberelina encontrada nas folhas de *C. flexuosa* foi a GA<sub>4</sub> (Fig. 5 D) e esta apresentou forte correlação com o ABA ( $r=0,89$   $p<0,0001$ ) e tZ ( $r=0,73$   $p<0,0001$ ).

### **Anatomia Foliar**

Na região da nervura central, *C. flexuosa* apresenta cilindro vascular fechado, com presença de fibras perivasculares; o parênquima fundamental é espessado e lignificado na face abaxial; na face adaxial o parênquima é clorofiliano. O sistema de revestimento é composto por epiderme unisseriada em ambas as faces, com células papilhosas na face abaxial, mais evidente na nervura central, e células poligonais na face adaxial. A epiderme apresenta células com parede delgada em ambas as faces, e em toda a extensão, a epiderme é coberta por camada espessa de cutícula. Tricomas estão ausentes e os estômatos foram observados em maior quantidade na epiderme abaxial (Fig. 6 D), estando restritos à região da nervura na face adaxial (Fig. 6C). O mesofilo é bilateral, constituído de 2-3 camadas de parênquima paliádico próximo à face adaxial e parênquima braciforme próximo à face abaxial; nervuras laterais colaterais envolvidas por bainha parenquimática (endoderme); além da presença de cordões de fibras adjacentes ao floema e ao xilema (Fig. 6A e 6B). A MEV revelou que a epiderme é revestida por uma camada de cera epicuticular do tipo crosta na face adaxial e na face abaxial é do tipo filme (Fig. 6 E e F). Além disso, na face abaxial foram observadas ornamentações na parede celular formando uma estrutura papilosa e sulcada acima dos estômatos (Fig. 6F).

Além disso, foi observado que após longo período de seca em abril/2013 *C. flexuosa* apresentou folhas mais espessas, aumento na espessura do parênquima paliádico foi

observado nos meses de abril/2013 e março/2014, aproximadamente 60% e 20%, respectivamente (Tabela 2).

## Discussão

Todos os parâmetros avaliados apresentaram variação sazonal, evidenciando a capacidade dessa espécie em modular seu metabolismo em virtude das condições ambientais e assim garantir sua sobrevivência durante períodos desfavoráveis.

O ano de 2012 foi caracterizado por um longo período de seca (Fig. 1) e nesse período foram observadas as menores taxas de  $g_s$  e  $A$ , o que ocasionou uma maior EUA (Fig. 2). Estudos prévios apontam regulação da abertura estomática como sendo a principal resposta das plantas da Caatinga durante a seca (Oliveira et al. 2014, Santos et al. 2014, Figueiredo et al. 2015). No entanto, no período seco do ano seguinte, os indivíduos apresentaram aumento nas taxas de  $g_s$  e  $A$ , mesmo com  $\Psi_f$  semelhante ao do ano anterior (Fig. 2). A manutenção do  $\Psi_f$  durante seca severa (nov/12) em níveis semelhantes aos observados na seca seguinte, que foi de menor duração (nov/13), pode ter sido resultado da maior EUA nesse período (nov/12) (Santos et al. 2014), a qual pode ter tido suporte das características anatômicas foliares. Por outro lado, aumento da  $g_s$  pode ter ocorrido devido à redução do DPV em nov/13, que apresentou uma correlação moderada com a  $g_s$ , e esta por sua vez apresentou uma correlação moderada com  $A$ . Além disso, essa espécie apresentou diferentes estratégias para manutenção do potencial hídrico: em 2012, como foi um ano de seca prolongada, *C. flexuosa* apresentou redução da  $g_s$  e  $A$  e aumento na EUA para manter o  $\Psi_f$ , enquanto que em 2013, um ano menos seco, e com menor DPV, comparado ao ano de 2012, essa espécie conseguiu manter maior  $g_s$  e  $A$ . A maior concentração de açúcares solúveis na folha pode ter tido um papel na eliminação de espécies reativas de oxigênio (Oliveira et al. 2014). É interessante perceber que, além de mudanças de estratégias nas trocas gasosas e metabolismo de açúcares entre nov/12 e nov/13,

as plantas ajustaram a produção de pigmentos a fim de proteger o maquinário fotossintético. Se em nov/13 as plantas acumularam açúcares, em nov/12 houve uma redução na relação  $Clo(a+b)/Car$ , ocasionada principalmente pela degradação de  $Clo a$  (Fig. 4), indicando investimento em fotoproteção do aparato fotossintético e retardo do progresso da senescência foliar (Lichtenthaler e Buschmann 2001, Chen e Cheng 2003).

As trocas gasosas de *C. flexuosa* podem também ter sido influenciada pelas características anatômicas observadas nessa espécie que estão de acordo com a descrição de Metcalf e Chalk (1983) para família Capparaceae (Fig. 6). Isso porque toda estrutura anatômica das folhas dessa sempre-verde está voltada para evitar danos causados pelo excesso de luz, minimizar a perda de água e otimizar fixação do  $CO_2$ , e aumentar a eficiência do uso da água em situações de escassez de água. Primeiro, a epiderme com células papilhosas, bem como a ornamentação da parede periclinal externa das células epidérmicas, na face abaxial (Fig.6F), pode favorecer as trocas gasosas uma vez que geram um microclima favorável próximo aos estômatos. Segundo, a cutícula espessa que reveste toda a superfície foliar pode diminuir a quantidade de água perdida durante o processo de transpiração celular (Samdur et al. 2003), além de refletir uma parte da radiação que chega à superfície evitando que excesso de energia chegue aos centros de reação (Robinson et al. 1993, Grant et al. 1995, Rieder 2006). Por fim, alongamento das células do parênquima paliádico no sentido abaxial, apresentando 2-3 camadas de células aumenta a espessura foliar em detrimento de uma maior área foliar (Tabela 2). Todos esses ajustes estão diretamente relacionados à tolerância ao ambiente semiárido e seu principal fator regulador de ganho de biomassa, mesmo que isso possa vir a reduzir a taxa líquida de assimilação de  $CO_2$  (Burkhardt e Pariyar 2016).

Além das condições ambientais, fatores endógenos também estão envolvidos na regulação da perda de água por meio do controle estomático, e o ABA tem sido reportado como o principal mediador dessa resposta (Li et al. 2000, Hartung et al. 2002, Dodd 2005, Morales et

al. 2015). Curiosamente, maiores concentrações de ABA não foram associadas com alterações na  $g_s$  de *C. flexuosa* (Tabela 1), e durante o período prolongado de seca as concentrações foram semelhantes aos períodos mais úmidos e inferiores a  $1 \text{ ng g}^{-1} \text{ MS}$  (Fig. 5). As concentrações de ABA podem ser controladas pelo equilíbrio entre biossíntese e catabolismo (Ren et al. 2007), e a menor concentração de ABA encontrada nas folhas de *C. flexuosa* no ano mais seco pode ter ocorrido porque o ABA foliar pode ser rapidamente reciclado para o floema (Hartung 2002, Dodd 2005), ou pelo deficit de esqueleto carbônico disponível para formar a molécula. O precursor do ABA é o  $\beta$ -caroteno, que possui uma cadeia carbônica longa ( $C_{40}$ ), sendo uma molécula custosa, em termos de aporte de carbono, para ser produzida (Taylor 1991). É interessante notar que os dados apontaram uma correlação significativa entre a concentração de ABA e A, o que suporta a segunda hipótese. Por outro lado, a forte correlação positiva entre citocinina (tZ) e ABA, e Giberelina ( $GA_4$ ) e ABA (Tabela 1) sugere que os níveis endógenos destes hormônios podem de forma indireta ter inibido os efeitos do ABA nos estômatos em *C. flexuosa*, uma vez que alta concentração de citocinina pode apresentar efeito negativo na expressão de genes envolvidos na síntese de ABA (Riveiro et al. 2010). Além disso, por ser uma sempre verde, *C. flexuosa* precisa das citocininas como um dos fatores que evitam a senescência foliar durante o período seco.

A manutenção dos conteúdos de CST, PST, ALT, frutose e sacarose durante o período de maior restrição hídrica, além de alta concentração de amido, foram observadas em *C. flexuosa* (Fig. 3), mesmo com menor  $g_s$  e A (Fig. 2 A e 2B). Esse resultado sugere paralização do crescimento, diminuição na taxa de translocação para os drenos, e manutenção de um intenso metabolismo de tolerância foliar, o que é esperado para uma espécie sempre verde capaz de tolerar longos períodos de déficit hídrico (Fig. 1C) de uma floresta tropical sazonalmente seca (Santos et al. 2014). No presente estudo foi encontrada alta concentração de tZ no tecido foliar que foi correlacionado com conteúdo de CST, sugerindo que esse hormônio atua direta

ou indiretamente no fornecimento de energia, sobretudo durante a restrição hídrica, em *C. flexuosa*. Níveis elevados de citocinina podem resultar em aumento de tolerância a estresse abiótico, sendo esse hormônio associado à proteção de processos fotossintéticos por meio da fotorrespiração e preservação de proteínas envolvida na fotossíntese (Riveiro et al. 2009, Riveiro et al. 2010). A atuação das citocininas na redução da senescência foliar pode se dar através do controle dos níveis de espécies reativas de oxigênio (ROS), importantes para a sobrevivência de plantas durante períodos de seca severa (Riveiro et al. 2007). Além disso, desempenha importante papel no transporte e distribuição de fotoassimilados (Chernyadev 2009). De fato, a regulação gerada por tZ pode ter favorecido a retenção de recursos nas folhas dessa sempre verde, em vez de translocá-los para caules, sendo este um importante mecanismo para suprimento de energia durante fase de crescimento ou manutenção de um metabolismo de tolerância à restrição hídrica (Cherbuy et al. 2001, Gilson et al. 2014).

O ácido salicílico (AS) é outro importante modulador de respostas de plantas a estresse, tendo importante papel na manutenção do *status* hídrico (Barkosky e Eenhellig 1993), resposta estomática, aumento da EUA, aumento da atividade da Rubisco, melhorias nas taxas de A e ativação de enzimas antioxidantes (SOD) (Sing e Usha 2003, Hayat et al. 2010). *C. flexuosa* apresentou forte correlações entre AS e  $\Psi_f$ , EUA e  $g_s$  (Tabela 1). Esses dados sugerem que o AS tenha importante papel na regulação desses processos, bem como, pode ter sido importante na regulação do AJ, apresentando interação positiva com o mesmo (Tabela 1).

Ambos os hormônios AS e AJ têm importante papel no controle da senescência foliar. Decréscimo nos níveis de AS podem reduzir a progressão da senescência foliar, possibilitando aumento de biomassa, enquanto acúmulo de AJ tem sido associado a indução da senescência foliar (Abreu e Munné-Bosch 2009, Wasternack 2014). De fato, menores níveis endógenos desses hormônios foram observados nos períodos de restrição hídrica em

417 folhas de *C. flexuosa*. Além disso, esses hormônios apresentaram correlação positiva  
418 moderada com  $g_s$ , sugerindo que esse fino ajuste tenha tido um papel crucial para a  
419 manutenção das folhas dessa espécie sempre-verde, durante a restrição hídrica, através da  
420 regulação estomática.

421 Dadas as múltiplas interações entre as diferentes vias hormonais, muitas vezes é difícil  
422 estabelecer um mecanismo de interação (Albacete et al 2008). Neste trabalho, nós testamos  
423 vários modelos a fim de compreender como essas interações influenciam e são influenciadas  
424 pela  $g_s$ . Nosso modelo com maior nível de probabilidade (NP=0.51) está apresentado na  
425 figura 7. Nesse modelo, foram significativas as relações AJ x ABA, A x ABA,  $\Psi_f$  x AJ e  $g_s$  x  
426 A. Assim, segundo esse modelo, o AJ é principalmente influenciado por variações no  $\Psi_f$ , mas  
427 não apresenta efeito direto na  $g_s$ . Contudo, parece apresentar efeito indireto através da  
428 inibição dos efeitos do ABA foliar na  $g_s$ , demonstrado pela relação negativa e significativa  
429 com o ABA, e pela correlação positiva com  $g_s$ . Além disso, esse modelo mostra que o ABA  
430 foliar não apresenta relação com a variação no  $\Psi_f$ , porém apresenta relação com assimilação  
431 de CO<sub>2</sub>, o que poderia explicar o baixo teor de ABA na condição de seca severa (nov/12) e  
432 maior teor na seca de nov/13 quando as taxas de assimilação foram maiores.

433 Neste estudo, *C. flexuosa* foi acompanhada durante três anos caracterizados por diferentes  
434 índices pluviométricos anuais e balanço hídrico do solo, sendo o ano de 2012 o mais seco  
435 (Fig. 1). Nossos resultados sugerem que esta espécie depende da disponibilidade hídrica no  
436 solo e do DPV para manter suas folhas no período seco, uma vez que foram observados  
437 aumentos significativos nas trocas gasosas (Fig. 2) e bioquímica (CST e ALT) (Fig. 3 A, C)  
438 do período seco de 2012 para 2013, no qual foi observado maior precipitação e balanço  
439 hídrico (Fig.1). Esses resultados sugerem que períodos de seca prolongados podem diminuir  
440 substancialmente a produção de biomassa em plantas dessa espécie, além de afetar o sucesso  
441 reprodutivo. Todavia, *C. flexuosa* mantém um número elevado de folhas com suas estruturas

internas modificadas, porém preservadas, à espera de um período favorável para retomada do crescimento.

Em resumo, nosso estudo traz novas informações sobre o papel dos fitohormônios ABA, AJ, AS, tZ, GA<sub>4</sub> e ACC na manutenção do status hídrico foliar, trocas gasosas, fotossíntese, e bioquímica nas folhas de *C. flexuosa* ao longo da variação sazonal na disponibilidade de água em uma área de floresta tropical sazonalmente seca. Embora o ABA seja comumente relacionado ao controle da abertura estomática, nossos resultados sugerem AJ como o principal regulador intrínseco da  $g_s$  nessa espécie. Além disso, a manutenção do  $\Psi_f$  durante seca severa foi principalmente relacionado ao AS, sendo 83% das variações relacionadas a este fitoregulador, sugerindo que o seu acúmulo pode ser um dos principais mecanismos de tolerância a déficit hídrico nessa espécie sempre verde lenhosa. Por outro lado, menores concentrações de AJ durante períodos de seca podem indicar um importante mecanismo no atraso da senescência foliar. Já o fornecimento de energia parece ser regulado principalmente por tZ, com 62% nas variações das concentrações de CST explicadas por esse fitohormônio, que apresentou as maiores concentrações endógenas nessa espécie.

## Agradecimentos

Agradecemos à Unidade Acadêmica de Serra Talhada (UAST) por seu apoio durante o trabalho de campo, ao Centro de Edafología y Biología Aplicada del Segura (CEBAS) e Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC) por fornecerem toda estrutura necessária para análise hormonal, e ao Conselho Nacional de Pesquisa (CNPq) e a Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia de Pernambuco (FACEPE) por seu apoio financeiro. Este estudo é parte da tese de doutorado do primeiro autor.



466 **Referências**

- 467 Abreu, M.E., Munné –Bosch, S. (2009) Salicylic acid deficiency in NahG transgenic lines and  
468 sid2 mutants increases seed yield in the annual plant *Arabidopsis thaliana*. Jour. of Exp. Bot.,  
469 60(4):1261–1271. DOI 10.1093/jxb/ern363
- 470 Albacete, A., Ghanem, M.E., Martínez-Andújar, C., Acosta, M., Sánchez-Bravo, J., Martínez,  
471 V., Lutts, S., Dodd, I.C., Pérez-Alfocea, F. (2008) Hormonal changes in relation to biomass  
472 partitioning and shoot growth impairment in salinized tomato (*Solanum lycopersicum* L.)  
473 plants. J Exp Bot 59: 4119-4131. DOI 10.1093/jxb/ern251
- 474 Albacete, A., Martinez-Andujar, C., Ghanem, M.E., Acosta, M., Sanchez- Bravo, J., Asins,  
475 M.J., Cuartero, J., Lutts, S., Dodd, I.C., Perez-Alfocea, F. (2009) Rootstock-mediated changes  
476 in xylem ionic and hormonal status are correlated with delayed leaf senescence, and increased  
477 leaf area and crop productivity in salinized tomato. Plant Cell Environ. 32:928–938. DOI  
478 10.1111/j.1365-3040.2009.01973.x
- 479 Albuquerque, U., Araújo, E.L., El-Deir, A.C.A., Lima, A.L.A., Souto, A., Bezerra, B.M.,  
480 Ferraz, E.M.N., Freire, E.M.X., Sampaio, E.V.S.B., Las-Casas, F.M.G., Moura, G.J.B.,  
481 Pereira, G.A., Melo, J.G., Ramos, M.A., Rodal, M.J.N., Schiel, N., Lyra-Neves, R.M., Alves,  
482 R.R.N., Azevedo-Júnior, S.M., Júnior, W.R.T., Severi, W. (2012) Caatinga Revisited:  
483 Ecology and conservation of an important Seasonal Dry Forest. The Scientific World Journal.  
484 2012: 1-18. DOI:10.1100/2012/205182
- 485 Ashton, P.M.S., Berlyn, G.P. (1994) A comparison of leaf physiology and anatomy of  
486 *Quercus* (Section *Erythrobalanus*-Fagaceae) species in different light environments. Amer.  
487 Jour. of Bot. 81 (5):589-597.
- 488 Alvares, C.A., Stape, J.L., Sentelhas, P.C., Gonçalves, J.L.M., Sparovek, G. Köppen's climate  
489 classification map for Brazil. Meteorologische Zeitschrift. 22 (6): 711–728. DOI  
490 10.1127/0941-2948/2013/0507
- 491 Barkosky, R.R., Einhellig, F.A. (1993) Effects of salicylic acid on plant water relationship. J.  
492 Chem. Ecol. 19: 237–247. DOI 10.1007/BF00993692

- 493 Bradford, M.M. (1976) Rapid and quantitative method for quantitation of microgram  
494 quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*.  
495 72: 284–252
- 496 Campbell, G.S., Norman, J.M. *An Introduction to Environmental Biophysics* (1998). 2<sup>nd</sup>. Ed.  
497 Springer-Verlag New York Berlin Heidelberg.
- 498 Cherbuy, B., Joffre, R., Gillon, D., Rambal, S. (2001) Internal remobilization of  
499 carbohydrates, lipids, nitrogen and phosphorus in the Mediterranean evergreen oak *Quercus*  
500 *ilex*. *Tree Physiology* 21, 9–17. DOI 10.1093/treephys/21.1.9
- 501 Chen LS, Cheng L (2003) Both xanthophyll cycle-dependent thermal dissipation and the  
502 antioxidant system are up-regulated in grape (*Vitis labrusca* L. cv. Concord) leaves in  
503 response to N limitation. *Journal of Experimental Botany* 54: 2165–2175. DOI:  
504 10.1093/jxb/erg220
- 505 Chernyad'ev, I.I. (2009) The Protective Action of Cytokinins on the Photosynthetic  
506 Machinery and Productivity of Plants under Stress (Review). 6838, *Applied Biochemistry and*  
507 *Microbiology*. 45:4, 351–362. DOI 10.1134/S0003683809040012
- 508 Diego,N.D., Pérez-Alfocea, F., Cantero, E., Lacuesta, M., Moncaleán, P. (2012) Physiological  
509 response to drought in radiata pine: phytohormone implication at leaf level. *Tree Physiology*  
510 32: 435–449. DOI:10.1093/treephys/tps029
- 511 Dodd, I.C. (2005) Root-to-shoot signalling: assessing the roles of ‘up’ in the up and down  
512 world of long-distance signalling in plant. *Plant Soil* 274:251–270. DOI 10.1007/s11104-004-  
513 0966-0
- 514 Dubois, M., Gilles, K.A., Hamilton, J.K., Reders, P.A., Smith, F. (1956) Colorimetric method  
515 for determination of sugars and related substances. *Analytical Chemistry*. 28: 350–356.
- 516 Falcão, H.; Medeiros, C.D.B., Silva, B.L.R., Sampaio, E.V.S.B., Almeida-Cortez, J., Santos,  
517 M.G. (2015) Phenotypic plasticity and ecophysiological strategies in a tropical dry forest  
518 chronosequence: a study case with *Poincianella pyramidalis*. *Forest Ecology and*  
519 *Management*, 340, 62-69. DOI 10.1016/j.foreco.2014.12.029

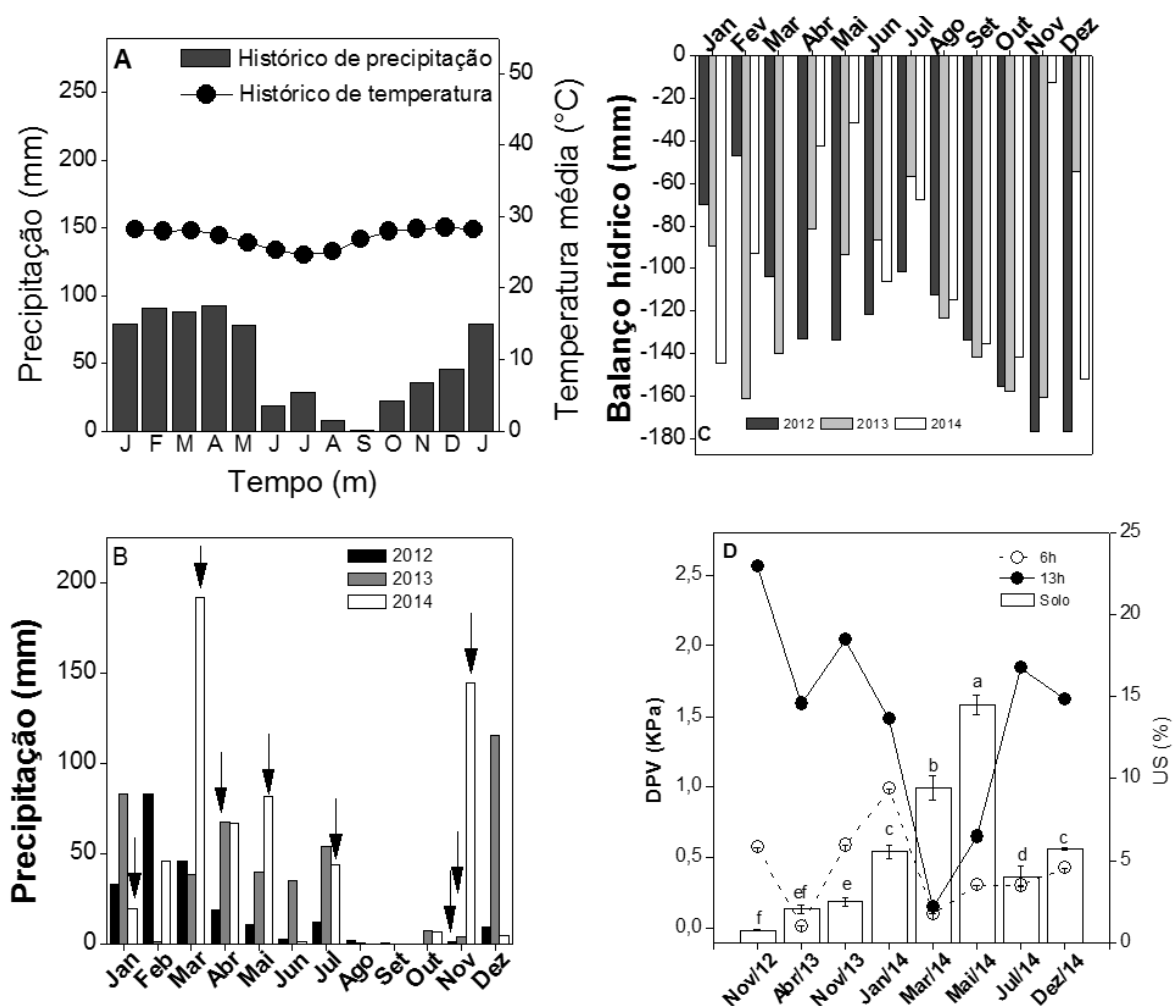
- 520 Figueiredo, K.V., Oliveira, M.T., Arruda, E.C.P., Silva, B.C.F., Santos, M.G. (2015) Changes  
521 in leaf epicuticular wax, gas exchange and biochemistry metabolism between *Jatropha*  
522 *mollissima* and *Jatropha curcas* under semi-arid conditions. *Acta Physiologiae Plantarum*, v.  
523 37, p. 108. DOI 10.1007/s11738-015-1855-2
- 524 Foreman, D.; Lawrence, G.; Evans, E.; Trella, C.A. (1973) Modification of the Roe Procedure  
525 for Determination of Fructose in Tissues with Increased Specificity. *Analytical Biochemistry*.  
526 56:584-590.
- 527 Gilson, A., Barthes, L., Delpierre, N., Dufrênce, E., Fresneau, C., Bazot, S. (2014) Seasonal  
528 changes in carbon and nitrogen compound concentrations in a *Quercus petraea*  
529 chronosequence. *Tree Physiology* 34, 716–729. DOI 10.1093/treephys/tpu060
- 530 Handel, E.V. (1968) Direct microdetermination of sucrose. *Analytical Biochemistry*. 23:280-  
531 283.
- 532 Hartung, W., Sauter, A., Hose, E. (2002) Absciscic acid in the xylem: where does it come from,  
533 where does it go to? *J. Exp. Bot.* 53:27–32. doi: 10.1093/jexbot/53.366.27
- 534 Hayat, Q., Hayat, S. Irfan, M., Ahmad, A. (2010) Effect of exogenous salicylic acid under  
535 changing environment: A review. *Env. and Exp Bot.* 68 (1): 14–25. DOI  
536 10.1016/j.envexpbot.2009.08.005
- 537 IPA (2015). [http://www.ipa.br/indice\\_pluv.php#calendario\\_indices](http://www.ipa.br/indice_pluv.php#calendario_indices)
- 538 Johansen, D. (1940) *Plant Microtechnique*. New York: McGraw-Hill Book Company, New  
539 York
- 540 Kazan, K. (2015) Diverse roles of jasmonates and ethylene in abiotic stress tolerance. *Trends*  
541 *in Plant Science*. 20(4): 219-229. DOI 10.1016/j.tplants.2015.02.001
- 542 Li, J., X. Wang, Watson, M.B., Assmann, S.M.(2000) Regulation of abscisic acid-induced  
543 stomatal closure and anion channels by guard cell AAPK kinase. *Science* 287:300–304. DOI:  
544 10.1126/science.287.5451.300
- 545 Lichtenthaler, H.K., Buschmann, C. (2001) Chlorophylls and carotenoids: measurement and  
546 characterization by UV-VIS spectroscopy. *Curr. Protoc. Food Anal. Chem.*, F4.3: 1-8.

- 547 Lima, A.L.A., Sampaio, E.V.S.A.B., Castro, C.C., Rodal, M.J.N., Antonino, A.C.D., Melo,  
548 A.L. (2012) Do the phenology and functional stem attributes of woody species allow for the  
549 identification of functional groups in the semiarid region of Brazil? *Trees*. 26:1605–1616.  
550 DOI 10.1007/s00468-012-0735-2
- 551 Metcalfe, C.R., Chalk, L. (1983) *Anatomy of the dicotyledons: wood structure and conclusion*  
552 *of the general introduction*. 2ed.. Oxford University Press, New York, v.2.
- 553 Moore S, Stein WH (1948) Photometric ninhydrin method for use in the chromatography of  
554 amino acids. *The Journal of Biological Chemistry* 176: 367–388.
- 555 Morales, M., Garcia, Q.S., Munné-Bosch, S. (2015) Ecophysiological response to seasonal  
556 variations in water availability in the arborescent, endemic plant *Vellozia gigantea*. *Tree*  
557 *Physiology* 35, 253–265. DOI10.1093/treephys/tpv012
- 558 Noir, S., Bömer, M., Takahashi, N., Ishida, T., Tsui, T-L., Balbi, V., Shanahan, H., Sugimoto,  
559 K., Devoto, A. (2013) Jasmonate controls leaf growth by repressing cell proliferation and the  
560 onset of endoreduplication while maintaining a potential stand-by mode. *Plant*  
561 *Physiol*;161:1930–51. DOI 10.1104/pp.113.214908
- 562 Oliveira, M.T., Matzek, V., Medeiros, C.D.B., Costa, R.R., Falcão, H. M., Santos, M. G.  
563 (2014) Stress Tolerance and Ecophysiological Ability of an Invader and a Native Species in a  
564 Seasonally Dry Tropical Forest. 9 (8): 1-11. DOI 10.1371/journal.pone.0105514
- 565 Pospisilova, J. (2003). Participation of phytohormones in the stomatal regulation of gas  
566 exchange during water stress. *Biol. Plant*. 46:491–506.
- 567 Rascio, A., Cedola, M.C., Toponi, M., Flagella, Z., Wittmer, G. (1990) Leaf morphology and  
568 water status in *triticum durum* under water stress. *Physiol. Plant*. 78: 462-467. DOI  
569 10.1111/j.1399-3054.1990.tb09064.x
- 570 Ren, H., Gao, Z., Chen, L., Wei, K., Liu, J., Fan, Y., Davies, W.J., Jia, W., Zhang, J. (2007)  
571 Dynamic analysis of ABA accumulation in relation to the rate of ABA catabolism in maize  
572 tissues under water deficit. *J. Exp. Bot*. 58 (2): 211-219 DOI 10.1093/jxb/erl117
- 573 Riederer, M. 2006. Introduction: biology of the plant cuticle. In: Riederer, M.; Müller, C.  
574 (Ed.), *Biology of the Plant Cuticle*. Annual Plant Reviews, 23: 1-8.

- 575 Rivero, R.M., Gimeno, J., Deynze, A.V., Walia, H., Blumwald, E. Enhanced Cytokinin  
576 Synthesis in Tobacco Plants Expressing P<sub>SARK</sub>:IPT Prevents the Degradation of  
577 Photosynthetic Protein Complexes During Drought. *Plant Cell Physiol.* 51(11): 1929–1941  
578 (2010) DOI 10.1093/pcp/pcq143
- 579 Rivero, R.M., Kojima, M., Gepstein, A., Sakakibara, H., Mittler, R., Gepstein, S., Blumwald,  
580 E. (2007) Delayed leaf senescence induces extreme drought tolerance in a flowering plant.  
581 *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 104: 19631–19636. DOI 10.1073/pnas.0709453104
- 582 Rivero, R.M., Shulaev, V., Blumwald, E. (2009) Cytokinin-dependent photorespiration and  
583 the protection of photosynthesis during water defi cit. *Plant Physiol.* 150: 1530–1540.  
584 DOI/10.1104/pp.109.139378
- 585 Robinson, S. A.; Lovelock, C. E.; Osmond, C. B. 1993. Wax as a mechanism for protection  
586 against photoinhibition-A study of *Cotyledon orbiculata*. *Botanica Acta*, 106: 307–312.
- 587 Samdur, M.Y., Manivel, P., Jain, V.K., Chikani, B.M., Gor, H.K., Desai, S., Misra, J.B. 2003.  
588 Genotypic differences and water-deficit induced enhancement in epicuticular wax load in  
589 peanut. *Crop Science*, 43: 1294-1299. DOI:10.2135/cropsci2003.1294
- 590 Santos, M.G., Oliveira, M.T., Figueiredo, K.V., Falcão, H.M., Arruda, E.C.P., Almeida-  
591 Cortez, J., Sampaio, E.V.S. B., Ometto, J. P.H.B., Menezes, R.S.C., Oliveira, A.F.M.,  
592 Pompelli, M.F., Antonino, A.C.D. (2014) Caatinga, the Brazilian dry tropical forest: can it  
593 tolerate climate changes?. *Theoretical and Experimental Plant Physiology*, 26: 83-99. DOI  
594 10.1007/s40626-014-0008-0
- 595 Scholander P.F., Hammel H.T., Hemmingsen E.A., Bradstreet E.D. (1964) Hydrostatic  
596 pressure and osmotic potentials in leaves of mangroves and some other plants. *Proceedings of*  
597 *the Natural Academy of Sciences*, **51**, 119-125.
- 598 Singh, B., Usha, K. (2003) Salicylic acid induced physiological and biochemical changes in  
599 wheat seedlings under water stress. *Plan. Grow. Regul.* 39: 137–141. DOI  
600 10.1023/A:1022556103536
- 601 Taylor I. (1991) Genetics of ABA synthesis. In: Davies W, Jones H, eds. *Abscisic acid,*  
602 *physiology and biochemistry*. Oxford: Bios Scientific, 23–35.

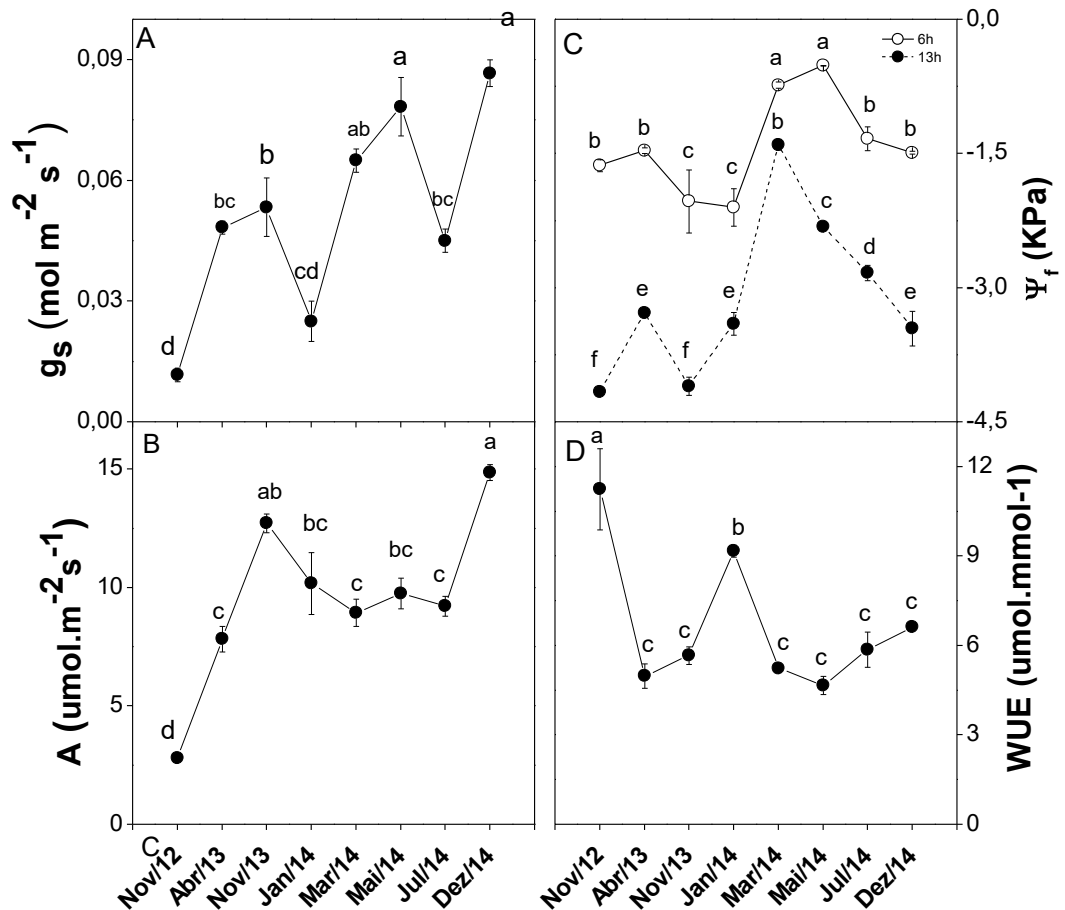
- 603 Tomlinson, K.W., Pooter, L. Sterck, F.J., Borghetti, F., Ward, D., Bie, S., Langevelde,  
604 F.(2013). Leaf adaptations of evergreen and deciduous trees of semi-arid and humid savannas  
605 on three continents. *Journal of Ecology*. 101: 430–440. DOI: 10.1111/1365-2745.12056.
- 606 Villa, S.M., Escudero, A., Heilmeyer, H. (2001) Internal leaf anatomy and photosynthetic  
607 resource-use efficiency: interspecific and intraspecific comparisons. *Tree Physiol*. 21: 251–  
608 259. DOI 10.1093/treephys/21.4.251
- 609 Wasternack, C. (2014) Action of jasmonates in plant stress responses and development-  
610 applied aspects. *Biotech. Adv.* 32: 31–39. DOI:10.1016/j.biotechadv.2013.09.009
- 611

612  
613  
614  
615  
616  
617  
618  
619  
620  
621  
622  
623  
624  
625  
626  
627  
628  
629  
630  
631  
632  
633  
634  
635  
636  
637  
638  
639  
640  
641  
642  
643  
644  
645  
646  
647  
648  
649  
650  
651  
652  
653  
654  
655  
656  
657  
658  
659  
660  
661

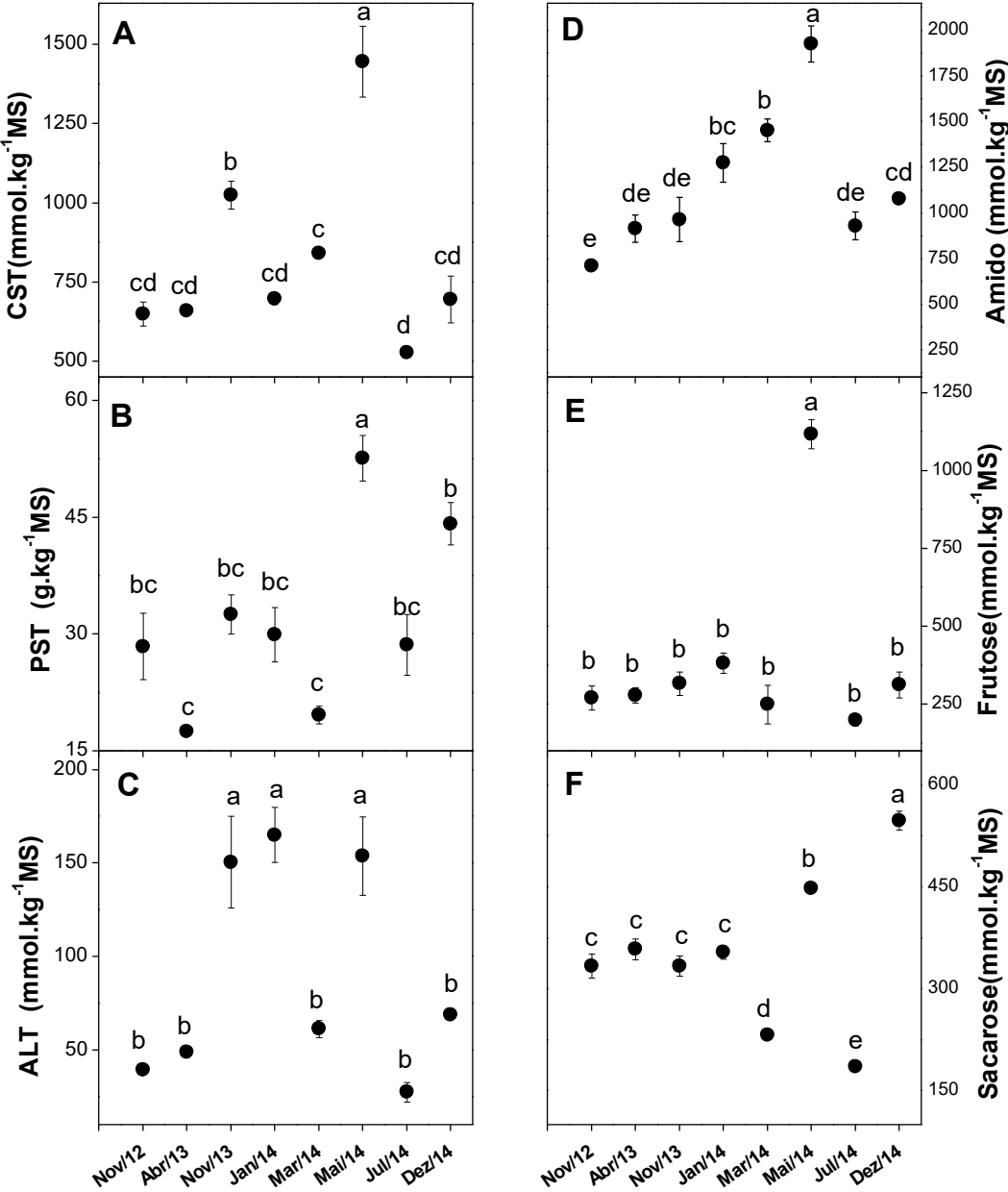


**Figura 1:** Variáveis ambientais em Serra Talhada (Pernambuco, Brasil). **(A)** Médias históricas de precipitação e temperatura; **(B)** Precipitação mensal acumulada nos três anos de medidas (setas indicam os meses de coleta); **(C)** Balanço hídrico do solo; **(D)** Variação sazonal do Déficit de Pressão de Vapor (DPV) e Umidade do Solo (US). Barras representam a média  $\pm$  erro padrão ( $n=5$ ). Letras diferentes indicam diferenças estatísticas por teste Newman-Keul com nível de significância de 5 por cento entre as variáveis. Os dados históricos de precipitação e temperatura representa o ano de 2009-2015. ([Http://www.ipa.br/indice\\_pluv.php#calendario\\_indices](http://www.ipa.br/indice_pluv.php#calendario_indices))

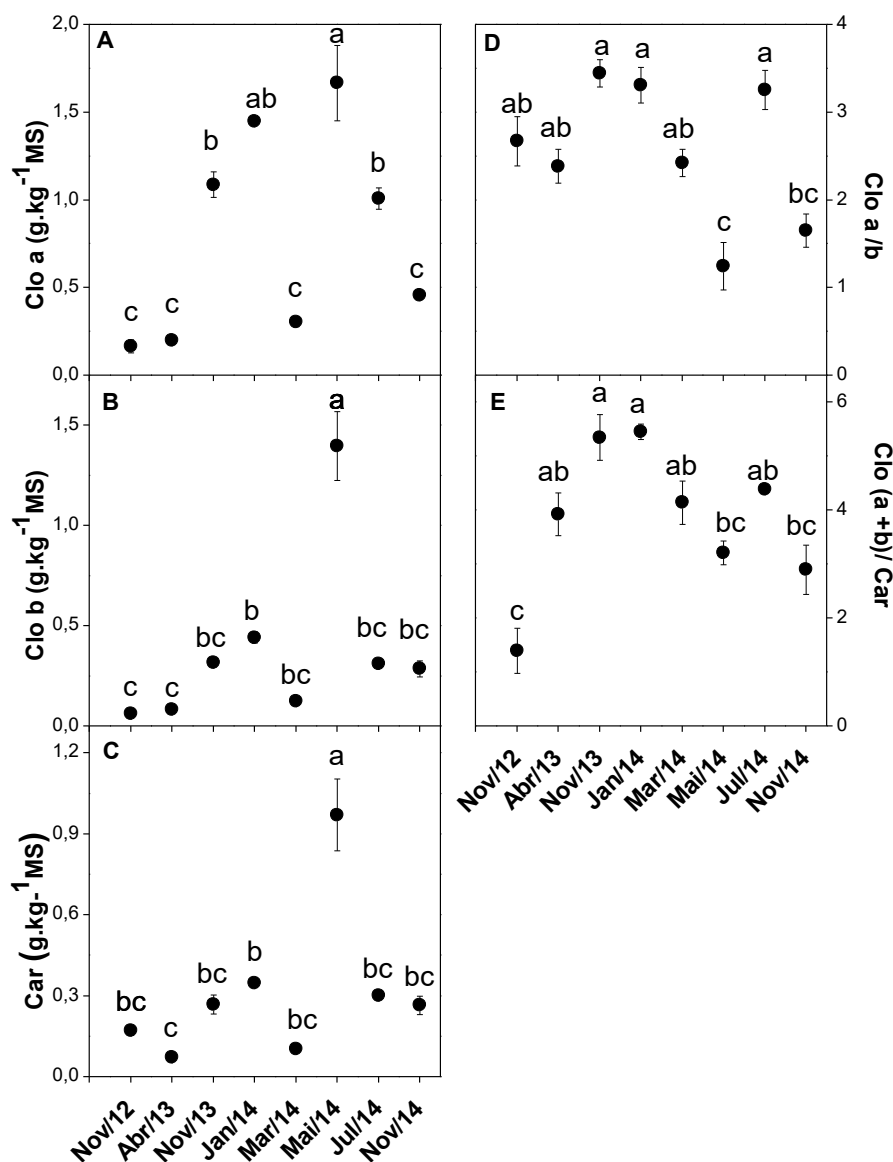




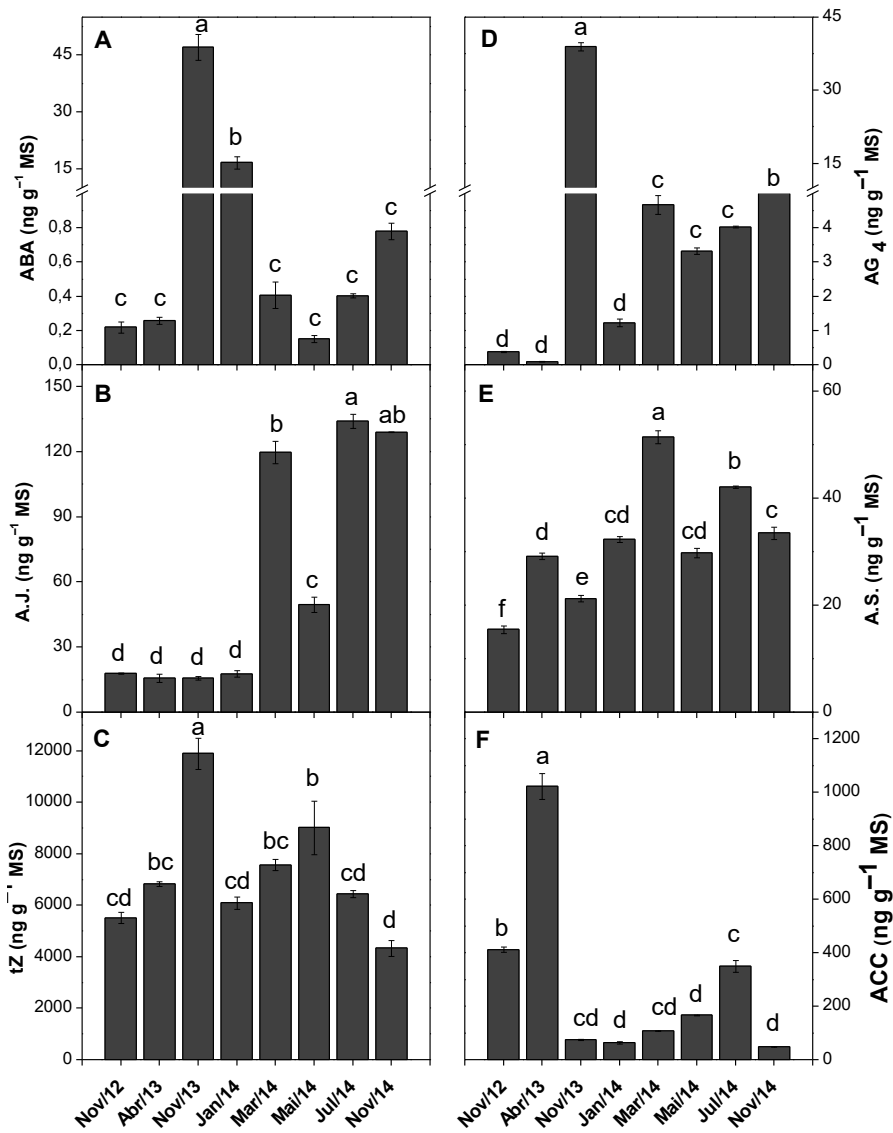
**Figura 2:**Variação sazonal nas trocas gasosas na sempre-verde *Cynophalla flexuosa* (L.) J.Presl em uma floresta tropical seca, município de Serra Talhada, Pernambuco, Brasil. **(A)** Condutância estomática ( $g_s$ ); **(B)** Assimilação de  $\text{CO}_2$  (A); **(C)** Potencial hídrico foliar ( $\Psi_f$ ); **(D)** Eficiência do uso da água ( $\text{EUA}=\text{A}/\text{E}$ ). Valores representam a média  $\pm$ erro padrão ( $n=3$ ). Letras diferentes indicam diferenças estatísticas por teste Newman-Keul com nível de significância de 5 por cento entre as variáveis.



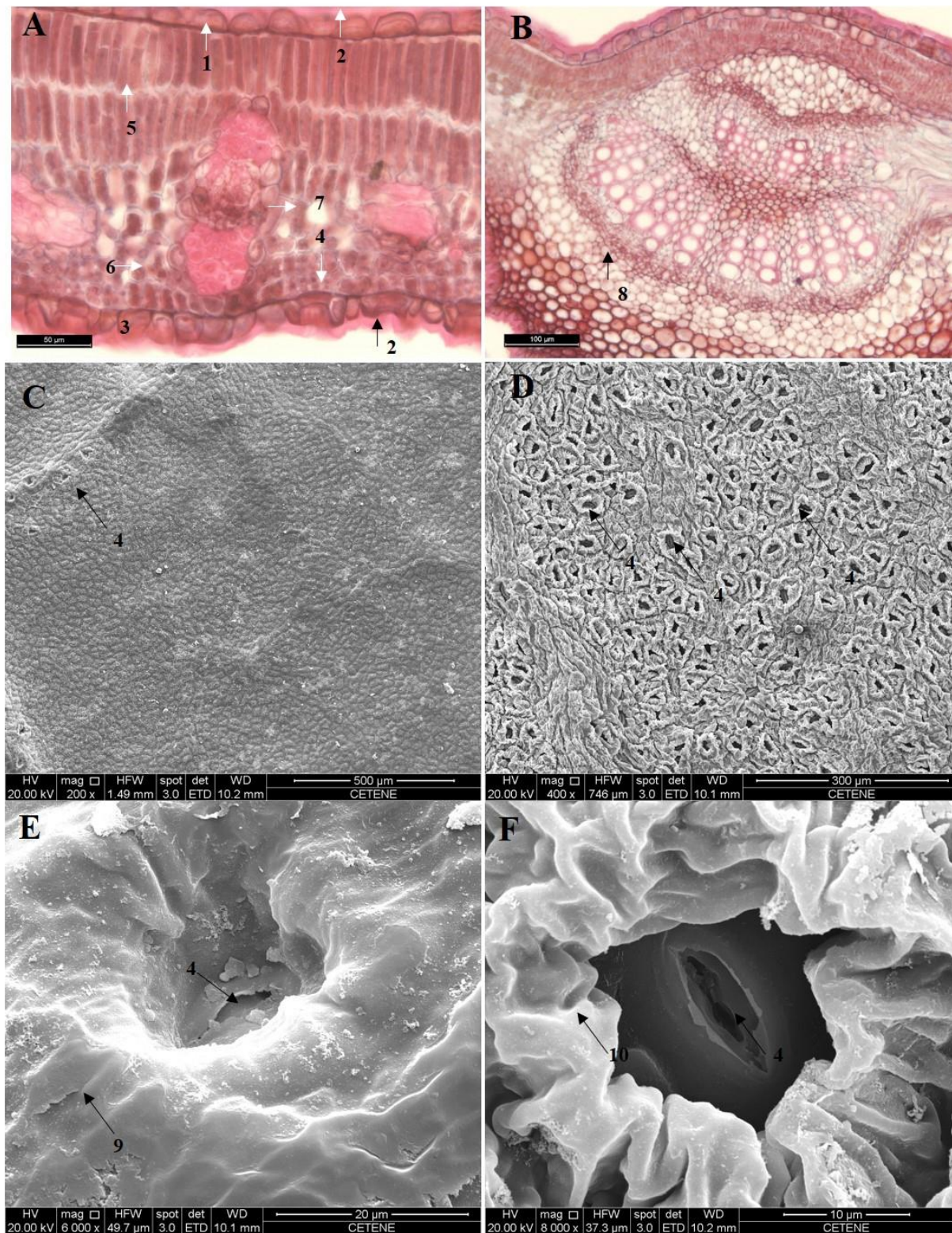
**Figura 3:** Alterações na bioquímica foliar na sempre-verde *Cynophalla flexuosa* (L.) J.Presl em uma floresta tropical seca no Brasil ao longo das estações: (A) Carboidratos solúveis (CST); (B) Total de proteínas solúveis (PST); (C) Aminoácidos livres totais (ALT); (D) Amido; (E) Frutose; (F) Sacarose. Valores representam a média  $\pm$  erro padrão (n=5). Letras diferentes indicam diferenças estatísticas por teste Newman-Keul com nível de significância de 5 por cento entre as variáveis.



**Figura 4:** Variação sazonal na concentração de pigmentos foliar na sempre-verde *Cynophalla flexuosa* (L.) J.Presl em uma floresta tropical seca no Brasil: (A) Clorofila a (Clo a), (B) Clorofila b (Clo b), (C) Carotenóide (Car); (D) Clorofila a/b (Clo a/b), (E) Total de clorofila/ carotenoides (Clo (a+b)/Car). Valores representam a média  $\pm$  erro padrão (n=5). Letras diferentes indicam diferenças estatísticas por teste Newman-Keul com nível de significância de 5 por cento entre as variáveis.



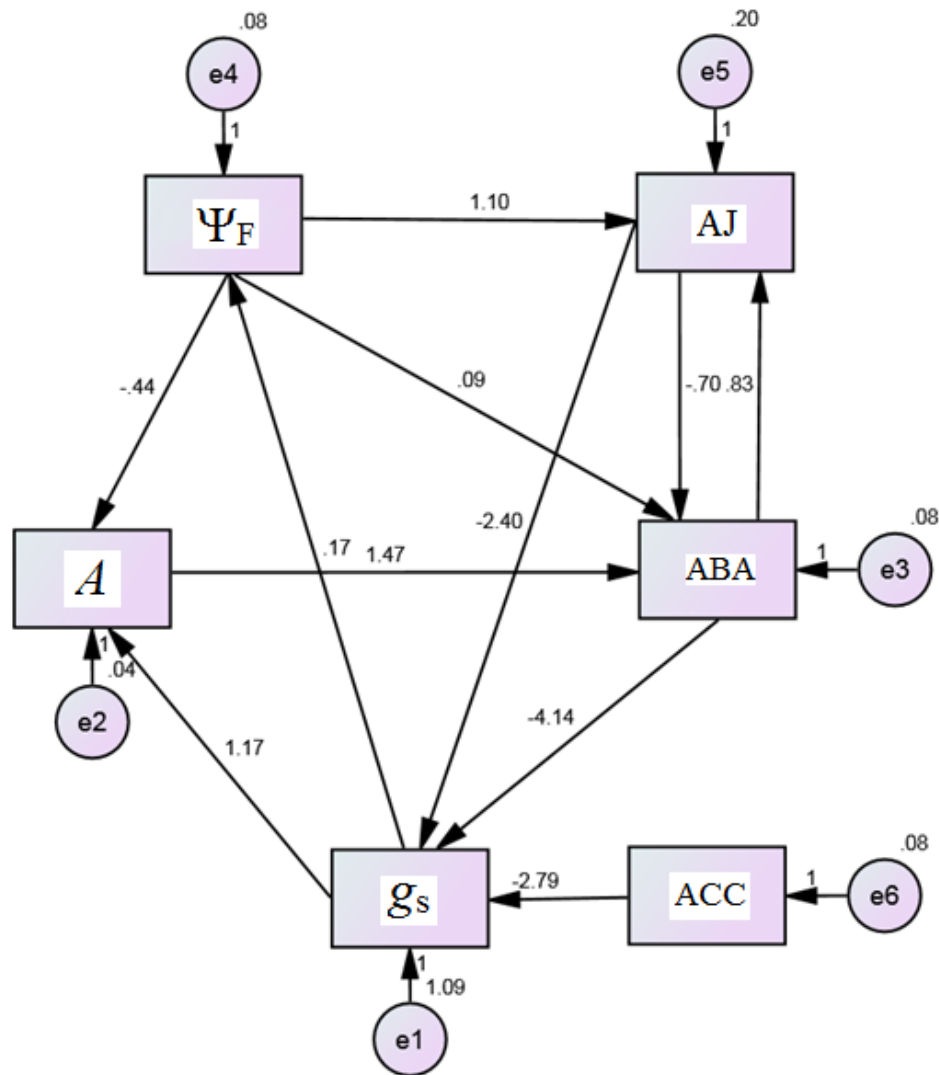
**Figura 5:** Variação sazonal nas concentrações foliares endógenas de fitohormônios na sempre-verde *Cynophalla flexuosa* (L.) J.Presl em uma floresta tropical seca, Serra Talhada, Pernambuco, no Brasil. **(A)** Ácido Abscísico (ABA); **(B)** Ácido jasmônico (AJ); **(C)** Trans-Zeatina (tZ); **(D)** Ácido Giberélico (GA 4); **(E)** Ácido Salicílico (AS); **(F)** Precursor do etileno ácido 1-aminociclopropano-1-carboxílico (ACC). Valores representam a média  $\pm$ erro padrão (n=3). Letras diferentes indicam diferenças estatísticas por teste Newman-Keul com nível de significância de 5 por cento entre as variáveis.



**Figura 6:** Anatomia foliar da uma sempre-verde *Cynophalla flexuosa* (L.) J.Presl em uma floresta tropical seca, Serra Talhada Pernambuco, Brasil. (A) Secção transversal da região mediana foliar: (1) Epiderme unisseriada com células poligonais na face adaxial; (2) Cutícula; (3) Epiderme unisseriada papilosa na face abaxial; (4) Estômato; (5) Células do parênquima

paliádico; (6) Células braciiformes do parênquima lacunoso; (7) Cordões de fibras adjacentes; **(B)** Secção transversal da região da nervura central da folha: (8) Cilindro vascular fechado envolvido por fibras perivasculares; **(C)** e **(E)** Face adaxial da folha vista em Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV); (9) Cera epicuticular do tipo crosta; **(D)** e **(F)** Face abaxial da folha vista em Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV); (10) Cera epicuticular do tipo filme e ornamentação da parede celular formando estrutura papilosa e sulcada próximo aos estômatos.





**Figura 7:** Modelo causal utilizando modelagem de equações estruturais com resultados representados pelo método de “Path Analysis”. Modelo válido com nível de probabilidade maior que 5%. Foram usados dados da espécie sempre-verde, *Cynophalla flexuosa*, ocorrente em uma floresta tropical seca. ( $g_s$ ) condutância estomática; (**A**) Assimilação líquida de CO<sub>2</sub>; Potencial hídrico foliar ( $\Psi_f$ ), (**AJ**) ácido jasmônico; (**ABA**) ácido abscísico; (**ACC**) Precursor do etileno ácido 1-aminociclopropano-1-carboxílico.

**Tabela 1:** Coeficiente (*r*) e valores de *P* (mostrados em parênteses) da análise de correlação linear simples (Pearson *r*) entre parâmetros relacionados ao status hídrico, trocas gasosas, bioquímica e concentrações endógenas de fitohormônios relacionados ao estresse em *Cynophalla flexuosa* (L.) J.Presl sobre condições de campo. Valores de *P* significantes (<0,05) são mostrados em negrito.

| Parâmetros                   | ABA                      | AJ                       | AS                       | tZ                       | ACC                   | GA4                      |
|------------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|-----------------------|--------------------------|
| <b>Status hídrico foliar</b> |                          |                          |                          |                          |                       |                          |
| $\Psi_f$                     | <b>-0,449 (0,027)</b>    | <b>0,552 (0,005)</b>     | <b>0,839 (&lt;0,001)</b> | 0,041 (0,847)            | -0,130 (0,542)        | -0,351 (0,091)           |
| $g_s$                        | -0,097 (0,653)           | <b>0,526 (0,008)</b>     | <b>0,411 (0,045)</b>     | 0,145 (0,498)            | -0,269 (0,202)        | 0,173 (0,417)            |
| A                            | 0,376 (0,069)            | 0,359 (0,084)            | 0,254 (0,230)            | 0,166 (0,437)            | <b>-0,484 (0,016)</b> | <b>0,481 (0,017)</b>     |
| EUA                          | -0,003 (0,883)           | -0,318 (0,129)           | <b>-0,465 (0,021)</b>    | <b>-0,443 (0,029)</b>    | -0,092 (0,666)        | -0,231 (0,275)           |
| <b>Bioquímica</b>            |                          |                          |                          |                          |                       |                          |
| CST                          | 0,208 (0,328)            | -0,212 (0,318)           | -0,125 (0,558)           | <b>0,619 (0,001)</b>     | -0,319 (0,128)        | 0,286 (0,174)            |
| PST                          | 0,006 (0,977)            | 0,107 (0,615)            | -0,216 (0,308)           | 0,044 (0,837)            | <b>-0,491 (0,014)</b> | 0,112 (0,599)            |
| ALT                          | <b>0,565 (0,004)</b>     | <b>-0,442 (0,030)</b>    | -0,204 (0,338)           | <b>0,43 (0,03)</b>       | <b>-0,483 (0,016)</b> | 0,396 (0,054)            |
| Amido                        | -0,158 (0,460)           | 0,129 (0,545)            | 0,359 (0,084)            | 0,268 (0,204)            | -0,374 (0,071)        | -0,134 (0,053)           |
| Frutose                      | -0,112 (0,601)           | -0,185 (0,384)           | -0,136 (0,526)           | 0,297 (0,157)            | -0,193 (0,367)        | -0,092 (0,668)           |
| Sacarose                     | -0,03 (0,869)            | -0,127 (0,551)           | -0,377 (0,069)           | -0,180 (0,399)           | -0,160 (0,453)        | -0,180 (0,399)           |
| Clo (a+b)                    | 0,187 (0,38)             | -0,116 (0,586)           | -0,026 (0,903)           | 0,379 (0,067)            | <b>-0,426 (0,037)</b> | 0,107 (0,616)            |
| Clo a/b                      | <b>0,527 (0,008)</b>     | -0,214 (0,313)           | -0,068 (0,750)           | 0,128 (0,549)            | -0,009 (0,965)        | 0,350 (0,092)            |
| Clo (a+b)/Car                | <b>0,585 (0,002)</b>     | -0,056 (0,794)           | 0,300 (0,153)            | <b>0,437 (0,032)</b>     | -0,204 (0,338)        | <b>0,412 (0,045)</b>     |
| <b>Fitohormônios</b>         |                          |                          |                          |                          |                       |                          |
| ABA                          | -                        | <b>-0,437 (0,003)</b>    | -0,365 (0,079)           | <b>0,703 (&lt;0,001)</b> | -0,342 (0,100)        | <b>0,896 (&lt;0,001)</b> |
| JA                           | <b>-0,437 (0,003)</b>    | -                        | <b>0,757 (&lt;0,001)</b> | -0,350 (0,093)           | -0,312 (0,136)        | -0,172 (0,419)           |
| SA                           | -0,365 (0,079)           | <b>0,757 (&lt;0,001)</b> | -                        | -0,168 (0,430)           | -0,187 (0,380)        | -0,274 (0,194)           |
| tZ                           | <b>0,703 (&lt;0,001)</b> | -0,350 (0,093)           | -0,168 (0,430)           | -                        | -0,156 (0,465)        | <b>0,730 (&lt;0,001)</b> |
| ACC                          | -0,342 (0,100)           | -0,312 (0,136)           | -0,187 (0,380)           | -0,156 (0,465)           | -                     | -0,362 (0,081)           |



**Tabela 2:** Variação na espessura foliar (EF), dos parênquimas paliçádico (EPP) e lacunoso (EPL) e das epidermes adaxial (ADA) e abaxial (ABA) de *Cynophalla flexuosa* J.Presl em condições de campo.

| Coleta        | EF                       | Parênquima                |                           | Epiderme                   |                           |
|---------------|--------------------------|---------------------------|---------------------------|----------------------------|---------------------------|
|               |                          | EPP                       | EPL                       | ADA                        | ABA                       |
| <b>Nov/12</b> | 215,24±4,67 <sup>c</sup> | 75,13±1,97 <sup>e</sup>   | 99,96±2,47 <sup>bcd</sup> | 15,94±0,77 <sup>abcd</sup> | 14,32±0,55 <sup>bcd</sup> |
| <b>Abr/13</b> | 337,70±3,48 <sup>a</sup> | 180,61±5,05 <sup>a</sup>  | 115,25±5,43 <sup>b</sup>  | 17,06±1,01 <sup>ab</sup>   | 13,94±0,60 <sup>cd</sup>  |
| <b>Nov/13</b> | 228,01±9,01 <sup>c</sup> | 85,56±7,28 <sup>de</sup>  | 104,68±3,21 <sup>bc</sup> | 15,37±0,79 <sup>bcd</sup>  | 14,49±0,70 <sup>bcd</sup> |
| <b>Jan/14</b> | 219,79±1,68 <sup>c</sup> | 87,88±4,58 <sup>de</sup>  | 86,73±3,48 <sup>de</sup>  | 14,85±0,40 <sup>bcd</sup>  | 16,21±0,59 <sup>abc</sup> |
| <b>Mar/14</b> | 248,13±3,96 <sup>b</sup> | 108,29±3,95 <sup>bc</sup> | 93,71±3,26 <sup>cd</sup>  | 18,21±0,46 <sup>a</sup>    | 13,13±0,70 <sup>d</sup>   |

Médias ± o erro padrão. Letras representam diferenças significativas entre os meses de coleta.

1

2

3

4

5

6

7

8

9

10

11

12

13

14

15

16

17

## **CAPÍTULO 2**

Será submetido à Tree Physiology

18 **Aclimação do metabolismo foliar à disponibilidade hídrica da espécie lenhosa *Annona***  
19 ***leptopetala* em uma Floresta Tropical Sazonalmente Seca**

20

21 Karla V. Figueiredo<sup>1</sup>, Silvia Pereira<sup>1</sup>, Emilia C. P. de Arruda <sup>1</sup>, Alfonso Albacete<sup>2</sup>, André L.

22 A. de Lima<sup>3</sup>, Mauro G. Santos<sup>1</sup>

23 <sup>1</sup>Departamento de Botânica, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Brasil, <sup>2</sup>Departamento de Nutrición Vegetal, Centro de Edafología

24 y Biología Aplicada del Segura (CEBAS), Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC), Campus Universitario de Espinardo,

25 Espinardo, Murcia, Spain, <sup>3</sup> Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), Unidade Acadêmica de Serra Talhada (UAST)

26

**27    Resumo**

28    Perda das folhas no período seco é uma estratégia de escape à deficiência hídrica adotada por  
29    inúmeras espécies de Florestas tropicais sazonalmente secas, como a Caatinga. O objetivo desse  
30    trabalho foi compreender quais atributos asseguram o crescimento e desenvolvimento de  
31    *Annona leptopetala* durante cada ciclo de seca e chuva, em área semiárida. Foram avaliados o  
32    Status hídrico foliar e do solo, Trocas gasosas, bioquímica, anatomia foliar e fito-hormônios.  
33    Foi observado que a interação de fatores ambientais influencia fortemente mudanças nas trocas  
34    gasosas, bioquímica e fito-hormônios. Maiores taxas de condutância estomática e assimilação  
35    foram observadas nos períodos chuvosos. Enquanto maior eficiência do uso da água (EUA)  
36    ocorreu na transição seca-chuva que pode ter sido favorecida pela presença de tricomas,  
37    câmeras subestomáticas e localização dos estômatos na face abaxial das folhas. Também, a  
38    sobrevivência e crescimento dessa espécie parece estar relacionada à dinâmica entre acúmulo e  
39    consumo de compostos de Carbono e Nitrogênio. Três hormônios se destacaram regulando  
40    trocas gasosas e de parâmetros relacionados à fotossíntese: precursor do etileno (ACC), ABA  
41    e ácido salicílico (AS). Nossos dados sugerem que a interação entre ACC e ABA tiveram grande  
42    importância na regulação das trocas gasosas e metabolismo foliar. Enquanto o AS parece ter  
43    sido principalmente importante no período de menor disponibilidade hídrica aumentando a  
44    EUA e remobilização de soluto.

45

46

47    **Palavras-chave:** Decídua, fitorregulador, Annonaceae, ecofisiologia, PCA

48

49

## 50 **Introdução**

51 Em Florestas Tropicais Sazonalmente Secas (FTSS) as plantas estão frequentemente  
52 expostas a forte deficiência hídrica e consequentemente tiveram que desenvolver diferentes  
53 mecanismos de tolerância à essa condição (Figueiredo et al 2015; Oliveira et al 2014; Lima et  
54 al 2012). Um deles está associada ao padrão fenológico, e a estratégia de escape a seca tem sido  
55 associada às espécies decíduas que perdem suas folhas à medida que a disponibilidade hídrica  
56 no solo diminui após o período chuvoso (Lima et al 2012). Dessa forma, para escapar da seca,  
57 as árvores decíduas podem suportar elevada taxa fotossintética em condições favoráveis de  
58 disponibilidade hídrica no solo (Tomlinson et al 2013; Eamus et al 1999).

59 Espécies decíduas lenhosas de ambientes semiáridos respondem rapidamente às variações  
60 nas condições de umidade do solo a fim de maximizar crescimento durante a estação favorável  
61 (Tomlinson et al 2013). Estudos prévios têm demonstrado que durante os períodos de reduzida  
62 disponibilidade hídrica, plantas da Caatinga apresentam maior controle da abertura estomática,  
63 alterações no metabolismo primário e ativação de enzimas antioxidante para evitar possíveis  
64 danos causados pelo déficit hídrico no solo (Oliveira et al 2014, Santos et al 2014; Falcão et al  
65 2015). Além disso, foram observadas alterações na anatomia foliar (Figueiredo et al 2015).

66 A maioria dos estudos com espécies decíduas em campo tem focado na resposta estomática  
67 à seca no solo e fatores que podem afetar a abertura estomática como ácido abscísico e  
68 condutividade hidráulica (Thomas e Eamus 2002, Thomas et al 2000). No entanto, não foram  
69 avaliadas de forma conjunta a anatomia foliar, balanço hormonal e o metabolismo fotossintético  
70 foliar primário em resposta à variação anual nas condições ambientais.

71 *Annona leptopetala* é uma espécie que possui alta densidade de madeira que tem o  
72 desenvolvimento vegetativo e reprodutivo fortemente correlacionado com a disponibilidade de  
73 água no ambiente (Lima et al 2012). *A. leptopetala* é reconhecida por suas atividades biológicas,  
74 dada pela diversificada composição de metabólitos secundários encontrados nas folhas desta

espécie (Costa et al 2012, Feitosa et al 2009), entretanto, tais estudos não abordaram aspectos ecofisiológicos que influenciam o desenvolvimento e sobrevivência dessa espécie, sobretudo em área com marcada sazonalidade na disponibilidade hídrica. Além disso, esta espécie caducifólia e lenhosa da caatinga tem se comportado como tantas outras espécies com o mesmo hábito fenológico foliar, as quais devido a irregularidade climática podem atravessar período de doze meses sem emitir folhas, e portanto, sem produzir novas sementes (Donohue et al. 2013; Santos et al. 2014).

Dessa forma, o objetivo desse trabalho foi avaliar, ao longo da variação anual da disponibilidade hídrica no solo, quais alterações ocorrem no metabolismo foliar de uma espécie decídua lenhosa e endêmica da Caatinga, bem como as respostas às variações do déficit de pressão de vapor, para compreender quais atributos são essenciais para sobrevivência dessa espécie em cada ciclo de seca-chuva.

## **Materiais e métodos**

### ***Espécie estudada e local de estudo***

*Annona leptopetala* (R. E. Fr.) H. Rainer é uma espécie arbórea, nativa do Brasil e endêmica da Caatinga, uma FTSS (Lemos e Zappi 2012; Albuquerque et al 2012; Santos et al. 2014). O estudo foi realizado em um fragmento de Caatinga arbórea de 300 ha de extensão, dentro do Parque Estadual Mata da Pimenteira (7°59'31''S e 38°17'59''W), no município de Serra Talhada-PE. O solo é do tipo franco arenoso e o clima é do tipo BSh segundo a classificação de Köppen-Geiger (Alvares et al 2013), com precipitação média anual de 750 mm.

Foram marcados 10 indivíduos, dos quais pelo menos cinco indivíduos foram amostrados em cada coleta. Os dados foram coletados de janeiro a novembro de 2014. Neste estudo, as coletas de dados abrangeram o período de transição seco-chuvoso (janeiro de 2014); período

chuvoso (março e maio de 2014); transição chuvoso-seco (julho de 2014); e um evento de chuva durante a estação seca (novembro de 2014). Histórico de precipitação e temperatura para área, bem como dados precipitação mensal de janeiro de 2012 a novembro de 2014 são apresentados (Fig. 1A e 1 B) (IPA 2015).

### ***Status hídrico foliar e do solo***

O potencial hídrico foliar ( $\Psi_f$ ) foi mensurado com câmara de pressão de Scholander (Soilmoisture Equipment Corp., Santa Barbara, CA, USA) em ramos contendo folhas totalmente expandidas. As medições foram realizadas na parte da manhã e na parte da tarde, em 06:00 e 13:00 h. A umidade gravimétrica do solo calculada segundo a fórmula:  $US = [(MF - MS) / MS] * 100$ , onde MF e MS são as massas fresca e seca do solo, respectivamente (Fig. 1D).

### ***Trocas gasosas***

A troca gasosa foi medida utilizando um analisador de gás por infravermelho portátil (IRGA, ADC, modelo LCI-pro; Hoddesdon, UK). As medidas foram realizadas às 13h, em folhas maduras, utilizando-se PPFD constante, adaptado as condições ambientais do dia da medida. O equipamento forneceu dados de condutância estomática ( $g_s$ ), assimilação líquida do  $CO_2$  ( $A$ ). A eficiência do uso da água (EUA) foi calculada dividindo-se a assimilação de  $CO_2$  ( $A$ ) pela transpiração ( $E$ ). e o déficit de pressão de vapor (DPV) que foi calculado usando dados de umidade relativa do ar e temperatura coletados em cada data de mensuração Campbell e Normam, 1998.

### 125 ***Análises bioquímicas***

126 Após as medidas de trocas gasosas, amostra de folhas, aproximadamente 3g de massa fresca,  
127 foram coletadas e imediatamente congeladas em nitrogênio líquido e posteriormente  
128 armazenado em freezer -80°C até análise. As folhas foram usadas para determinar carboidratos  
129 solúveis totais (CST), proteínas solúveis totais (PST), aminoácidos livres totais (ALT) e total  
130 de clorofila *a* (Clo *a*), clorofila *b* (Clo *b*) e carotenoides (CAR). As folhas frescas foram  
131 analisadas segundo as metodologias de Dubois *et al.* (1956), Bradford (1976), Moore and Stein  
132 (1948) and Lichtenthaler e Buschmann (2001), respectivamente. A fração insolúvel da extração  
133 dos carboidratos foi usado para determinar o conteúdo de amido, segundo metodologia de  
134 Dubois et al (1956). O conteúdo de frutose e sacarose, foram analisados segundo Foreman et al  
135 (1973) e Handel et al (1968), respectivamente.

136

### 137 ***Extração e análise hormonal***

138 Ácido abscísico (ABA), ácido salicílico (AS), ácido jasmônico (AJ), e o precursor do etileno,  
139 ácido 1-aminociclopropano-1-carboxílico (ACC), foram analisados de acordo com Albacete et  
140 al. (2008) com algumas modificações. Resumidamente, 0,1 g de material liofilizado foi  
141 submetido a extração hidro-alcoólica (metanol/água 80:20 v/v). Sólidos foram separados por  
142 centrifugação (20 000 g, 15 min) e re-extraído por 30 min a 4°C com 0,5 ml da mesma solução  
143 de extração. A fração sobrenadante foi passada através de colunas Sep-Pak Plus †C18 (SepPak  
144 Plus, Waters, USA) para remover interferência de lipídios e parte dos pigmentos foliar e  
145 evaporado a 40°C sobre vácuo até remoção do solvente orgânico. O resíduo foi solubilizado em  
146 1 ml de metanol:água (20:80 v/v) usando banho ultra-sônico. As amostras dissolvidas foram  
147 filtradas em filtro Millex com 13 mm de diâmetro e membrana de 0,22 µm (Millipore, Bedford,  
148 MA, USA).



Dez  $\mu\text{l}$  do extrato filtrado foram injetados em U-HPLC-MS e o sistema consistia de uma série Accela U-HPLC (ThermoFisher Scientific, Waltham, MA, USA) acoplado em espectrômetro de massas (ThermoFisher Scientific, Waltham, MA, USA) usando uma interface de ionização eletrospray aquecida (HESI). Espectro de massas foi obtido usando software Xcalibur 2.2 (ThermoFisher Scientific, Waltham, MA, USA). Para quantificação dos hormônios, curvas de calibração foram construídas para cada componente analisado (1, 10, 50, e 100  $\mu\text{g l}^{-1}$ ) e corrigido para 10  $\mu\text{g l}^{-1}$  de padrão interno deuterado.

### ***Análises anatômicas***

Para o estudo anatômico foram coletadas folhas completamente expandidas e fixadas em FAA 50% por 72h e posteriormente passado para álcool 70% até análise sob Microscópio de Luz (ML). Amostras também foram imersas em fixador Karnovisk para análise em Microscópio Eletrônico de Varredura (MEV). O material fixado em FAA foi emblocado em parafina e cortes transversais foram obtidos segundo metodologia proposta por Johansen (1940), em micrótomo rotativo (Reichert-Jung 2040 auto cut, Cambridge Instruments, Germany), com 20  $\mu\text{m}$  de espessura. No total foram feitas 200 lâminas e foto-documentados 500 imagens para análise da anatomia foliar dessa espécie.

### ***Análise estatística***

Todos os dados foram testados para normalidade e homogeneidade e submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias comparadas usando o teste de Student Newman Keul's a 5% de significância. Além disso, análise de correlação de Pearson foram feitas para avaliar as interações fito-hormônios x *status* hídrico foliar; fito-hormônios x trocas gasosas; fito-hormônios x bioquímica. Enquanto regressão múltipla foi usada para verificar as relações entre parâmetros ambientais e parâmetros fisiológicos. Os dados foram analisados usando o Statistica

8.0 (StatSoft. Inc., Tulsa, OK 74104, USA). Também foi feita uma análise de componente principal (PCA) para verificar se a sobrevivência de *A. leptopetala* em diferentes disponibilidades hídrica do solo está associada a atributos particulares. Os dados foram transformado pelo ‘*ranging*’ para reduzir problema de escala e foi seguido o modelo de Broken-stick As análises foram feitas usando o Fitopac 2.1.2.85 (©G.J. Shepherd, Dpto. de Botânica, UNICAMP 2010).

## Resultados

### *Status hídrico foliar e do solo*

Diferentes condições ambientais foram observadas ao longo dos meses de coleta (Fig.1). A precipitação nos meses de transição foi inferior a 50 mm, com menor índice pluviométrico observado na transição entre seca-chuva (Janeiro/14) (19 mm), enquanto os meses mais úmidos (março a maio) somam 340 mm (Fig. 1B). No entanto, não houve excedente de água no solo em nenhum período de coleta, dado pelo balanço hídrico negativo no solo (Fig.1C). A umidade do solo (US) foi inferior a 3% (v/v) nos períodos de transição (janeiro e julho/14) e superior a 9% (v/v) nos períodos chuvosos (março e maio/14) (Fig.1D). Também o DPV foi maior nos períodos de transição com 1,5 kPa observado durante a transição seca-chuva e 1,85 kPa na transição chuva-seca (julho/14), enquanto nos períodos chuvosos de março e maio o DPV foi inferior a 0,65 kPa (Fig. 1D). Também, a densidade do fluxo de fótons fotossintetizantes (DFFF) foi em média de 1400 (mmol.m<sup>-2</sup>.s<sup>-1</sup>) nos períodos de transição e 1300 (mmol.m<sup>-2</sup>.s<sup>-1</sup>) nos períodos chuvosos. Já o mês de novembro foi caracterizado por baixa umidade no solo (3,7%) e elevado DPV (1,62 kPa) e DFFF (1700 mmol.m<sup>-2</sup>.s<sup>-1</sup>). A variação sazonal e interação entre fatores ambientais, tais como DPV, DFFF e US, tiveram efeitos sobre trocas gasosas, metabolismo fotossintético, bioquímica e hormônios (Tabela 1).

Foram observadas variações sazonais no potencial hídrico foliar ( $\Psi_f$ ) de *A. leptopetala* com redução de aproximadamente 70% na transição entre chuva-seca (julho) e de 30% na transição seca-chuva (Janeiro) ( $P < 0,0001$ ) (Fig.2C). Durante o período de seca com evento de chuva (novembro), essa espécie foi capaz de manter o  $\Psi_f$  em níveis semelhantes aos demais períodos chuvosos (Fig.2C), mesmos com menor US e superior DFFF e DPV, mas com balanço hídrico no solo semelhante aos períodos chuvosos (Fig 1 C e 1D).

### **Trocas gasosas**

As trocas gasosas foram fortemente influenciadas pela disponibilidade hídrica (Fig.2). Condutância estomática ( $g_s$ ) foi 80% menor durante a transição seca-chuva, correspondente ao início do desenvolvimento de *A. leptopetala* (janeiro), e 62% menor na transição chuva-seca (Julho) (Fig.2A) ( $P < 0,0001$ ). No entanto, reduções na taxa de assimilação de  $CO_2$  ( $A$ ) nesses períodos foi de 40% (Fig.2B) ( $P < 0,0001$ ). A eficiência do uso da água (EUA) não diferiu entre os períodos chuvosos e a transição chuva-seca (julho), mas foi 37% maior durante a transição seca-chuva (janeiro) e 27% menor em novembro (Fig.2D) ( $P = 0,0001$ ).

### **Análises bioquímicas**

O teor de clorofila total foi 70 e 75% menor em maio/2014 comparado com os meses de transição seca-chuva (janeiro/14) e chuva-seca (julho/14), respectivamente ( $P < 0,0001$ ) (Fig.3A e 3B). No entanto, a relação Clo  $a/b$  em maio/2014 foi semelhante aos demais meses (Fig.3D). Em maio/14 também foi observada menor relação Clo  $(a+b)/Car$ , redução de 21 e 27%, comparado ao período de transição (janeiro/14) e novembro/2014, respectivamente ( $P = 0,002$ ) (Fig.3E) devido à diminuição nos conteúdos tanto de clorofila  $a$  e  $b$  quanto carotenoides.

Carboidratos solúveis apresentaram forte variação sazonal, com maior concentração observada no início da rebrota, período de transição seca-chuva (janeiro/14), com redução de

45% no período mais úmido (maio/2014) ( $P < 0,0001$ ) (Fig.4A). A concentração de aminoácidos também foi maior no início da rebrota, 67%, comparado aos meses mais chuvosos e ao de transição chuva-seca ( $P < 0,0001$ ) (Fig.4C). Já a concentração de proteínas solúveis manteve-se baixa desde o início da rebrota até o fim da estação chuvosa, apresentando aumento de 42% em novembro/14, início da nova rebrota. (Fig.4B). Maior concentração de amido (52%) foi observada na transição seca-chuva (janeiro/14), bem como novembro/14, com gradativa redução até o final da estação chuvosa e transição chuva-seca (julho/14) ( $P < 0,0001$ ) (Fig.4D). Redução de 78% no teor de frutose foi observada apenas no período chuvoso de maio/2014 (Fig.4E). Portanto, as folhas que surgiram após um curto evento de chuva durante a estação seca apresentaram baixa concentração de carboidratos (35%), maior concentração de proteínas (42%) e sacarose (60%) e semelhantes concentrações de aminoácidos e amido, comparadas as folhas do início de rebrota na transição seca-chuva (Fig.4).

#### ***Análise hormonal***

A interação entre fatores ambientais (DPVxDFFFxUS) promoveu mudanças significativas ( $P \leq 0,0001$ ) nos níveis endógenos de ABA, ACC, AJ e AS (Tabela 1). Acúmulo de ABA foi significativo no período de transição seca-chuva (Janeiro/14) e nas folhas crescidas na estação seca após rápido evento de chuva (novembro/2014) (Fig.5A). As concentrações endógenas de ACC também variou ao longo do ano, sendo maior nos períodos mais úmidos (março e maio/2014) e na transição chuva-seca e as menores concentrações foram observadas na transição seca-chuva (cerca de 50% mais baixa) e em novembro de 2014 (cerca de 85%) (Fig. 5B). Já a concentração endógena do AJ aumentou do período de transição seca-chuva para o período chuvoso (cerca de 30%), reduzindo 77% no final da estação chuvosa e início da seca (Fig.5C). Por outro lado, as concentrações do AS decresceram ao longo do ano, sendo maior na transição seca-chuva (70%) (Fig.5D).

## 249 **Anatomia foliar**

250 A região da nervura central de *A. leptopetalla* apresenta sistema vascular aberto com  
251 idioblastos tanto no floema quanto no xilema. São observadas também fibras pericíclicas,  
252 apenas parênquima fundamental e epiderme em ambas as faces com parede delgada. O sistema  
253 de revestimento é composto por epiderme unisseriada com paredes delgadas contendo cristais  
254 em ambas as faces; estômatos localizados apenas na face abaxial com presença de câmara  
255 subestomática acentuada. Presença de tricomas filiformes, multicelular, unisseriado e simples,  
256 em ambas as faces. O mesofilo é bilateral e o parênquima paliçádico é bisseriado com  
257 idioblastos dispersos aleatoriamente em toda a extensão; próximo a face abaxial o mesofilo é  
258 constituído por células braciiformes, com grandes espaços intercelulares e sem idioblastos. As  
259 nervuras laterais são colaterais apresentando bainha de células parenquimáticas (endoderme) e  
260 as maiores há presença de fibras pericíclicas adjacentes ao floema e xilema (Fig. 6A). A MEV  
261 revelou uma camada de cera epicuticular do tipo filme na face adaxial e na face abaxial ela  
262 forma tubos transversais sulcados, inclusive sobre os estômatos (Fig. 6 B, C e D).

263

## 264 **Discussão**

265 A variação dos fatores ambientais (DPV, DFFF e US) influenciaram o metabolismo foliar  
266 de *A. leptopetala*. O rigoroso controle da abertura estomática e elevada EUA foram o destaque  
267 em condições de baixa disponibilidade hídrica no solo, enquanto elevadas taxas fotossintéticas  
268 foram registradas nos períodos chuvosos. Houve também fino ajuste na dinâmica de consumo  
269 e acúmulo de fontes de carbono e nitrogênio. Além disso, três hormônios destacaram-se na  
270 regulação do metabolismo de *A. leptopetala*: etileno, ABA e AS.

271 *Annona leptopetala* apresentou maior controle da abertura estomática durante os períodos  
272 de transição entre estações, com semelhante taxa de assimilação de CO<sub>2</sub> nesses períodos, porém  
273 com maior eficiência do uso da água no período de transição seca-chuva (Fig. 2). A proporção

na redução na taxa de  $A$  foi menor que reduções na  $g_s$ , na transição entre seca-chuva (Fig. 2A,B). O forte controle estomático foi compensado pela anatomia foliar de *A. leptopetala* que pode ter influenciado as trocas gasosas e favorecido a assimilação de  $CO_2$ , mesmo em condições de baixa disponibilidade hídrica. Essa espécie investe em estruturas capazes de reduzir a perda de água e ao mesmo tempo oferece proteção contra o excesso de radiação, tais como tricomas e cera epicuticular (Fig. 6) (Riederer 2006; Figueiredo et al 2015). Além disso, nas folhas dessa decídua foi observado que os estômatos estão preferencialmente localizados na face abaxial da folha e presença de expressivas câmaras subestomáticas (Fig.2C). Embora esta anatomia foliar possa favorecer a redução da evolução do vapor de água para atmosfera, ela poderia dificultar a difusão do  $CO_2$  atmosférico para dentro do espaço foliar (Burkhardt and Pariyar 2016).

Outro importante fator para manutenção da fotossíntese é a concentração e as relações entre os pigmentos cloroplastídicos. Alterações nas concentrações desses pigmentos podem evitar danos fotoquímicos e aumento no número de espécies reativas de oxigênio (Rivas et al 2013). Os resultados mostraram que no período chuvoso houve redução no conteúdo total de clorofila (Fig.3), sem, no entanto, haver mudanças na relação  $Clo\ a/b$  e  $Clo\ (a+b)/car$  e isso pode ter assegurado o bom funcionamento do fotossistema e maximizado a fotossíntese nesse período (Fig. 2B). Por outro lado, nos períodos com menor disponibilidade hídrica o teor de pigmentos aumentou, tal resposta já foi observada em plantas de região semiárida ou árida (Rivas et al. 2013). Eventos de seca reduzem a  $g_s$  que por sua vez compromete a absorção de  $CO_2$ . Ao mesmo tempo em ambiente tropical a incidência de luz sobre as folhas continua intensa, apesar do baixo consumo dos produtos a partir desta parte do maquinário fotossintético (Souza et al. 2010).

No início do desenvolvimento de novas folhas (transição seca-chuva) foi observado maior concentração de CST e ALT (Fig. 4A, C). Acúmulo de carboidratos solúveis pode ocorrer em resposta a déficit hídrico no solo, desempenhando importante papel na regulação da expressão gênica e regulação pós-tradução (Muller et al 2011), além de ter importante papel no combate

a ROS (Keunen et al 2013). Já maior concentração de ALT nesse período pode estar associada a formação de moléculas osmoprotetoras, como prolina e glicina betaína (Ashra e Foolad 2007).

Nossos dados também sugerem que o AS pode estar envolvido na realocação desses solutos, apresentando forte correlação com as concentrações de CST, e correlação moderada com as concentrações de amido e frutose (Tabela 2). Durante os meses mais úmidos (março e maio) foram observadas maiores taxas de A (Fig. 2B), no entanto, foram observadas redução nas concentrações de CST, ALT, amido, frutose e sacarose nas folhas, principalmente em maio. Como espécie decídua, *A. leptopetala* investe em crescimento rápido durante a estação chuvosa, para que a produção e dispersão de sementes ocorram antes de um novo período de seca e por isso os solutos produzidos durante o processo fotossintético podem estar sendo rapidamente utilizados pela planta para crescimento.

O ácido abscísico tem importante papel no controle da abertura estomática (Aasamaa et al 2002; Dodd 2003; Acharya e Assmann 2009) e da expressão de genes relacionados à fotossíntese (Rook et al 2006), muitas vezes promovendo fechamento estomático e reduzindo a assimilação de CO<sub>2</sub> em condições de baixa disponibilidade hídrica. Entretanto, o ABA também regula os níveis de etileno e essa interação pode em vez de inibir, promover crescimento aéreo e radicular (Sharp, 2002). Os resultados sugerem que o ‘*crosstalk*’ ABA-ACC foi um importante regulador do metabolismo em *A. leptopetala* uma vez que foi observada forte correlação negativa entre o ABA e o ACC e ambos foram correlacionados, positiva e negativamente, respectivamente, com as concentrações de PST, ALT, Clo (*a+b*), Clo (*a+b*)/car, amido e sacarose (Tabela 2).

A análise de componente principal (PCA) (Fig. 7) mostrou quais atributos são evidenciados nos diferentes tempos de coleta. A maior parte das variações foram explicadas no eixo1 (45%) e eixo 2 (25%). No início da rebrota, em janeiro, a planta investe principalmente em CST, EUA, AS e Frutose. Ao passo que a disponibilidade hídrica do solo aumenta (março a maio), com

aumento do potencial hídrico foliar, a planta investe, principalmente, na produção de ACC e aumento nas taxas fotossintéticas (A) e maior consumo dos solutos orgânicos, o que possibilita rápido desenvolvimento durante a estação favorável para que suas sementes sejam dispersas antes da chegada de um novo período de seca. Em julho, quando inicia a transição para um novo período de seca, evidenciadas pelas diferenças no  $\Psi_f$ , as trocas gasosas são reduzidas e ocorre acúmulo de CST, PST e frutose, que podem ser remobilizados para órgãos de reserva e serem utilizados na estação seguinte (Tomlinson et al 2013).

A partir do final da estação chuvosa e a seca aumentando gradativamente as plantas perderam suas folhas. Em novembro, após uma chuva de 144 mm (Fig. 1B) a parte aérea da *A. leptopetala* reinicia um ciclo vegetativo. Neste período a planta investiu na bioquímica, produção de pigmentos e ABA. A menor quantidade de folhas e a área foliar reduzida pode ter favorecido a manutenção do status hídrico, uma vez que apesar de apresentar umidade do solo abaixo de 4% (Fig. 1D), *A. leptopetala* manteve  $\Psi_f$  semelhante ao período chuvoso. Sob estas condições o conteúdo foliar no meio da tarde de CST, PST, ALT e amido foram elevados, o que pode ser um indicativo de intenso investimento no crescimento. Já a maior concentração de Clo tot acompanhada do aumento da relação Clo (a+b)/Car pode ter sido um fator chave para o intenso metabolismo fotossintético foliar.

Os dados obtidos mostram que o desenvolvimento de *A. leptopetala* é fortemente influenciado por alterações nos parâmetros ambientais (DPV, US, DFFF) e que essa espécie usa diferentes ajustes no metabolismo de acordo com o período do ano. A retomada intensa do metabolismo foliar após as primeiras chuvas sugere que reservas foram remobilizadas para o desenvolvimento inicial, entretanto, este estudo não permitiu avaliar a partir de quais pontos partiram essas reservas. Acreditamos que no final do período chuvoso, esses solutos são novamente retranslocados antes da queda foliar (Tomlinson et al 2013). Além dos fatores ambientais três hormônios se destacaram regulando trocas gasosas e parâmetros relacionados à



349 fotossíntese: ACC, ABA e AS. Nossos dados sugerem que a interação entre ACC e ABA  
350 tiveram grande importância na regulação das trocas gasosas e metabolismo foliar. Enquanto o  
351 AS parece ter sido importante no período de menor disponibilidade hídrica, o qual poderia atuar  
352 no aumento da EUA e remobilização de solutos. No entanto, são necessários estudos em  
353 condições controladas para melhor compreender o papel desses fitorreguladores e de suas  
354 interações na regulação do crescimento de *A. leptopetala*.

### 356 **Agradecimentos**

357       Agradecemos à Unidade Acadêmica de Serra Talhada (UAST) por seu apoio durante o  
358 trabalho de campo, ao Centro de Edafología y Biología Aplicada del Segura (CEBAS) e  
359 Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC) por fornecerem toda estrutura  
360 necessária para análise hormonal, e ao Conselho Nacional de Pesquisa (CNPq) e a Fundação  
361 de Amparo à Ciência e Tecnologia de Pernambuco (FACEPE) por seu apoio financeiro. Este  
362 estudo é parte da tese de doutorado do primeiro autor

374 **Referências**

375

376 Aasamaa, K., Söber, A., Hartung, W., Niinemets, Ü. (2002) Rate of stomatal opening, shoot  
377 hydraulic conductance and photosynthetic characteristics in relation to leaf abscisic acid  
378 concentration in six temperate deciduous trees. *Tree Physiology*. 22: 267–276. DOI:  
379 10.1093/treephys/22.4.267

380 Acharya, B.R., Assmann, S.M. (2009) Hormone interactions in stomatal function. *Plant*  
381 *Molecular Biology*. 69:451–462. DOI 10.1007/s11103-008-9427-0

382 Albacete, A., Ghanem, M.E., Martínez-Andújar, C., Acosta, M., Sánchez-Bravo, J., Martínez,  
383 V., Lutts, S., Dodd, I.C., Pérez-Alfocea, F. (2008) Hormonal changes in relation to biomass  
384 partitioning and shoot growth impairment in salinized tomato (*Solanum lycopersicum* L.)  
385 plants. *J Exp Bot* 59: 4119-4131. DOI 10.1093/jxb/ern251

386 Albuquerque, U., Araújo, E.L., El-Deir, A.C.A., Lima, A.L.A., Souto, A., Bezerra, B.M.,  
387 Ferraz, E.M.N., Freire, E.M.X., Sampaio, E.V.S.B., Las-Casas, F.M.G., Moura, G.J.B., Pereira,  
388 G.A., Melo, J.G., Ramos, M.A., Rodal, M.J.N., Schiel, N., Lyra-Neves, R.M., Alves, R.R.N.,  
389 Azevedo-Júnior, S.M., Júnior, W.R.T., Severi, W. (2012) Caatinga Revisited: Ecology and  
390 conservation of an important Seasonal Dry Forest. *The Scientific World Journal*. 2012: 1-18.  
391 DOI:10.1100/2012/205182

392 Alvares, C.A., Stape, J.L., Sentelhas, P.C., Gonçalves, J.L.M., Sparovek, G. Köppen's climate  
393 classification map for Brazil (2013). *Meteorologische Zeitschrift*. 22 (6): 711–728. DOI  
394 10.1127/0941-2948/2013/0507

395 Ashraf M, Foolad M. (2007). Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic  
396 stress resistance. *Environmental and Experimental Botany* 59, 206–216.

397 Bradford, M.M. (1976) Rapid and quantitative method for quantitation of microgram quantities  
398 of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*. 72: 284–252

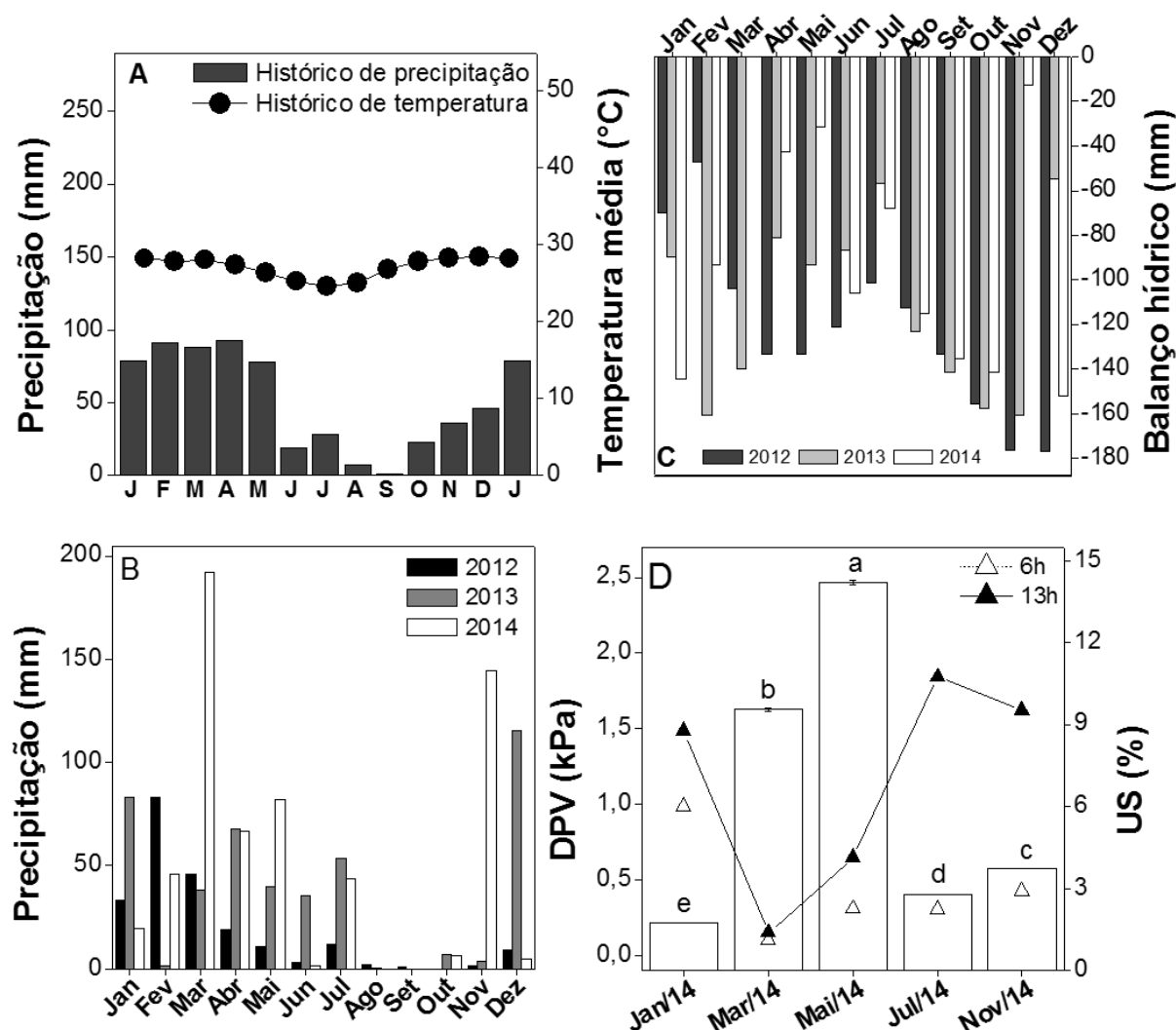
- 399 Chapin, F.S., Schulze, E.D., Mooney, H.A. (1990) The ecology and economics of storage in  
400 plants. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 21: 423–447.
- 401 Cherbuy, B., Joffre, R., Gillon, D., Rambal, S. (2001) Internal remobilization of carbohydrates,  
402 lipids, nitrogen and phosphorus in the Mediterranean evergreen oak *Quercus ilex*. *Tree*  
403 *Physiology* 21, 9–17. DOI 10.1093/treephys/21.1.9
- 404 Costa, V.C.O., Tavares, J.F., Queiroga, C.S., Castelo-Branco, M.V.S., Diniz, M.F.F.M., Lima,  
405 C.U.G.B., Santos, B.V.O., Pita, J.C.L.R., Silva, M.S. (2012) Constituintes químicos das folhas  
406 de *Rollinia leptopetala* R. E. FRIES. *Quim. Nova*, 35(1): 138-142. DOI.org/10.1590/S0100-  
407 40422012000100025
- 408 Dodd, I.C. (2003). Hormonal Interactions and Stomatal Responses. *J Plant Growth Regul.*  
409 22:32–46. DOI: 10.1007/s00344-003-0023-x
- 410 Dubois, M., Gilles, K.A., Hamilton, J.K., Reders, P.A., Smith, F. (1956) Colorimetric method  
411 for determination of sugars and related substances. *Analytical Chemistry*. 28: 350–356.
- 412 Eamus, D., Myers, B., Duff, G., Williams, D. (1999) Seasonal changes in photosynthesis of  
413 eight savanna tree species. *Tree Physiology*. 19: 665-671.
- 414 Falcão, H.; Medeiros, C.D.B., Silva, B.L.R., Sampaio, E.V.S.B., Almeida-Cortez, J., Santos,  
415 M.G. (2015) Phenotypic plasticity and ecophysiological strategies in a tropical dry forest  
416 chronosequence: a study case with *Poincianella pyramidalis*. *Forest Ecology and Management*,  
417 340, 62-69. DOI 10.1016/j.foreco.2014.12.029
- 418 Feitosa, E.M.A., Arriaga, A.M.C., Santiago, G.M.P., Lemos, T.L.G., Oliveira, M.C.F.,  
419 Vasconcelos, J.N., Lima, J.Q., Malcher, G.T., Nascimento, R.F., Braz-Filho, R. (2009)  
420 Chemical Composition and Larvicidal Activity of *Rollinia leptopetala* (Annonaceae). *J. Braz.*  
421 *Chem. Soc.*, 20 (2): 375-378.
- 422 Figueiredo, K.V., Oliveira, M.T., Arruda, E.C.P., Silva, B.C.F., Santos, M.G. (2015) Changes  
423 in leaf epicuticular wax, gas exchange and biochemistry metabolism between *Jatropha*

- 424 *mollissima* and *Jatropha curcas* under semi-arid conditions. *Acta Physiologiae Plantarum*, v.  
425 37, p. 108. DOI 10.1007/s11738-015-1855-2
- 426 Foreman, D.; Lawrence, G.; Evans, E.; Trella, C.A. (1973) Modification of the Roe Procedure  
427 for Determination of Fructose in Tissues with Increased Specificity. *Analytical Biochemistry*.  
428 56:584-590.
- 429 Handel, E.V. (1968) Direct microdetermination of sucrose. *Analytical Biochemistry*. 23:280-  
430 283
- 431 IPA (2015). [http://www.ipa.br/indice\\_pluv.php#calendario\\_indices](http://www.ipa.br/indice_pluv.php#calendario_indices)
- 432 Johansen, D. (1940) *Plant Microtechnique*. New York: McGraw-Hill Book Company
- 433 Keunen, E., Peshev, D., Vangronsveld, J., Ende, W.V.D., Cuypers, A. (2013) Plant sugars are  
434 crucial players in the oxidative challenge during abiotic stress: extending the traditional  
435 concept. *Plant, Cell and Environment*. 36: 1242–1255. DOI: 10.1111/pce.12061
- 436 Lemos, J.R., Zappi, D.C. (2012) Distribuição geográfica mundial de plantas lenhosas da  
437 Estação Ecológica de Aiuaba, Ceará, Brasil. *Brazilian Journal of Biosciences*. 10 (4): 446-456.
- 438 Lichtenthaler, H.K., Buschmann, C. (2001) Chlorophylls and carotenoids: measurement and  
439 characterization by UV-VIS spectroscopy. *Curr. Protoc. Food Anal. Chem.*, F4.3: 1-8.
- 440 Lima, A.L.A., Sampaio, E.V.S.A.B., Castro, C.C., Rodal, M.J.N., Antonino, A.C.D., Melo,  
441 A.L. (2012) Do the phenology and functional stem attributes of woody species allow for the  
442 identification of functional groups in the semiarid region of Brazil? *Trees*. 26:1605–1616. DOI  
443 10.1007/s00468-012-0735-2
- 444 Moore S, Stein WH (1948) Photometric ninhydrin method for use in the chromatography of  
445 amino acids. *The Journal of Biological Chemistry* 176: 367–388.
- 446 Muller, B., Pantin, F., Génard, M., Turc, O., Freixes, S., Piques, M., Gibon, Y. (2011) Water  
447 deficits uncouple growth from photosynthesis, increase C content, and modify the relationships

- 448 between C and growth in sink organs. *Journal of Experimental Botany* 62, 1715–1729.  
449 DOI:10.1093/jxb/erq438
- 450 Oliveira, M.T., Matzek, V., Medeiros, C.D.B., Costa, R.R., Falcão, H. M., Santos, M. G. (2014).  
451 Stress Tolerance and Ecophysiological Ability of an Invader and a Native Species in a  
452 Seasonally Dry Tropical Forest. *Plos One*, v. 9, p. e105514. DOI 10.1371/journal.pone.0105514
- 453 Riederer, M. (2006) Introduction: biology of the plant cuticle. In: Müller MC, Riederer M (eds)  
454 Biology of the plant cuticle, *Annual Plant Reviews*. Blackwell Publishing, Oxford, pp 1–10
- 455 Rivas, R., Oliveira, M.T., Santos, M.G. (2013) Three cycles of water deficit from seed to young  
456 plants of *Moringa oleifera* woody species improves stress tolerance. *Plant Physiology and*  
457 *Biochemistry*. 63: 200–208.
- 458 Rook, F., Hadingham, S.A., Li, Y., Bevan, M.W. (2006) Sugar and ABA response pathways  
459 and the control of gene expression. *Plant, Cell and Environment*. 29: 426–434. DOI:  
460 10.1111/j.1365-3040.2005.01477.x
- 461 Santos, M.G., Oliveira, M.T., Figueiredo, K.V., Falcão, H.M., Arruda, E.C.P., Almeida-Cortez,  
462 J., Sampaio, E.V.S. B., Ometto, J. P.H.B., Menezes, R.S.C., Oliveira, A.F.M., Pompelli, M.F.,  
463 Antonino, A.C.D. (2014) Caatinga, the Brazilian dry tropical forest: can it tolerate climate  
464 changes?. *Theoretical and Experimental Plant Physiology*, v. 26, p. 83-99. DOI  
465 10.1007/s40626-014-0008-0
- 466 Sharp, R.E. (2002) Interaction with ethylene: changing views on the role of abscisic acid in root  
467 and shoot growth responses to water stress. *Plant, Cell and Environment*. 25:211–222.
- 468 Souza, B.D., Rodrigues, B.M., Meiado, M.V., Santos, M.G. (2010) Water relations and  
469 Chlorophyll fluorescence responses of two leguminous trees from the Caatinga to different  
470 watering regimes. *Acta Physiologiae Plantarum*. 32: 235–244. DOI:10.1007/s11738-009-0394-  
471 0

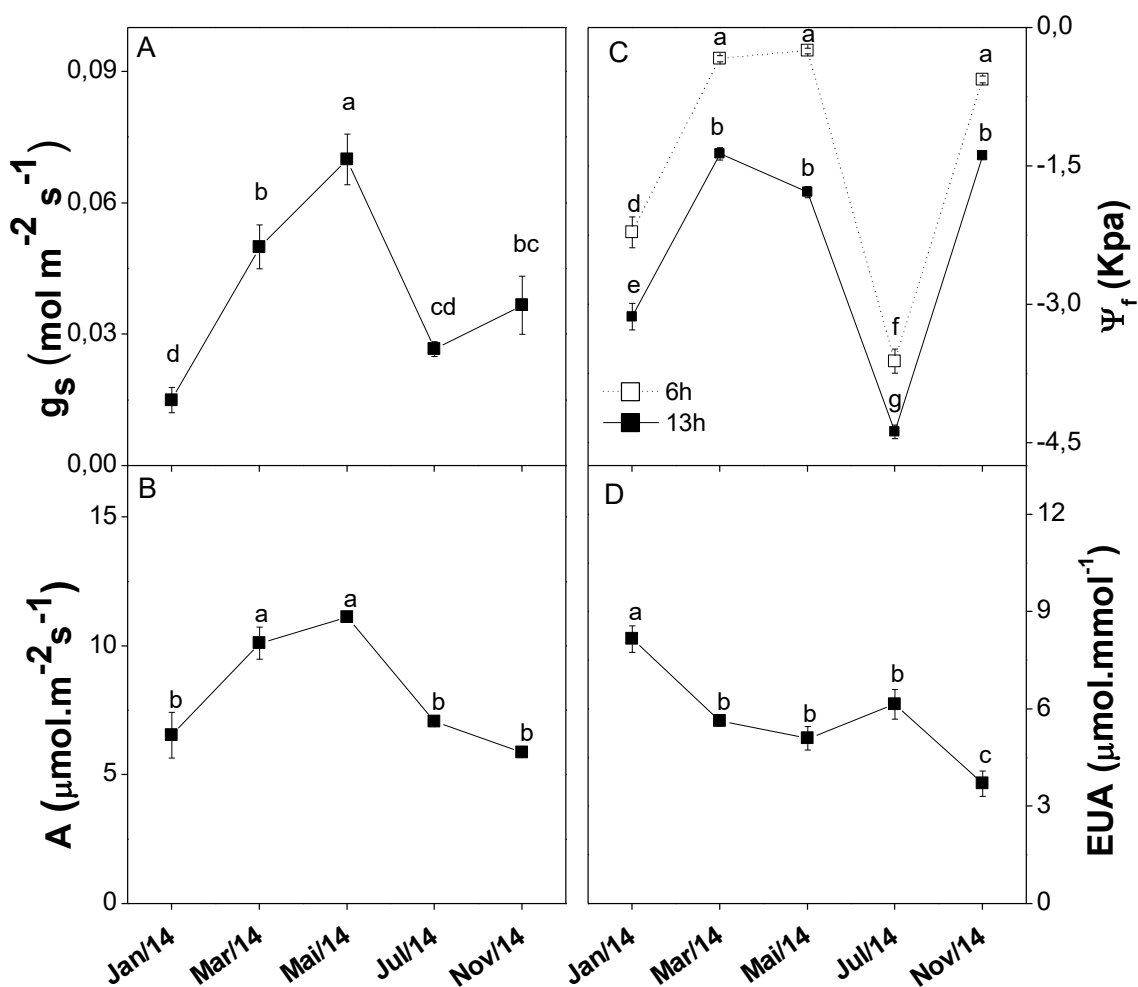
- 472 Thomas, D.S., Eamus, D. (2002) Seasonal patterns of xylem sap pH, xylem abscisic acid  
473 concentration, leaf water potential and stomatal conductance of six evergreen and deciduous  
474 Australian savanna tree species. *Australian Journal of Botany*. 50: 229–236.  
475 DOI:10.1071/BT01045
- 476 Thomas, D.S., Eamus, D., Shanahan, S. (2000) Influence of season, drought and xylem ABA  
477 on stomatal responses to leaf-to-air vapour pressure differences in trees of the Australian wet–  
478 dry tropics. *Australian Journal of Botany* 48:143–151. DOI: 10.1071/bt98090.
- 479 Tomlinson, K.W., Poorter, L., Sterck, F.J., Borghetti, F., Ward, D., Bie, S., Langevelde, F. v.  
480 (2013) Leaf adaptations of evergreen and deciduous trees of semi-arid and humid savannas on  
481 three continents. *Journal of Ecology*. 101: 430–440. DOI: 10.1111/1365-2745.12056.  
482

483  
484  
485  
486  
487  
488  
489  
490  
491  
492  
493  
494  
495  
496  
497  
498  
499  
500  
501  
502  
503  
504  
505  
506  
507  
508  
509  
510  
511  
512  
513  
514  
515  
516  
517  
518  
519  
520  
521  
522  
523  
524  
525  
526  
527  
528  
529  
530  
531  
532

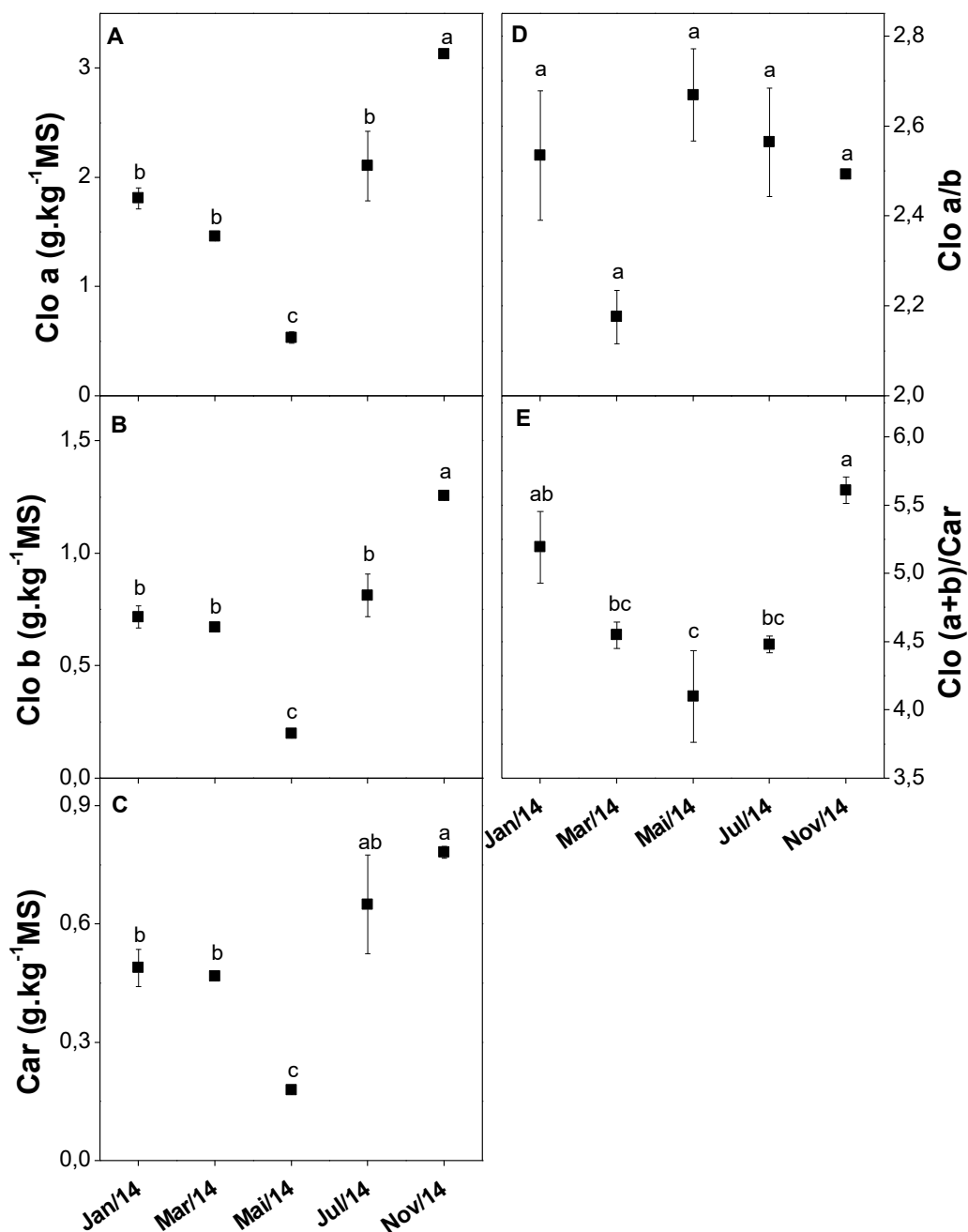


**Figura 1:** Variáveis ambientais em Serra Talhada (Pernambuco, Brasil). **(A)** Médias históricas de precipitação e temperatura; **(B)** Precipitação mensal acumulada nos três anos de medidas (setas indicam os meses de coleta); **(C)** Balanço hídrico do solo; **(D)** Variação sazonal do Déficit de Pressão de Vapor (DPV) e Umidade do Solo (US). Barras representam a média  $\pm$  erro padrão ( $n=5$ ). Letras diferentes indicam diferenças estatísticas por teste Newman-Keul com nível de significância de 5 por cento entre as variáveis. Os dados históricos de precipitação e temperatura representa o ano de 2009-2015. ([Http://www.ipa.br/indice\\_pluv.php#calendario\\_indices](http://www.ipa.br/indice_pluv.php#calendario_indices))

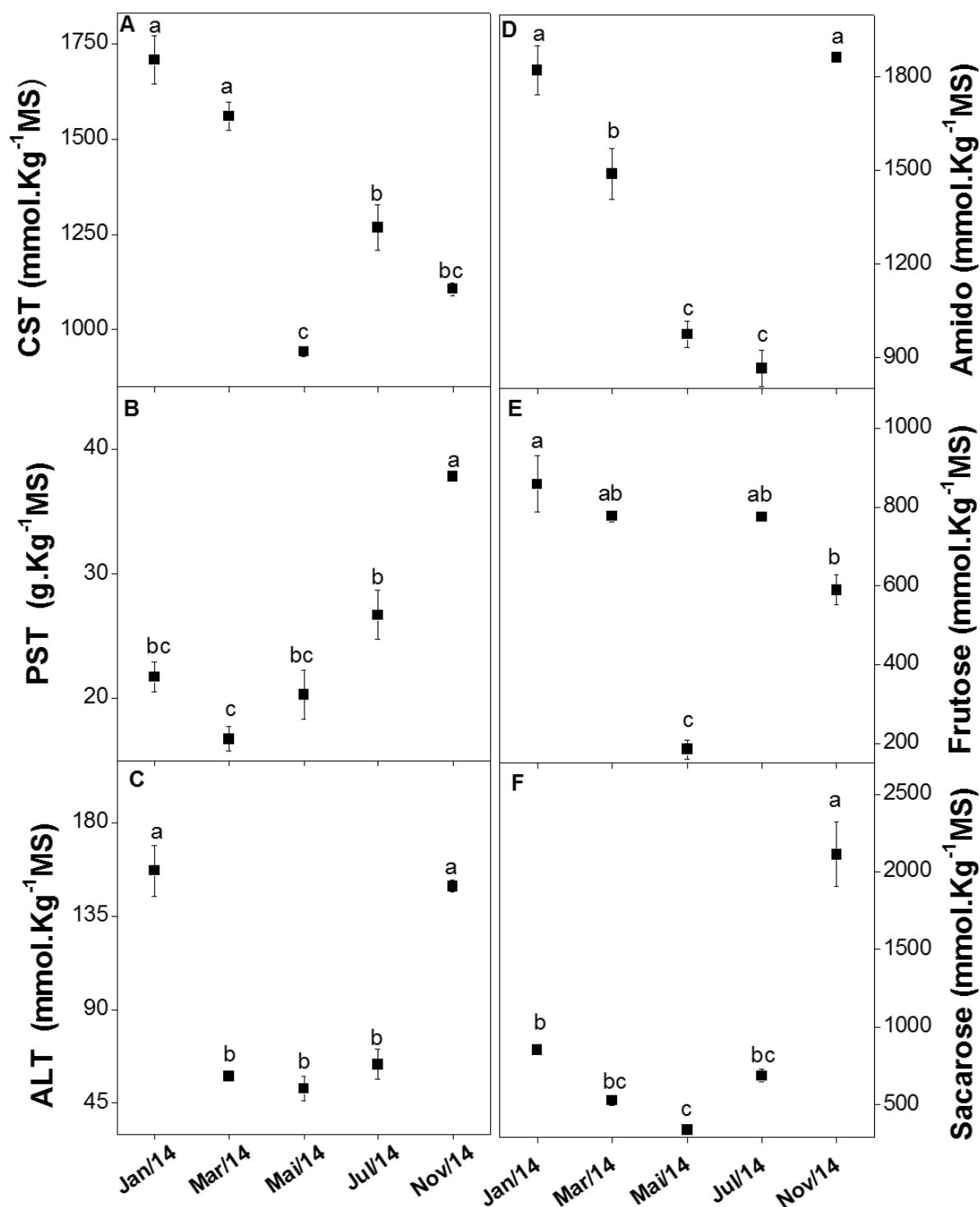




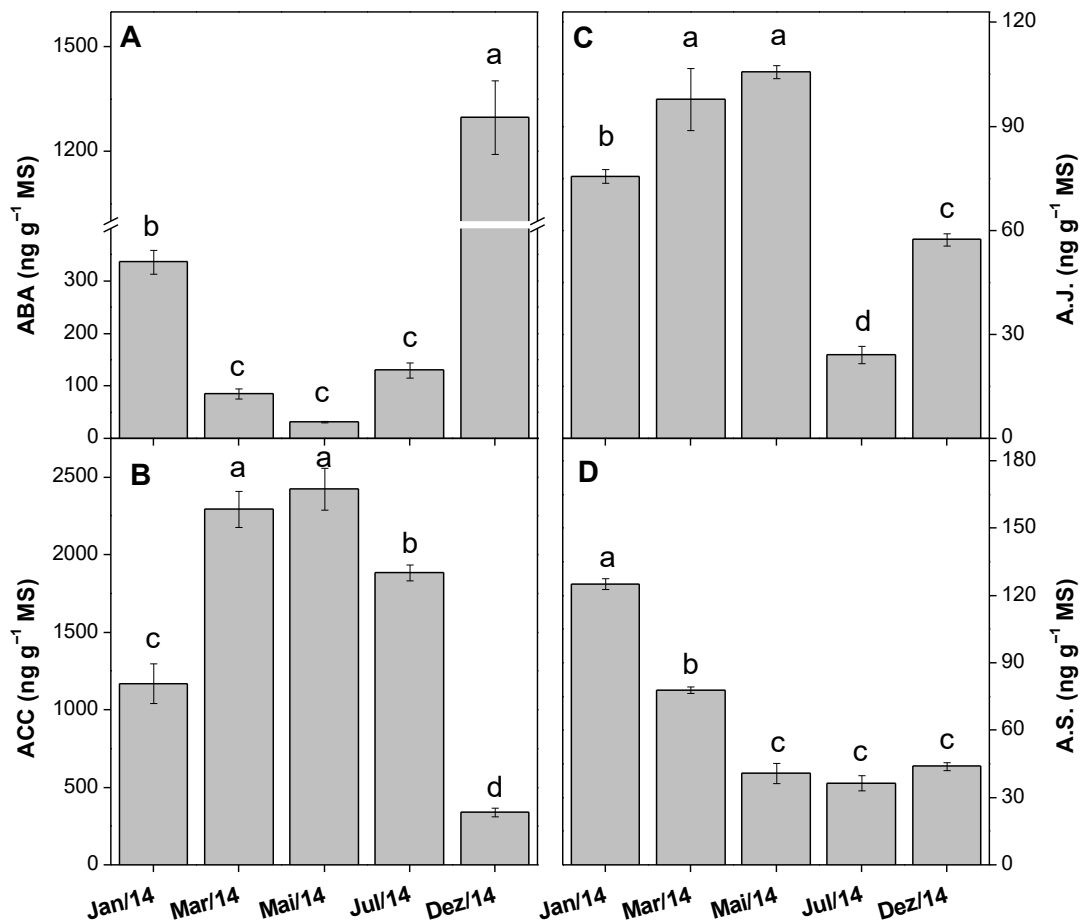
**Figura 2:** Alterações nas trocas gasosas e *status* hídrico foliar na decídua, *Annona leptopetala* (R. E. Fr.) H. Rainer, em uma floresta tropical seca no Brasil ao longo das estações: (A) condutância estomática ( $g_s$ ); (B) assimilação de CO<sub>2</sub> (A); (C) Potencial hídrico foliar ( $\Psi_f$ ); (D) eficiência do uso da água (EUA=A/E). Valores representam a média  $\pm$  erro padrão (n=5). Letras diferentes indicam diferenças estatísticas por teste Newman-Keul com nível de significância de 5 por cento entre as variáveis.



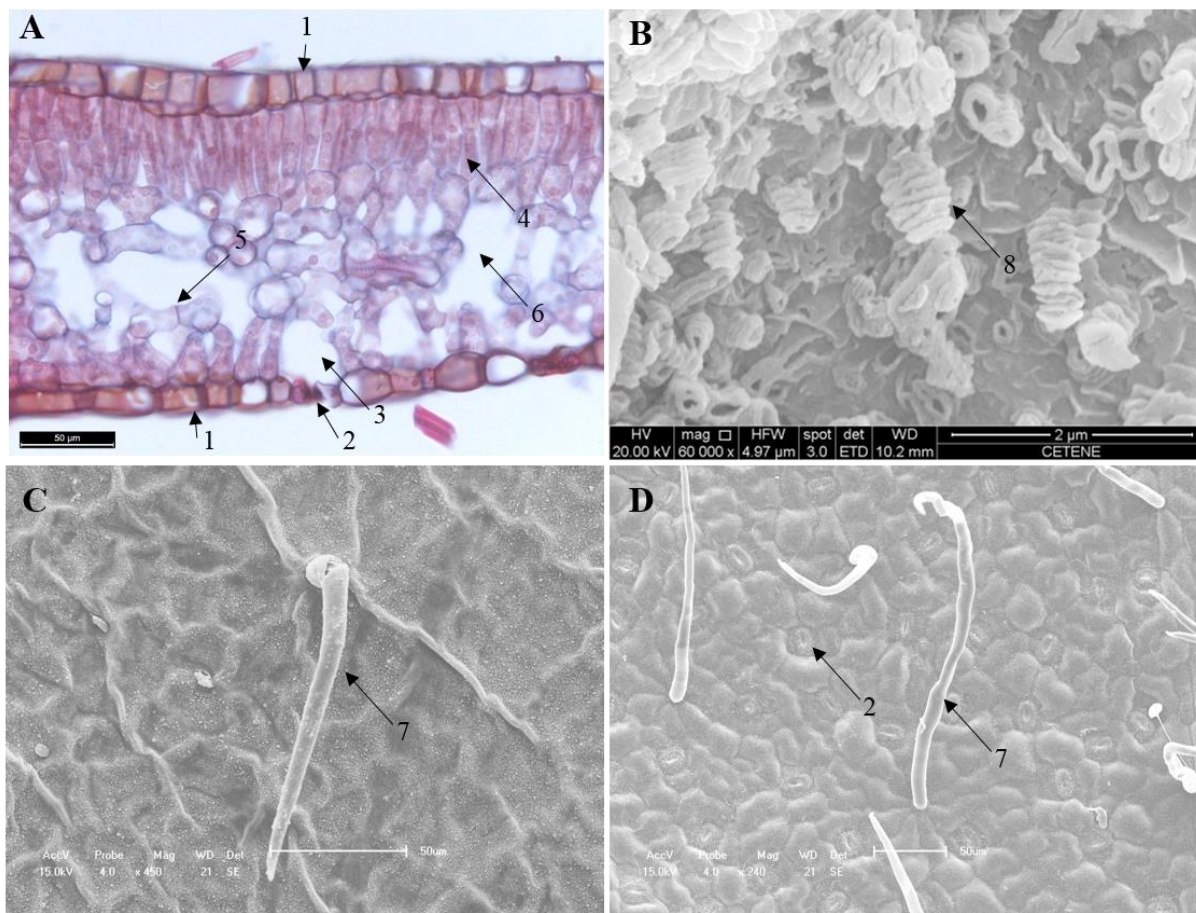
**Figura 3:** Variação sazonal na concentração de pigmentos foliar na decídua, *Annona leptopetala* (R. E. Fr.) H. Rainer, em uma floresta tropical seca no Brasil: (A) Total de Clorofila *a* (Clo *a*); (B) Total Clorofila *b* (Clo *b*); (C) Total de Carotenoides (Car); (D) Relação Clorofila *a/b* (Clo *a/b*), (E) Relação Total de Clorofila/ Carotenoides (Clo (*a+b*)/ Car). Valores representam a média  $\pm$  erro padrão (n=5). Letras diferentes indicam diferenças estatísticas por teste Newman-Keul com nível de significância de 5 por cento entre as variáveis.



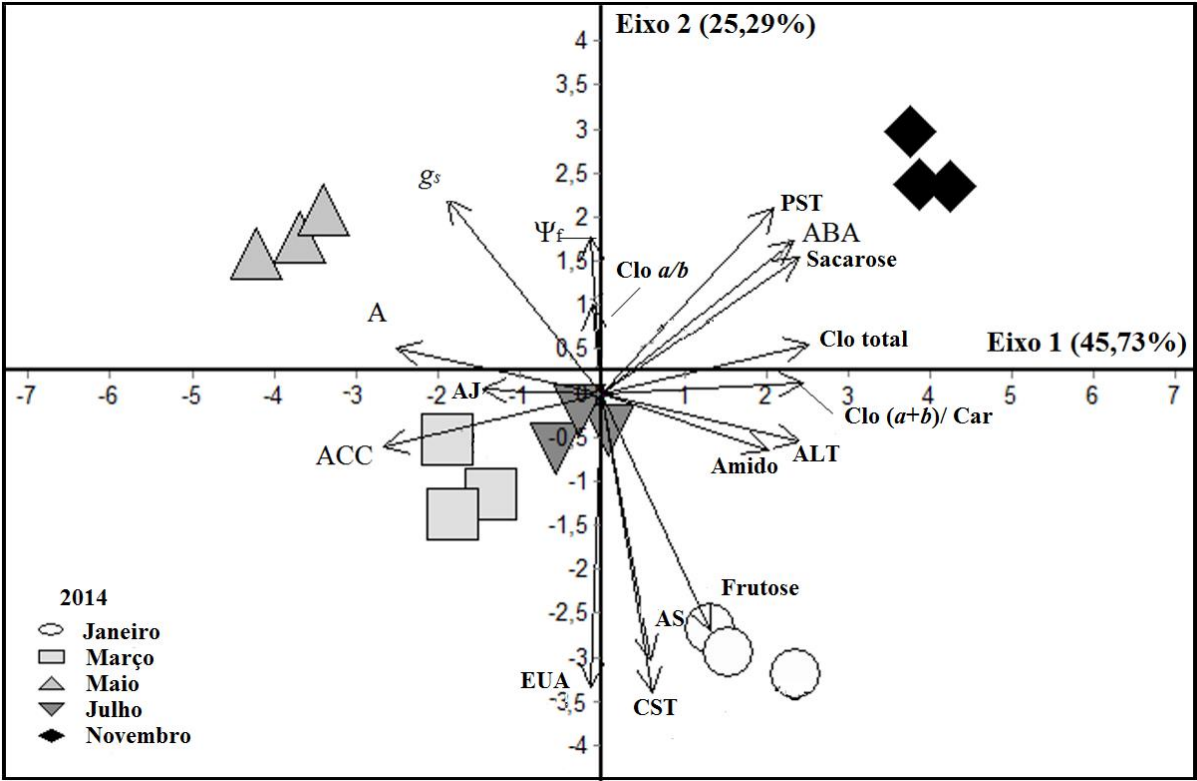
**Figura 4:** Alterações na bioquímica foliar na decídua, *Annona leptopetala* (R. E. Fr.) H. Rainer, em uma floresta tropical seca no Brasil ao longo das estações: (A) Carboidratos solúveis (CST); (B) Total de proteínas solúveis (PST); (C) Aminoácidos livres totais (ALT); (D) Amido; (E) Frutose; (F) Sacarose. Valores representam a média  $\pm$  erro padrão (n=5). Letras diferentes indicam diferenças estatísticas por teste Newman-Keul com nível de significância de 5 por cento entre as variáveis.



**Figura 5:** Variação sazonal nas concentrações foliares endógenas de fito-hormônios na decídua, *Annona leptopetala* (R. E. Fr.) H. Rainer, em uma floresta tropical seca no Brasil. **(A)** ácido abscísico (ABA); **(B)** ácido 1-aminociclopropano-1-carboxílico (ACC); **(C)** ácido jasmônico (A.J.); **(D)** ácido salicílico (A.S.). Valores representam a média  $\pm$  erro padrão (n=3). Letras diferentes indicam diferenças estatísticas por teste Newman-Keul com nível de significância de 5 por cento entre as variáveis.



**Figura 6:** Secções transversais da região mediana foliar e Microscopia eletrônica de varredura (MEV) de fragmento foliar da decídua, *Annona leptopetala* (R. E. Fr.) H. Rainer, em uma floresta tropical seca, Serra Talhada, Pernambuco, Brasil, ao longo das estações (A) Secção transversal da região mediana foliar : (1) Epiderme unisseriada; (2) Estômato; (3) Câmara Subestomática; (4) Parênquima paliçádico bisseriado; (5) Células brachiformes do parênquima lacunoso; (6) Espaço intercelular; (B) Destaque para Ultraestrutura da cera epicuticular na face abaxial (8); (C) Face Adaxial com presença de tricomas(7) e ausência de estômatos; (D) Face abaxial evidenciando os tricomas (7) e estômatos abundantes (2).



**Figura 7:** Análise de componente principal (PCA). Dados são apresentados para primeiro e segundo eixos. Símbolos representam os períodos de coleta de dados de *Annona leptopetala* (R. E. Fr.) H. Rainer, e os vetores todos os parâmetros analisados. **A:** Assimilação líquida de CO<sub>2</sub>; **gs:** condutância estomática; **ACC:** ácido 1-aminociclopropano-1-carboxílico (precursor do Etileno); **AJ:** ácido jasmônico; **Ψ<sub>f</sub>** : potencial hídrico foliar; **Clo a/b:** clorofila a/b; **EUA:** eficiência no uso da água; **CST:** carboidratos solúveis; **AS:** ácido salicílico; **ALT:** aminoácidos livres; **Clo(a+b)/car:** clorofila total/carotenoides; **Clo tot:** clorofila total; **ABA:** ácido abscísico; **PST:** total de proteínas solúveis.

**Tabela 1:** Coeficiente de regressão múltipla ( $R^2$ ) e valores de  $P$  (mostrados em parênteses) entre parâmetros ambientais, como déficit de pressão de vapor (DPV), densidade do fluxo de fótons fotossintetizantes (DFFF) relacionados e umidade de solo (US), e parâmetros relativos ao status hídrico, trocas gasosas, bioquímica e concentrações endógenas de fito-hormônios em *Annona leptopetala* (R. E. Fr.) H. Rainer, sobre condições de campo. Valores de  $R^2$  maiores que 0,80 são mostrados em negrito.

| PARÂMETROS            | DPV x DFFF x US          |
|-----------------------|--------------------------|
| <b>Status hídrico</b> |                          |
| $\Psi_f$              | <b>0,841 (&lt;0,001)</b> |
| $g_s$                 | <b>0,864 (&lt;0,001)</b> |
| A                     | <b>0,849 (&lt;0,001)</b> |
| WUE                   | 0,775 (0,001)            |
| <b>Bioquímica</b>     |                          |
| SS                    | <b>0,923 (&lt;0,001)</b> |
| TPS                   | <b>0,920 (&lt;0,001)</b> |
| FAA                   | 0,404 (0,033)            |
| Clo tot               | <b>0,898 (&lt;0,001)</b> |
| Clo a/b               | 0,349 (0,052)            |
| Clo (a+b)/car         | 0,567 (0,006)            |
| Amido                 | 0,476 (0,017)            |
| Fruose                | <b>0,873 (&lt;0,001)</b> |
| Sacarose              | <b>0,880 (&lt;0,001)</b> |
| <b>Fitohormônios</b>  |                          |
| ABA                   | <b>0,864 (&lt;0,001)</b> |
| AJ                    | 0,654 (0,001)            |
| AS                    | 0,549 (0,007)            |
| ACC                   | 0,753 (<0,001)           |

**Tabela 2:** Coeficiente ( $r$ ) e valores de  $P$  (mostrados em parênteses) da análise de correlação linear simples (Pearson  $r$ ) entre parâmetros relacionados ao status hídrico, trocas gasosas, bioquímica e concentrações endógenas de fito-hormônios relacionados ao estresse, em *Annona leptopetala* (R. E. Fr.) H. Rainer, sobre condições de campo. Valores de  $P$  significantes ( $<0,05$ ) são mostrados em negrito.

| PARÂMETROS            | ABA                      | AJ                    | AS                       | ACC                       |
|-----------------------|--------------------------|-----------------------|--------------------------|---------------------------|
| <b>Status hídrico</b> |                          |                       |                          |                           |
| $\Psi_f$              | 0,332 (0,225)            | <b>0,706 (0,003)</b>  | -0,051 (0,854)           | -0,075 (0,789)            |
| $g_s$                 | -0,275 (0,319)           | <b>0,583 (0,022)</b>  | -0,459 (0,085)           | <b>0,537 (0,038)</b>      |
| A                     | <b>-0,640 (0,010)</b>    | <b>0,662 (0,007)</b>  | -0,173 (0,536)           | <b>0,851 (&lt;0,001)</b>  |
| EUA                   | -0,469 (0,077)           | 0,007 (0,979)         | <b>0,698 (0,003)</b>     | 0,165 (0,555)             |
| <b>Bioquímica</b>     |                          |                       |                          |                           |
| CST                   | -0,204 (0,465)           | 0,008 (0,975)         | <b>0,861 (&lt;0,001)</b> | -0,047 (0,865)            |
| PST                   | <b>0,859 (&lt;0,001)</b> | <b>-0,576 (0,024)</b> | -0,398 (0,141)           | <b>-0,784 (&lt;0,001)</b> |
| ALT                   | <b>0,701 (0,003)</b>     | -0,208 (0,456)        | 0,503 (0,055)            | <b>-0,869 (&lt;0,001)</b> |
| Clo Tot               | <b>0,816 (&lt;0,001)</b> | <b>-0,635 (0,010)</b> | 0,068 (0,808)            | <b>-0,828 (&lt;0,001)</b> |
| Clo $a/b$             | 0,034 (0,901)            | -0,181 (0,518)        | -0,226 (0,416)           | -0,019 (0,946)            |
| clo $(a+b)/car$       | <b>0,756 (0,001)</b>     | -0,285 (0,301)        | 0,301 (0,275)            | <b>-0,877 (&lt;0,001)</b> |
| Amido                 | <b>0,650 (0,008)</b>     | 0,158 (0,578)         | <b>0,585 (0,021)</b>     | <b>-0,739 (0,001)</b>     |
| Fruose                | 0,056 (0,841)            | -0,450 (0,092)        | <b>0,557 (0,030)</b>     | -0,265 (0,339)            |
| Sacarose              | <b>0,949 (&lt;0,001)</b> | -0,371 (0,172)        | -0,116 (0,680)           | <b>-0,906 (&lt;0,001)</b> |
| <b>Fitohormônios</b>  |                          |                       |                          |                           |
| ABA                   | -                        | -0,287 (0,298)        | -0,131 (0,639)           | <b>-0,907 (&lt;0,001)</b> |
| AJ                    | -                        | -                     | 0,273 (0,324)            | 0,391 (0,149)             |
| AS                    | -                        | -                     | -                        | -0,142 (0,612)            |
| ACC                   | -                        | -                     | -                        | -                         |



## **CONSIDERAÇÕES FINAIS**

Este estudo trouxe uma nova abordagem para compreensão da fisiologia de plantas de Caatinga, uma vez que estudos de campo nessa região limitaram-se às avaliações das trocas gasosas e parâmetros relacionados à fotossíntese, metabolismo primário e antioxidante e suas interações com variáveis ambientais. Neste estudo além dessas variáveis foram consideradas as alterações nos moduladores de resposta à estresse abiótico: os hormônios vegetais.

Embora o ABA seja comumente relacionado ao controle da abertura estomática, nossos resultados sugerem AJ como o principal regulador da  $g_s$  em *C. flexuosa*. Além disso, menores concentrações de AJ durante períodos de seca podem indicar um importante mecanismo no atraso da senescência foliar. Já o AS apresentou relação com manutenção do  $\Psi_f$  durante seca severa, sugerindo que o seu acúmulo pode ser um dos principais mecanismos de tolerância a déficit hídrico nessa espécie sempre verde lenhosa. Por outro lado, o fornecimento de energia parece ser regulado principalmente por tZ, que apresentou correlação moderada com as variações na concentração de CST.

A espécie decídua, por sua vez, usa diferentes ajustes no metabolismo de acordo com as diferenças nas condições de DPV, DFFF e US. A retomada intensa do metabolismo foliar após as primeiras chuvas sugere que reservas foram remobilizadas para o desenvolvimento inicial e que no final do período chuvoso, esses solutos são novamente retranslocados antes da queda foliar. Em *A. leptopetala* os principais hormônios envolvidos na regulação endógena das trocas gasosas e metabolismo foliar foram o ABA e o ACC, enquanto o AS parece ter sido importante no período de menor disponibilidade hídrica, o qual poderia atuar no aumento da EUA e remobilização de solutos.

No entanto, são necessários estudos em condições controladas para melhor compreender o papel desses fitorreguladores e de suas interações na regulação do crescimento, através do controle de trocas gasosas e modulação do metabolismo foliar em *C. flexuosa* e *A. leptopetala*.

Além disso, esses resultados sugerem que períodos de seca prolongados podem diminuir substancialmente a produção de biomassa, além de afetar o sucesso reprodutivo das espécies aqui estudadas. Apesar de materem-se vivas e terem retomado o crescimento em alguns meses onde a escassez de água foi menos intensa, essas espécies não foram capazes de iniciar ciclo reprodutivo durante os anos de coleta (2012-2014), mostrando

que o sucesso reprodutivo dessas espécies está sendo fortemente afetado pelo prolongamento dos períodos secos nesse fragmento dentro da região semiárida brasileira.

## **ANEXO**

### **Normas da Revista Tree Physiology**

### INSTRUCTIONS TO AUTHORS

**Please note that the journal now encourages authors to complete their copyright licence to publish form online.**

**Oxford open and colour charges are optional, you may choose to publish free of charge if you wish.**

### TOPICS COVERED BY TREE PHYSIOLOGY

Articles published may deal with any aspect of physiology, including growth, morphogenesis, photosynthesis, nutrition, pathology, reproduction, evolution, environmental adaptation, symbioses, heredity, metabolism, molecular biology and relationships between structure and function. Also published are articles dealing with physiological aspects of biotechnology, environmental management and the economic use of woody species, and their genetic transformation and micropropagation, and with responses of forest, crop, ornamental tree and other woody species to acid rain, air pollutants, ultraviolet radiation and global warming.

### SCOPE OF THE JOURNAL

*Tree Physiology* promotes research in a framework of hierarchically organized systems, measuring insight by the ability to link adjacent layers: thus, investigated tree physiology phenomenon should seek mechanistic explanation in finer-scale phenomena as well as seek significance in larger-scale phenomena (Passioura 1979). A phenomenon not linked downscale is merely descriptive; an observation not linked upscale might be trivial. Physiologists often refer qualitatively to processes at finer or coarser scale than the scale of their observation, yet studies formally directed at three, or even two adjacent scales are rare. To emphasize the importance of relating mechanisms to coarser scale function, *Tree Physiology* will highlight papers doing so particularly well as Commentaries.

*Tree Physiology* welcomes submissions of manuscripts on research of non-tree woody and arborescent species (shrubs, vines, tree ferns, palms, bamboo). It invites submissions on new methods designed to improve estimates of quantities of structural components and flux of matter, energy and information relevant to the structure and the function of these species.

Manuscripts that use somatic embryogenesis to report novel aspects of embryo development or other biological process are welcome. Similarly, manuscripts in which somatic embryogenesis is used to create transgenic plants for subsequent analyses of gene functions or biological processes are also welcome. Manuscripts that characterize somatic embryo attributes or embryogenic processes with the primary objective of improving somatic embryo production fall outside the scope of *Tree Physiology*.

*Tree Physiology* also welcomes those manuscripts on genomics demonstrating a clear link and relevance to tree physiology.

Authors who prepared short, hard-hitting manuscripts are encouraged to submit them as *Tree Physiology* Letters that will be fast tracked through the review process with the help of the Editorial Review Board.

***Tree Physiology* now offers free online publication of colour figures.**

### TYPES OF ARTICLES PUBLISHED IN TREE PHYSIOLOGY

*Tree Physiology* is intended primarily as a medium for reporting original research, both theoretical and experimental, although technical reviews are also included. Preliminary reports, or reports presenting results of only one aspect of a larger study, will normally be declined.

Articles must be written clearly, concisely and in correct English. Articles of excessive length are returned for condensation. Authors whose knowledge of English is limited should obtain the assistance of a scientifically qualified English-language editor before submitting their work to *Tree Physiology*. Manuscripts in need of extensive editing or rewriting are returned without review.

Each issue of *Tree Physiology* may include:

1. [Research Papers](#)
2. [Methods Papers](#)
3. [Letters](#)
4. [Tree Physiology Reviews and Invited Reviews](#)
5. [Commentaries](#)
6. [Book Reviews](#)

In the letter accompanying their submission, authors are requested to identify the scales directly addressed by the study (e.g., molecules, organ physiology, whole plant physiology, ecophysiology, and Integration/synthesis ).

#### Research Papers

1. Most papers that appear in *Tree Physiology* are **Research Papers**. These report on (1) work investigating a newly formulated problem using new (but tested) tools specifically suitable to address the problem; and (2) manuscripts that address newly formulated problems using established methods.

Reviewers and Editors will be asked to identify observational manuscripts (i.e. describing an interesting phenomenon without studying underlying mechanisms or significance), and confirmatory manuscripts that are done well and are interesting for a particular reason (e.g., observing a known phenomenon in an interesting or rarely investigated setting). To be considered for publication, these studies, dealing with a single scale, should best contain some experimental manipulations that can provide mechanistic insights. Strictly observational papers should focus on new or poorly described phenomena. In either case, the authors should discuss possible explanations for and significance of their observation. If space allows, these manuscripts can be published in *abbreviated* form (maximum of 6 pages), with the remaining information available only online.

*Tree Physiology* mandates a concluding section that explicitly requires consideration of processes below and above the main level of focus of the paper. Authors should include a paragraph explicitly addressing the larger context of their study, suggesting relevance (e.g., implications), and another discussing finer-scales constraints, suggesting generality (e.g., mechanisms). Some papers might be multi-scalar in focus, in which case this section would not be needed, or could just serve as a recap.

#### Methods Papers

2. **Methods Papers** describe the development and application of new tools, where the tool has been tested against known standards, and its use demonstrated by addressing a physiological question. Methods Papers can also present development of a new or significantly improved method, for example, new applications of advanced statistical methods for data analysis, methods to parameterize existing models or scaling quantities across levels of biological systems. This category also includes synthesis or discussion papers on current methodological challenges.

#### Letters

3. **Letters** - These are short, hard-hitting, research papers that we would fast track for publication. Letters are limited to four printed pages. Additional information can be included online.

#### Tree Physiology Reviews

4. The purpose of **Tree Physiology Reviews** is to help define what is known in each subfield of tree physiology, thereby guiding the decision on whether a problem has been sufficiently addressed, or a method has met its limits. The purpose is also to identify questions that have not been studied and where we could be making profound and useful discoveries. The number of reviews published by other journals is rapidly increasing; our aim is to contribute only few reviews per year which are distinctly useful in guiding research of tree (and other woody species) physiology or improving the representation of tree physiological processes in large scale models. Proposals for *Tree Physiology*

[About this journal](#)

[Rights & permissions](#)

[We are mobile – find out more](#)

[This journal is a member of the Committee on Publication Ethics \(COPE\)](#)

[Journals Career Network](#)



**Impact factor: 3.587**  
**5-Yr impact factor: 3.891**

**Ram Oren, Editor-in-Chief**  
**Torgny Näsholm, Associate Editor-In-Chief**  
**Sari Palmroth, Managing Editor**  
[View the full editorial board](#)

[Instructions to authors](#)  
[Services for authors](#)  
[Online submission instructions](#)  
[Submit Now!](#)  
[Author Self Archiving Policy](#)



[Open access options available for authors - visit Oxford Open](#)

Looking for your next opportunity?

Assistant or Associate Professor of Respiratory Biology AND/OR Assistant/Associate Professor Toxicology

Davis, California

BULLARD FELLOWSHIPS IN FOREST RESEARCH

Petersham, Massachusetts

Assistant Professor or Associate Professor

Stanford, California

Biostatistics Faculty Position

St. Louis, Missouri

View All Jobs

OXFORD UNIVERSITY PRESS Journals Career Network

## Journals Career Network

What we offer

Advertising sales

Reprints

Supplements

[XML, RSS feed](#)

**AOB PLANTS**  
Next-generation  
publishing in the  
plant sciences

Italicize gene names, but not names of proteins.

Do not italicize common Latin phrases and abbreviations which are found in Webster's dictionary, for example, *in vitro*, etc. (*et cetera*), e.g. (*exempli gratia*), i.e. (*id est*), et al. (*et alii* (m.), *et aliae* (f.), *et alia* (n.)). Avoid Latin phrases where equivalent English terms exist.

### Species names

Common names of organisms may be used provided that in every case the Latin binomial and authority are given in parentheses following the first use in both the abstract and the body of the paper.

### Gene nomenclature

In an effort to standardize nomenclature, *Tree Physiology* strongly encourage authors of manuscripts on Rosaceae genomics to register their gene data with the Genome Database for Rosaceae (GDR, [www.rosaceae.org](http://www.rosaceae.org)) at the time of submission. When the paper has been accepted for publication, the data will be made available publicly.

### Materials and methods

The description of experimental procedures should be sufficient to allow repetition of the work. Details should be omitted where reference can be made to published procedures. Except in the case of standard procedures, however, methods should be outlined even when reference is made to a published description. Procedures published in sources that will not be readily available to most readers of *Tree Physiology* should be described in full.

### Acknowledgements

Acknowledgements and details of non-financial support must be included at the end of the text before references and not in footnotes. Personal acknowledgements should precede those of institutions or agencies. Please note that acknowledgement of funding bodies should be given in a separate Funding section.

### References

Articles cited in the text will be referred to by the name(s) of the author(s) with the year of publication in parentheses. If both are in parentheses, no punctuation separates the name(s) of the authors(s) and the year of publication. Consecutive citations in the text are placed in chronological order and separated by commas. If there are more than two authors, only the first author's name is given, and this is followed by the phrase *et al.*, which should be in roman, not italic, type (e.g. Kramer 1986, Day *et al.* 2002).

Beginning on a separate sheet, references should be listed alphabetically at the end of the article thus:

#### Journal article

Bahn M, Janssens IA, Reichstein M, Smith P, Trumbore SE (2010) Soil respiration across scales: towards an integration of patterns and processes. *New Phytol* 186:292–296.

#### Books

Daily GC (ed) (1997) *Nature's services: societal dependence on natural ecosystems*. Island Press, Washington, DC.

#### Chapters in books

Wilkens RT, Ayres MP, Lorio PL Jr, Hodges JD (1998) Environmental effects on pine tree carbon budgets and resistance to bark beetles. In: Mickler RA, Fox S (eds) *The productivity and sustainability of southern forest ecosystems in a changing environment*. Springer, New York, pp 591–616.

#### Websites

Public Health Laboratory Service. Antimicrobial resistance in 2000: England and Wales. [http://www.hpa.org.uk/infections/topics\\_az/antimicrobial\\_resistance/amr.pdf](http://www.hpa.org.uk/infections/topics_az/antimicrobial_resistance/amr.pdf) (7 January 2012, date last accessed).

*Biological Abstracts* should be used as a guide to the abbreviation of journal titles. Personal communications, unpublished works, or papers in preparation or submitted for publication should not be listed as references, but incorporated in the text.

### Tables

Please upload separate table files, for production purposes.

It is imperative that figures submitted are of a high resolution (at least 300dpi and of high image quality). If tables are submitted as non-editable vector files (eg. PDF files) it is vital that they are linked to an editable format, such as a word document or an excel document. Failure to do this will result in the delayed publication of your manuscript. Tables and figures can be placed wherever the authors think is best, but should be large enough to be readable and include a title. Figures should be accompanied by a legend. Footnotes can be added to tables if needed. Try to avoid overcrowding in tables and unnecessary clutter in figures. Please use a common image format for figures in a high resolution of at least 300dpi. Vector files such as PDFs must use standard fonts such as Helvetica or Times New Roman in case they need to be edited.

Tables should be typed with double spacing, but minimizing redundant space, and each should be placed on a separate sheet. Each table should be numbered in sequence using Arabic numerals. Tables should also have a title above and an explanatory footnote below, if required. Units in which results are expressed should be given in parentheses at the top of each column and not repeated in each line of the table. Ditto signs are not used. Avoid overcrowding the tables and the excessive use of words.

The format of tables should be in keeping with that normally used by the journal; in particular, vertical lines, coloured text and shading should not be used. Please ensure that the data given in tables are correct.

### Figures

***Tree Physiology* now offers free online publication of colour figures.**

When submitting your manuscript, please note, we can proceed with a pdf copy or a doc file displaying all figures and tables for the initial review only. Please check that the figures and tables are displayed clearly in the pdf created online for peer review purposes. Please ensure separate figure legends are included at the end of the main document after the references.

The original separate figure files will be required at the revision stage, for production purposes if your manuscript is accepted for publication. Please note we are unable to proceed with processing your manuscript, until the original files have been uploaded.

The original figures will be required at a minimum resolution of 600 d.p.i. for line drawings and combination half-tones (images containing pictures and text labelling and/or thin lines) and 300 d.p.i. for colour and half-tone artwork without text labelling. If you have figures that will be published in colour online but printed in black and white please supply both black and white and colour versions of these figures. The maximum size for uploaded files is 200MB.

**For guidelines on how to create good images or to check whether the images work, see <http://cpc.cadmus.com/da/index.jsp>**

When reproduced at final size, lettering on figures (which must be of the same style for all figures in a paper) should be 1.5 to 2.5 mm in height (capitals and numerals). A multi-part figure must be assembled to fit a single page.

Figures should be designed to fit one (8.23 cm), one and a half (11.5–12.5 cm), or two (17.16 cm) column widths, with a maximum height of 23.4 cm. For the best reproduction, figures should be submitted at the final size.

When creating figures, please make sure any embedded text is large enough to read. Many figures contain miniscule characters such as numbers on a chart or graph. If these characters are not easily readable, they will most likely be illegible in the final version. Certain image formats such as .jpg and .gif do not have high resolutions, so you may elect to save your figures as .eps or .tif instead. The preferred formats for figure files are .eps or .tif for line drawings and greyscale, and .tif for halftones, combination images and colour images. Note that .eps is preferred for line drawings (e.g. graphs) as this is vector-based software and allows smaller file sizes. .eps is also recommended for SigmaPlot conversion.

**For file conversion please go to [www.zamzar.com](http://www.zamzar.com) for a free tool to convert your figures or documents to another format.**

We'd be delighted if you happen to have (a) suitable high-resolution colour image(s), which we might be able to consider for the front cover of the issue in which your paper will appear. The image(s) should relate to your article but do not have to appear in it. The minimum size and resolution are 1600 x 2100 pixels at 300 dpi. If you have one or more such images, please upload them to the journal Dropbox by clicking [here](#). Cover image submissions **must** be clearly labeled with your manuscript ID as supplied on ScholarOne/Manuscript Central; incorrectly

labeled files will not be considered. Please also include with your submission a suggested cover legend of a reasonable length and the copyright information for your image as a notepad or word document file; the legend should be 3-5 sentences long and, most importantly, say something explicit about the findings in your paper. Please alert the [editorial office](#) and the [production department](#) by email of your submission, including your manuscript ID in the email subject line. The final selection of cover images are made by the production department, so we cannot promise that we'll use yours.

## GENERAL POLICIES

### Open access

*Tree Physiology* authors have the option to publish their paper under the [Oxford Open](#) initiative; whereby, for a charge, their paper will be made freely available online immediately upon publication. After your manuscript is accepted the corresponding author will be required to accept a mandatory licence to publish agreement. As part of the licensing process you will be asked to indicate whether or not you wish to pay for open access. If you do not select the open access option, your paper will be published with standard subscription-based access and you will not be charged.

*Oxford Open* articles are published under Creative Commons licences. Authors publishing in *Tree Physiology* can use the following Creative Commons licences for their articles:

- Creative Commons Attribution licence (CC-BY)
- Creative Commons Non-Commercial licence (CC-BY-NC)

Please click [here](#) for more information about the Creative Commons licences.

You can pay Open Access charges using our Author Services site. This will enable you to pay online with a credit/debit card, or request an invoice by email or post. The open access charges applicable are:

Regular charge - £1850/ \$3000 / €2450  
Reduced rate developing countries charge \* - £925 / \$1500 / €1225  
Free developing country charge\* - £0 /\$0 / €0  
\*Visit our [Developing Countries page](#) for a list of qualifying countries

Please note that these charges are in addition to any colour/page charges that may apply.

Orders from the UK will be subject to the current UK VAT charge. For orders from the rest of the European Union, OUP will assume that the service is provided for business purposes. Please provide a VAT number for yourself or your institution, and ensure you account for your own local VAT correctly.

### Third-Party Content in Open Access papers

If you will be publishing your paper under an Open Access licence but it contains material for which you **do not** have Open Access re-use permissions, please state this clearly by supplying the following credit line alongside the material:

*Title of content*  
*Author, Original publication, year of original publication, by permission of [rights holder]*

*This image/content is not covered by the terms of the Creative Commons licence of this publication. For permission to reuse, please contact the rights holder.*

### Advance access

Advance Access articles are published online soon after they have been accepted for publication, in advance of their appearance in a printed journal. Appearance in Advance Access constitutes official publication, and the Advance Access version can be cited by a unique DOI (Digital Object Identifier). When an article appears in an issue, it is removed from the Advance Access page.

Articles posted for Advance Access have been copyedited and typeset and any corrections included. This is before they are paginated for inclusion in a specific issue of the journal. Once an article appears in an issue, both versions of the paper continue to be accessible and citable

### Copyright and licence

Upon receipt of accepted manuscripts at Oxford Journals authors will be invited to complete an online copyright licence to publish form. It is a condition of publication for all Oxford Journals that authors grant an exclusive licence to Oxford University Press or the sponsoring Society.

Please note that by submitting an article for publication you confirm that you are the corresponding/submitting author and that Oxford University Press ("OUP") may retain your email address for the purpose of communicating with you about the article. You agree to notify OUP immediately if your details change. If your article is accepted for publication OUP will contact you using the email address you have used in the registration process. Please note that OUP does not retain copies of rejected articles.

### Editing

Articles may be edited after acceptance, but authors will be able to approve the changes.

### Charges for colour figures

**Free online publication:** All figures submitted to the journal in colour will be published in colour online at no cost. This reflects the high level of online usage, with print readership now forming only 2% of the total journal usage.

**Print colour charge:** Inclusion of colour figures in the print issue is subject to a charge (£350, \$600, €525 per figure). If you consider colour to be essential in the print version, *Tree Physiology* offers you the option of requesting that one or more figures be printed at a reduced cost (£100/US\$190/€150 per figure). There are a limited number of reduced-cost colour print figures, to be allocated at the discretion of the Editor-in-Chief.

### Ethics

*Tree Physiology* expects that authors will observe high standards with respect to publication ethics. For example, the following practices are unacceptable: (1) falsification or fabrication of data, (2) plagiarism, including duplicate publication of the authors' own work, in whole or in part without proper citation, (3) misappropriation of the work of others such as omission of qualified authors or of information regarding financial support. With reference to (2); the author's own work will be considered to be previously published where the authors have signed an exclusive licence or copyright agreement and/or where the article is publicly available, in whole or part, as part of a numbered volume, book chapter, or blog. *Tree Physiology* will consider papers that have been posted to preprint servers or included as part of a PhD thesis, provided that the submitted version is original to the author and that any prior posting or publication of the full paper is carried out in accordance with the journal self-archiving policy detailed below. Manuscripts submitted to the journal may be checked for originality using anti-plagiarism software and the journal reserves the right to decline submissions suspected of plagiarism at any time.

Allegations of unethical conduct will be discussed initially with the corresponding author. In the event of continued dispute the matter will be referred to the author's institution and funding agencies for investigation and adjudication. Please refer to the following page to learn more about OUP's ethical policies: <http://www.oxfordjournals.org/en/authors/ethics.html>.

### Conflict of interest

The manuscript submission system requires you to declare whether your manuscript includes a potential [conflict of interest](#). Any potential conflict of interest that might constitute an embarrassment to any of the authors if it were not to be declared and were to emerge after publication should be declared. Such conflicts might include, but are not limited to, author (or first degree relative) shareholding in or receipt of a grant or consultancy fee from a company whose product features in the submitted manuscript or which manufactures a competing product.

If no Conflict of Interest is declared, this will be stated in the article using the following wording: 'Conflict of Interest: none declared'.

### Permissions for illustrations and figures

Permission to reproduce copyright material, for print and online publication in perpetuity, must be cleared and if necessary paid for by the author; this includes applications and payments to DACS, ARS and similar licencing agencies where appropriate. Evidence in writing that such permissions have been secured from the rights-holder must be made available to the editors. It is also the author's responsibility to include acknowledgements as stipulated by the particular institutions. Oxford Journals can offer information and documentation to assist authors in securing print and online permissions: please see Guidelines for Authors at [http://www.oxfordjournals.org/access\\_purchase](http://www.oxfordjournals.org/access_purchase)



[/rights\\_permissions.html](#). Information on permissions contacts for a number of main galleries and museums can also be provided. Should you require copies of this then please contact the editorial office of the journal in question or the Oxford Journals Rights department on [journals.permissions@oup.com](mailto:journals.permissions@oup.com).

Authors must:

- obtain permission from the original publisher and, if requested, the original author (i.e. the corresponding author of the article from which the figure/table has come) for reproducing/modifying figures/tables.
- request the following when seeking to reproduce any kind of third party material:
  - (i) non-exclusive rights to reproduce the material in the specified article and journal.
  - (ii) print and electronic rights, preferably for use in any form or medium.
  - (iii) the right to use the material for the life of the work.
  - (iv) world-wide English-language rights. If rights for all languages can be secured, this is preferable.
  - (v) the right to use images with a resolution of 150 dpi in the PDF version of the journal or 72 dpi in the HTML version.
- include a statement indicating that permission has been obtained in the relevant legend/footnote.
- provide the Editorial Office with copies of any relevant paperwork.

For further details, as well as a template permissions request letter, please contact the [editorial office](#).

### Proofs

Authors are sent page proofs by email. These should be checked immediately and corrections, as well as answers to any queries, returned to the publishers as an annotated PDF via email or fax within 3 working days (further details are supplied with the proof). It is the author's responsibility to check proofs thoroughly.

### Supplementary data

Supporting material that is not essential for inclusion in the full text of the manuscript, but would nevertheless benefit the reader, can be made available by the publisher as online-only content, linked to the online manuscript. The material should not be essential to understanding the conclusions of the paper, but should contain data that is additional or complementary and directly relevant to the article content. Such information might include more detailed methods, extended data sets/data analysis, additional figures, or movies. It is standard practice for appendices to be made available online-only as supplementary data. All text and figures must be provided in suitable electronic formats (file types that that cannot be uploaded are shs; exe; com; vbs; zip). All material to be considered as supplementary data must be submitted at the same time as the main manuscript for peer review. It cannot be altered or replaced after the paper has been accepted for publication, and will not be edited. Please indicate clearly all material intended as supplementary data upon submission. Also ensure that the supplementary data is referred to in the main manuscript where necessary, for example as '(see Supplementary data)' or '(see Supplementary Figure 1)'.

### Funding

Details of all funding sources for the work in question should be given in a separate section entitled 'Funding'. This should appear before the 'Acknowledgements' section. The following rules should be followed: the full official funding agency name should be given, i.e. 'National Institutes of Health', not 'NIH'; grant numbers should be given in brackets; multiple grant numbers should be separated by a comma; agencies should be separated by a semi-colon; no extra wording such as 'Funding for this work was provided by ...' should be used; where individuals need to be specified for certain sources of funding the following text should be added after the relevant agency or grant number 'to [author initials]'. An example is given here: 'National Institutes of Health (CB5453961 to C.S., DB645473 to M.H.); Funding Agency (hfyg667789).'

Oxford Journals will deposit all NIH-funded articles in PubMed Central. See [http://www.oxfordjournals.org/for\\_authors/repositories.html](http://www.oxfordjournals.org/for_authors/repositories.html) for details. Authors must ensure that manuscripts are clearly indicated as NIH-funded using the guidelines above.

#### Crossref Funding Data Registry

In order to meet your funding requirements authors are required to name their funding sources, or state if there are none, during the submission process. For further information on this process or to find out more about the CHORUS initiative please click [here](#).

### Self-archiving policy

For information about this journal's policy, please visit our [Author Self-Archiving policy page](#).

### Offprints

Authors will receive electronic access to their paper free of charge. Additional printed offprints may be ordered using the Oxford Journals Author Services site.

## SUBMITTING A MANUSCRIPT

Manuscripts must be submitted online. Once you have prepared your manuscript according to the instructions please visit the online submission web site <http://mc.manuscriptcentral.com/tp>. Instructions on submitting your manuscript online can be viewed [here](#). Manuscripts submitted to the journal may be checked for originality using anti-plagiarism software.

**Please note that when submitting your revised manuscript you should include a marked-up copy of the manuscript (with all changes highlighted), and a clean copy of the manuscript, suitable for production purposes.**

If you require assistance, please [click here](#) to contact the editorial office.

Online ISSN 1758-4469 - Print ISSN 0829-318X

Copyright © 2016 Oxford University Press

[Site Map](#) [Privacy Policy](#) [Cookie Policy](#) [Legal Notices](#) [Frequently Asked Questions](#)

Other Oxford University Press sites:

[Oxford University Press](#)

