

RENATA JANAÍNA CARVALHO DE SOUZA

**CERAS EPICUTICULARES DE GENÓTIPOS DE
ARACHIS HYPOGAEA L.: COMPOSIÇÃO E EFEITO DO
ESTRESSE HÍDRICO**

RECIFE

2009

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

RENATA JANAÍNA CARVALHO DE SOUZA

**CERAS EPICUTICULARES DE GENÓTIPOS DE
ARACHIS HYPOGAEA L.: COMPOSIÇÃO E EFEITO DO
ESTRESSE HÍDRICO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal, Departamento de Botânica, da Universidade Federal de Pernambuco, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Biologia Vegetal.

Orientador: Prof. Dr. Antonio Fernando Morais de Oliveira

**RECIFE
2009**

RENATA JANAÍNA CARVALHO DE SOUZA

**CERAS EPICUTICULARES DE GENÓTIPOS DE
ARACHIS HYPOGAEA L.: COMPOSIÇÃO E EFEITO DO
ESTRESSE HÍDRICO**

Orientador:

Prof. Dr. Antonio Fernando Morais de Oliveira
Departamento de Botânica - UFPE

Examinadores:

1º Examinador

Tercilio Calsa Júnior
Departamento de Genética - UFPE

2º Examinador

Mauro Guida dos Santos
Departamento de Botânica - UFPE

Data da aprovação / / 2009

Recife

2009

AGRADECIMENTOS

À Deus por ter me guiado e iluminado nesta jornada.

Aos meus pais, Renato Rodrigues de Souza e Suely Maria Carvalho de Souza por todo apoio, dedicação, amor, e incentivo na minha vida acadêmica.

À Pró-reitoria para assuntos de Pesquisa e Pós-Graduação da UFPE (Propesq) e à Coordenadoria de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela bolsa concedida.

Ao meu orientador Prof^o. Antonio Fernando Moraes de Oliveira, pela orientação, amizade e confiança nesses dois anos, que culminaram na conclusão deste trabalho.

À Prof^a Suzene Izídio da Silva, por todo incentivo para que eu ingressasse na Pós-Graduação, amizade e carinho, desde o período da graduação.

Aos meus amigos Marciel Teixeira (meu conselheiro sobre estatística) e Niara Porto, meus primeiros amigos do PPGBV, e permanecemos unidos durante todo o curso do Mestrado, apoiando um ao outro em todos os momentos.

À minha amiga Keylla Miranda, o “mau humor da alegria” (rsrs), pessoa que conquistou minha amizade logo que a conheci.

À todos os meus colegas do Laboratório de Ecologia Aplicada e Fitoquímica - LEAF, que se tornaram todos meus amigos, e que são responsáveis pelo ambiente agradável do laboratório; sem esquecer que o principal responsável pelo ótimo astral do laboratório é, sem dúvida, o Prof. Fernando, “veja bem...”.

Ao Programa de Pós-graduação em Biologia Vegetal – UFPE e a todos que fazem parte dele, que fui conhecendo ao longo do curso.

Aos pesquisadores Dra. Roseane Cavalcanti dos Santos (Embrapa Algodão), Dr. José Francisco Montenegro Valls e Dra. Alessandra Fávero (Embrapa-Cenargen) pelo envio das sementes utilizadas no experimento.

À todos que direta ou indiretamente contribuíram para esta pesquisa.

SUMÁRIO

1. APRESENTAÇÃO	6
2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	7
2.1 Ceras epicuticulares e déficit hídrico em plantas cultivadas	7
2.2 <i>Arachis hypogaea</i> L. – amendoim	10
3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	13
MANUSCRITO 1. Ceras epicuticulares foliares de genótipos de <i>Arachis hypogaea</i> L. tolerantes ao estresse hídrico.....	22
MANUSCRITO 2. Efeito do déficit hídrico na composição de ceras epicuticulares de genótipos de <i>Arachis hypogaea</i> L.....	34
RESUMO.....	49
ABSTRACT.....	50
ANEXOS	51

1. APRESENTAÇÃO

A superfície dos órgãos aéreos primários das plantas é recoberta pela cutícula, estrutura formada por uma matriz biopolimérica constituída por cutina (Holloway, 1982) e um componente lipídico, geralmente, alifático de baixa polaridade, as ceras cuticulares (Baker, 1982). A cutina é um biopoliéster insolúvel, de elevado grau de entrecruzamento entre os ácidos graxos hidroxilados de cadeia longa que a compõem, enquanto as ceras podem ser encontradas mergulhadas nesse polímero, as chamadas ceras intracuticulares, ou depositadas na superfície da cutina, sendo conhecidas como ceras epicuticulares (Heredia et al., 1998).

As ceras epicuticulares, são encontradas como depósitos sobre a superfície da matriz cuticular (Garrec et al., 1995) e consistem numa interface natural entre a planta e o meio, tendo como função básica conferir ao vegetal uma maior resistência à perda de água por transpiração. Quimicamente, a cera epicuticular é uma mistura complexa de substâncias alifáticas como os *n*-alcanos, ácidos graxos, álcoois, cetonas, aldeídos e ésteres, possuindo, também, substâncias de natureza cíclica como os triterpenóides e flavonóides (Shepherd et al., 1995).

A cera epicuticular, dependendo do arranjo molecular, pode apresentar-se como uma fina camada, em algumas espécies, forma típica de superfícies brilhantes, ou pode formar placas ou cristais de diversas formas e tamanhos, em outras (Jeffree, 2006), impedindo a livre passagem da água, e assim, reduzindo, o coeficiente de difusão de água (Kerstiens, 1996a). A forma pela qual as ceras arranjam suas moléculas interfere fortemente na permeabilidade da água, tornando-se mais impermeáveis à medida que as ceras se apresentam numa forma cristalizada.

Uma vez que, o controle da transpiração pelas folhas tem dois componentes: os estômatos e a cutícula, após o fechamento estomático, a cutícula e, conseqüentemente, as ceras assumem um papel de vital importância para a vida das plantas garantindo a retenção de água no corpo do vegetal (Jordan et al., 1984). As características físico-químicas das ceras cuticulares são responsáveis pelas propriedades fisiológicas e ecológicas assumidas pela cutícula (Riederer e Schreiber, 1995).

A cutícula está associada a uma série de funções essencialmente importantes à sobrevivência das plantas. Além de proteção às condições desfavoráveis de suprimento hídrico, a cutícula também contribui com as trocas gasosas (Kerstiens, 1996b), reduz a lixiviação na superfície foliar (Scherbatskoy e Tyree, 1990), protege as plantas contra o

excesso de radiação (Barnes e Cardoso-Vilhena, 1996), confere resistência aos ataques por insetos (Eigenbrode, 1996) e de fungos e bactérias patogênicas (Mendgen, 1996).

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 Ceras epicuticulares e déficit hídrico em plantas cultivadas

Na passagem dos vegetais do ambiente aquático para o terrestre a aquisição de uma proteção hidrófoba, a cutícula, foi uma das adaptações que permitiu o controle da perda excessiva de água por esses organismos (Kolattukudy, 1980), permitindo o sucesso dos vegetais fora do meio aquático, pois uma das principais exigências para a sobrevivência dos vegetais no ambiente terrestre é ter o controle sobre as relações hídricas. Da mesma forma, sob estresse hídrico a cutícula tem uma importante função contribuindo na regulação da perda de água por transpiração.

Ainda hoje há muita controvérsia sobre a correlação entre espessura da cutícula e as condições ambientais. Cutícula espessa é uma forma xeromórfica bastante comum de diminuir a transpiração, pois as plantas submetidas a estresse hídrico, geralmente, aumentam a produção de ceras epicuticulares. Por outro lado, nem sempre um aumento no teor de ceras epicuticulares indica uma melhor eficiência na redução da transpiração, como observado por Oliveira et al. (2003).

A presença de uma cutícula muito impermeável tem sido descrita como uma característica que pode indicar tolerância à seca (Clarke et al., 1989; Jamaux et al., 1997). Variedades de plantas com baixas taxas de transpiração cuticular podem conservar uma alta quantidade relativa de água em condições de déficit hídrico. Contudo, ainda não está provado se esta adaptação pode permitir à planta ser mais produtiva em condições de seca (Sánchez et al., 2001).

As ceras cuticulares consistem nos principais componentes funcionais da superfície aérea primária das plantas, desempenham um papel importante para a planta na resistência a diversos estresses ambientais como, seca, pois limita a difusão de água e solutos através da cutícula (Schönherr, 1982; Rieder e Schreiber, 1995), ataque de insetos, patógenos e radiação solar excessiva (Goodwin e Jenks, 2005).

No momento em que o déficit hídrico torna-se limitante e induz o fechamento estomático, a taxa de perda de água é determinada diretamente pela transpiração cuticular (Jordan et al., 1984). Transpiração cuticular é um termo utilizado para descrever o fenômeno no quais os estômatos estão fechados ao máximo e a perda de

água ocorre, apenas, através da cutícula (Kerstiens, 1996a), no entanto, alguns autores preferem o uso do termo transpiração epidérmica, pois é difícil saber se todos os estômatos estão realmente fechados (Sheriff, 1984; van Rensburg e Peacock, 1998).

O sorgo é considerado uma das culturas mais tolerantes à seca. Possui uma alta quantidade de cera na superfície cuticular em várias linhagens, cultivares e híbridos de cultivo comercial (Burow et al., 2008). Considerado um dos cereais com maior quantidade de cera, quando comparado ao arroz (O'Toole e Cruz, 1983) e trigo (Araus et al., 1991). No sorgo a presença de uma grande quantidade de cera epicuticular é proposta como um mecanismo potencialmente importante de tolerância à seca (Jordan et al., 1983; 1984).

Diversos trabalhos vêm sendo realizados em busca de conhecimento sobre a importância das ceras epicuticulares em espécies de interesse econômico, alguns destes estudos investigam a influência dos vários estresses bióticos e abióticos sobre as ceras, dentre eles o estresse hídrico.

O'Toole e Cruz (1983) puderam verificar que os cultivares de arroz, originários de ambientes com clima mais seco, exibiram uma quantidade de cera epicuticular muito superior aos cultivares provenientes de ambientes chuvosos e úmidos, levando-se a sugerir que uma maior quantidade de cera estaria relacionada como uma adaptação da planta para sobreviver melhor em condições de seca, reduzindo a permeabilidade cuticular e, assim, perdendo menos água para o ambiente.

Uddin e Marshall (1988) observaram um aumento significativo na quantidade de cera epicuticular em resposta ao estresse hídrico, aplicado em indivíduos de *Triticum aestivum* L.(trigo), atingindo a média de 17,8%. Contudo, em alguns cultivares o aumento no teor de cera foi de 35 a 40%.

Em oito genótipos de cevada (*Hordeum vulgare* L.) Svenningsson (1988) constatou um predomínio da fração epicuticular em relação à fração intracuticular, representando 73-84% do total. Nas plantas submetidas a déficit hídrico não houve alterações no teor de cera intracuticular, no entanto, foram verificadas mudanças significativas na quantidade de cera epicuticular. Alguns cultivares aumentaram bastante sua produção de cera epicuticular, enquanto outros diminuíram consideravelmente.

Vakharia et al. (1993) puderam verificar que em dois genótipos de amendoim (*Arachis hypogaea* L.) não houve uma maior produção de ceras epicuticulares nas folhas em resposta à seca ou depois de aliviar o estresse hídrico. Por outro lado, em

outro cultivar de *A. hypogaea*, Vakharia et al. (1997) observaram que ocorreu um aumento no teor de cera epicuticular em plantas sob estresse hídrico.

Samdur et al. (2003) também puderam observar um maior teor de cera epicuticular em 18 genótipos de amendoim quando submetidos a um tratamento de estresse hídrico, contudo as análises foram apenas quantitativas entre os diferentes genótipos. Yang et al. (1993) verificaram que na composição química de ceras cuticulares foliares de três cultivares de amendoim (*A. hypogaea* L.) houve um predomínio de ácidos graxos, seguidos de *n*-alcanos e álcoois primários.

Bondada et al., (1996) investigando os efeitos do estresse hídrico sobre a cera epicuticular do algodão (*Gossypium hirsutum* L.), constataram um aumento significativo no teor de cera nas folhas e brácteas das plantas sob condições de déficit hídrico. Além disso, os *n*-alcanos representaram a principal classe de compostos presente na cera epicuticular do algodão sob estresse hídrico, com um aumento nos números e níveis de alcanos de cadeia curta e cadeia longa, com um predomínio de alcanos de cadeia longa nos indivíduos sob estresse hídrico.

Kolattukudy (1970), por exemplo, já indicava que os alcanos são mais importantes na redução da transpiração do que outros componentes como os triterpenos.

Em 16 dos 20 cultivares de ervilha (*Pisum sativum* L.) estudados por Sánchez et al. (2001) pôde-se observar que houve um aumento significativo no teor de cera epicuticular quando as plantas foram mantidas sob estresse hídrico. No entanto, ao analisar as taxas de transpiração residual verificaram que o aumento no teor de cera não implicou em uma cutícula mais impermeável à água, sugerindo, então, que outros fatores estariam relacionados com o movimento da água através da cutícula, como composição e arranjo das moléculas da cera, e não apenas a quantidade de cera cuticular.

Para o gergelim (*Sesamo indicum* L.) Kim et al., (2007) constataram que as plantas mantidas sob estresse hídrico tiveram um aumento significativo na quantidade de cera epicuticular quando comparadas com as plantas controle (mantidas irrigadas). O aumento no teor de cera epicuticular total foi de 30%, com um aumento de 34 % de alcanos, 13% de aldeídos e um total de 28% de compostos não identificados. Os alcanos constituíram a classe de compostos mais abundante na cera de *S. indicum* com uma média de 4,56 $\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$, enquanto os aldeídos, a segunda classe de constituintes em abundância, possuíram uma média de 0,80 $\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$. Os alcanos das folhas de *S. indicum* consistiram numa série homóloga de compostos com 25 a 35 átomos de carbono.

2.2 *Arachis hypogaea* L. – amendoim

O amendoim destaca-se como a quarta maior cultura de oleaginosas do mundo (Lourenzani e Lourenzani, 2009), cultivado em diversas regiões sob as mais diversas condições edafoclimáticas. Os principais produtores mundiais dessa cultura são a China, Índia, Estados Unidos, Nigéria e Indonésia, somando aproximadamente, 75% da produção mundial. Os grandes mercados produtores, citados acima, são também os principais países consumidores, correspondendo a 73% do amendoim consumido no mundo. O Japão, União Européia (Alemanha, Holanda, França, Espanha e Reino Unido, entre outros), Rússia, Canadá e México são também grandes consumidores do produto, entretanto, estas regiões não têm tradição na produção dessa oleaginosa, sendo considerados os maiores importadores do produto no mercado internacional, concentrando cerca de 70% da aquisição do amendoim comercializado no mundo. Sendo a China, os Estados Unidos e a Argentina os maiores exportadores devido à qualidade de seus grãos; enquanto a União Européia, Indonésia e Japão são os principais importadores (Agriannual, 2008).

A importância econômica dessa oleaginosa está relacionada ao fato de ser uma importante fonte de proteína e óleo. Esta oleaginosa possui teor de proteína em torno de 20-25% e óleo de 45% (Godoy et al., 1999) e sua grande importância econômica deve-se, principalmente, a grande diversidade de formas de consumo (Santos et al., 1997). Por ser rico em proteínas, óleos, carboidratos, sais minerais e, em algumas vitaminas do complexo B e tocoferóis, constituindo-se em um alimento altamente energético (585 calorias/100g/grão), o consumo do amendoim ou seus subprodutos é uma boa alternativa para a população de baixa renda, que tem acesso limitado a fontes de proteína animal (Freire et al., 2005).

No Nordeste do Brasil, essa oleaginosa vem sendo cultivada em condições de agricultura de sequeiro, estando sujeita aos elevados riscos causados pelas variações climáticas. No entanto, a cultura mostra-se bem adaptada à seca e observa-se que dentro da espécie podem existir genótipos mais aclimatados a condições de baixa disponibilidade hídrica, em razão das características morfológicas e fisiológicas; uma destas características é, por exemplo, de aprofundar suas raízes para captar água a maiores profundidades, quando cultivada em solo apropriado (Araújo & Ferreira, 1997).

Na região Nordeste, o amendoim é uma excelente alternativa agrícola em razão da riqueza nutricional de suas sementes e adaptação às condições semi-áridas (Freitas et al., 2005). Contudo, a produção obtida na região é baixa, cerca de 14 mil toneladas,

correspondendo apenas a 30 % da demanda. O restante é importado, principalmente, de São Paulo e Argentina (Santos et al., 2005).

A cultura possui um ciclo de vida curto e de fácil manejo, apresentando um mercado atraente. Cerca de 70 % da área cultivável no Nordeste encontra-se em condições semi-áridas, o que torna potencialmente interessante a produção dessa oleaginosa, desde que se utilizem cultivares adaptadas a essas condições (Gomes et al., 2007).

Correia et al. (2004) constataram que plantas de amendoim sob déficit hídrico reduzem, significativamente, o número de folhas, além de sofrerem redução de área foliar em mais de 70%; podendo ser considerada uma estratégia para evitar a perda excessiva de água por transpiração, sob condições adversas. Além disso, a imposição do estresse também reduziu a matéria seca das folhas e caule. Ao contrário, do que aconteceu com os órgãos aéreos, foi observado um aumento na alocação de biomassa das raízes, tal resposta pode estar associada a um mecanismo de tolerância ao estresse hídrico, uma vez que sob condições de pouca disponibilidade hídrica, as plantas precisam investir no sistema radicular para aumentar a capacidade de absorção de nutrientes.

Segundo Nogueira et al. (2000) o amendoim responde de forma rápida ao estresse hídrico como forma de prevenção, mas quando cessado o período de estresse, a planta apresenta rápida capacidade de recuperação. Nogueira et al. (2006) também observaram que a transpiração foi bastante influenciada pelo déficit hídrico. A transpiração é uma das características mais importantes nos estudos envolvendo estresse hídrico e o fechamento estomático é um mecanismo destinado a reduzir o déficit hídrico interno, para tolerar períodos de seca.

Além disso, Kottapalli et al., (2009) relatam que o processo fotossintético em plantas de amendoim pode ser, reversivelmente e parcialmente, desativado para reduzir a perda de água quando as plantas são submetidas a déficit hídrico, mas pode ser rapidamente reativado quando as plantas são reirrigadas. Ao contrário, do que ocorre para a maioria das plantas estressadas que levam vários dias para regularizar o processo de abertura estomática após serem reirrigadas, as folhas de amendoim conseguem recuperar a turgescência e reduzir a resistência estomática 24 horas após a reidratação (Pallas et al., 1979; Távora & Melo, 1991).

Espécies de amendoim selvagem têm-se mostrado altamente promissoras como fontes de resistência a diversas pragas que atingem o amendoim e outras culturas, além

de tolerância ao estresse hídrico, constituindo características desejáveis em programas de melhoramento genético (Bertioli et al., 2003; Nautiyal et al., 2008).

Um dos principais objetivos dos programas de melhoramento do amendoim é a identificação de genótipos com alta produtividade, estabilidade de produção e ampla adaptabilidade aos mais variados ambientes (Sudaric et al., 2006). Nesta linha de pesquisa, alguns genótipos de *A. hypogaea* vêm sendo desenvolvidos através de técnicas de melhoramento de sementes. Estes genótipos têm se mostrado resistentes a pragas, bem adaptados a condições de déficit hídrico, além de produtivos e com ciclo de vida curto, em torno de 90 dias.

Desde a década de 80 a Embrapa Algodão tem desenvolvido pesquisas com amendoim e tem disponibilizado ao setor produtivo novas cultivares (Godoy et al., 1999; Santos et al., 2005). Dentre estes genótipos as cultivares BR 1, BRS 151 L-7 e BRS Havana, classificadas como pertencentes ao grupo Valência (*A. hypogaea* subsp. *fastigiata* var. *fastigiata*), possuem hábito ereto ou semi-ereto, eixo central com flores, poucos ramos secundários e às vezes terciários, ciclo curto, vagens com três ou quatro sementes. A BRS 151 L-7 pode apresentar vagens com duas sementes. Uma linhagem avançada do programa de melhoramento do amendoim da Embrapa Algodão, a LiGO-PE06 (conhecida, vulgarmente, como Goiana) pertencente ao grupo Virgínia (*A. hypogaea* subsp. *hypogaea* var. *hypogaea*), apresenta hábito rasteiro e muita ramificação, ciclo longo, ausência de flores no eixo central, vagens com duas sementes, segundo classificação de Godoy et al., (1999). A Tabela 1 descreve as principais características dos genótipos de *A. hypogaea* desenvolvidos pela Embrapa.

Tabela 1. Características fisiológicas e de produtividade dos genótipos de *Arachis hypogaea* desenvolvidos pela Embrapa.

Características	Genótipos			
	BR 1	BRS 151 L-7	BRS Havana	LiGO-PE06
Óleo (%)	45	46	43	-
Nº sementes/vagem	3 a 4	2 a 3	3 a 4	2
Características da semente	Vermelha, arredondada, tamanho médio	Vermelha, Alongada, tamanho grande	Bege, arredonda, tamanho médio	Vermelha, arredondada, tamanho grande
Ciclo	Médio (90 dias)	Curto (87 dias)	Médio (90 dias)	Longo
Origem	Dos genótipos CNPA 95 AM, CNPA 96 AM e Sapé Roxo	Dos genótipos IAC-Tupã e Senegal 55-437	Através de vários ciclos de seleção sobre o acesso CNPA 75 AM	Trata-se de uma linhagem avançada do programa de melhoramento
Fonte	Santos et al., 1999	Santos, 2000	Santos et al., 2006	Santos, 2009*

* Santos, R. C. (2009). Informações cedidas pelo autor.

3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGRIANUAL. 2008. **Anuário da Agricultura Brasileira**. Coordenadores: Sant'Anna, A.; Ferraz, J.V.; Silva, M.L.M. AGRA FNP Pesquisas Ltda. São Paulo, 495p.

Araújo, W.F.; Ferreira, L.G.R. 1997. Efeito do déficit hídrico durante diferentes estádios do amendoim. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.32, n.5, p.481-484.

Araus, J. L.; Febrero, A.; Vendrell, P. 1991. Epidermal conductance in diferent parts of durm wheat grown under Mediterranean conditions: The role of epicuticular waxes and stomata. **Plant, Cell and Environmental**, v.14. p.545-558.

Barnes, J.D.; Cardoso-Vilhena, J. 1996. Interactions between electromagnetic radiation and the plant cuticle. In: **Plant cuticles: an integrated functional approach**. Kerstiens, G. (ed.). Bios Scientific Publishers, Lancaster, p. 157-174.

Bertioli, S. C. L.; Guimarães, P. M.; Fávero, A. P.; Moretzsohn, M. C.; Proite, K.; Bertioli, D. J. 2003. Amendoim selvagem. **Revista Biotecnologia, Ciência e Desenvolvimento**, v.31, p.116-119.

Bondada, B. R.; Oosterhuis, D. M.; Murphy, J. B.; Kim, K. S. 1996. Effect of water stress on the epicuticular wax composition and ultrastructure of cotton (*Gossypium hirsutum* L.) leaf, bract, and boll. **Environmental and Experimental Botany**, v.36, n. 1, p.61-69.

Boote, K. J.; Stansell, J. R.; Schubert, A. M.; Stone, J. F. 1982. Irrigation, water use and water relation . In: Patee, H. E.; Young, C. T. (Eds.) **Peanut Science and Technology**, Texas: American Press, p.164-205.

Burow, G. B.; Franks, C. D.; Xin, Z. 2008. Genetic and Physiological Analysis of an Irradiated Bloomless Mutant (Epicuticular Wax Mutant) of Sorghum. **Crop science**. v. 48. p.41-48.

Clarke, J. M.; Romagosa, I.; Jana, S.; Srivastava, J. P.; Mc Caig, T. N. 1989. Relationship of excised-leaf water loss rate and yield of durum wheat in diverse environments. **Canadian Journal of Plant Science**, v.69, p.1075-1081.

Correia, G. K. & Nogueira, R. J. M. C. 2004. Avaliação do crescimento do amendoim (*Arachis hypogaea* L.) submetido a déficit hídrico. **Revista de Biologia e Ciências da Terra**, v.2, n.2, p.15-22.

Eigenbrode, S.D. 1996. Plant surface and insect behaviour. In: **Plant cuticles: an integrated functional approach**. Kerstiens, G. (ed.). Bios Scientific Publishers, Lancaster, p. 201-221.

Freire, R. M. M.; Narain, N.; Santos, R. C. 2005. Aspectos nutricionais de amendoim e seus derivados. In: Santos, R. C. (Ed.). **O Agronegócio do amendoim no Brasil**. Campina Grande: Embrapa Algodão, p.389-420.

Freitas, S.M.; Martins, S.S.; Nomi, A.K.; Campos, A.F. 2005. Evolução do mercado brasileiro de amendoim. In: Santos, R.C. (Ed.). **O agronegócio do amendoim no**

Brasil. Campina Grande: Embrapa Algodão; Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, p.15-44.

Garrec, J. P.; Henry, C.; Le Maout, L. 1995. Cires epi-et intracuticulaires: etude de leur separation de leurs caracteristiques chimiques et de leurs roles respectifs dans la permeabilité cuticulaire. **Environmental and Experimental Botany**, v.35, p.399-409.

Godoy, I. J.; Moraes, S. A.; Zanotto, M. D.; Santos, R. C. 1999. Melhoramento do amendoim. In: Borém, A. (ed.). **Melhoramento de espécies cultivadas**, Viçosa, UFV, p.51-54.

Gomes, L. R.; Santos, R. C.; Anunciação-Filho, C. J.; Melo-Filho, P. A. 2007. Adaptabilidade e estabilidade fenotípica de genótipos de amendoim de porte ereto. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 42, n. 7, p. 985-989.

Goodwin, S. M.; Jenks, M. A. 2005. Plant cuticle function as a barrier to water loss. In: Jenks MA, Hasegawa PM, editors. **Plant abiotic stress**. Oxford: Blackwell.

Heredia, A. et al.1998. La cutícula vegetal: estructura y funciones. **Ecologia**. v. 12. p.293-305.

Holloway, P. J. 1982. Structure and histochemistry of plant cuticular membranes: an overview In: Cutler, D. F. Alvin, K. L. Price, C. E. (eds), **The plant cuticle**, Academic Press, London. p.1-32.

Jamaux, I.; Steinmetz, A.; Belhassen, E. 1997. Looking for molecular and physiological markers of osmotic adjustment in sunflower. **New Phytologist**, v.137, p.117-127.

Jeffree, C. E. 2006. The fine structure of the plant cuticle. In: Riederer, M.; Müller, C. (eds.). **Biology of the plant cuticle**. Oxford, UK: Blackwell, p.11-144.

Jordan, W. R.; Monk, R. L.; Miller, F. R.; Rosenow, D. T.; Clark, L. E.; Shose, P. J. 1983. Environmental physiology of sorghum. I. Environmental and genetic control of epicuticular wax load. **Crop Science**, v.23, p.552-558.

SOUZA, R. J. C. Ceras epicuticulares de genótipos de *Arachis hypogaea* L.: comp... 16

Jordan, W. R.; Shouse, P. J.; Blum, A.; Miller, F. R. & Monk, R. L. 1984. Environmental physiology of sorghum. II Epicuticular wax load and cuticular transpiration. **Crop Science**, v.4, p.1168-1173.

Kerstiens, G. 1996a. Cuticular water permeability and its physiological significance. **Journal of Experimental Botany**, v.47, p.1813-1832.

Kerstiens, G. 1996b. Diffusion of water vapour and gases across cuticles and through stomatal pores presumed closed. In: **Plant cuticles: an integrated functional approach**. Kerstiens, G. (ed.). Bios Scientific Publishers, Lancaster, p.121-134.

Kim, K. S.; Park, S. H.; Jenks, M. A. 2007. Changes in leaf cuticular waxes of sesame (*Sesamo indicum* L.) plants exposed to water deficit. **Journal of Plant Physiology**, v.164, p.1134-1143.

Kolattukudy, P. E. 1970. Plant Waxes. **Lipids**. v.5, p.259-273.

Kolattukudy, P. E. 1980. Cutin suberin and waxes. In: Stumpf, P.K. (ed). **The biochemistry of plants**. v.4, p.571-654.

Kottapalli, K. R.; Rakwal, R.; Shibato, R.; Burow, G.; Tissues, D.; Burke, J. Puppala, N.; Burow, M.; Payton, P. 2009. Physiology and proteomics of the water-deficit stress response in three contrasting peanut genotypes. **Plant, Cell and Environment**, v.32, p.380-407.

Lourenzani, W.L.; Lourenzani, A.B.E.S. 2009. Perspectivas do agronegócio brasileiro de amendoim. **Informações Econômicas**. v.39, n.2, p.55-68.

Mendgen, K. 1996. Fungal attachment and penetration. In: **Plant cuticles: an integrated functional approach**. Kerstiens, G. (ed.). Bios Scientific Publishers, Lancaster, p. 175-188.

Nautiyal, P. C.; Raigopal, K.; Zala, P.V.; Pujari, D. S.; Basu, M.; Dhadhal, B. A.; Nandre, B. M. 2008. Evaluation of wild *Arachis* species for abiotic stress tolerance: I. Thermal stress and leaf water relations. **Euphytica**, v.159, p.43-57.

Nogueira, R. J. M. C.; Melo Filho, A.; Carvalho, R.; Albuquerque, M. B.; Santos, R. C. 2006. Comportamento estomático e potencial da água da folha em amendoim cv.BRS 151 L-7 submetido a estresse hídrico. **Revista Brasileira de Oleaginosas e Fibrosas**, v.10, n.1/2, p.985-991.

Nogueira, R. J. M. C. & Santos, R. C. 2000. Alterações fisiológicas no amendoim submetido ao estresse hídrico. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.4, n.1, p.41-45.

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

O'Toole, J. C.; Cruz, R.T. 1983. Genotypic variation in epicuticular wax of rice. **Crop Science**, v.23, p.392-394.

Pallas, J.E.; Stansell, J.R; Koske, T.J. 1979. Effects of drought on florunner peanuts. **Agronomy Journal**, v.71, p.853-858.

Riederer, M.; Schreiber, L. 1995. Waxes – the transport barriers of plant cuticles. In: Hamilton, R. J. (ed.) **Waxes: chemistry, molecular biology and functions**. West Ferry, Dundee, Scotland. The Oily Press, p.131-156.

Samdur, M. Y.; Manivel, P.; Jain, V. K.; Chikani, B. M.; Gor, H. K.; Desai, S.; Misra, J. B. 2003. Genotypic differences and water-deficit induced enhancement in epicuticular wax load in peanut. **Crop Science**. v. 43, p.1294-1299.

Sánchez, F. J.; Manzanares, M.; Andrés, E. F.; Tenório, J. L.; Ayerbe, L. 2001. Residual transpiration rate, epicuticular wax load and leaf colour of pea plants in drought

conditions. Influence on harvest index and canopy temperature. **European Journal of Agronomy**, v.15, p. 57-70.

Santos, R. C. 2000. Novas cultivares – BRS 151 L-7: nova cultivar de amendoim para as condições do nordeste brasileiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.35, n.3, p.665-670.

Santos, R. C.; Farias, F. J. C.; Rêgo, G. M.; Silva, A. P. G.; Ferreira-Filho, J. R.; Vasconcelos, O. L.; Coutinho, J. L. B. 1999. Estabilidade fenotípica de cultivares de amendoim avaliadas na região nordeste do Brasil. **Ciência e Agrotecnologia**, v.23, n.4, p.808-812.

Santos, R. C.; Freire, R. M. M.; Suassuna, T. M. F.; Rego, G. M. 2006. Novas cultivares – BRS Havana: nova cultivar de amendoim de pele clara. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.41, n.8, p.1337-1339.

Santos, R. C.; Moreira, J. A. N.; Cabral, E. L. 1997. Estudo da peroxidase na fenologia do amendoim submetido a estresse hídrico. **Revista Brasileira de Oleaginosas e Fibrosas**, v.1, n.1, p.117-124.

Santos, R.C. dos; Godoy, I.J.; Fávero, A.P. 2005. Melhoramento do amendoim. In: Santos, R.C. dos (Ed.). **O agronegócio do amendoim no Brasil**. Campina Grande: Embrapa Algodão. p.123-192.

Scherbatskoy, T.; Tyree, M.T. 1990. Kinetics of exchange of ions between artificial precipitation and maple leaf surfaces. **New Phytology**, v.114, p.703-712.

Shepherd, T.; Robertson, G. W.; Griffiths, D. W.; Birch, A. N. E.; Duncan, G. 1995. Effects of environment on the composition of epicuticular wax from kale and swede. **Phytochemistry**, v.40, p.407-417.

Schönherr, J. 1982. Resistance of plant surfaces to water loss: transport properties of cutin, suberin and associated lipids. In: **Encyclopedia of plant physiology**. Lange, O.

SOUZA, R. J. C. Ceras epicuticulares de genótipos de *Arachis hypogaea* L.: comp... 19

L.; Nobel, P. S.; Osmond, C. B.; Ziegler, H. (eds.). Springer-Verlag, Berlin, v.12b, p.153-179.

Sheriff, D. W. 1984. Epidermal transpiration and stomatal responses to humidity-some hypotheses explored. **Plant, Cell and Environmental**, v7. p. 669-677.

Sudaric, A.; Simic, D.; Vratarić, M. 2006. Characterization of genotype by environment interactions in soybean breeding programmes of Southeast Europe. **Plant Breeding**, v.125, p.191-194.

Svenningsson, M. 1988. Epi- and intracuticular lipids and cuticular transpiration rates of primary leaves of eight barley (*Hordeum vulgare*) cultivars. **Physiologia Plantarum**, v.73, p.512-517.

Távora, F.J.A.F.; Melo, F.I. 1991. Respostas de cultivares de amendoim a ciclos de deficiência hídrica: Crescimento vegetativo, reprodutivo e relações hídricas. **Ciência Agronômica**, v.22, n.1/2, p.47-60.

Uddin, M. N.; Marshall, D. R. 1988. Variation in epicuticular wax content in wheat. **Euphytica**, v.38, p.3-9.

Vakharia, D. N.; Davaria, R. L.; Parmeswaran, M. 1993. Changes in cuticular wax content in leaves of two groundnut cultivars during and after relief of drought. **Plant Physiology and Biochemistry**, v.20, p.96-98.

Vakharia, D. N.; Kandoliya, U.; Patel, N.; Parmeswaran, M. 1997. Effect of drought on lipid metabolites: Relationship with pod yield in groundnut. **Physiology and Biochemistry**, v.24, p.102-105.

Van Rensburg, L.; Peacock, J. 1998. Determination of epidermal transpiration in four cultivars of *Nicotiana tabacum* L. using epidermal strips in a quasi-steady state system. **Biotechnic and Histochemistry**, v. 73, p.97-106.

Yang, G.; Espelie, K. E.; Todd, J. W.; Culbreath, A. K.; Pittman, R. N.; Demski, J. W. 1993. Cuticular lipids from wild and cultivated peanuts and the relative resistance of these peanut species to fall armyworm and thrips. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.41, p. 814-818.

MANUSCRITO 1
À ser submetido a revista Crop Science

**CERAS EPICUTICULARES FOLIARES DE GENÓTIPOS DE
ARACHIS HYPOGAE L. TOLERANTES AO ESTRESSE HÍDRICO**

Renata Janaína Carvalho de Souza & Antonio Fernando Morais de Oliveira

Universidade Federal de Pernambuco, Departamento de Botânica. Av. Prof. Moraes Rego s/n, CEP.: 50670-901. Recife, PE, Brasil. E-mail: afmoliveira@gmail.com

RESUMO – A superfície aérea dos órgãos vegetais é recoberta pela cutícula, uma camada hidrofóbica que desempenha um papel importante na restrição a perda de água. Um de seus principais componentes, as ceras epicuticulares, têm sido muito investigadas em espécies de interesse econômico. O objetivo deste trabalho foi analisar a composição química da cera epicuticular foliar em quatro genótipos de *Arachis hypogaea* L. (BR1, BRS 151 L-7, BRS Havana e LiGO-PE06) desenvolvidos para tolerar o déficit hídrico e de duas espécies selvagens (*A. monticola* e *A. stenosperma*). A cera epicuticular foi obtida de folíolos provenientes de seis indivíduos adultos e analisada por cromatografia gasosa. O teor de cera variou de 3,9 a 9,0 $\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$ (nos genótipos) e de 6,0 a 7,4 $\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$ para os tipos selvagens, respectivamente. Três classes lipídicas foram identificadas tanto nos genótipos como nas espécies selvagens: *n*-alcanos, álcoois alifáticos e ácidos graxos. A distribuição qualitativa e quantitativa dos homólogos em cada genótipo e espécie selvagem foi discutida em relação a tolerância ao estresse hídrico.

Termos para indexação: *Arachis hypogaea* L., amendoim, cera epicuticular foliar.

INTRODUÇÃO

A cutícula é uma fina camada que recobre a superfície aérea dos órgãos vegetais, constituída por uma matriz biopolimérica de cutina e um componente lipídico de baixa polaridade, as ceras cuticulares (Baker, 1982). As ceras epicuticulares, são encontradas como depósitos sobre a superfície da matriz cuticular (Garrec et al., 1995) e consistem numa interface natural entre a planta e o meio.

A posição assumida pelas ceras forma uma barreira contra a perda excessiva de água durante transpiração cuticular, sendo esta a função primária desses lipídios (Baur, 1998). As ceras cuticulares são constituídas, principalmente, por substâncias alifáticas como os ácidos graxos, aldeídos, alcoóis alifáticos, cetonas e alcanos, em geral com cadeias longas (C₂₀ ao C₃₅) e por compostos cíclicos como os triterpenos (Baker, 1982; Jetter et al., 2006; Wollenweber, 1982).

Teor e composição de cera epicuticular têm sido associados com tolerância a seca, como observado em cultivares de aveia (Bengston et al., 1978), amendoim (Samdur et al., 2003) e trigo (Johnson et al., 1983), sendo importante o conhecimento desses lipídios em espécies de interesse econômico.

O amendoim (*Arachis hypogaea* L.) é uma das principais oleaginosas cultivadas no mundo devido ao seu teor de proteínas e de ácidos graxos (Carley & Fletcher, 1995). Os trabalhos sobre ceras cuticulares em *Arachis hypogaea*, geralmente, estão relacionados com sua tolerância a estresses bióticos e abióticos, como déficit hídrico (Vakharia et al., 1993; Vakharia et al., 1997; Samdur et al., 2003) e resistência a ataque de insetos, devido a sua importância agrícola (Yang et al., 1993).

Neste estudo foi analisada a composição química da cera epicuticular foliar de quatro genótipos de *A. hypogaea* desenvolvidos pela Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa) para tolerar o déficit hídrico, além de duas espécies selvagens.

MATERIAIS E MÉTODOS

Obtenção de sementes e cultivo

Sementes de quatro genótipos de *A. hypogaea*: BR 1, BRS 151 L-7, BRS Havana e LiGO-PE06 conhecido como Goiana e de duas espécies selvagens (*A. monticola* Krapov. & Rigoni e *A. stenosperma* Krapov. & Gregory) foram cedidas pela Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia (Brasília, Brasil) e cultivados em casa de

vegetação sob irrigação diária obedecendo a capacidade de campo do solo. A temperatura média e a umidade relativa do ar foram de 34,6 °C e 49,8%, respectivamente.

Extração e análise da cera epicuticular

Sessenta e três dias após a semeadura 30 folíolos foram retirados de seis indivíduos de cada genótipo de amendoim e de cada espécie selvagem. Os folíolos foram desidratados e a cera epicuticular foi extraída através de duas imersões em diclorometano sob agitação constante durante 30 seg.

O teor de cera epicuticular foi calculado pela razão entre a quantidade de cera e a área dos folíolos multiplicada por dois. Os valores foram expressos em $\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$. A área foliar foi determinada utilizando um medidor de área foliar portátil (LICOR LI-3000, Inc. Lincoln, EUA).

As ceras foram fracionadas por cromatografia em camada delgada, utilizando como adsorvente gel de sílica G 60 impregnada com fluoresceína sódica 0,02% e clorofórmio como fase móvel. Os *spots* foram visualizados sob luz UV. As classes de lipídios representativas foram isoladas e analisadas através de cromatografia em fase gasosa (Shimadzu 17A, Tóquio, Japão) tendo hélio como gás de arraste com fluxo constante de 1 cm^3/min . Foi utilizada uma coluna capilar de sílica fundida DB-5 (5%-fenil-metilpolisiloxano) e um detector de ionização em chama a 280 °C. A temperatura do injetor foi programada a 250 °C e a da coluna inicialmente a 150 °C aumento 10 °C/min até 280 °C, permanecendo em condições isotérmicas por 15 min. Foi injetado 1 μL de cada amostra e a identificação dos compostos foi feita por comparação com os tempos e retenção de amostras autênticas (padrões Supeloco™ e Sigma®). A quantificação dos constituintes foi realizada através do somatório das áreas dos picos obtidos por CG conhecidos de cada classe.

Análise estatística

Os dados referentes ao teor de cera epicuticular e das principais classes lipídicas foram sujeitos a análise de variância (ANOVA) e ao teste de Tukey a 5% utilizando o programa Statistica Ver. 8.0 (StatSoft, Inc., Tulsa OK, USA).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O teor de cera epicuticular dos quatro genótipos de *A. hypogaea* (BR1, BRS 151 L-7, Havana e Goiana) e das duas espécies selvagens (*A. monticola* e *A. stenosperma*) está expresso na Figura 1.

De acordo com os resultados obtidos o teor de cera variou de 3,9 $\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$ no genótipo Goiana a 9,0 $\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$ em BRS 151 L-7, e diferenças significativas só foram encontradas para estes genótipos ($p < 0,05$). Para as espécies selvagens (*A. monticola* e *A. stenosperma*) o teor médio de cera foi de 6,0 e 7,4 $\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$, respectivamente, e não diferiram estatisticamente entre si e em relação aos genótipos analisados (Figura 1).

Os genótipos BR1, BRS 151 L-7, Havana e Goiana foram desenvolvidos com o propósito de tolerar o estresse hídrico, e, segundo Nogueira et al., (2000), o primeiro o mais tolerante que BRS 151 L-7 e Havana. Para o genótipo Goiana, aquele que apresentou o menor teor de cera, não há informações disponíveis sobre sua tolerância a restrição hídrica. O teor de cera para este genótipo também foi inferior a outras 12 genótipos de amendoim cujos teores variaram de 9,1 a 17,4 $\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$. (Samdur et al., 2003). A ausência de diferenças significativas entre a maioria dos genótipos e espécies selvagens estudadas não explica a importância da cera epicuticular na tolerância ao estresse hídrico para os genótipos analisados.

De acordo com alguns autores, cutículas mais espessas podem diminuir a transpiração cuticular representando vantagens para as espécies a restrição hídrica (Tipon e White, 1995; Bondada et al., 1996; Kottapalli et al., 2009). Entretanto para os genótipos analisados, o teor de cera pode não explicar a adaptação ao estresse hídrico, nem mesmo para o genótipo BR1, o mais eficiente segundo Nogueira et al. (2000). Por outro lado, de acordo com Oliveira et al. (2003), nem sempre o teor de ceras epicuticulares é indício de uma melhor eficiência contra a perda de água.

Sánchez et al., (2001) verificaram em 20 genótipos de *Pisum sativum* L., ervilha, que os mais ricos em ceras foram os mais produtivos, no entanto, um maior teor de cera não implicou, necessariamente, na redução de transpiração residual. Neste, e em outros estudos, a composição e ultra-estrutura da cera pode até ser o fator mais importante na redução das taxas de transpiração cuticular (Grncarevic e Radler, 1967; Oliveira et al., 2003).

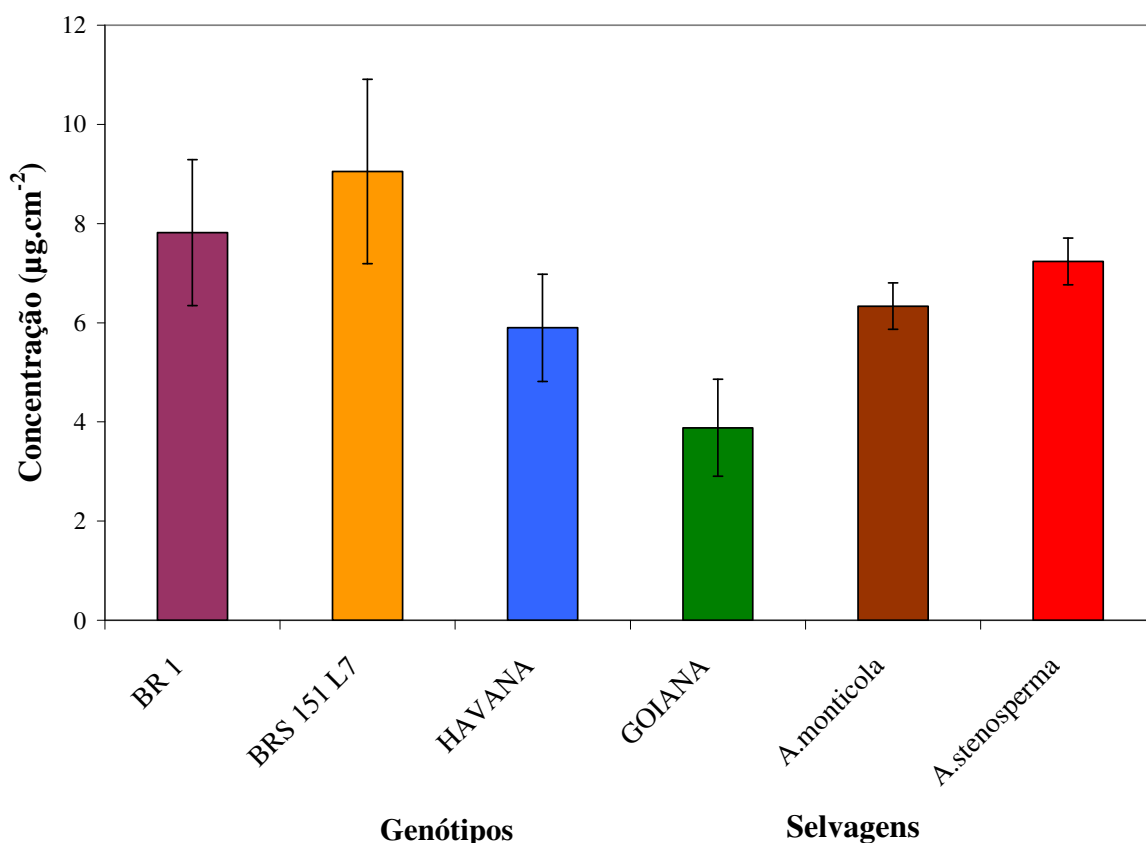


Figura 1. Teor de cera epicuticular foliar médio em quatro genótipos *Arachis hypogaea* e duas espécies selvagens de *Arachis*. Barras representam erro padrão (n = 6 indivíduos). * denota diferença significativa (teste de Tukey, p < 0,05).

As ceras epicuticulares foliares dos quatro genótipos de *Arachis hypogaea* e das espécies selvagens *A. monticola* e *A. stenosperma*, quando analisadas por cromatografia em camada delgada (CCD), apresentaram uma composição química semelhante. Qualitativamente as mesmas classes de compostos foram visualizadas nestes indivíduos (Figura 2), posteriormente foram confirmadas pela cromatografia em fase gasosa (CG).

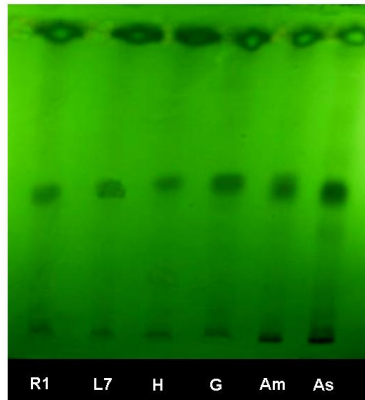


Figura 2. Cromatograma (CCD) dos quatro genótipos de *Arachis hypogaea* e duas espécies silvestres de *Arachis*. R1 = BR1, L7 = BRS 151 L7, H = Havana, G = Goiana, Am = *A. monticola* e As = *A. stenosperma*.

Os genótipos BR1, BRS 151 L-7, Havana e Goiana apresentaram três classes lipídicas principais: *n*-alcanos, álcoois alifáticos e ácidos graxos, estes últimos como constituintes majoritários (Figura 3). As classes lipídicas representaram em média, respectivamente, 8,4; 2,8 e 41,7% da cera bruta nos quatro genótipos. Para as espécies selvagens *A. monticola* e *A. stenosperma*, a distribuição desses constituintes foi em média 16,5; 20,2 e 14,5%, respectivamente.

O teor de ácidos graxos no genótipo BRS 151 L7 é majoritariamente superior aos demais e, também, em relação às espécies selvagens. Nestas, há uma distribuição quantitativa semelhante entre os lipídios, com predomínio de *n*-alcanos (*A. stenosperma*) e álcoois alifáticos (*A. monticola*). O genótipo BR1 é o que mais se assemelha em composição com as espécies selvagens (Figura 3).

Yang et al. (1993) ao analisarem a composição química das ceras de cinco espécies selvagens de *Arachis* também encontraram uma composição lipídica semelhante em relação aos genótipos estudados, identificando ácidos graxos como componentes predominantes. Entretanto, vale ressaltar, que para as duas espécies selvagens deste estudo, *n*-alcanos e álcoois alifáticos foram os constituintes principais.

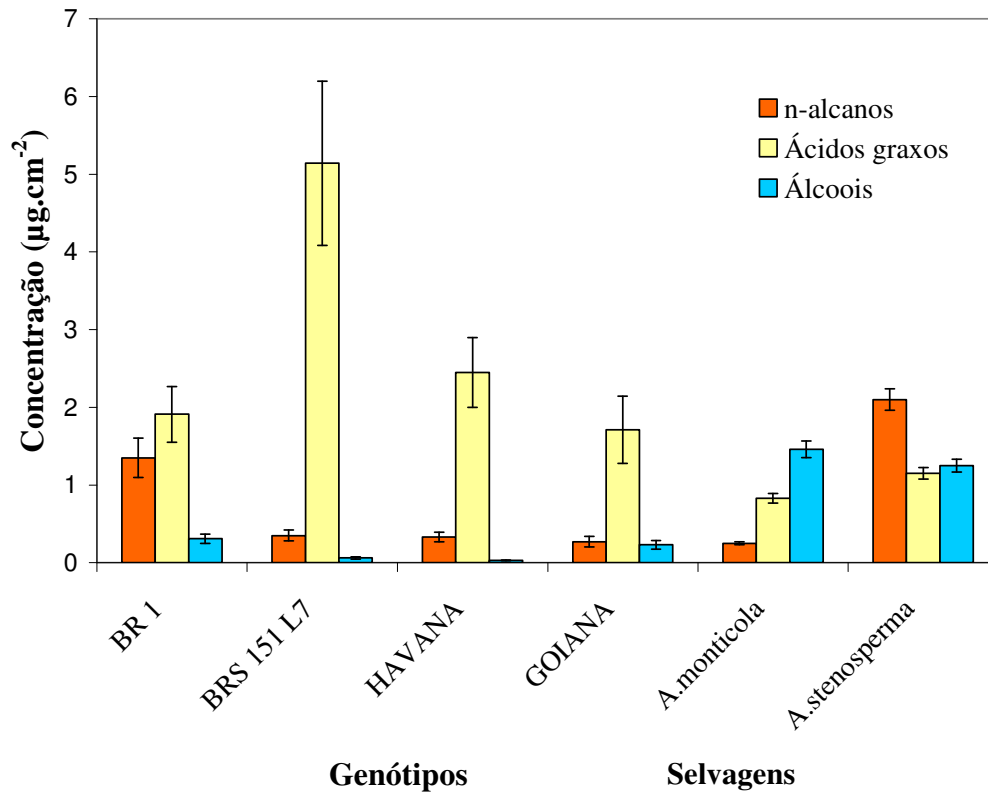


Figura 3. Valores médios das concentrações das classes lipídicas identificadas na cera epicuticular foliar de quatro genótipos de *Arachis hypogaea* e duas espécies selvagens de *Arachis*. Barras representam erro padrão (n = 6 indivíduos).

A distribuição dos ácidos graxos foi marcada, principalmente, pela ocorrência dos ácidos palmítico (C16:0), esteárico (C16:0), oléico (C18:1) e linoléico (C18:2). Os ácidos palmítico e esteárico foram os principais representantes nos genótipos BR1 e BRS 151 L-7. Para os demais genótipos e espécies selvagens esses ácidos ocorreram em semelhante proporção (Figura 4). Esse padrão de distribuição de ácidos graxos também foi verificado para outras espécies selvagens de *Arachis* (Yang et al., 1993), mas neste estudo o ácido esteárico parece como principal constituinte.

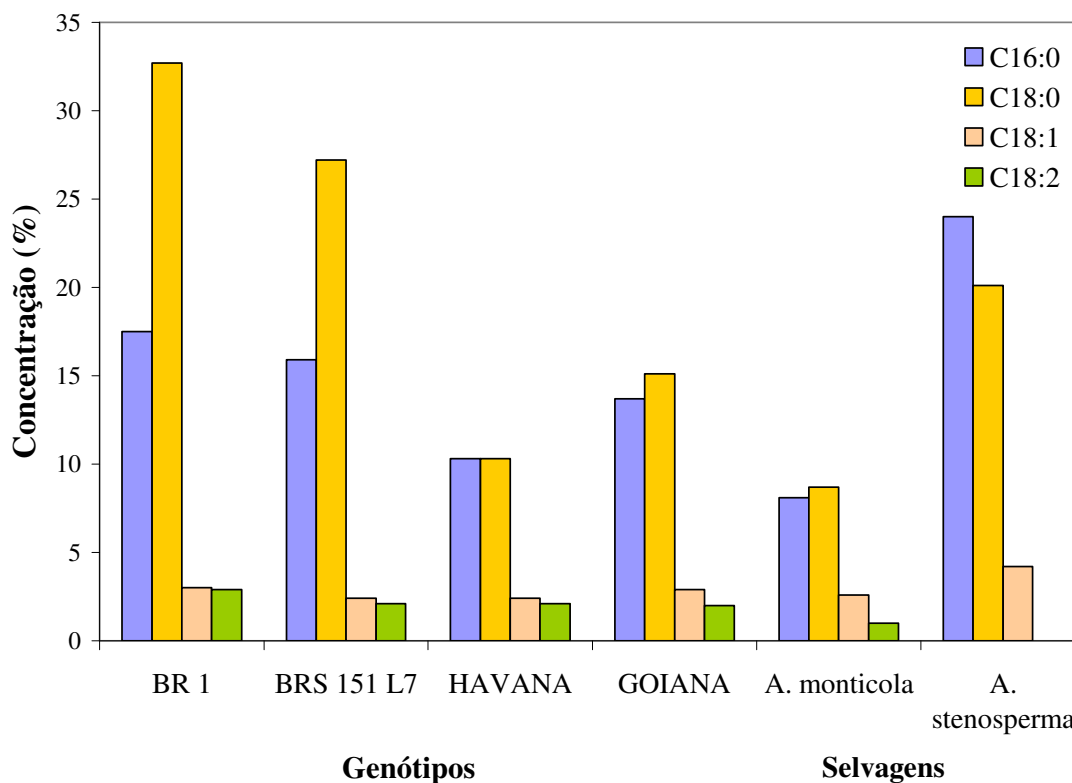


Figura 4. Distribuição (%) dos principais ácidos graxos presentes na cera epicuticular foliar de quatro genótipos de *Arachis hypogaea* e duas espécies selvagens de *Arachis*.

O padrão de distribuição de *n*-alcanos foi marcado, em geral, pela presença de constituintes com comprimento de cadeia carbônica entre C21 (uncosano) e C33 (tritriacontano). Os genótipos BR1, Havana e Goiana também apresentaram *n*-alcanos com 35 átomos de carbono (Tabela 1). Os *n*-alcanos em maior concentração nos quatro genótipos de *A. hypogaea* foram os homólogos C31(hentriacontano) e C33. Para as espécies selvagens não houve constituintes majoritários para esta classe. A composição de *n*-alcanos encontrada neste tudo foi semelhante à verificada por Yang et al., (1993) para uma cultivar de *A. hypogaea* e cinco espécies silvestres de *Arachis*.

Tabela 1. Percentual de homólogos de *n*-alcanos das ceras epicuticulares foliares de *Arachis hypogaea* e duas espécies de *Arachis* selvagens.

Homólogos de <i>n</i> -alcanos	<i>Arachis hypogaea</i>				<i>Arachis</i> selvagem	
	BR 1	BRS 151 L-7	Havana	Goiana	<i>A. monticola</i>	<i>A. stenosperma</i>
<i>n</i> - 21	1,29	0,92	1,82	1,87	0,38	0,93
<i>n</i> - 22	3,2	1,96	3,4	3,52	0,42	2,8
<i>n</i> - 23	1,73	2,42	3,6	4,24	0,4	2,37
<i>n</i> - 24	4,58	9,41	6,74	7,65	2,57	5,88
<i>n</i> - 25	2,7	2,81	7,2	6,22	0,56	5,07
<i>n</i> - 26	2,19	4,57	5,43	7,54	0,72	7,01
<i>n</i> - 27	1,65	6,18	6,54	7,88	0,68	4,18
<i>n</i> - 28	1,31	2,89	3,52	4,82	0,59	5
<i>n</i> - 29	2,85	4,99	8,59	6,35	1,03	5,98
<i>n</i> - 30	1,84	2,83	4,36	6,26	0,66	2,8
<i>n</i> - 31	8,83	13,45	12,75	7,75	1,68	11,3
<i>n</i> - 32	1,21	1,55	1,56	1,94	0,43	-
<i>n</i> - 33	4,05	34,57	14,26	14,29	2,9	14,8
<i>n</i> - 35	1,33	-	3,7	3,3	-	-

(-) não detectado

CONCLUSÃO

O melhoramento genético que resultou no surgimento dos genótipos BR1, BRS 151 L7, Havana e Goiana não alterou fortemente o perfil químico das ceras epicuticulares de *A. hypogaea*. A tolerância ao déficit hídrico, portanto, não é consequência imediata de modificações cuticulares. Outros processos fisiológicos podem responder mais diretamente a adaptação à restrição hídrica.

REFERÊNCIAS

- Baker, E. A. 1982. Chemistry and morphology of plant epicuticular waxes. In: Cutler, D. F., Alvin, K. L., Price, C. E. (eds), The plant cuticle. Academic Press, London. p. 139-165.
- Baur, P. 1998. Mechanistic aspects of foliar penetration of agrochemicals and the effect of adjuvants. Recent Research Developments in Agricultural and Food Chemistry. 2: 809-837.

Bengston, C. S., Larsson, C., Liljenberg. 1978. Effect of water stress on cuticular transpiration rate and amount and composition of epicuticular wax in seedlings of six oat varieties. *Physiol. Plant.* 44: 319-324.

Bondada, B.R., Oosterhuis, D.M., Murphy, J.B., Kims, K.S. 1996. Effect of water stress on the epicuticular wax composition and ultrastructure of cotton (*Gossypium hirsutum* L.) leaf, bract and boll. *Environ. Exp. Bot.* 36: 61-69.

Carley, D. H., Fletcher, S.M. 1995. An overview of world peanut markets. In: Pattee HE, Stalker HT, editors. *Advances in Peanut Science*. American Peanut Research and Education Society, Inc., Stillwater, USA, p. 554–577.

Garrec, J. P., Henry, C., Le Maout, L. 1995. Cires epi-et intracuticulaires: etude de leur separation de leurs caracteristiques chimiques et de leurs roles respectifs dans la permeabilité cuticulaire. *Environ. Exp. Bot.* 35:399-409.

Grcarevic, M., Radler, F. 1967. The effect of wax components on cuticular transpiration - model experiments. *Planta.* 75: 23-27.

Jetter, R., Kunst, L., Samuels, A. L. 2006. Composition of plant waxes. In: Riederer, M., Müller, C.(Eds). *Biology of the plant cuticle*. p.182-215.

Johnson, D. A., Richards, R. A., Turner, N. C. 1983. Cuticular conductance, water use efficiency and drought tolerance of durum wheat isolines of differing glaucousness. *Crop Sci.* 23: 318-325.

Kottapalli, K. R., Rakwal, R., Shibato, R., Burow, G., Tissues, D., Burke, J. Puppala, N., Burow, M., Payton, P. 2009. Physiology and proteomics of the water-deficit stress response in three contrasting peanut genotypes. *Plant, Cell and Environment.* 32: 380–407.

Nogueira, R. J. M. C. & Santos, R. C. 2000. Alterações fisiológicas no amendoim submetido ao estresse hídrico. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental.* 4(1): 41-45.

Oliveira, A. F. M., Meirelles, S.T., Salatino, A. 2003. Epicuticular waxes from caatinga and cerrado species and their efficiency against water loss. *An. Acad. Bras. Ci.* 75: 431-439.

Samdur, M. Y., Manivel, P., Jain, V. K., Chikani, B. M., Gor, H. K., Desai, S., Misra, J. B. 2003. Genotypic differences and water-deficit induced enhancement in epicuticular wax load in peanut. *Crop Science.* 43 :1294-1299.

Sánchez, F. J., Manzanares, M., Andrés, E. F., Tenório, J. L., Ayerbe, L. 2001. Residual transpiration rate, epicuticular wax load and leaf colour of pea plants in drought conditions. Influence on harvest index and canopy temperature. *European Journal of Agronomy.* 15: 57-70.

Tipton, J.L., White, M. 1995. Differences in leaf cuticle structure and efficacy among Eastern redbud and Mexican redbud phenotypes. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 120: 59-64.

Vakharia, D. N., Davaria, R. L., Parmeswaran, M. 1993. Changes in cuticular wax content in leaves of two groundnut cultivars during and after relief of drought. *Plant Physiol. Biochem.* 20:96-98.

Vakharia, D. N., Kandoliya, U., Patel, N., Parmeswaran, M. 1997. Effect of drought on lipid metabolites: Relationship with pod yield in groundnut. *Plant Physiol. Biochem.* 24: 102-105.

Wollenweber, E. 1982. Flavonoid aglycones as constituents of epicuticular layers of ferns. In: Cutler, D. F., Alvin, K. L., Price, C. E. (eds) *The plant cuticle.* Academic Press, London. p.215-224.

Yang, G.; Espelie, K. E.; Todd, J. W.; Culbreath, A. K.; Pittman, R. N.; Demski, J. W. 1993. Cuticular lipids from wild and cultivated peanuts and the relative resistance of these peanut species to fall armyworm and thrips. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* 41: 814-818.

MANUSCRITO 2

À ser submetido a revista *Journal of Experimental Botany*

**EFEITO DO DÉFICIT HÍDRICO NA COMPOSIÇÃO DE CERAS
EPICUTICULARES DE GENÓTIPOS DE *ARACHIS HYPOGAEA* L.**

Renata Janaína Carvalho de Souza & Antonio Fernando Morais de Oliveira

Universidade Federal de Pernambuco, Departamento de Botânica. Av. Prof. Moraes Rego s/n, CEP.: 50670-901. Recife, PE, Brasil. E-mail: afmoliveira@gmail.com

RESUMO – Um dos principais componentes da cutícula, as ceras epicuticulares, têm sido muito investigadas em espécies de interesse econômico. O objetivo deste trabalho foi analisar o efeito do estresse hídrico na composição química da cera epicuticular foliar em quatro genótipos de *Arachis hypogaea* L. (BR1, BRS 151 L-7, BRS Havana e LiGO-PE06) e de duas espécies selvagens (*A. monticola* e *A. stenosperma*). A cera epicuticular obtida de folíolos provenientes de seis indivíduos adultos cultivados em condições normais de suprimento hídrico e sob estresse foi analisada por cromatografia gasosa. Não foram observadas diferenças significativas entre os teores de cera para os genótipos e/ou espécies e o tratamento adotado. As respostas das plantas ao estresse hídrico são dependentes do genótipo. Ácidos graxos e *n*-alcanos se mostraram sensíveis a restrição hídrica. A distribuição qualitativa e quantitativa dos homólogos cuticulares em cada genótipo e espécie selvagem em diferentes regimes hídricos é discutida.

Temas para index: *Arachis hypogaea* L., amendoim, ácidos graxos, *n*-alcanos.

INTRODUÇÃO

A cutícula constitui uma das características adaptativas que garantiu a passagem das plantas do ambiente aquático para o terrestre, permitindo assim o controle da perda excessiva de água (Kolattukudy, 1980). A cutícula funciona como uma barreira entre a planta e o meio, sendo atribuída a ela uma série de funções como participar das trocas gasosas (Kerstiens, 1996), reduzir a lixiviação foliar, evitando a perda de nutrientes e íons (Scherbatskoy & Tyree, 1990), servir como um anteparo à radiação (Barnes & Cardos-Vilhena, 1996), conferir resistência ao ataque de insetos (Eigenbrode, 1996) e microrganismos patogênicos (Mendgen, 1996).

A cera epicuticular apresenta-se como uma camada fina e semi-impermeável, e ocorre, principalmente, nas folhas e frutos (Hemmers & Gulz, 1986). Quimicamente corresponde a uma mistura complexa de constituintes alifáticos como os *n*-alcanos, ácidos graxos, álcoois, cetonas, aldeídos e ésteres, e substâncias de natureza cíclica como os triterpenóides e flavonóides (Shepherd *et al.*, 1995).

O amendoim (*Arachis hypogaea* L.) é uma das principais oleaginosas cultivadas no mundo, inclusive, em condições de agricultura de sequeiro, estando sujeito aos elevados riscos causados pelas variações climáticas. Tem-se observado que dentro da espécie podem existir genótipos mais aclimatados que outros a condições de baixa disponibilidade hídrica, em razão das características morfológicas e fisiológicas como aprofundar suas raízes para buscar água a maiores profundidades, reduzir a área foliar, regular a transpiração, e desativar o processo fotossintético, temporariamente (Subberao *et al.*, 1995; Blum, 1998; Kottapalli *et al.*, 2009).

Já é do conhecimento que plantas nativas de áreas tipicamente áridas, possuem uma cutícula mais espessa, em comparação às plantas oriundas de ambientes com uma maior disponibilidade hídrica (Oliveira e Salatino, 2000; Oliveira *et al.*, 2003). Outros estudos também mostraram que o déficit hídrico induzido provoca um aumento no teor de cera epicuticular em diversas plantas como trigo (Uddin & Marshall, 1988), cevada (Svenningsson, 1988), algodão (Bondada *et al.*, 1996), rosa (Jenks *et al.*, 2001), ervilha (Sánchez *et al.*, 2001), amendoim (Samdur *et al.*, 2003), como uma resposta às condições de déficit hídrico.

Segundo Samdur *et al.* (2003) vários fatores estão envolvidos na tolerância à seca no amendoim e que a compreensão de todos os mecanismos envolvidos é difícil de estabelecer. Além do acúmulo de metabólitos primários como sacarose, prolina e

aminoácidos, sob estresse hídrico, a cera epicuticular em *Arachis* pode sinalizar uma outra adaptação a restrição hídrica. Os trabalhos com ceras epicuticulares em amendoim, no entanto, dependendo do genótipo ou espécie, tem revelado resultados contraditórios (Vakharia *et al.*, 1993; Vakharia *et al.*, 1997).

No presente estudo foi analisada comparativamente a composição química da cera epicuticular foliar de quatro genótipos de amendoim tolerantes ao déficit hídrico e de duas espécies selvagens de *A. hypogaea*.

MATERIAL E MÉTODO

Obtenção das sementes

Sementes de quatro genótipos de *A. hypogaea*: BR 1, BRS 151 L-7, BRS Havana e LiGO-PE06 conhecido como Goiana e de duas espécies selvagens (*A. monticola* Krapov. & Rigoni e *A. stenosperma* Krapov. & Gregory) foram cedidas pela Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia (Brasília, Brasil).

Cultivo e tratamento hídrico

A semeadura foi realizada em sacos plásticos pretos com capacidade para 8 litros. O solo utilizado apresentou as seguintes propriedades: textura franco-arenosa, pH = 4,7 e concentração iônica: $\text{Ca}^{+2} = 0,95 \text{ cmolc/dm}^3$; $\text{Mg}^{+2} = 0,65 \text{ cmolc/dm}^3$; $\text{Na} = 0,13 \text{ cmolc/dm}^3$; $\text{K}^+ = 0,15 \text{ cmolc/dm}^3$; $\text{Al}^{+3} = 1,15 \text{ cmolc/dm}^3$; $\text{H} = 11,22 \text{ cmolc/dm}^3$ e $\text{P} = 13 \text{ mg/dm}^3$. Foram semeadas quatro sementes por saco e 15 dias após a semeadura (DAS) foi feito o desbaste, deixando-se apenas duas plantas por saco. As plantas foram distribuídas aleatoriamente na casa de vegetação.

Todas as plantas receberam água diariamente segundo a capacidade de campo do solo durante 41 DAS. Após este período iniciou-se o tratamento de déficit hídrico: 50% das plantas tiveram sua rega totalmente suspensa (tratamento de déficit hídrico) e as outras 50% continuaram recebendo água diariamente (tratamento controle). Aplicação dos tratamentos durou 22 dias, ou seja, as plantas foram submetidas à análise da cera epicuticular após 63 DAS. A temperatura média e a umidade relativa do ar foram de 34,6 °C e 49,8%, respectivamente.

Extração e análise da cera epicuticular

Seis indivíduos de cada genótipo e espécie de *Arachis* selvagem tiveram 30 folíolos retirados. Os folíolos foram desidratados e a cera epicuticular extraída com diclorometano duas vezes de 30 seg. sob agitação constante.

O teor de cera epicuticular foi calculado pela razão entre a quantidade de cera extraída e a área dos folíolos multiplicada por dois e os valores expressos em $\mu\text{g.cm}^{-2}$. A área foliar foi determinada utilizando um medidor de área foliar portátil (LICOR LI-3000, Inc. Lincoln, EUA).

As ceras foram fracionadas por cromatografia em camada delgada e analisadas por cromatografia em fase gasosa segundo Souza e Oliveira (2009). A quantificação dos constituintes foi realizada através do somatório das áreas dos picos (obtidos por CG) conhecidos de cada classe.

Análise estatística

Os dados referentes ao teor de cera epicuticular e das principais classes lipídicas foram sujeitos a análise de variância (ANOVA) e ao teste de Tukey a 5% utilizando o programa Statistica Ver. 8.0 (StatSoft, Inc., Tulsa OK, USA).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As médias dos teores de cera epicuticular dos quatro genótipos de *A. hypogaea* (BR1, BRS 151 L7, Havana e Goiana) e de duas espécies selvagens (*A. monticola* e *A. stenosperma*) sob condições normais (irrigados) e déficit hídrico estão representadas na Figura 1.

Diferentemente do que foi observado por Samdur *et al.*, (2003) em que seis genótipos de amendoim aumentaram seu teor de cera epicuticular sob condições de déficit hídrico, para os dados obtidos no presente estudo não foram observadas diferenças significativas entre os teores de cera para os genótipos e/ou espécies e o tratamento adotado (déficit hídrico).

O teor médio de cera encontrado para os genótipos de *A. hypogaea* (plantas controle) foi de $6,66 \mu\text{g.cm}^{-2}$ e as espécies silvestres apresentaram um teor semelhante de $6,78 \mu\text{g.cm}^{-2}$. Esses valores são três vezes menor ao encontrado por Samdur *et al.*, (2003) para 12 genótipos com um tempo de cultivo semelhante (65 dias).

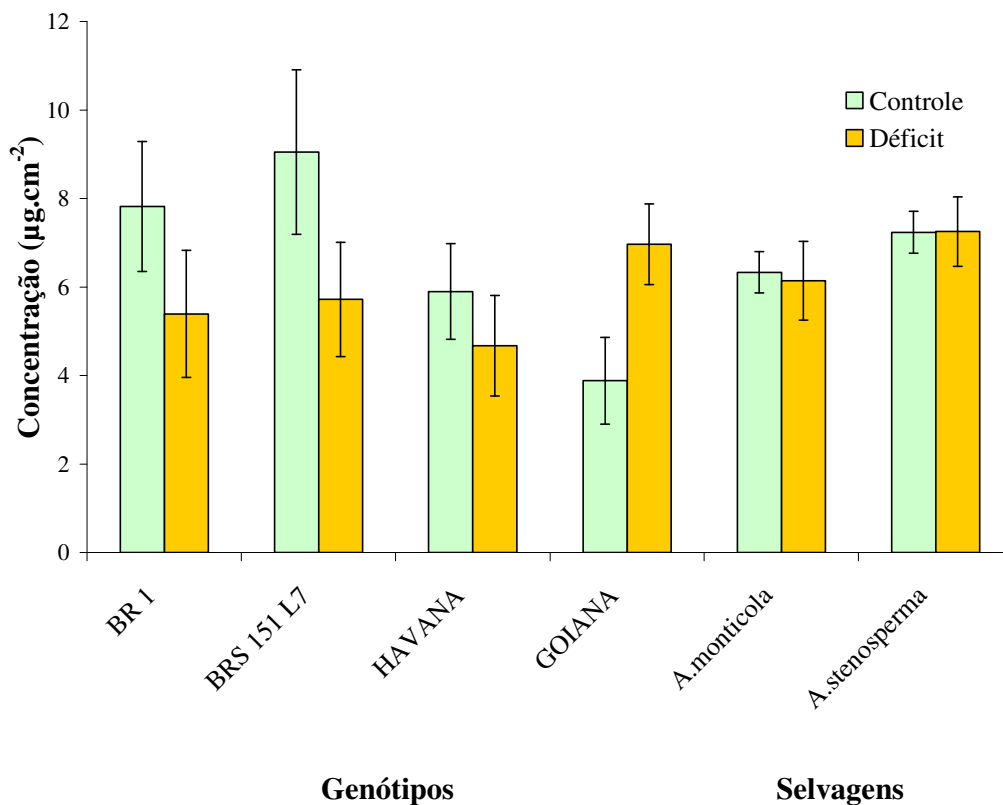


Figura 1. Valores médios do teor de cera epicuticular foliar de quatro genótipos de *Arachis hypogaea* e duas espécies de *Arachis* selvagem.

A quantidade média de cera epicuticular foliar encontrada para o amendoim também é inferior a encontrada para outras espécies de plantas cultivadas como, o algodão que apresenta uma média de 91,71 $\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$ (Bondada *et al.*, 1996).

A. hypogaea é conhecida como uma oleaginosa tolerante a seca. No entanto, para os genótipos estudados o teor de cera epicuticular não respondeu significativamente ao tratamento adotado, sugerindo que outros fatores estão relacionados com a tolerância destes genótipos de amendoim, como, por exemplo, a composição da cera (Sánchez *et al.*, 2001), ou outros processos fisiológicos, como o crescimento radicular (Boote *et al.*, 1982).

Kottapalli *et al.*, (2009) puderam constatar que em um genótipo de *A. hypogaea* tolerante ao estresse hídrico submetido a uma redução em 30% na irrigação, houve um declínio de apenas 15-20% na produção, comparado com o declínio de 90% no genótipo susceptível. Esta resposta na produção pode está relacionada com a redução na fotossíntese através do fechamento estomático, minimizando a perda de água e evitando o dano celular.

As ceras dos quatro genótipos de *A. hypogaea* e das duas espécies selvagens (*Arachis monticola* e *A. stenosperma*) em condições de irrigação e de estresse apresentaram um perfil químico semelhante quando analisadas por cromatografia em camada delgada – CCD (Figura 2).

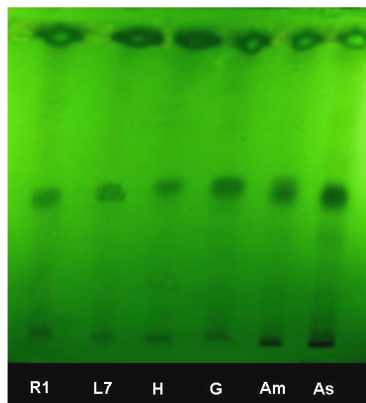


Figura 2. Cromatograma (CCD) dos quatro genótipos de *Arachis hypogaea* e duas espécies silvestres de *Arachis*. R1 = BR1, L7 = BRS 151 L7, H = Havana, G = Goiana, Am = *A. monticola* e As = *A. stenosperma*.

Nas plantas controle de *A. hypogaea* houve o predomínio de ácidos graxos e *n*-alcanos, com os ácidos graxos correspondendo a média de 41,7% e alcanos correspondendo a 8,4% do total de cera; sob déficit hídrico, os percentuais de ácidos graxos e *n*-alcanos foram alterados para 12,2 e 27,2%, respectivamente (Figuras 3 e 4).

O aumento no teor de *n*-alcanos sob déficit hídrico também foi observado em *A. monticola*, que também apresentou uma maior concentração de ácidos graxos nas plantas controle, e manteve uma concentração semelhante nas plantas tratadas e não tratadas. Enquanto que em *A. stenosperma* os *n*-alcanos representaram a principal classe nas plantas controle e reduziram sua concentração sob déficit hídrico.

Foi a espécie silvestre *A. stenosperma* que apresentou a maior concentração de *n*-alcanos no tratamento controle, $2,1 \mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$, correspondendo a 29,1% do total da cera. Enquanto que entre os genótipos de *A. hypogaea* essa concentração variou de $0,27 \mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$ (Goiana) a $1,35 \mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$ (BR1). Sob déficit hídrico ocorreu a variação de $0,37 \mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$ (BR1) a $3,65 \mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$ (BRS Havana), enquanto a *A. stenosperma* apresentou $0,7 \mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$ e a *A. monticola* apresentou $1,4 \mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$.

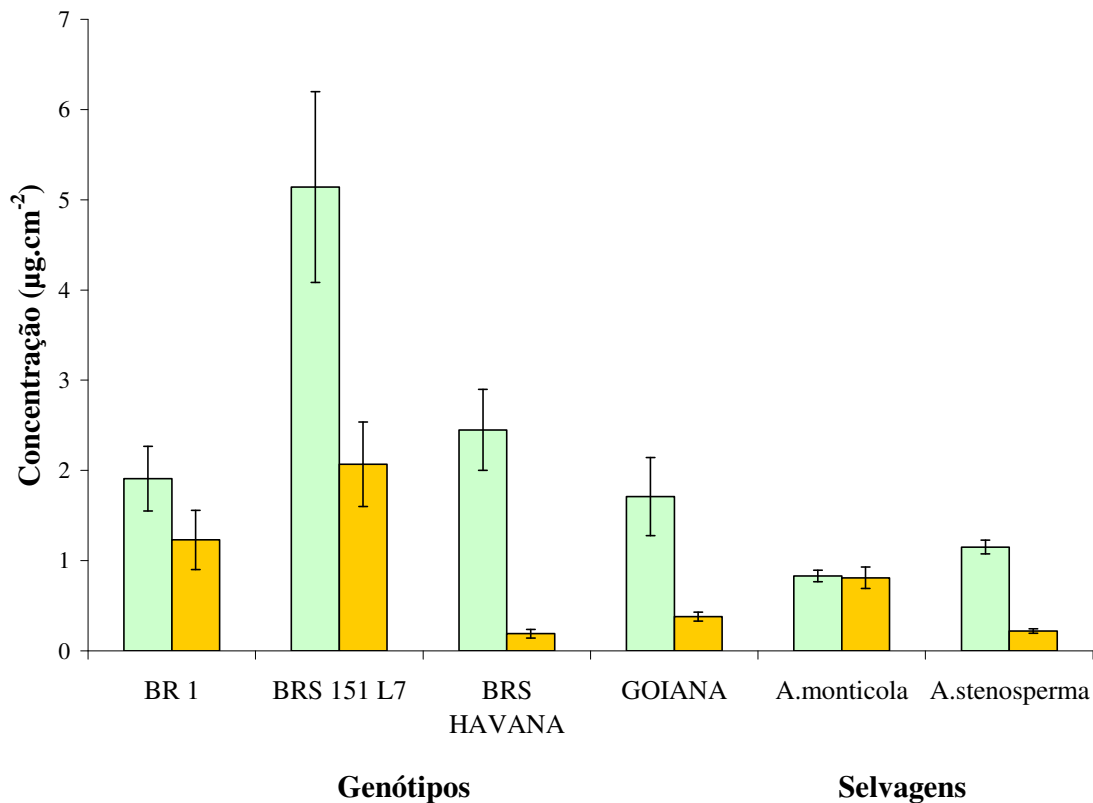


Figura 3. Valores médios da concentração de ácidos graxos presente na cera epicuticular foliar de quatro genótipos de *Arachis hypogaea* e duas espécies de *Arachis* selvagem.

O aumento na concentração de *n*-alcanos em plantas sob estresse hídrico também foi observado em outras espécies como o algodão (Bondada *et al.*, 1996), o gergelim (Kim *et al.*, 2007a) e a soja (Kim *et al.*, 2007b). Os *n*-alcanos são conhecidos por ser uma classe de compostos eficientes na redução da transpiração (Kolattukudy, 1970) e os genótipos Havana e Goiana e a espécie *Arachis monticola* destacaram-se quanto ao aumento na concentração de *n*-alcanos.

Em geral, os ácidos graxos são representados em baixas concentrações nas ceras epicuticulares foliares (Bianchi, 1995), porém em *A. hypogaea* eles constituem a principal classe de compostos quanto à concentração, assim como também foi observado por Yang *et al.*, (1993), que constataram os ácidos graxos como a principal classe em constituintes, seguidos dos *n*-alcanos e alcoóis primários. Por dificuldades metodológicas, estes últimos ainda não tiveram sua composição elucidada.

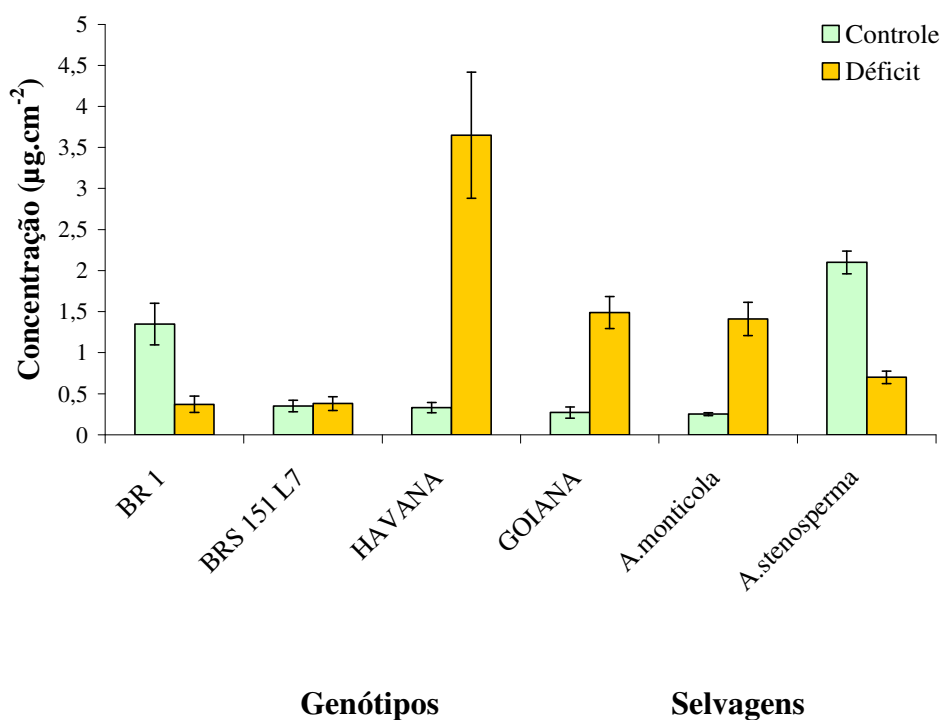


Figura 4. Valores médios da concentração de *n*-alcanos presentes na cera epicuticular foliar de quatro genótipos de *Arachis hypogaea* e duas espécies de *Arachis* selvagem.

Quanto à composição das ceras, a classe dos *n*-alcanos consistiu de cadeias com átomos de carbonos de números ímpares e pares, do C21 ao C33, como representado na Tabela 1; os genótipos BR1, Havana e Goiana, também, apresentaram traços de C35. Os indivíduos de Havana e Goiana, e *A. monticola* sob déficit hídrico quando comparadas com as plantas controle (irrigadas) tiveram um aumento significativo em *n*-alcanos; enquanto os indivíduos de *A. hypogaea* (cv. BR 1) e *A. stenosperma* apresentaram uma redução (Figura 4).

Os constituintes de *n*-alcanos em maior concentração foram os homólogos C24 (*n*-tetracosano), C25 (*n*-pentacosano), C26 (*n*-hexacosano), C27 (*n*-heptacosano), C29 (*n*-nonacosano), C31 (*n*-hentriacontano) e C33 (*n*-tritriacontano). Apresentando os C31 e C33 como os principais constituintes, como mostrado na Tabela 1. Este padrão de concentração foi semelhante entre os quatro genótipos de *A. hypogaea* e em *A. monticola* e *A. stenosperma*, composição semelhante à encontrada por Yang *et al.*, (1993) para uma cultivar de *A. hypogaea* e cinco espécies silvestres de *Arachis* (*Arachis*

glandulifera, *A. ipaensis*, *A. chacoense* e *A. paraguariensis*). O C31 e o C33 são constituintes encontrados em maiores concentrações, também em cultivares de algodão (Bondada *et al.*, 1996), tomate (Smith *et al.*, 1996), batata (Szafranek e Synak, 2006), gergelim (Kim *et al.*, 2007a) e soja (Kim *et al.*, 2007b).

Quantos aos ácidos graxos, os genótipos BRS Havana e Goiana e *A. stenosperma* apresentaram redução significativa entre a concentração de ácidos graxos nas plantas sob déficit hídrico ($p < 0,01$).

Os principais ácidos graxos, presentes nas espécies estudadas, foram os ácidos palmítico (C16:0), esteárico (C18:0), oléico (C18:1), linoléico (C18:2), como pode ser observado na Tabela 2, com os ácidos palmítico e esteárico como os mais abundantes. Os genótipos BRS Havana e Goiana sob déficit hídrico apresentaram o ácido lignocérico (C24:0) como o mais abundante (Tabela 2). Para os genótipos de *A. hypogaea* do grupo controle o ácido esteárico correspondeu ao mais abundante. Yang *et al.*, (1993) encontraram o ácido linoléico como o mais abundante.

Os principais ácidos graxos encontrados na cera epicuticular foliar de *Arachis hypogaea*, também constituem os principais ácidos graxos presentes no óleo de suas sementes como pode ser visto em Özcan & Seven (2003).

Tabela 1. Percentual de homólogos de *n*-alcanos das ceras epicuticulares foliares de quatro genótipos de *Arachis hypogaea* e duas espécies de *Arachis* selvagens.

Homólogos de <i>n</i> -alcanos	<i>Arachis hypogaea</i>								<i>Arachis</i> selvagem			
	BR 1		BRS 151 L-7		BRS Havana		Goiana		<i>A. monticola</i>		<i>A. stenosperma</i>	
	C	D	C	D	C	D	C	D	C	D	C	D
<i>n</i> - 21	1,29	3,34	0,92	2,19	1,82	0,95	1,87	-	0,38	0,59	0,93	0,59
<i>n</i> - 22	3,2	1,01	1,96	3,32	3,4	2,52	3,52	0,98	0,42	0,89	2,8	1,18
<i>n</i> - 23	1,73	4,15	2,42	2,59	3,6	4,69	4,24	2,77	0,4	1,57	2,37	2,09
<i>n</i> - 24	4,58	6,87	9,41	4,58	6,74	8,53	7,65	7,88	2,57	4,8	5,88	7,12
<i>n</i> - 25	2,7	4,08	2,81	2,98	7,2	10,8	6,22	10,49	0,56	11,3	5,07	6,02
<i>n</i> - 26	2,19	3,93	4,57	4,89	5,43	13,51	7,54	11,94	0,72	4,71	7,01	6,58
<i>n</i> - 27	1,65	3,93	6,18	2,09	6,54	13,03	7,88	10,05	0,68	27,84	4,18	10,56
<i>n</i> - 28	1,31	2,38	2,89	1,57	3,52	12,39	4,82	7,02	0,59	3,38	5	4,38
<i>n</i> - 29	2,85	4,66	4,99	4,04	8,59	11,13	6,35	7,53	1,03	9,59	5,98	6,79
<i>n</i> - 30	1,84	2,65	2,83	2,91	4,36	8,26	6,26	4,11	0,66	1,85	2,8	4,11
<i>n</i> - 31	8,83	8,3	13,45	8,07	12,75	5,56	7,75	10,54	1,68	4,34	11,3	3,14
<i>n</i> - 32	1,21	-	1,55	1,47	1,56	4,13	1,94	2,47	0,43	0,81	-	-
<i>n</i> - 33	4,05	10,21	34,57	7,46	14,26	3,37	14,29	11,58	2,9	4,6	14,8	14,5
<i>n</i> -35	1,33	-	-	-	3,7	-	3,3	-	-	-	-	-

(C) Controle

(D) Déficit hídrico

(-) não detectado

Tabela 2. Percentual dos principais ácidos graxos presentes nas ceras epicuticulares foliares de quatro genótipos de *Arachis hypogaea* e duas espécies de *Arachis* selvagens.

Ácidos graxos	<i>Arachis hypogaea</i>						<i>Arachis</i> selvagem					
	BR 1		BRS 151 L-7		BRS Havana		Goiana		<i>A. monticola</i>		<i>A. stenosperma</i>	
	C	D	C	D	C	D	C	D	C	D	C	D
Palmítico (C16:0)	17,53	22,22	15,96	13,53	10,29	1,2	13,75	-	8,09	49,51	24,05	47,6
Estearíco (C18:0)	32,75	34,43	27,25	18,74	10,33	-	15,1	-	8,67	50,49	20,1	29,6
Oléico (C18:1)	3,04	7,8	2,43	3,7	2,44	-	2,88	-	2,56	-	4,2	-
Linoléico (C18:2)	2,98	6,05	2,19	1,74	2,08	-	2	-	0,94	-	-	-
Lignocérico (C24:0)	-	-	-	-		47,99	-	67,1	-	-	-	-

(C) Controle

(D) Déficit hídrico

(-) não detectado

CONCLUSÃO

Ao contrário do teor de cera, a composição foi a mais influenciada pelo estresse hídrico nos genótipos BR1, BRS 151 L7, BRS Havana e Goiana e nas espécies selvagens. Essa variação é diferente em cada genótipo mostrando mecanismos adaptativos particulares. Ácidos graxos e *n*-alcanos se mostraram sensíveis a restrição hídrica, podendo ser os constituintes cuticulares responsáveis pela tolerância a seca do amendoim.

AGRADECIMENTOS

À CAPES, pela bolsa de Mestrado concedida.

REFERÊNCIAS

Barnes JD, Cardoso-Vilhena J. 1996. Interactions between electromagnetic radiation and the plant cuticle. In: *Plant cuticles: an integrated functional approach*. Kerstiens, G. (ed.). Bios Scientific Publishers, Lancaster, 157-174.

Bianchi G. 1995. Plant waxes. In: Hamilton, R.J. (Ed.) *Waxes: Chemistry, Molecular Biology and Functions*. The Oily Press, Dundee, Scotland, 175–222.

Bondada BR, Oosterhuis DM, Murphy JB, Kim K S. 1996. Effect of water stress on the epicuticular wax composition and ultrastructure of cotton (*Gossypium hirsutum* L.) leaf, bract, and boll. *Environmental and Experimental Botany* **36**, 61-69.

Boote K J, Stansell J R, Schubert AM, Stone JF. 1982. Irrigation, water use and water relation . In: Patee, H. E.; Young, C. T. (Eds.) *Peanut Science and Technology*, Texas: American Press, 164-205.

Eigenbrode SD. 1996. Plant surface and insect behaviour. In: *Plant cuticles: an integrated functional approach*. Kerstiens, G. (ed.). Bios Scientific Publishers, Lancaster, 201-221.

Hemmers H & Gulz PG. 1986. Chemistry and morphology of epicuticular waxes from leaves of five *Euphorbia* species. *Z. Naturforsch.* **41**: 521-525.

Jenks MA, Andersen L, Teusink RS, Williams MH. 2001. Leaf cuticular waxes of potted rose cultivars as affected by plant development, drought and paclobutrazol treatments. *Physiol. Plant.* **112**: 62-70.

Kerstiens G. 1996. Diffusion of water vapour and gases across cuticles and through stomatal pores presumed closed. In: *Plant cuticles: an integrated functional approach*. Kerstiens, G. (ed.). Bios Scientific Publishers, Lancaster, 121-134.

Kim KS, Park SH, Jenks MA. 2007a. Changes in leaf cuticular waxes of sesame (*Sesamo indicum* L.) plants exposed to water deficit. *Journal of Plant Physiology* .**164**: 1134-1143.

Kim KS, Park SH, Kim DK, Jenks MA. 2007b. Influence of water deficit on leaf cuticular waxes of soybean (*Glycine max* [L.] Merr.). *International Journal of Plant Sciences* **168**:307-316.

Kolattukudy PE. 1970. Plant Waxes. *Lipids* **5**: 259-273.

Kolattukudy PE. 1980. Cutin suberin and waxes. In: Stumpf, P.K. (ed). *The biochemistry of plants* .**4**: 571-654.

Kottapalli KR, Rakwal R, Shibato R, Burow G, Tissues D, Burke J, Puppala N, Burow M, Payton P. 2009. Physiology and proteomics of the water-deficit stress response in three contrasting peanut genotypes. *Plant, Cell and Environment* **32**: 380–407.

Mendgen K. 1996. Fungal attachment and penetration. In: *Plant cuticles: an integrated functional approach*. Kerstiens, G. (ed.). Bios Scientific Publishers, Lancaster, 175-188.

Oliveira AF M & Salatino A. 2000. Major constituents of the foliar epicuticular waxes of species from the Caatinga and Cerrado. *Z. Naturforsch C.* **55**: 688-692.

Oliveira AFM, Meirelles ST, Salatino A. 2003. Epicuticular waxes from caatinga and species and their efficiency against water loss. *Anais da Academia Brasileira de Ciências* **75**(4): 431-439.

Samdur MY, Manivel P, Jain VK, Chikani BM, Gor HK, Desai S, Misra JB. 2003. Genotypic differences and water-deficit induced enhancement in epicuticular wax load in peanut. *Crop Science* **43** :1294-1299.

Sánchez FJ, Manzanares M, Andrés EF, Tenório JL, Ayerbe L. 2001. Residual transpiration rate, epicuticular wax load and leaf colour of pea plants in drought conditions. Influence on harvest index and canopy temperature. *European Journal of Agronomy* **15**: 57-70.

Scherbatskoy T, Tyree MT. 1990. Kinetics of exchange of ions between artificial precipitation and maple leaf surfaces. *New Phytology* **114**:703-712.

Smith RM, Marshall JA, Davey MR, Lowe KC, Power JB. 1996. Comparison of volatiles and waxes in leaves of genetically engineered tomatoes. *Phytochemistry*. **43**(4): 753-758.

Szafranek MA, Syanak EE. 2006. Cuticular waxes from potato (*Solanum tuberosum*) leaves. *Phytochemistry* **67**: 80-90.

Shepherd T, Robertson GW, Griffiths DW, Birch ANE, Duncan G. 1995. Effects of environment on the composition of epicuticular wax from kale and swede. *Phytochemistry* **40**: 407-417.

Souza RJC, Oliveira AFM. (2009). Ceras epicuticulares foliares de genótipos de *Arachis hypogaea* L. tolerantes ao estresse hídrico. Dados não publicados.

Svenningsson M. 1988. Epi- and intracuticular lipids and cuticular transpiration rates of primary leaves of eight barley (*Hordeum vulgare*) cultivars. *Physiologia Plantarum*. **73**: 512-517.

Uddin MN, Marshall DR. 1988. Variation in epicuticular wax content in wheat. *Euphytica* **38**: 3-9.

Vakharia DN, Davaria RL, Parmeswaran M. 1993. Changes in cuticular wax content in leaves of two groundnut cultivars during and after relief of drought. *Plant Physiol. Biochem* **20**:96-98.

Vakharia DN, Kandoliya U, Patel N, Parmeswaran M. 1997. Effect of drought on lipid metabolites: Relationship with pod yield in groundnut. *Plant Physiol. Biochem.* **24**: 102-105.

RESUMO

A superfície aérea primária das plantas é recoberta pela cutícula, uma camada hidrofóbica que desempenha um papel importante na restrição a perda de água. Um dos principais componentes funcionais da cutícula, as ceras epicuticulares, têm sido muito investigadas em espécies de interesse econômico. O objetivo deste trabalho foi analisar a composição química da cera epicuticular foliar em quatro genótipos de *Arachis hypogaea* L. (BR1, BRS 151 L-7, BRS Havana e LiGO-PE06) e de duas espécies selvagens (*A. monticola* e *A. stenosperma*) e verificar o efeito do estresse hídrico na biossíntese dos componentes cuticulares. A cera epicuticular foi obtida de folíolos provenientes de seis indivíduos adultos cultivados em condições normais de suprimento hídrico e sob estresse, e analisada por cromatografia gasosa. O teor de cera variou de 3,9 a 9,0 $\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$ (nos genótipos) e de 6,0 a 7,4 $\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$ para as espécies selvagens (*A. monticola* e *A. stenosperma*), respectivamente. Três classes lipídicas foram identificadas tanto nos genótipos como nas espécies selvagens: *n*-alcanos, álcoois alifáticos e ácidos graxos. Não foram observadas diferenças significativas entre os teores de cera para os genótipos e/ou espécies e o tratamento adotado e as respostas das plantas ao estresse hídrico são dependentes do genótipo. Ácidos graxos e *n*-alcanos se mostraram sensíveis a restrição hídrica. A distribuição quantitativa dos homólogos cuticulares difere dependendo do regime hídrico adotado

ABSTRACT

The primary aerial plant surface is covered by the cuticle, a hydrophobic layer which plays an important role in restricting water loss. The main functional component of the cuticle, the epicuticular wax, has been investigated in species of economic importance. The objective of this study was to analyze the chemical composition of leaf epicuticular wax in four genotypes of *Arachis hypogaea* L. (BR1, BRS 151 L-7, BRS Havana, and LIGO-PE06) and two wild species (*A. monticola* and *A. stenosperma*) and to evaluate the effect of water stress on the biosynthesis of cuticular constituents. The foliar epicuticular waxes were obtained from six adults plants grown under normal conditions of water supply and under hydric stress, were analyzed by gas chromatography. The wax content ranged from 3.9 to 9.0 $\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$ (for genotype) and from 6.0 to 7.4 $\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$ for the wild species (*A. monticola* and *A. stenosperma*) respectively. Three lipid classes were identified in both genotypes and in the wild species: *n*-alkanes, aliphatic alcohols and fatty acids. No significant differences were observed between the wax content for the genotypes and/or species and treatment adopted. The responses of plants to water stress are dependent on genotype. Fatty acids and *n*-alkanes were sensitive to water deficit. The quantity of cuticular homologue differs depending on the water regime adopted.

ANEXOS

Normas para publicação

Instructions to Authors of Manuscripts for *Crop Science* (2009)

General Requirements

Full papers must be either reports of original research, critical reviews, or interpretive articles. The journal also publishes crop registration papers, short communications, book reviews, and letters to the editor. Submissions to *Crop Science* must not be previously published in or simultaneously submitted to any other scientific or technical journal. For the policy regarding publishing in nontechnical outlets, see *Publications Handbook and Style Manual* (ASA–CSSA–SSSA, 2004).

Scope

Crop Science is the normal channel for publication of papers in plant genetics; breeding; cytology; metabolism; physiology; ecology; turfgrass; weed science; crop quality, production, and utilization; genomics, molecular genetics, and biotechnology; and plant genetic resources.

Articles reporting experimentation or research in field crops or reviews or interpretation of such research will be accepted for review as papers. For research involving controlled environments, see https://www.crops.org/publications/forms_resources/ for guidelines. Short articles concerned with experimental techniques, apparatus, or observation of unique phenomena will be accepted for review as short communications. Letters to the editor are welcomed and are published subject to review and approval of the editor. When letters concern previous articles, the authors will be invited to reply; letter and reply are published together.

Submission Procedures and Preparation

Full-Length Manuscripts and Reviews

All manuscripts should be submitted through the online submission tool (<http://mc.manuscriptcentral.com/crop>). Detailed instructions can be found at this site, along with instructions related to logging on to the *Crop Science* Manuscript Central system.

Creating the manuscript files. Submit the main text document in a common word processing file. LaTeX or other typeset formats are not allowed. Manuscript Central will convert your original files into PDF format; please check this PDF “proof” before submitting. Check any Greek characters and figures carefully. If you have a character conversion, fix your word processing file by embedding fonts (in Word, go to Tools/Options/“Save” tab, and check “Embed TrueType Fonts”). If there is an error in the PDF you cannot fix, mention it in the cover letter so the editors and eventually Headquarters will be aware of the problem. On the first page, give the title, a byline with the names of all authors, an author–paper documentation footnote, a list of all nonstandard abbreviations used in the paper (standard abbreviations available on p. 22 of the style manual, <https://www.crops.org/publications/style/>), and any other necessary footnotes. An abstract is required and is normally the second manuscript page. After the title page and abstract, the usual order of sections is an untitled introduction (which includes the literature review), Materials and Methods, Results, Discussion, Conclusions (optional), Acknowledgments (optional), and References, followed by any figure captions and the tables. Results and Discussion may be combined and

conclusions can be given at the close of the Discussion section. Start each section (including figure captions and tables) on a new page and number all pages.

Figures. Submit figures in high-resolution, individual files (one figure per file). All panels of one figure need to be in the same single file and on the same page if possible. Check your figures in the PDF proof generated by Manuscript Central, as the figures in the PDF may be used for publication. TIFF or EPS files are best for resolution (don't insert these files into a word processing document because this will reduce resolution). Width of figures should approximate desired print size, i.e., 3 ¼ inches for a one column figure, 7 inches for a two column figure. Photographs and drawings for graphs and charts should be prepared with good contrast of dark and light. Give careful attention to the width of lines and size and clarity of type and symbols. Variables (e.g., *r*, *x*, *y*) should be italicized.

Instructions to Authors of Manuscripts for *Crop Science* (2009)

A figure caption should be brief, but sufficiently detailed to tell its own story. Specify the crop or soil involved, the major variables presented, and the place and year. Identify curves or symbols in a legend within the figure itself, not in the caption. Define abbreviations in the caption. Define symbols used in the caption or in the legend. Be sure to indicate the scale for micrographs, either in the illustration or the caption.

Tables. Prepare tables with the tables feature in your word processor; do not use tabs, spaces, or graphics boxes. Each datum needs to be contained in an individual cell. Number tables consecutively. Table heads should be brief but complete and self-contained. Define all variables and spell out all abbreviations. Tables should be placed at the end of the main text document. The *, **, and *** are always used in this order to show statistical significance at the 0.05, 0.01, and 0.001 probability levels, respectively, and cannot be used for other notes. Significance at other levels is designated by a supplemental note. Lack of significance is usually indicated by NS. For table footnotes, use the following symbols in this order: †, ‡, §, ¶, #, ††, ‡‡,... Cite these symbols just as you would read a table—from left to right and from top to bottom, and reading across all spanner and subheadings for one column before moving on to the next. An exponential expression (e.g., × 10⁻³) in the units line is often necessary to keep the length of data values reasonably short. This ambiguous expression must be referenced with an explanatory note.

Title and byline. A title gives the reader a clear idea of what the article is about; it should be brief and informative. Use common names for crops and avoid abbreviations. The usual limit for titles is 10 to 12 words (not counting “and,” “of,” and similar conjunctions and prepositions). Titles in a numbered series of articles may be longer. Below the title, list the names of all authors. Place an asterisk after the name of the corresponding author (i.e., the person from whom reprints are to be requested).

Author–paper documentation. The author–paper documentation is a single paragraph. The first sentence lists the authors (without professional titles) and their complete, current addresses. If a paper has only one author, or if all authors are from the same department and institution, omit the names (i.e., give the address only). The second sentence lists institutional sponsors, with the institutional article number of similar contribution acknowledgment. Add such an acknowledgment if an author has moved and using the current address leaves no other mention of the involvement of the former institution. Other information such as granting, funding, or dissertation status may follow. End the author–paper documentation paragraph with these two statements: “Received _____.” *Corresponding author (e-mail).” The date received will be filled in by an editor.

Abbreviations. Prepare a list in alphabetical order of abbreviations used in your article. Do not include SI units, chemical abbreviations, or most common abbreviations such as those listed in the style manual.

Footnotes. Footnotes are discouraged in text, but may be used when needed (typically for a product disclaimer). Number any footnotes consecutively.

Abstract. Abstracts are a single self-contained paragraph of no more than 1500 characters – including word spaces - for papers or 750 characters for Notes. Abstracts should contain the rationale, objectives, methods, results, and their meaning or scope of application. Be specific. Identify the crops or organisms involved, the soil type, chemicals, and other details that are pertinent to the results. Do not cite references.

Nomenclature and identification of materials. Give the complete binomial and authorities at first mention (in Abstract or text) of plants, pathogens, and insects or pests.

Units of measure. The SI system (Système International de Unités) is required in *Crop Science*. Other units may be indicated in parentheses after the SI unit if this helps understanding or is needed for replication of the work.

References. The author–year notation system is required; do not use numbered notation. In the list, arrange references alphabetically by author. All single author entries precede multiple-author entries for the same first author. Use chronological order only within entries with identical authorship (alphabetizing by title for same-author, same-year entries). Add a lowercase letter a, b, c, etc. to the year to identify same-year entries for text citation. Do this also for any multiple-author entries that would otherwise result in identical citations in the text.

Cover submissions. If you have any images which highlight your paper, you may submit them along with your paper in the Manuscript Central system. Please be sure to label as “image” (not “figure”). Cover images need to be at least 300 dpi at actual size; further electronic image specifics can be found at https://www.crops.org/publications/forms_resources/. Otherwise, a slide or glossy print provides high resolution and can be submitted directly to the Headquarters office on acceptance of your manuscript (attn:Managing Editor, *Crop Science*, 677 S. Segoe Road, Madison, WI 53711–1086). Be sure to label it with the manuscript number and title and provide a descriptive caption and photo credit which will aid in the selection process. Also, please be aware that even if your image is not chosen for publication as the cover, images submitted to *Crop Science* may be used in other Society publications.

Supplemental materials. If you wish to include supplemental materials, you need to include these files with your submission. Please label the file as “Supplemental File” when you upload.

Revisions. All revisions to the manuscript during the review process will be made by the author only, and revisions will be given the same manuscript number, with an R number on the end (e.g., CROP-2006–04–0017-ORA.R1). Each revision has the opportunity for another round of review—the manuscript status “awaiting reviewer selection” is automatic and does not indicate a resubmission.

Notice for Word 2007 users: If you have equations, they must be composed using the Microsoft Equation 3.0 editor found under INSERT OBJECT, or with another MathML format such as MathType. Do not use INSERT EQUATION, which creates images (when converted) that cannot be used for typesetting. Regrettably, we will need to return any files created with Word 2007 that contain equations created with INSERT EQUATION to the authors for resetting.

Publication Charges and Length of Manuscript

Full-length manuscripts accepted for publication in *Crop Science* are assessed a publication charge of \$450 for members and \$700 for nonmembers for the first seven pages; a charge of \$50 per page after seven pages is also assessed. Authors are charged \$10 per illustration, \$10 per table, and \$250 per page of color.

Membership in the Society is not a requirement for publishing in *Crop Science*; however, there is a differential in page charges for members and nonmembers. For manuscripts submitted on or after 1 Jan. 2008, to qualify for member rates, the corresponding author must be an active, emeritus, certification, sustaining member representative, graduate student, or dues-paying undergraduate student member of the Crop Science Society of America before the article is published. If the corresponding author is not a member, but would like to join, membership is available here: <https://www.agronomy.org/publications/journals/reprint/login>

Open Access Option

Authors have the option of paying an additional \$800 fee, above the usual publication charge, to make the article open access (freely available without subscription) at the time of publication on the HighWire Web site (<http://crop.sci-journals.org/>). Authors may not post their articles to other Web sites; they may only post the title, authors, and abstract, and include a link to the article on the High-Wire site. If you would like the open access option, inform the managing editor of the journal before the issue goes to press.

Accepted Manuscripts

When your manuscript is accepted, you will receive notification from your technical or associate editor, and the accepted files (word processing, PDF, and figure files in any format) will automatically be sent to Headquarters. You will hear from Headquarters on receipt of your files. A hard copy is no longer required; the figure files submitted will be used for press. Useful References

ASA–CSSA–SSSA. 2004. Publications handbook and style manual. 3rd ed. Available at: <https://www.crops.org/publications/style/>. ASA, CSSA, and SSSA, Madison, WI.

Crop Science Society of America, Terminology Committee. 1992. Glossary of crop science terms. Available at: www.crops.org/cropgloss/. CSSA, Madison, WI.

USDA-ARS-National Genetic Resources Program. 2005. Germplasm Resources Information Network (GRIN) database. Available at: www.ars-grin.gov/cgi-bin/npgs/html/taxgenform.pl. National Germplasm Resources Laboratory, Beltsville, MD.

USDA-NRCS Soil Survey Division. 2005. USDA-NRCS Official Soil Series Descriptions Enter By Name. Available at: <http://ortho.ftw.nrcs.usda.gov/cgi-bin/osd/osdname.cgi>.

GENERAL INFORMATION

The *Journal of Experimental Botany* publishes high-quality primary research papers together with Review articles and Special issues in the plant sciences.

Full-length primary papers should contribute to our understanding of how plants develop and function, and should provide new insights into biological processes. The journal will not publish purely descriptive papers or papers that report a well-known process in a species in which the process has not been identified previously. Articles should be concise and generally limited to 10 printed pages.

Review Articles are published regularly as *Perspectives in Experimental Botany*. *Opinion papers* that express a particular point of view on a controversial topic relevant to any aspect of plant science are also considered. Outlines of proposed reviews and opinions should be submitted to j.exp.bot@lancaster.ac.uk for consideration before preparation of a full manuscript.

Special Issues containing reviews and occasionally one or two primary papers in a specified subject area are published at intervals. Reviews should not be encyclopaedic, will ideally contain the author's views and be pitched at a level that will appeal to the non-specialist as well as those who work in the field. If primary papers are submitted for a Special Issue, then the Introduction should be longer than usual to help orientate the reader within the field, and the Discussion should also help to explain the context of the work.

Gene Notes. Please note that Gene Notes are no longer considered for publication.

ONLINE SUBMISSION OF MANUSCRIPTS

All manuscripts should be submitted via Bench>Press, our online manuscript submission and review system. If you are unable to submit in this way please contact the editorial office. To submit online please go to <http://submit-jxb.oxfordjournals.org/> and follow the instructions for creating an account (or sign in) and submitting your manuscript. Before submitting your manuscript please read and follow the Journal's guidelines for presentation.

If you are a first time user of the 'Bench>Press system' please click on 'Create an account' and register following the website's instructions. If you are already registered with *JXB* Bench>Press, please sign in by using your e-mail as your username, and your password. If you have forgotten your password, you can obtain a new one by clicking on lost password. Here you will be prompted to enter your e-mail address. The next page will ask you your security question. After entering your security question, a new password will be e-mailed to you (you can always change a password on your Personal Information page).

After you have logged in, please enter the 'Author Area' and select 'Submit a new manuscript'. Fill in all the required fields.

1. Manuscript metadata: Number of authors, article type, title, running title, key words, abstract, covering letter, submission agreement, and suggested editors. You are required to suggest three potential reviewers. You can also exclude reviewers, if so, please state your reasons in the covering letter. In both cases please provide as much information as possible. 2. Author(s) information: Please enter the name, institution, and e-mail for each author in the order they appear on the manuscript. 3. File upload metadata: number of images and supplementary files that you will upload, which are not included in the manuscript file. Please fill in all the required fields: number of pages and figures, number of colour and black and white figures, number of tables. 4. Upload your file(s): a single Word or .PDF file with tables and figures included is the preferred format.

Please note that before creating your .PDF file, fonts (Asian, Cyrillic, Eastern European, and Middle Eastern) should be embedded in the document. Embedding ensures that all readers can view the document in any system. Please embed all fonts even if you think you have not used any special fonts. They are often left in the original Word document or may occur in graphics and may not even be visible (see Acrobat Help: 'Embedding Fonts'). Alternatively, if tables are uploaded separately, these should be Word or PDF. If figures are not included in the text, they should be submitted as .JPEG, .TIFF or .GIF, and should be

If reference is made to a paper 'in press', a proof of this should also be submitted. If any material from other publications is included, it should be clearly referenced and copyright permission sought before submission. Please see section 'Permission to reproduce figures'.

GUIDELINES FOR PRESENTATION

Manuscripts should be typewritten on one side only of an A4 sheet, double-spaced throughout (except for the references - see below) and with at least a 4 cm margin on the left. Manuscripts should be written in the third person. Number all pages of the manuscript consecutively on the right hand side at the bottom of the page and number the lines of the text in the left-hand margin. Page and line numbering help reviewers and editors easily to refer to specific sections of the manuscript. Please note that manuscripts without page and line numbering will be returned to authors for correction before being considered further.

For primary research articles, the manuscript should be arranged in the following order: Title page Abstract Introduction Materials and methods Results Discussion (this section may be combined with Results) Supplementary material (if applicable) Acknowledgements References Tables Figure legends Figures

The *Title page* should contain the title, the name(s) of the author(s), the name(s) and address(es) of the institution(s) where the work was carried out, followed by the contact details of the author to whom correspondence should be sent (address, telephone, fax, and e-mail). The date of submission and the number of tables and figures should also be given on the first page. The *Title* should be specific and concise but sufficiently informative to assist those scanning contents listings and abstract journals. Authors should also suggest a short running title. Please do not add the running title as a header.

The *Abstract* should not exceed 250 words; it should state the rationale, findings and conclusions of the study; it should contain no discursive matter or references.

Authors should suggest no more than ten *Key words* for their article in alphabetical order. Data should not be presented in both tabular and graphical form. Large bodies of primary data should not be included in the manuscript but they can be presented as 'Supplementary material', which will be published online at the time of publication.

ABBREVIATIONS, NUMBERS AND DATES

Abbreviations and their explanation should be composed in a list. Standard chemical symbols may be used in the text where desirable in the interests of conciseness. For long chemical names and other cumbersome terms, widely accepted abbreviations may be used in the text (e.g. ATP, DNA); the list of standard abbreviations published by *The Biochemical Journal* (<http://www.biochemj.org/bj/bji2a.htm>) is an acceptable guide. Abbreviations for the names of less common compounds may be used, but the full term should be given on first mention. It is confusing and unnecessary to use abbreviations for common English words (e.g. L for light).

Numbers up to ten should be spelled out in the text except when referring to measurements. Numbers higher than ten are to be represented as numerals except at the beginning of a sentence. Fractions are to be expressed as decimals. Dates should be cited thus: 7 June 2001 and the 24 hour clock should be used.

SCIENTIFIC NAMES

The complete scientific name (genus, species, and authority, and cultivar where appropriate) must be cited for every organism at the first mention. The generic name should be abbreviated to the initial thereafter, except where intervening references to other genera with the same initial could cause confusion. If vernacular names are employed, they must be accompanied by the correct scientific name on first use.

UNITS OF MEASUREMENT

The metric system is adopted as standard. The system of units known as 'SI' should be used. If non-standard abbreviations must be used they should be defined in the text. Units of measurement should be spelled out except when preceded by a numeral, when they should be abbreviated in the standard form: g, mg, cm³, etc. and not followed by full stops. Use negative exponents to indicate units in the denominator (i.e. mmol m⁻² s⁻¹).

CHEMICAL AND MOLECULAR BIOLOGY NOMENCLATURE

Follow *Chemical Abstracts* and its indexes for chemical names. The IUPAC and IUBMB recommendations on chemical, biochemical, and molecular biology nomenclature should be followed for amino acids, peptides, enzymes, nucleic acids, polynucleotides, carbohydrates, and lipids (see <http://www.chem.qmw.ac.uk/iupaci> and [ubmb](http://www.ubmb.org)).

Nomenclature for genes and proteins must follow international standards. It is important to differentiate between genes and proteins. *Italics* is a standard for genes, so all gene symbols and loci should be in *italics* and capitalization as it applies for each organism's standard nomenclature format, in text, tables, and figures. Proteins should appear in Roman type. Nomenclature conventions differ amongst species, please follow them accordingly.

Arabidopsis: <http://www.arabidopsis.org/portals/nomenclature/guidelines.jsp>

Maize: http://www.maizegdb.org/maize_nomenclature.php

Rice: http://www.gramene.org/documentation/nomenclature/rice_gene_nomen.pdf

Tomato: <http://tgrc.ucdavis.edu/>

Wheat: <http://www.k-state.edu/wgrc/>

SEQUENCE DATA

Deposition of sequence data (proteins or nucleotides), array data, molecular interaction data, and any other data where there is a publicly held database is required before publication of the manuscript; and the database accession number must be given in the manuscript (Materials and methods). Appropriate databases for protein and nucleic acid sequences are: EMBL; GenBank, or the Protein Data Bank.

Microarray Gene Expression Data should be MIAME compliant; and data should be deposited in a public repository such as ArrayExpress and GEO.

EQUATIONS

If equations require more than one level of subscript or superscript, please use either 'Microsoft Equation Editor' or 'Math Type'. If anything else is used, the equation has to be re-typed which makes it vulnerable to errors.

TABLES

Tables should be on a separate page, and should be numbered in Arabic numerals with a concise and descriptive legend at the head. They should be cited in the text in a sequential order. Please create tables in Word using the 'table' feature and include them in the text file.

FIGURES

Figures should be self-explanatory and contain as much information as is consistent with clarity. Each figure should be provided on a separate page and be clearly labelled using Arabic numbers. Citation in the text should take the form Fig. 1A etc, and should be referred to in the text in sequential order. Wherever possible, figures should be grouped to fill a page. Label figures that have more than one panel in capital letters A, B, etc.

Lines and symbols should be drawn boldly enough to stand reduction. For graphs a suitable thickness for the axis would be 0.3 mm and for the other lines 0.4 or 1.0 mm depending on the complexity of the graph. The preferred symbols are closed circles, open circles, closed squares, open squares, closed triangles, and open triangles and should be no smaller than 2 mm (height/diameter) for reduction to one-half. The symbols x and + should be avoided.

The typeface used for lettering should be of a type similar in style to the text of the journal (e.g. Times New Roman or Arial). The height of the lettering should be uniform throughout and should have a capital height of 4.0 mm on the originals for reduction to one-half. A scale should be included for all micrographs; otherwise the scale of the original should be stated in the legends so that the final scale can be calculated.

Figure manipulation: Please note that no specific feature within an image may be enhanced, obscured, moved, removed, or introduced. The grouping of images from different parts of the same gel, or from different gels, fields, or exposures must be made explicit by the arrangement of the figure (i.e. using dividing lines) and in the figure legend. Adjustments of brightness, contrast, or colour balance are acceptable as long as they are applied to the whole image and if they do not obscure, eliminate, or misrepresent any information present in the original, including backgrounds. Without any background information, it is not possible to see exactly how much of the original gel is actually shown. Non-linear adjustments (e.g. changes to gamma settings) must be disclosed in the figure legend.

The minimum resolution for the figures is 300 dpi (dots per inch) for tone or colour, 1200 dpi for line art at approximately the correct size for publication. Colour figures should be CMYK (Cyan-Magenta-Yellow-Black).

To ensure that reviewers, editors, and readers can understand your figures please follow the recommendations to make them colourblind friendly (see <http://jfly.iam.u-tokyo.ac.jp/color/>) - In the fluorescent double-staining micrographs, DNA chips, etc, do not use the combination of red and green. Use magenta (purple) and green instead. - For micrographs with three or more channels, in addition, show either a greyscale picture of each channel or the combination of the two most important channels in magenta and green. - For graphs and line drawings, label elements of the graph on the graph itself rather than making a separate colour-coded key, since matching the same colours in distant places is extremely difficult. - Do not convey information in colour only. Show difference both in colour and shape (solid and dotted lines, different symbols, various hatching, etc.). Red does not appear as a bright and vivid colour. Avoid using red characters on a dark background.

Colour publication: The charges for colour publication in print are currently £100/\$150 per figure. Colour payment agreement is required before acceptance of your manuscript.

Reviews, focus papers and special issue papers are exempt from colour charges, but colour should be essential for the scientific understanding.

Authors of research papers can choose to have their figures published in colour in the online version of the article for free, while the print version will be published in black and white. The use of online-only colour will be limited to those figures which reproduce adequately in both greyscale and colour. Authors who wish to have their figures in colour both online and in print will be charged as specified above. Please consider these options carefully at the time of submission. The online system will ask you to select these options for each colour figure. If a figure is going to be published in colour online but not in print it is **essential** that no reference to colour is made in the legend or within the text of the manuscript that refers to the figure. The figure files for colour online-only should be supplied in CMYK. Authors will receive the proofs according to the print version of the manuscript.

Please note that orders from the UK will be subject to a 17.5% VAT charge. For orders from elsewhere in the EU you or your institution should account for VAT by way of a reverse charge. Please provide us with your or your institution's VAT number.

Figure legends should be provided on a separate page and included in the text file. Each legend should contain sufficient explanation to be meaningful without cross-referencing. A scale of the original should be included in the legend unless already indicated in the picture. A description of the symbols used in the figures should be written out in full. (Please do not include the character symbol in the legend.) Please note that figure legends may be used by search engines for figure searches.

Cover illustrations: authors are encouraged to submit interesting images for a potential issue cover. Illustrations may be taken from the article, or be closely related to it, and they should be original. The potential cover illustration figure(s) must be supplied in electronic format as .TIFF, and resolution must be above 300 dpi at publication size. The image size is 91×285 mm. Please provide a detailed legend and credit information. A short concise caption may also be provided to appear on the front cover. Authors may submit a potential cover illustration at the time of submission or at a later stage during the reviewing process via e-mail (j.exp.bot@lancaster.ac.uk). In this latter case please provide your manuscript number and title and your address.

SUPPLEMENTARY MATERIAL FOR ONLINE-ONLY PUBLICATION

Supplementary material may be submitted for online-only publication if it adds value for potential readers. However, it must not contain material critical to the understanding of the manuscript. The hard copy of the manuscript should stand alone, but it should be indicated at an appropriate point in the text that supplementary material is available online. In addition, the availability of supplementary material should also be indicated in the manuscript by a section headed 'Supplementary material' with a brief description of these data to appear before the Acknowledgements and References. If possible the best format to present these data is a single PDF file. Please include the manuscript title and list of authors on the first page, and whenever possible include the figure legends. Supplementary material should be named and cited within the manuscript as Figure S1, Table S1, Video S1, etc. Supplementary material is available to reviewers and editors during the review process. If images are supplied as .GIFs or .JPEGs, the minimum acceptable resolution for viewing on screen is 120 dpi.

Videos: The preferred formats for video clips are .MOV, .MPG, .AVI, and animated .GIF files. Authors are advised to use a readily available program to create movies so that they can be viewed easily with e.g. Windows Media Player or QuickTime.

Authors should check the supplementary data carefully as this information is not professionally copy edited or proofread.

REFERENCES

The accuracy of the references and citation information is the responsibility of the authors. Please be aware that, if citation information is incomplete or inaccurate, links on the online journal will not work.

Citations in the text should have the authors immediately followed by the date to facilitate the electronic linkages which are available on-line, for example: (Shen and Ma, 2001) or Shen and Ma (2001). If several papers by the same author in the same year are cited, they should be lettered in sequence (2000*a, b*), etc. When papers are by more than two authors they should be cited in the text: (Shen *et al.*, 2001).

The list of literature must be typed single-spaced throughout and with a single line space between each citation. References should be thoroughly checked before submission. If the list is not in the correct form it will be returned to the author for amendment and publication of the paper may be delayed. In the list, references must be placed in alphabetical order without serial numbering. The following standard form of citation should be used, including the title of each paper or book:

Jiang Q, Gresshoff PM. 1993. *Lotus japonicus*: a model plant for structure–function analysis in nodulation and nitrogen fixation. In: Gresshoff PM, ed. *Current topics of plant molecular biology*, Vol. II. Boca Raton, FL: CRC Press, 97–110.

N'tchobo H. 1998. Sucrose unloading in tomato fruits. II. Subcellular distribution of acid invertase and possible roles in sucrose turnover and hexose storage in tomato fruit. PhD thesis, Laval University, Canada, 87–118.

Richard C, Granier D, Inzé D, De Veylder L. 2001. Analysis of cell division parameters and cell cycle gene expression during the cultivation of *Arabidopsis thaliana* cell suspensions. *Journal of Experimental Botany* **52**, 1625–1633.

Only papers published or in press should be cited in the literature list. Unpublished results, including submitted manuscripts and those in preparation, should be cited as unpublished in the text. Journal titles should not be abbreviated but be given in full. Citation of articles from e-journals and journal articles published ahead of print should have the author names, year, manuscript title, journal title followed by the assigned digital object identifier (DOI) or the appropriate URL:

Parry MAJ, Andralojc PJ, Mitchell RAC, Madgwick PJ, Keys AJ. (March 14, 2003.) Manipulation of Rubisco: the amount, activity, function and regulation. *Journal of Experimental Botany* 10.1093/jxb/erg141.

Citation of other URL addresses (unless in reference to an e-journal) may be made in the text but should not be included in the reference list.

REVIEW PROCEDURE

A new submitted manuscript is sent to the relevant subject Associate Editor, who oversees the review process. Manuscripts are reviewed by two independent experts in the particular area. The reviewers will make a scientific assessment and recommendation to the Editors. In case of a disagreement, the Associate Editor may ask a third independent expert to assess the manuscript. Reviewers and Associate Editors remain unknown to authors. The Associate Editors will reach a final decision either to accept, accept with revision or to reject a manuscript. Rejected manuscripts with an invitation to re-submit will be considered as new submissions and undergo the full reviewing process at the Editors' discretion. Include a point by point response to reviewers with your re-submitted manuscript.

REVISED MANUSCRIPTS

Revised manuscripts should be received within four weeks of the date from when the invitation was sent; revised manuscripts received after this time will be considered as new submissions. Revised manuscripts should be accompanied by a detailed response letter on how all the concerns of the editor and referees have been addressed. Please give the exact page number(s), paragraphs(s), and line number(s) where each revision has been made, and copy this letter in 'Response to reviews' during submission.

Format for revised manuscript: Original source files are required to avoid delays if the manuscript is accepted. The main text must be provided as Microsoft Word. References, Figure legends, and Tables should be included in this Word file. Figures should be provided as .TIFF files. The minimum resolution for the figures is 300 dpi for tone or colour, 1200 dpi for line art at approximately the correct size for publication. Colour figures should be CMYK (Cyan-Magenta-Yellow-Black).

PERMISSION TO REPRODUCE FIGURES

Please note that if your manuscript (or supplementary material) includes any data in tables or figure(s) already published, you will need permission from the original publisher to reproduce them before your manuscript can be published. This includes figures adapted (modified or re-drawn) in any way from other publications. Permission to reproduce figures or data from other publications must be sought by authors at the time of acceptance. Please note that obtaining copyright permission could take some time. A copy of the permission document should be sent to the Production Editor, *Journal of Experimental Botany*, Oxford University Press, Great Clarendon Street, Oxford OX2 6DP. E-mail: JXB production office To seek copyright permission please contact the copyright permission department of the relevant journal or publisher.

OPEN ACCESS ARTICLES

Open Access articles are freely available online to all from the date of online publication. All primary papers whose corresponding author's institution has a full subscription to the *JXB* will be published Open Access. All material associated with that article will also be accessible to all. Authors from non-subscribing institutions can choose to make their article Open Access, and this in turn incurs a charge of £1500/\$2800/€2250. If authors choose not to pay the fee the article will remain under subscription access for one year, and during that time will only be accessible to those with a personal or institutional subscription or on a pay per view basis. After that time all online articles are freely accessible to all. Authors will be offered the Open Access option when their paper is accepted; For more information

PROOFS

Proofs will be sent electronically to the corresponding author as a .PDF file and will include illustrations set in the appropriate place in the type. The author should make a print copy and add any necessary typographical corrections before returning the corrected proofs by fax to Oxford University Press (+44 (0) 1865 355817) or e-mail (exbotj@oxfordjournals.org) within three days of receipt; otherwise the Editor reserves the right to correct the proofs and to send the material for publication. This is essential if all the material in a given issue is not to be delayed by the late receipt of one corrected proof.

OFFPRINTS AND UNIQUE URL

On publication of an article, corresponding authors will receive free of charge 25 reprints and a unique URL that gives access to both PDF and HTML versions of the paper. The free URL link may be mounted on the authors' home page or institutional web site. This URL links visitors to the *JXB* site and the complete version of the paper online with all functionality; it is accessible regardless of subscription status. Additional offprints may be purchased if required. Order forms are sent out with the proofs. Late orders submitted after the Journal has gone to press are subject to a 100% surcharge (to cover the additional printing cost).

Please note that orders from the UK will be subject to a 17.5% VAT charge. For orders from elsewhere in the EU you or your institution should account for VAT by way of a reverse charge. Please provide us with your or your institution's VAT number.

LICENCE TO PUBLISH

It is a condition of publication in the Journal that authors grant an exclusive licence to the Society for Experimental Biology. This ensures that requests from third parties to reproduce articles are handled efficiently and consistently and will also allow the article to be as widely disseminated as possible. In assigning the licence, authors may use their own material in other publications provided that the Journal is acknowledged as the original place of publication, and Oxford University Press, on behalf of the SEB, is notified in writing and in advance.

AUTHOR SELF-ARCHIVING/PUBLIC ACCESS POLICY

For information about this journal's policy, please visit our Author Self-Archiving policy page.

DISTRIBUTION OF MATERIALS

All authors publishing work in the *JXB* are expected to make novel materials used and described in the paper available for non-commercial research purposes. A statement concerning the availability, or restrictions on availability, should be included in the Materials and methods section of the paper. Whilst the *JXB* acknowledges that some materials such as enzymes, natural products, and antibodies require substantial effort to isolate, and that supplies may be limited, authors should be aware that it is up to the referees and editors to decide if stated restrictions on availability are reasonable.

CONFLICT OF INTEREST

The *Journal of Experimental Botany* requires that each author reveal any financial interests or connections, direct or indirect, or other situations that might raise the question of bias in the work reported or the conclusions, implications, or opinions stated, including pertinent commercial or other sources of funding for the individual author(s) or for the associated department(s) or organization(s), personal relationships, or direct academic competition. When considering whether you should declare a conflicting interest or connection please consider the conflict of interest test: Is there any arrangement that would embarrass you or any of your co-authors if it was to emerge after publication and you had not declared it?

VAT INFORMATION

Orders of offprints and copies from the UK will be subject to a 17.5% VAT charge. For orders from elsewhere in the EU you or your institution should account for VAT by way of a reverse charge. Please provide us with your or your institution's VAT number.

NIH FUNDING STATEMENTS

Funding information

The following rules should be followed:

- The sentence should begin: ‘This work was supported by ...’
- The full official funding agency name should be given, i.e. ‘National Institutes of Health’, not ‘NIH’ (full RIN-approved list of UK funding agencies)
- Grant numbers should be given in brackets as follows: ‘[grant number xxxx]’
- Multiple grant numbers should be separated by a comma as follows: ‘[grant numbers xxxx, yyyy]’
- Agencies should be separated by a semi-colon (plus ‘and’ before the last funding agency)
- 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: ‘This work was supported by the National Institutes of Health [AA123456 to C.S., BB765432 to M.H.]; and the Alcohol & Education Research Council [hfygr667789].’

‘Oxford Journals will deposit all NIH-funded articles in PubMed Central. See 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.’

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)