

**Universidade de São Paulo
Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”**

Influência do déficit hídrico no crescimento, acúmulo de carboidratos de reserva e na anatomia e ultra-estrutura do rizoma de *Costus arabicus* L. (Costaceae, Monocotiledoneae)

Vanessa Pires da Costa

Dissertação apresentada para obtenção do título de Mestre em Ciências. Área de concentração: Fisiologia e Bioquímica de Plantas

**Piracicaba
2010**

Livros Grátis

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

Milhares de livros grátis para download.

Vanessa Pires da Costa
Bacharel e Licenciada em Ciências Biológicas

Influência do déficit hídrico no crescimento, acúmulo de carboidratos de reserva e na anatomia e ultra-estrutura do rizoma de *Costus arabicus* L. (Costaceae, Monocotiledoneae)

Orientador:
Profa. Dra. **MARIA ANGELA MACHADO DE CARVALHO**

Dissertação apresentada para obtenção do título de Mestre em Ciências. Área de concentração: Fisiologia e Bioquímica de Plantas

Piracicaba
2010

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
DIVISÃO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - ESALQ/USP**

Costa, Vanessa Pires da

Influência do déficit hídrico no crescimento, acúmulo de carboidratos de reserva e na anatomia e ultra-estrutura do rizoma de *Costus arabicus* L. (Costaceae, Monocotiledoneae) / Vanessa Pires da Costa. - - Piracicaba, 2010.

91 p. : il.

Dissertação (Mestrado) - - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", 2010.
Bibliografia.

1. Amido 2. Anatomia vegetal 3. Bioquímica vegetal 4. Ecofisiologia vegetal 5. Estresse hídrico 6. Monocotiledôneas 7. Plantas medicinais 8. Plantas ornamentais I. Título

CDD 584.21
C837i

"Permitida a cópia total ou parcial deste documento, desde que citada a fonte – O autor"

À minha madrinha Marilena e ao meu namorado Jefferson,
por toda dedicação e carinho

OFEREÇO

Aos meus pais, Alvaro e Cristina, e irmão, Guilherme,
por todo amor, paciência e apoio

DEDICO

AGRADECIMENTOS

A realização deste trabalho só foi possível graças à colaboração de várias pessoas, as quais desejo expressar os meus sinceros agradecimentos.

- À Dra. Maria Angela Machado de Carvalho e ao Dr. Emerson Alves da Silva, meus orientadores, pela valiosa orientação, incentivo, paciência e ajuda.
- À Dra. Adriana Hissae Hayashi do Núcleo de Pesquisa (NP) em Anatomia e Morfologia do Instituto de Botânica de São Paulo (IBt), pela colaboração, ajuda e por toda dedicação.
- Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela bolsa concedida (564572/2008-0)
- À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pelos auxílios financeiros (processos FAPESP 2005/04139-7 e 2009/01570-0).
- À Coordenação do Programa de Pós-Graduação (PPG) em Fisiologia e Bioquímica de Plantas (ESALQ/USP), por ter possibilitado a realização do presente trabalho.
- Aos professores do PPG em Fisiologia e Bioquímica de Plantas (ESALQ/USP) pelos ensinamentos transmitidos.
- À chefe do NP em Fisiologia e Bioquímica do IBt, Dra. Marcia Braga, onde os experimentos foram realizados e aos demais pesquisadores científicos, especialmente a Dra. Rita de Cassia Figueiredo-Ribeiro pelas sugestões e carinho.
- À chefe do NP em Anatomia e Morfologia do IBt, Dra. Agnes Elisete Luchi, onde parte deste trabalho foi realizado, às demais pesquisadoras científicas Dra. Edenise Segala Alves e Dra. Solange Cristina Mazzoni-Viveiros, à oficial de apoio Maria Manoel e às alunas, pelo agradável convívio.
- Ao Dr. Rafael Vasconcelos Ribeiro por permitir a utilização do psicrômetro no Instituto Agrônomo (IAC) e aos doutorandos Daniela Machado e Ricardo Machado pelo auxílio e amizade.
- À Profa. Dra. Beatriz Apezato da Glória (ESALQ/USP) pela permissão em utilizar o Laboratório de Anatomia Vegetal e pelas contribuições prestadas.
- À Marli K. M. Soares, técnica do Laboratório de Anatomia Vegetal da ESALQ/USP, pelo auxílio prestado durante o preparo das amostras que foram analisadas sob a técnica de microscopia eletrônica de varredura.
- Aos professores Dr. Elliot Watanabe Kitajima e Dr. Francisco André Ossamu Tanaka, pela ajuda e permissão em utilizar o Laboratório do NAP/ MEPA (ESALQ/USP), e ao técnico Renato Salaroli.
- À Dra. Lucia Rossi do NP Curadoria do Herbário de São Paulo do IBt, pela identificação do material botânico.

- Aos funcionários do NP em Fisiologia e Bioquímica do IBt, Ana Alice, Aparecida, Helena e Mary Monteiro. Mary, obrigada pelas inúmeras ajudas, pelo seu carinho e amizade!
- À secretária do PPG em Fisiologia e Bioquímica de Plantas da ESALQ/USP, Maria Solizete Silva, pela competência, inúmeras vezes que me auxiliou e agradável convívio.
- À bibliotecária Eliana Garcia, da Divisão de Biblioteca e Documentação da ESALQ/USP, pela atenção e revisão desta dissertação.
- A todos os companheiros do NP em Fisiologia e Bioquímica pela agradável convivência, em especial: Dra. Amanda Asega, Dr. Danilo Centeno, Emanuela de Oliveira, Ms. João Paulo Naldi, Dra. Kelly Simão, Ms. Rodrigo Caccere, Rodrigo Fazani e Ms. Vanessa Oliveira pelas ajudas nas mais diversas situações, pelo apoio e amizade.
- Aos companheiros do PPG em Fisiologia e Bioquímica de Plantas da ESALQ/USP, principalmente às amigas Anielca, Maysa, Nathália e Thaís por tornarem as minhas idas à Piracicaba mais agradáveis, pelas hospedagens, pelas horas de estudo, ajudas, risadas e carinho.
- Às minhas "amigas doutoras" Amanda de Souza e Vanessa Rebouças e, às "amigas mestres" Juliana Iura, Ludmila Raggi, Paola Garcia e Tatiana Mescia por toda ajuda, carinho, sugestões e amizade ao longo de todos esses anos. Meninas, obrigada por tudo!
- Às minhas queridas amigas, não menos importantes, Ana Paula Oliveira, Cristiane Moreno, Gisele Queiroz, Roberta Moretto e Vanessa Antunes por tudo o que sempre fizeram por mim, fosse dentro do laboratório ou fora dele. Obrigada pelas inúmeras ajudas, amizade, carinho e companheirismo de sempre!
- Ao Nick e ao Pongo pelos momentos de descontração e carinho.
- Ao Marco Antonio Araújo pelo carinho, agradável convívio e pela sincera amizade.
- À Amanda Gaeta pelos socorros imediatos com o Photoshop e pelo carinho.
- A todos os meus parentes (tios, tias, primos e primas) pelo carinho e incentivo.
- Aos meus avós, Rubens e Darcy, por me receberem tão bem todas as semanas em sua casa, por toda a atenção e carinho.
- À minha querida madrinha Marilena pelo apoio, incentivo, carinho, dedicação e entusiasmo. Obrigada por se preocupar e cuidar de mim como a qual uma mãe faz!
- Ao Jefferson pelo amor, ajuda, carinho, compreensão, força, companheirismo e incentivo ao longo de todos esses anos. Obrigada por tornar a minha vida mais feliz!
- Ao meu querido irmão Guilherme pelo amor e por ser meu amigo e companheiro de todas as horas. Obrigada por sempre me incentivar e me fazer rir, mesmo nas horas mais difíceis!

- Aos meus pais, Alvaro e Cristina, pelo amor incondicional, dedicação, incentivo, zelo e valores transmitidos. Não tenho palavras para descrever o quanto eu amo e admiro vocês!
- A Deus, pelo dom da vida e, ao meu mentor individual, por sempre me acompanhar.
- A todos, que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho. Que mesmo não tendo sido citados, estarão sempre em minha memória e em meu coração.

"A persistência é o caminho do êxito".

"Bom mesmo é ir à luta com determinação, abraçar
a vida com paixão, perder
com classe e vencer com ousadia,
pois o triunfo pertence a quem se atreve...
A vida é muita para ser
insignificante".

"Se as coisas não saíram como planejei,
posso ficar feliz por ter hoje para recomeçar.
O dia está na minha frente
esperando para ser o que eu quiser.
E aqui estou eu,
o escultor que pode dar forma".

Charles Chaplin

SUMÁRIO

RESUMO.....	13
ABSTRACT	15
1 INTRODUÇÃO	17
2 DESENVOLVIMENTO	23
2.1 Material e Métodos.....	23
2.1.1 Material botânico e condições de cultivo.....	23
2.1.2 Parâmetros ecofisiológicos.....	24
2.1.3 Parâmetros bioquímicos.....	26
2.1.4 Microscopia de luz.....	29
2.1.5 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)	29
2.1.6 Análise estatística	30
2.2 Resultados	30
2.2.1 Primeiro experimento	30
2.2.2 Segundo experimento	48
2.3 Discussão.....	73
3 CONCLUSÕES	81
REFERÊNCIAS.....	83

RESUMO

Influência do déficit hídrico no crescimento, acúmulo de carboidratos de reserva e na anatomia e ultra-estrutura do rizoma de *Costus arabicus* L. (Costaceae, Monocotyledoneae)

Costus arabicus L. é uma espécie herbácea, nativa da Mata Atlântica, conhecida popularmente como costus, canela-de-ema, cana-do-brejo, cana-de-macaco e gengibre-espiral, que é comumente utilizada como planta ornamental e na medicina popular. O órgão subterrâneo (rizoma) dessa espécie acumula amido como principal carboidrato de reserva. O estresse hídrico por falta de água é um dos fatores ambientais mais importantes que podem regular o crescimento e desenvolvimento das plantas, limitando sua produção e levando também a alterações nas características fisiológicas, bioquímicas e anatômicas. Desse modo, a deficiência hídrica destaca-se como fator adverso ao crescimento e à produção vegetal por alterar a eficiência com que os fotoassimilados são convertidos para o crescimento e desenvolvimento das plantas. O objetivo deste trabalho foi avaliar a influência do déficit hídrico no crescimento e acúmulo de carboidratos de reserva em plantas de *Costus arabicus* L., assim como na anatomia e ultra-estrutura do rizoma. O déficit hídrico foi imposto às plantas em duas épocas diferentes (inverno e verão) através dos seguintes tratamentos: plantas irrigadas diariamente (controle) e irrigadas a cada 7 (7d) e 15 dias (15d). Foram avaliados a umidade do solo, o teor relativo de água nas folhas (TRA), o potencial hídrico foliar (Ψ_w), o potencial osmótico da seiva do rizoma (Ψ_s), crescimento vegetativo, teores dos açúcares solúveis totais (AST) e redutores (AR), amido, aminoácidos livres totais e prolina, assim como, aspectos anatômicos e ultra-estruturais do rizoma. A umidade do solo manteve-se praticamente constante nas plantas irrigadas diariamente e superior a das plantas irrigadas a cada 7 e 15 dias nos dois experimentos. O déficit hídrico afetou o crescimento de *Costus arabicus* e os menores valores de Ψ_w e Ψ_s das plantas tratadas coincidiu com os menores valores de massa seca e número total de folhas verdes e aumentos do número de folhas senescentes. O baixo teor de prolina presente nas plantas sob déficit hídrico sugere que esse aminoácido não atuou na osmorregulação dessas plantas. Os menores teores de AST, AR e a manutenção dos teores de amido nos rizomas, associados ao menor crescimento das plantas dos tratamentos 7d e 15d em relação às plantas controle, sugerem a ocorrência de dormência do órgão subterrâneo em resposta ao déficit hídrico imposto, evidenciando uma estratégia de evitação à seca. As análises anatômicas mostraram que o rizoma é revestido pela epiderme ou súber estratificado e que existe uma delimitação entre as regiões cortical e vascular. Também foi observada a presença de numerosos grãos de amido e de idioplastos com conteúdo fenólico no parênquima dessas duas regiões. Entre os tratamentos, os rizomas das plantas irrigadas a cada 7 dias apresentaram características anatômicas semelhantes aos das plantas controle. No entanto, nos rizomas das plantas irrigadas a cada 15 dias, as células do tecido de revestimento e das camadas corticais mais externas tornaram-se mais achatadas e com paredes sinuosas. Através das análises em microscópio eletrônico de varredura, observou-se que os grãos de amido das plantas irrigadas diariamente e daquelas submetidas ao déficit hídrico apresentaram os mesmos formatos.

Palavras-chave: Amido; Estresse hídrico; Evitação a seca

ABSTRACT

Effect of water deficit on growth, accumulation of reserve carbohydrates and anatomy and ultrastructure of the rhizome of *Costus arabicus* L. (Costaceae, Monocotyledoneae)

Costus arabicus L. is an herbaceous species, native to the Atlantic Forest, known popularly as costus, canela-de-ema, cana-do-brejo, cana-de-macaco and gengibre-espíral, that is commonly used as an ornamental plant and in popular medicine. The underground organ (rhizome) of this species accumulates starch as the main reserve carbohydrate. Water stress, due to low water availability, is one of the most important environmental factors that regulates plant growth and development, limiting the production and leading to changes in physiological, biochemical and anatomical features. Thus, water deficit stands out as a factor adverse to growth and crop production by altering the efficiency by which photoassimilates are converted for growth and development of plants. The aim of this study was to evaluate the effect of water deficit on growth and accumulation of reserve carbohydrates in plants of *Costus arabicus* L., as well as on the anatomy and ultrastructure of the rhizome. Water deficit was imposed on plants in two seasons (winter and summer) through the following treatments: daily irrigation (control) and irrigation every 7 (7d) and 15 days (15d). We evaluated soil moisture, relative water content in leaves (RWC), leaf water potential (Ψ_w), osmotic potential of sap from the rhizome (Ψ_o), vegetative growth, levels of total soluble sugars (TSS), reducing sugars (RS), starch, amino acids and proline, as well as anatomical and ultrastructural characteristics of the rhizome. Soil moisture remained mostly constant in irrigated plants and higher than that of plants irrigated every 7 to 15 days in both experiments. Water deficit affected plant growth; low values of Ψ_w and Ψ_o of treated plants coincided with the low values of dry weight and total number of green leaves and with increases in the number of senesced leaves. The low content of proline found in plants under water deficit suggests that this amino acid did not act in the osmoregulation of these plants. The lowest levels of TSS, RS and the maintenance of starch levels in rhizomes, associated with low rates of plant growth in treatments 7d and 15d, compared to control plants suggest the occurrence of dormancy of the underground organ in response to water deficit, indicating a strategy of drought avoidance. The anatomical analysis showed that the rhizome is covered by epidermis or stratified cork and there is a delimitation between the cortical and vascular regions. We detected the presence of numerous starch grains and idioblasts with phenolic content in the parenchyma of these two regions. The rhizomes of plants irrigated every 7 days showed anatomical features similar to control plants. However, in the rhizomes of plants irrigated every 15 days, the cells of covering tissue and of the outer cortical layers became more flattened and sinuous. Analysis of scanning electron microscopy showed that the starch grains of irrigated plants and of plants submitted to drought presented the same shape.

Keywords: Starch; Water stress; Drought avoidance

1 INTRODUÇÃO

O fenômeno “seca” é um dos principais fatores limitantes à produtividade, tanto em sistemas agrícolas quanto em ecossistemas naturais. Na natureza, a intensidade e a distribuição das chuvas definem o regime hídrico influenciando desde o crescimento e a produtividade dos indivíduos até a distribuição das populações e a biodiversidade dos ecossistemas. Neste cenário, as alterações climáticas previstas para os próximos anos devidas ao aquecimento global tornam críticos os estudos sobre o uso da água pelas espécies nativas, não apenas visando à conservação dos biomas, mas também para definir estratégias de recuperação de áreas já degradadas, uma vez que o estabelecimento das espécies é uma etapa crítica na recuperação dessas áreas.

O déficit hídrico decorrente da seca se estabelece quando a absorção de água pelo sistema radicular não atende às demandas da planta (FAN et al., 2006). Entre as principais demandas da planta estão dois processos essenciais ao crescimento vegetal: a fotossíntese e a transpiração da parte aérea. Antes que o déficit hídrico se estabeleça, as raízes têm que “sentir” a seca no solo e comunicar essa informação à parte aérea, o que gera uma resposta integrada da planta permitindo sua sobrevivência até que a disponibilidade de água aumente. Esta comunicação é feita por vários meios, além da redução no fluxo ascendente de água (DAVIES; ZHANG, 1991). Segundo esses autores, muitas dessas respostas envolvem a ação de genes, mas os avanços na biologia molecular serão poucos se não estiverem associados ao conhecimento da bioquímica e fisiologia de plantas sob déficit hídrico. Entender as alterações fisiológicas e bioquímicas induzidas pelo déficit hídrico é primordial, portanto, para entender as respostas da planta ao estresse e como essas alterações influenciam o crescimento e o desenvolvimento da planta.

O estresse hídrico por falta de água é um dos fatores ambientais mais importantes que podem regular o crescimento e desenvolvimento, limitando a produção (JONES; CORLETT, 1992) e levando também a alterações nas características fisiológicas e bioquímicas das plantas (ZOBAYED; AFREEN; KOZAI, 2007). Desse modo, a sobrevivência das plantas sob tais condições estressantes depende em grande extensão da habilidade que as mesmas têm de “perceber” o estímulo, gerar e transmitir

o sinal e iniciar várias alterações fisiológicas e bioquímicas (BOHNERT; JANSEN, 1996; SHINOZAKI; YAMAGUCHI-SHINOZAKI, 1997).

Cumprido ressaltar que, de modo geral, tais respostas levam primeiro à aclimação e, posteriormente, quando o estresse hídrico torna-se mais severo, ocorrem danos funcionais e perdas de parte das plantas (CHAVES; MAROCO; PEREIRA, 2003). Durante a fase de aclimação, o déficit hídrico resulta tipicamente em diminuições nas taxas de crescimento, devido à inibição da expansão celular e reduções na assimilação do carbono (OSORIO et al., 1998), bem como, na utilização dos carboidratos, por alterar, basicamente, a eficiência com que os fotoassimilados são convertidos para o desenvolvimento de partes novas na planta, ocasionando mudanças na partição dos carboidratos (HSIAO; XU, 2000) e condicionando as plantas a desenvolverem mecanismos de adaptação e tolerância à seca (JORDAN, 1983).

Existem vários tipos de respostas das plantas ao déficit hídrico, que concorrem para a manutenção do seu status hídrico e, por extensão, dos processos fisiológicos e bioquímicos vitais. Algumas dessas respostas incluem o acúmulo de solutos orgânicos de baixo peso molecular, também chamados de solutos compatíveis, em um processo conhecido como ajustamento osmótico (BAJJI; LUTTS; KINET, 2001). De forma a se aclimatar e/ou se adaptar a déficits hídricos de diferentes níveis de intensidade, as plantas podem acumular prolina (NAYYAR; WALIA, 2003; YAMADA et al., 2005) e outros aminoácidos livres (RAI, 2002; KUSAKA; OHTA; FUJIMURA, 2005), poliálcoois (RAMANJULU; BARTELS, 2002) e carboidratos (PELLESCHI; ROCHER; PRIOUL, 1997; CHAVES et al., 2002). De fato, entre esses solutos, os carboidratos são elementos-chave, pois podem ser armazenados tanto na forma de polissacarídeos com baixa atividade osmótica como o amido, quanto na forma de açúcares altamente solúveis e higroscópicos como a sacarose e hexoses (BUCKERIDGE et al., 2000; WHITTAKER et al., 2007).

Neste sentido é plausível que espécies acumuladoras de carboidratos em órgãos subterrâneos de reserva como tubérculos, rizomas, rizóforos e raízes espessadas possam, durante o seu crescimento, ter a síntese e o acúmulo desses carboidratos afetados pelo déficit hídrico, bem como utilizá-los na geração de compostos

osmoticamente ativos através da degradação em resposta a esse estresse do ambiente.

Existem vários trabalhos sobre os efeitos do déficit hídrico na fisiologia de órgãos aéreos e subterrâneos em plantas. No entanto, a maioria deles usa como modelo, mono ou dicotiledôneas de interesse agrônômico, tais como milho (SHARP; LENOBLE, 2002; SHARP et al., 2004; FAN; NEUMANN, 2004), trigo (ASSENG et al., 1998; MORILLON; LASSALLES, 2002; PIRO et al., 2003), grão-de-bico (BASU et al., 2007), mandioca (SANTISOPASRI et al., 2001) e batata (GEIGENBERGER et al., 1997). Especificamente no caso da batata (*Solanum tuberosum* L.), espécie que acumula amido como principal carboidrato de reserva em seus órgãos subterrâneos (tubérculos) e também uma das mais estudadas sob condições de estresse hídrico, os trabalhos realizados demonstram que a disponibilidade hídrica regula as taxas de síntese de amido e crescimento dos tubérculos (OPARKA; WRIGHT 1988a, b) e que tanto a síntese como a degradação do amido são alteradas sob condições de déficit hídrico, com respostas no geral associadas ao aumento nos níveis de açúcares solúveis e inibição da síntese de amido (GEIGENBERGER et al., 1997). De acordo com esses autores, a direção da via metabólica e a conversão de sacarose-amido representam uma estratégia importante, através da qual pode ocorrer nos tubérculos de batata a regulação do seu potencial osmótico interno, das suas relações hídricas e, por extensão, do seu crescimento, bem como da planta como um todo.

A despeito dessas informações, pesquisas sobre as respostas ao déficit hídrico em espécies nativas tropicais perenes de crescimento lento e que acumulam amido como carboidratos de reserva ainda são escassas.

Em nosso laboratório no Núcleo de Pesquisa em Fisiologia e Bioquímica do Instituto de Botânica de São Paulo, o papel dos carboidratos como marcadores de etapas específicas do desenvolvimento e como indicadores de respostas das plantas a estresses do ambiente vem sendo estudado. Pesquisas com plantas de *Vernonia herbacea* (Vell.) Rusby, uma espécie de cerrado que acumula frutano como principal carboidrato de reserva em seus órgãos subterrâneos (rizóforos), já demonstraram a função desses carboidratos como osmorreguladores em resposta ao déficit hídrico (DIAS-TAGLIACOZZO et al., 2004) e experimentos adicionais estão sendo realizados

de modo a demonstrar os mecanismos pelos quais os frutanos desempenham esse papel.

Com relação ao amido, sua ocorrência e metabolismo foram descritos para algumas monocotiledôneas tropicais de mata, como *Xanthosoma sagittifolium* (GRAZIANO; DIETRICH; FIGUEIREDO-RIBEIRO, 1992) e espécies de *Dioscorea* (CHU; FIGUEIREDO-RIBEIRO, 2002), porém, sua relação com a disponibilidade hídrica não foi investigada.

Ao revisar a literatura, observou-se que estudos anatômicos e ultra-estruturais detalhados com órgãos subterrâneos de espécies de monocotiledôneas relacionados com a deficiência hídrica no solo são escassos ou inexistentes. Apesar da importância de *Costus arabicus* L. como planta ornamental e medicinal, há carência de estudos sobre essa espécie. Os dados obtidos com a caracterização estrutural dos órgãos subterrâneos são de grande importância, pois podem subsidiar diferentes áreas da pesquisa, tais como a fisiologia e a bioquímica.

Uma abordagem combinada de parâmetros ecofisiológicos, bioquímicos e anatômicos pode fornecer informações novas e valiosas que facilitem o entendimento dos processos de regulação do acúmulo e utilização de carboidratos durante o crescimento e desenvolvimento de plantas nativas sob condições de déficit hídrico. Tais informações serão relevantes na criação de modelos de distribuição das espécies em resposta a alterações climáticas e na criação de modelos de recuperação de áreas degradadas.

Sendo assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar a influência do déficit hídrico no crescimento e acúmulo de carboidratos de reserva em plantas de *Costus arabicus* L., assim como na anatomia e ultra-estrutura do rizoma.

A espécie *Costus arabicus* L.

A família Costaceae pertence à ordem Zingiberales, que consiste de oito famílias de monocotiledôneas: Zingiberaceae, Costaceae, Marantaceae, Cannaceae, Lowiaceae, Musaceae, Heliconiaceae e Strelitziaceae (NAKAI, 1941 apud TOMLINSON, 1962; APG II, 2003; JUDD et al., 2009). Atualmente Costaceae e Zingiberaceae constituem um clado (JUDD et al., 2009). Porém, Costaceae já chegou a

ser classificada como uma subfamília (Costoideae) (SCHUMANN, 1904 apud TOMLINSON, 1956, 1962) e como uma tribo (Costeae) (HUTCHINSON, 1959 apud TOMLINSON, 1962) da família Zingiberaceae antes de ser elevada à categoria de família pela primeira vez por Nakai (1941).

Quatro gêneros constituem a família Costaceae: *Costus*, *Monocostus*, *Dimerocostus* e *Tapinochielas*, os quais são encontrados em áreas tropicais e subtropicais através do Novo e do Velho Mundo, em florestas pluviais e outros ambientes úmidos (STEVENSON; STEVENSON, 2004).

Plantas da família Costaceae já podem ser encontradas no comércio, sendo suas inflorescências utilizadas em arranjos florais. Atualmente, dentre os quatro gêneros citados, sem dúvida, o mais importante comercialmente é *Costus* (CASTRO, 1995), com aproximadamente 175 espécies (STEVENSON; STEVENSON, 2004). Segundo Wanderley et al. (2003), no Estado de São Paulo foram encontradas três espécies de *Costus*. O gênero *Costus* é composto por plantas altas ou acaulescentes (WANDERLEY et al., 2003). Suas folhas são distribuídas em arranjos espirais ao redor do caule e as inflorescências são estrobiláceas a capitadas, terminais em uma haste enfolhada ou em uma haste separada, curta, sem folhas. As brácteas possuem coloração verde, amarela ou alaranjada a avermelhada; são coriáceas, frequentemente providas de apêndices foliáceos de cor vermelha ou verde. A corola pode apresentar coloração branca, amarela, alaranjada ou vermelha. As sementes são pretas ou marrons brilhantes (CRILEY, 1995); no entanto, a maioria das espécies multiplica-se facilmente por estacas e por divisão de touceira (LORENZI; SOUZA, 1999).

Algumas espécies de *Costus*, além de serem cultivadas como ornamental, tanto para jardim como para produção de flor de corte podem ter suas folhas, hastes e rizomas empregados na medicina tradicional, como é o caso de *C. spiralis* (Jacq.) Roscoe, *C. cuspidatus* (Nee&Mart.) e *C. spicatus* (Jacq.). Às preparações são atribuídas propriedades depurativas, adstringentes e diuréticas (LORENZI; MATOS, 2002). Segundo esses autores, informações etnofarmacológicas registram o uso das raízes e rizomas como diuréticos, tônicos, enquanto o extrato da haste diluído em água tem uso contra gonorréia, sífilis, nefrite, laxante, problemas de bexiga e diabetes, embora a eficácia e segurança de seu uso ainda não tenham sido confirmadas

experimentalmente. Em sua composição química é registrada a presença de inulina, ácido oxálico, taninos, sistosterol, saponinas, sapogeninas, mucilagens e pectinas, sendo que uma ou mais saponinas têm a glicona diosgenina, que é uma substância usada como matéria prima importante para a síntese de hormônios esteroidais (LIN; HANQUET; DUBOIS, 1996; PARENTE; BERNARDO; SILVA, 2000). Além das propriedades medicinais, espécies de *Costus* também podem ser usadas como alimento, como por exemplo, os rizomas de *Costus speciosus* (Koenig) que são consumidos pelos indianos (CORRÊA, 1984; VIMALA; NAMBISAN, 2005).

Costus arabicus L. é uma espécie herbácea, nativa da Mata Atlântica comumente utilizada como planta ornamental (CASTRO, 1995) e na medicina popular (OLIVEIRA et al., 2008) que acumula amido como principal carboidrato de reserva (SANTOS, 2009). Essa espécie ocorre nas Antilhas e América do Sul tropical em florestas úmidas, florestas de beiras de rios, florestas de margem de rodovias, plantações de cacau e em locais úmidos, em geral ao nível do mar (WANDERLEY et al., 2003) e é conhecida popularmente como costus, canela-de-ema, cana-do-brejo, cana-de-macaco e gengibre-espiral (LORENZI; SOUZA, 1999). É uma planta que apresenta de 1,0 a 3,0 metros de altura, caules às vezes ramificado, folhas dispostas em espiral ao longo do caule, alongadas, espessas, brilhantes e acetinadas na face abaxial e inflorescências densas, cilíndricas, com brácteas vermelhas, vistosas, com flores brancas, formadas no decorrer do ano todo (WANDERLEY et al., 2003; LORENZI; SOUZA, 1999).

2 DESENVOLVIMENTO

2.1 Material e Métodos

2.1.1 Material botânico e condições de cultivo

Foram utilizadas plantas de *Costus arabicus* L., obtidas por propagação vegetativa dos órgãos subterrâneos (rizomas) de plantas provenientes do Núcleo de Pesquisa (NP) em Fisiologia e Bioquímica do Instituto de Botânica de São Paulo (IBt-SP). O material botânico foi coletado no canteiro experimental (23°38'S e 46°37'W), herborizado e identificado, sendo a exsicata incorporada ao Herbário do Instituto de Botânica: BRASIL. SÃO PAULO: São Paulo, 10-II-2010, V. P. Costa 247 (SP 420025).

Os rizomas das plantas matrizes foram fragmentados e plantados em vasos individuais de 20 litros contendo terra vegetal como substrato. As plantas foram cultivadas na casa de vegetação do NP acima referido e irrigadas diariamente com água corrente, recebendo solução nutritiva de Clarck (CLARK, 1975) uma vez por semana.

A imposição do déficit hídrico foi realizada em duas épocas: entre os meses de junho a agosto de 2007, que compreende o período seco e frio (primeiro experimento - inverno) e entre os meses de janeiro a março de 2009, que compreende o período quente e úmido (segundo experimento - verão).

A partir do 6º mês de cultivo, o déficit hídrico foi imposto às plantas através dos seguintes tratamentos: plantas irrigadas diariamente (controle) (Figura 1), irrigadas a cada 7 (7d) e 15 dias (15d).

Para as análises ecofisiológicas e bioquímicas, os dois experimentos foram dispostos em delineamento inteiramente casualizados com cinco e quatro repetições por tratamento por coleta, respectivamente, sendo realizadas 6 coletas ao longo de 3 meses.

No segundo experimento, além das análises dos parâmetros ecofisiológicos e bioquímicos, foi realizado o estudo anatômico e ultra-estrutural do rizoma. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com três tratamentos (controle, 7d e 15d) e três repetições (plantas) por tratamento por coleta. As coletas ocorreram

aos 15, 45 e 75 dias após a imposição do déficit hídrico, sendo as amostras de rizoma coletadas a 5 cm de distância do fragmento do rizoma que deu origem a nova planta.

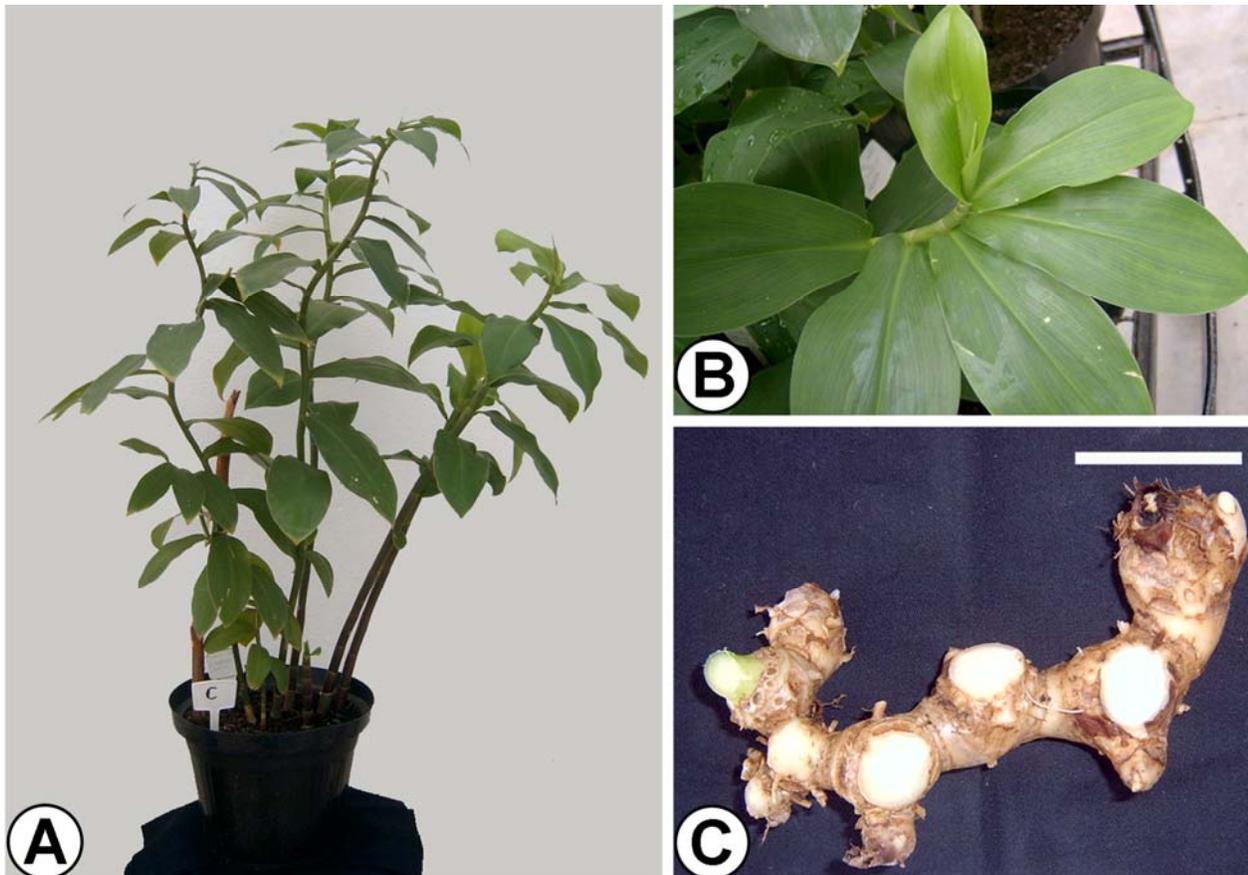


Figura 1 – Planta de *Costus arabicus* L. irrigada diariamente (controle). **A.** Aspecto geral. **B.** Caule aéreo. **C.** Caule subterrâneo (rizoma). Barra: C = 5 cm

2.1.2 Parâmetros ecofisiológicos

Teor de umidade do solo (U%)

Amostras de solo foram obtidas com auxílio de um anel volumétrico (100,08 cm³) no momento da coleta das plantas, sendo imediatamente pesadas para obtenção do peso fresco (PF). Em seguida, as amostras foram mantidas em estufa a 70°C por 72h, sendo novamente pesadas para obtenção do peso seco (PS). O teor de umidade do solo (U%) foi determinado pelo método gravimétrico (BLAKE, 1965) através da seguinte equação: $U (\%) = (PF - PS / PS) \times 100$

Teor Relativo de Água (TRA)

As mesmas folhas utilizadas para medidas do potencial da água foram imediatamente pesadas (g) em uma balança digital analítica para a obtenção do peso fresco da folha (PFf). Em seguida, essas folhas foram submersas por 24 horas em Becker contendo água destilada e pesadas novamente para obtenção do peso túrgido da folha (PTf). Posteriormente as folhas foram colocadas em uma estufa a 60°C por 72h para a obtenção do peso seco da folha (PSf).

O teor relativo de água (TRA) foi calculado conforme descrito por Weatherley (1950) através da fórmula: $TRA (\%) = (PFf-PSf/PTf-PSf) \times 100$

Potencial da água (Ψ_w) e potencial osmótico (Ψ_s)

De forma a quantificar a intensidade do déficit hídrico imposto às plantas nos diferentes tratamentos, foram realizadas medidas do potencial da água da terceira folha totalmente expandida a partir do ápice das plantas. As medidas do Ψ_w foram realizadas às 06:00 horas através de uma bomba de pressão tipo Scholander, Modelo 1000 (PMS Instrument Co., UTAH, EUA).

O suco celular dos rizomas foi coletado, armazenado em tubo tipo *ependorf* e mantido a -20°C até o momento de realizar as medidas de Ψ_s . No primeiro experimento, utilizou-se um microvoltímetro modelo HR-33T (Wescor, EUA) do Laboratório de Fisiologia Vegetal do Instituto Agrônomo de Campinas (IAC). Através do método higrométrico, as amostras foram colocadas e lidas em câmaras psicrométricas modelo C-52 (Weser). No segundo experimento, um osmômetro de pressão de vapor modelo 5520 (VAPRO) foi utilizado para obtenção dos valores de Ψ_s . Foram utilizados 10 μ L de suco celular em cada medida.

Crescimento vegetativo

As plantas foram avaliadas quanto aos seguintes parâmetros: número de folhas, número de folhas senescentes, área foliar total, massa seca (MS) de folhas, caules, raízes e rizomas. A área foliar foi determinada apenas no segundo experimento através de um medidor de área foliar modelo Li-3000 (Li-Cor, Nebraska, EUA). A análise deste

parâmetro não foi feita aos 75 dias. A massa de matéria seca foi obtida após secagem em estufa à 70°C por 72 horas.

2.1.3 Parâmetros bioquímicos

Extração de carboidratos solúveis

A extração de carboidratos solúveis foi realizada segundo Carvalho, Pinto e Figueiredo-ribeiro (1998) com modificações. Para a quantificação dos carboidratos solúveis, amostras de folhas, raízes e rizomas de *C. arabicus* foram coletadas e imediatamente congeladas em nitrogênio líquido. Após a coleta, as amostras foram liofilizadas e posteriormente pulverizadas em moinho de bola. Aproximadamente 500mg de cada material (folha, raiz e rizoma) foi submetido, em separado, à extração em 10 mL de etanol 80% e mantidas em banho-maria a 80°C por 15 minutos, sendo então centrifugadas a 700 g por 15 minutos. Os resíduos foram re-extraídos mais duas vezes em etanol 80% a 80°C por 15 minutos, e novamente centrifugados, sendo os sobrenadantes das três extrações etanólicas reunidos. Os resíduos finais foram submetidos a duas extrações aquosas de 10 mL cada a 60°C por 30 minutos e filtrados à vácuo em tecido de algodão. Os sobrenadantes etanólicos e aquosos foram reunidos e concentrados em rotoevaporador a 40°C. O resíduo restante após filtragem foi mantido a -20°C para posterior dosagem do amido.

Análises quantitativas dos carboidratos solúveis

A análise quantitativa dos açúcares solúveis totais (AST) dos extratos de folha, raiz e rizoma foi realizada através do método colorimétrico do fenol sulfúrico (DUBOIS et al., 1956), utilizando-se glucose (Sigma) como padrão. A leitura da absorbância foi realizada em espectrofotômetro, regulado para um comprimento de onda de 490 nm.

Os conteúdos de açúcares redutores (AR) dos extratos de folha, raiz e rizoma foram analisados colorimetricamente de acordo com o método Somogyi (1945), utilizando-se glucose (Sigma) como padrão. A leitura da absorbância foi realizada em espectrofotômetro, em comprimento de onda de 595 nm.

Os teores estimados de açúcar foram obtidos através de cálculos baseados nas equações da reta que foram geradas a partir das curvas padrões.

Análises qualitativas dos carboidratos solúveis

A composição dos açúcares solúveis totais (AST) nas folhas e rizomas foi avaliada nos extratos etanólicos e aquosos obtidos e reunidos após a extração de carboidratos solúveis.

Alíquotas de 3 mL de cada extrato foram submetidas à purificação em colunas de troca iônica, utilizando-se as resinas catiônica Dowex 50x8 (100-200 mesh) e aniônica Dowex 1x8 (52-100 mesh). A eluição dos açúcares foi feita com água deionizada e as amostras recolhidas das colunas de troca iônica tiveram seu pH ajustado para 7,0 com hidróxido de amônio (0,4M). Após o ajuste do pH de cada amostra, estas foram liofilizadas e ressuspensas em 1,0 mL de água deionizada. Em seguida, uma nova dosagem dos AST pelo método fenol-sulfúrico (DUBOIS et al., 1956) foi realizada para ajustar a concentração de cada amostra para $400 \mu\text{g mL}^{-1}$ (CARVALHO; Z Aidan; DIETRICH, 1997). Foram realizadas análises por cromatografia aniônica de alta resolução com detector de pulso amperométrico (HPAEC/PAD) em coluna Carbo-Pac PA1 em sistema Dionex ICS 3000. Os monossacarídeos neutros foram eluídos isocriticamente com 100 mM de hidróxido de sódio, com fluxo de $0,25 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ e identificados por comparação dos tempos de eluição com padrões comerciais de mio-inositol, glicose, frutose e sacarose. O tempo de corrida foi de 30 minutos.

Extração e quantificação de amido

Os resíduos restantes da extração exaustiva dos AST em etanol 80% foram liofilizados, macerados e submetidos à quantificação de amido pelo método enzimático (AMARAL et al., 2007).

A 10 mg de resíduo liofilizados de cada amostra, foram adicionados 0,5 mL (120 U mL^{-1}) de alfa-amilase termoestável de *Bacillus licheniformis* (Megazyme ®), diluída em tampão MOPS [ácido 3-(n-morfolino) propanosulfônico] 10 mM pH 6,5. A seguir, as amostras foram incubadas a 75°C por 30 minutos. Este procedimento foi repetido mais uma vez, totalizando 120 unidades de enzima. As amostras foram resfriadas até 50°C (em banho-maria), sendo então adicionada uma solução contendo 0,5 mL (30 U mL^{-1}) de amiloglicosidase (AMG) de *Aspergillus niger* (Megazyme ®), em tampão acetato de sódio 100 mM, pH 4,5, seguido por incubação das amostras a 50°C por 30 minutos.

Este procedimento foi repetido mais uma vez, totalizando 30 unidades de enzima. Após as quatro incubações descritas acima, foram acrescentados 100 µL de ácido perclórico 0,8M para interromper a reação e precipitar proteínas. Em seguida, foi realizada uma incubação por 15 minutos a 30°C com GODPOD (Glicose PAP Liquiform/ Centerlab ®), e o teor de glucose foi determinado em leitor de microplacas de ELISA a 490 nm. A curva padrão foi obtida a partir de concentrações crescentes de glucose.

Análise quantitativa dos aminoácidos livres totais e prolina livre

Os aminoácidos livres foram quantificados nas frações etanólicas e aquosas de folhas, raízes e rizomas, obtidas e reunidas após a extração de carboidratos solúveis conforme metodologia descrita por Cocking e Yemm (1954). Alíquotas diluídas em volume final de 1 mL foram colocadas em tubos de ensaio e a elas foi adicionado 0,5 mL de tampão 0,2M citrato pH 5; 0,2 mL de ninhidrina (5% ninhidrina em metilcelusolve) e 1 mL de KCN (2 mL de KCN 0,01M em 98 mL de metilcelusolve). Em seguida, os tubos foram agitados, vedados e mantidos a 100°C por 20 minutos em banho-maria. Os tubos foram então resfriados no ambiente e 1 mL de etanol 60% foi adicionado em cada tubo. Utilizou-se leucina como padrão e a leitura da absorbância foi realizada em espectrofotômetro, regulado para um comprimento de onda de 570 nm. O teor estimado de aminoácidos livres totais foi calculado após a obtenção da equação da reta.

A prolina livre foi quantificada conforme Bates, Waldren, Teare (1973) com pequenas modificações. Alíquotas de 2 mL das frações etanólicas e aquosas de folhas, raízes e rizomas, obtidas e reunidas após a extração de carboidratos solúveis foram colocadas em tubos de ensaio e a elas foi adicionado ninhidrina ácida (1,25 g de ninhidrina; 30 mL de ácido acético glacial e 20 mL de ácido fosfórico 6 M) e ácido acético glacial concentrado. Os tubos, hermeticamente fechados, foram agitados e levados ao banho-maria (100 °C) durante 1 hora. Após esse período, a reação foi interrompida por meio de banho de gelo. Adicionou-se 4 mL de tolueno à reação e cada tubo de ensaio foi agitado por aproximadamente 15 segundos. Após essa etapa, duas fases se formaram, tendo sido a fase superior (cromóforo + tolueno), de coloração avermelhada, recuperada e submetida a uma leitura em espectrofotômetro, a 520 nm.

Uma curva padrão foi construída a partir de concentrações crescentes de L-prolina e através da equação da reta foi possível estimar o teor de prolina livre das amostras.

2.1.4 Microscopia de luz

Amostras do rizoma de três indivíduos de cada tratamento em cada coleta foram fixadas em solução de Karnovsky (KARNOVSKY, 1965), levadas a uma bomba de vácuo para retirada do ar contido nos tecidos e armazenadas em etanol 70%. Posteriormente, foram desidratadas em série etílica, infiltradas e incluídas em resina plástica hidróxi-etil-metacrilato (Leica Historesin). Os blocos obtidos foram seccionados transversalmente em micrótomo rotativo (7-9 μm de espessura) e as secções foram coradas com azul de toluidina (SAKAI, 1973) em tampão fosfato e citrato (McILVAINE, 1921) pH 4,5 para montagem de lâminas histológicas permanentes em resina sintética "Entellan". A observação dos grãos de amido foi realizada sob luz polarizada.

Secções obtidas no micrótomo rotativo também foram submetidas ao lugol (BERLYN; MIKSCHE, 1976) para evidenciar a presença de amido e ao Sudan IV (JENSEN, 1962) para a localização das substâncias lipofílicas. Para as amostras fixadas em sulfato ferroso em formalina (JOHANSEN, 1940), foram feitos cortes à mão-livre in situ para a localização dos compostos fenólicos totais.

A captura de imagens digitais dos materiais preparados em lâminas foi realizada em microscópio Leica DM LB equipado com câmera de vídeo Leica DC 300F. As escalas micrométricas foram obtidas nas mesmas condições ópticas utilizadas.

2.1.5 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

Amostras do rizoma de três indivíduos de cada tratamento em cada coleta foram fixadas em solução de Karnovsky (KARNOVSKY, 1965), desidratadas em série etílica, secas pelo método do ponto crítico de CO_2 (HORRIDGE; TAMM, 1969) no equipamento Balzers modelo CPD 030. Posteriormente, as amostras foram montadas sobre suportes de alumínio e metalizadas com ouro coloidal por 210 segundos no equipamento Balzers modelo SCD 050. As observações e as eletromicrografias foram feitas ao microscópio eletrônico de varredura LEO modelo VP 435, operado a 20kV, com as escalas diretamente impressas nas mesmas.

2.1.6 Análise estatística

Dados dos parâmetros ecofisiológicos (teor de umidade do solo, teor relativo da água, potencial da água e potencial osmótico) e dos parâmetros bioquímicos (análises de açúcares solúveis totais e redutores, amido, aminoácidos livres totais e prolina livre) foram submetidos à análise de variância (ANOVA), sendo todo e qualquer contraste entre médias avaliados pelo teste de Tukey em nível de 5% de probabilidade, utilizando-se o pacote estatístico BioEstat 2.0 (AYRES et al., 2000). Testes de normalidade foram realizados previamente. Em adição foi utilizada a estatística descritiva.

2.2 Resultados

2.2.1 Primeiro experimento

O teor de umidade do solo (TU Solo) manteve-se praticamente constante nos vasos controle, com valores superiores a 64%, durante todo o experimento. Porém, o déficit hídrico imposto às plantas proporcionou valores de umidade de até 21% e 10% nos solos submetidos à irrigação a cada 7 e 15 dias, respectivamente, aos 67 dias após o início do experimento (Figura 2).

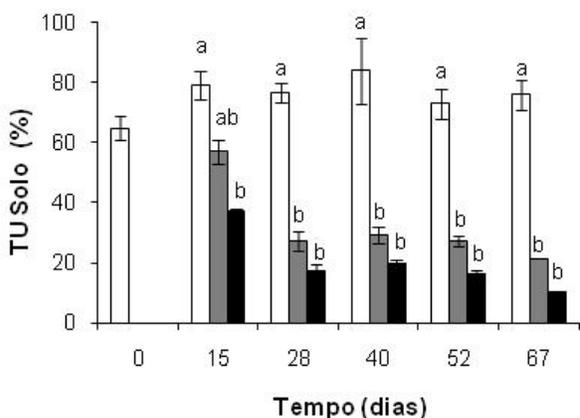


Figura 2 – Teor de umidade do solo (TU Solo) no controle (□) e nos tratamentos de irrigação a cada 7 (■) e 15 dias (■). As barras indicam o erro padrão da média (n=5). Médias seguidas de mesma letra em cada tempo de coleta não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey em nível de 5% de probabilidade

O déficit hídrico levou à redução dos potenciais hídrico e osmótico das plantas, sendo os menores valores de potencial hídrico das folhas ($\Psi_w = -0,62$ MPa) e potencial osmótico do rizoma ($\Psi_s = -0,91$ MPa) observados nas plantas do tratamento 15d. O teor relativo de água (TRA) manteve-se praticamente constante com valores superiores a 90% durante todo o experimento a despeito das reduções nos Ψ_w (Figura 3 A-C).

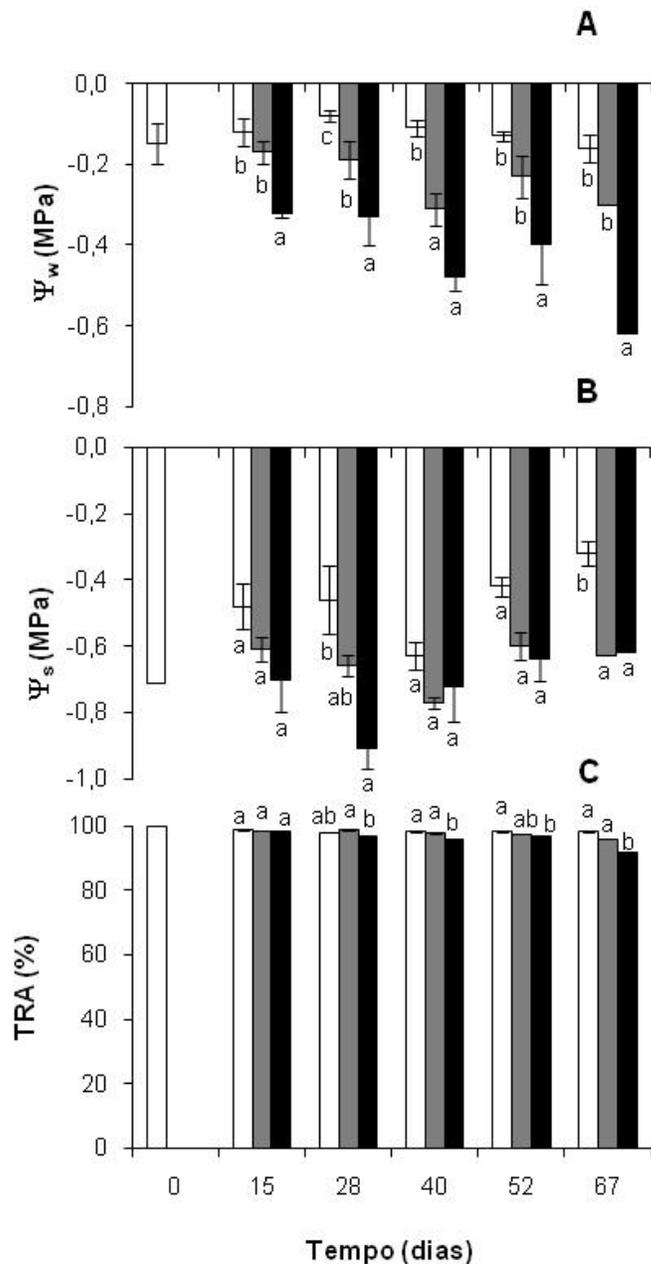


Figura 3 – Potencial hídrico das folhas (Ψ_w) (A), potencial osmótico do rizoma (Ψ_s) (B) e teor relativo de água (TRA) (C) em plantas de *Costus arabicus* irrigadas diariamente - controle (\square) e irrigadas a cada 7 (\blacksquare) e 15 dias (\blacksquare). As barras indicam o erro padrão da média (n=5). Médias seguidas de mesma letra em cada tempo de coleta não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey em nível de 5% de probabilidade

Os tratamentos 7d e 15d influenciaram o acúmulo de massa seca (MS) nas folhas. Desde o início do experimento, o conteúdo de MS nas plantas controle foi maior do que nas plantas tratadas. Aos 67 dias, o valor de MS das plantas sob rega diária chegou a 18g enquanto que, nas plantas submetidas ao déficit hídrico esse valor foi inferior a 9g (Figura 4A).

No 67º dia (Figura 4B) as plantas controle apresentaram, aproximadamente, o dobro do conteúdo de MS de caule (36,20g) quando comparadas com as plantas tratadas (14,98g).

A MS das raízes das plantas irrigadas diariamente manteve-se praticamente constante até os 52 dias e foi mais elevada do que a MS das plantas irrigadas a cada 7 e 15 dias durante todo o experimento (Figura 4C).

No rizoma, a MS encontrada foi mais elevada do que na folha e na raiz. Assim como observado nos outros órgãos, aos 67 dias de experimento a MS das plantas controle foi superior a das plantas tratadas (Figura 4D).

Com relação à MS total, as plantas sob rega diária apresentaram MS mais elevada do que as plantas tratadas, aos 15, 40 e 67 dias. No 67º dia registrou-se, aproximadamente, o dobro do conteúdo de MS nas plantas irrigadas diariamente (77,20g) quando comparadas com as plantas submetidas à irrigação a cada 15 dias (36,04g) (Figura 4E).

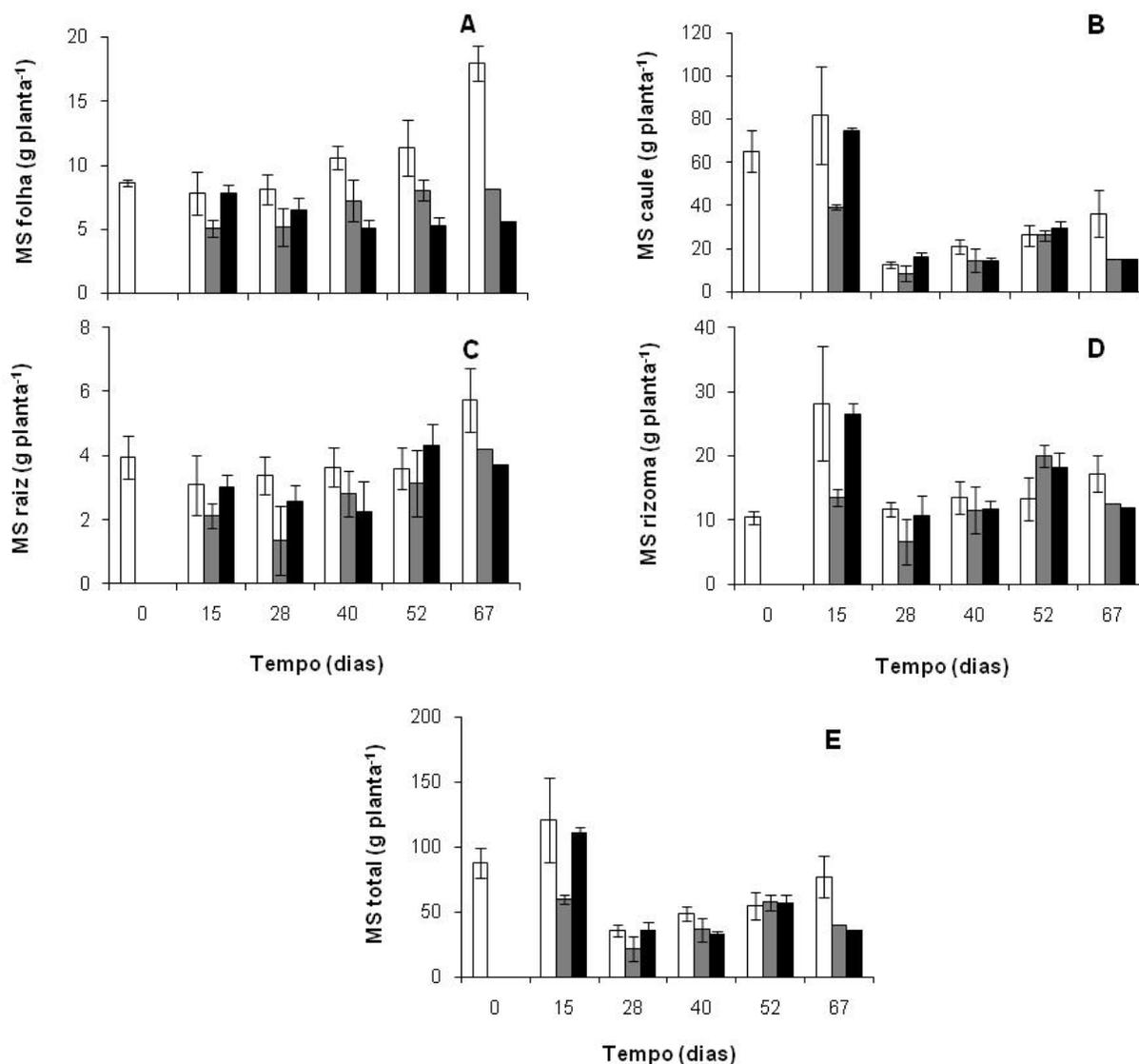


Figura 4 – Conteúdo de massa seca (MS): folhas (A), caules (B), raízes (C), rizomas (D) e total (E) em plantas de *Costus arabicus* irrigadas diariamente - controle (□) e irrigadas a cada 7 (■) e 15 dias (■). As barras indicam o erro padrão da média (n=5)

As plantas controle apresentaram maior número de folhas a partir do 28º dia. Por outro lado, a partir deste dia, houve uma manutenção e/ou diminuição do número de folhas nas plantas tratadas. Aos 67 dias, o número de folhas nas plantas que foram irrigadas diariamente foi de 113, enquanto que nas plantas dos tratamentos 7d e 15d, esses números foram de 54 e 37, respectivamente (Figura 5A).

Na figura 5B é possível observar que, a partir do 40º dia de experimento, ocorreu senescência de algumas folhas, principalmente nas plantas tratadas. O número de folhas senescidas variou de 12 a 33 nas plantas sob déficit hídrico e não ultrapassou o

valor de 2 folhas nas plantas controle ao longo do experimento.

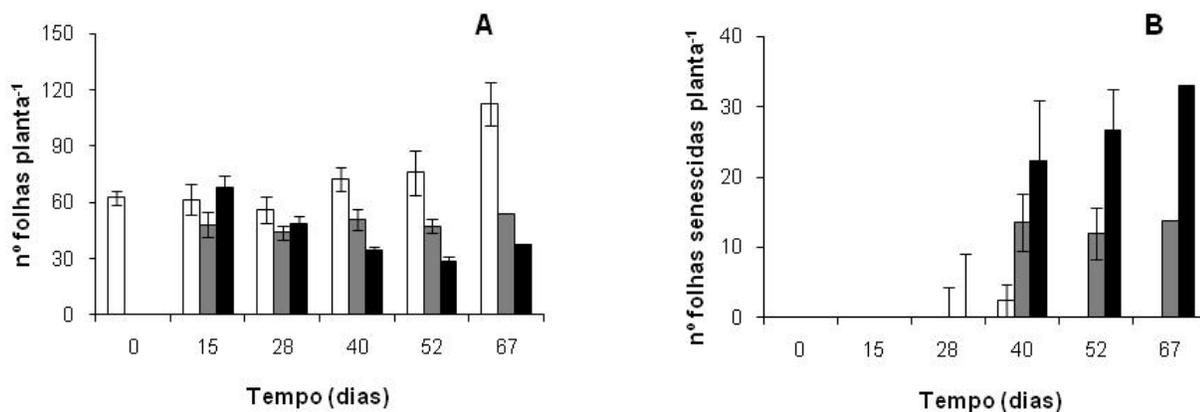


Figura 5 – Número médio de folhas (A) e de folhas senescidas (B) em plantas de *Costus arabicus* irrigadas diariamente - controle (□) e irrigadas a cada 7 (■) e 15 dias (■). As barras indicam o erro padrão da média (n=5)

Portanto, é possível notar que, ao final do experimento, as plantas irrigadas a cada 7 e 15 dias apresentaram folhas senescidas, enquanto que, nas plantas controle, o processo de senescência, em geral, não ocorreu (Figura 6).



Figura 6 – Plantas de *Costus arabicus* 67 dias após o início do experimento. A partir da esquerda: plantas irrigadas diariamente (controle), irrigadas a cada 7 (7d) e 15 dias (15d). Observar o número de folhas senescidas nas plantas submetidas ao déficit hídrico

O conteúdo de açúcares solúveis totais (AST) nas folhas manteve-se, em geral, constante nas plantas controle e nas plantas dos tratamentos 7d e 15d. Uma diferença significativa de aproximadamente 10 mg g^{-1} MS nesse conteúdo foi observada no 40º dia entre as plantas irrigadas diariamente e as plantas irrigadas a cada 15 dias (Figura 7A).

A concentração de AST nas raízes não apresentou variações significativas em nenhum dos grupos de plantas durante todo o experimento e também não se observou diferença estatisticamente significativa entre eles (Figura 7B).

Os teores de AST foram em geral maiores nos rizomas das plantas sob rega diária durante todo o período experimental. Entretanto, observaram-se diferenças estatisticamente significativas entre os diferentes grupos de plantas apenas após o 28º dia. Os menores conteúdos de AST dos tratamentos 7d e 15d ($50,65 \text{ mg g}^{-1}$ MS e $64,48 \text{ mg g}^{-1}$ MS, respectivamente) foram registrados aos 52 dias, enquanto que, o maior teor desses açúcares nas plantas controle foi verificado no 67º dia ($194,79 \text{ mg g}^{-1}$ MS) (Figura 7C).

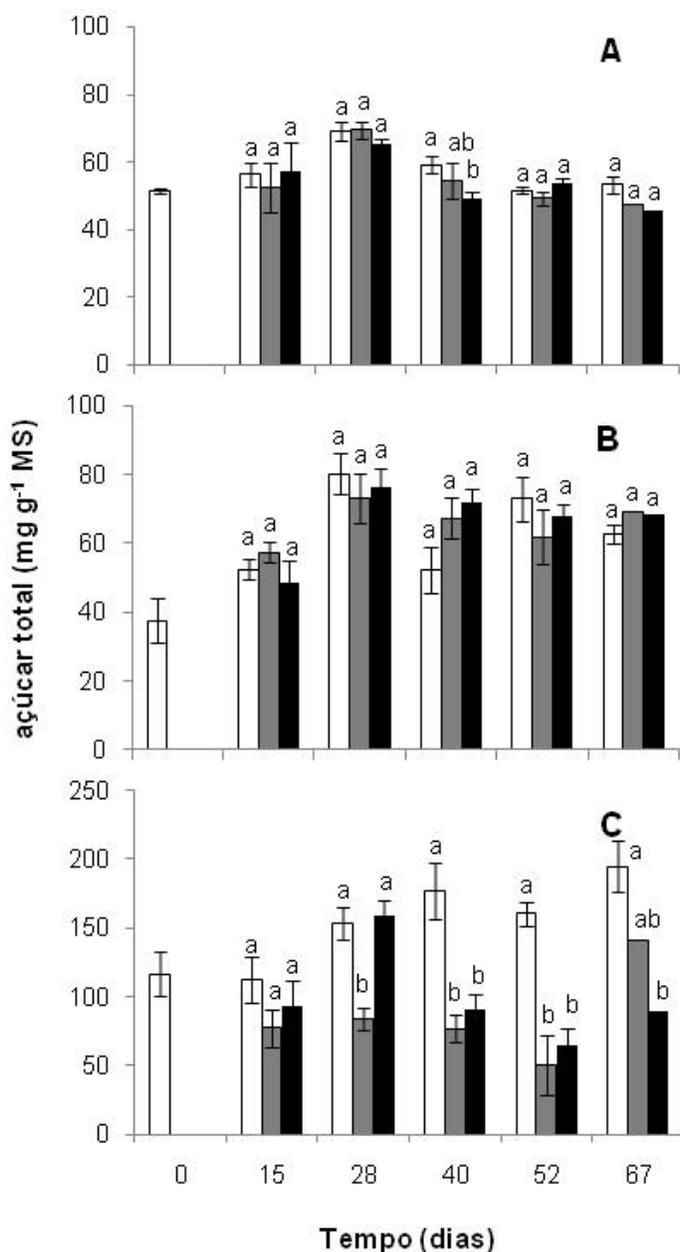


Figura 7 – Conteúdo de açúcares solúveis totais (AST) em folhas (A), raízes (B) e rizomas (C) em plantas de *Costus arabicus* irrigadas diariamente - controle (□) e irrigadas a cada 7 (■) e 15 dias (■). As barras indicam o erro padrão da média (n=5). Médias seguidas de mesma letra em cada tempo de coleta não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey em nível de 5% de probabilidade

A figura 8 mostra o teor de açúcares redutores (AR) em folhas, raízes e rizomas ao longo do experimento. Aos 67 dias este foi significativamente mais elevado nas folhas de plantas irrigadas diariamente (42,53 mg g⁻¹ MS) do que nas de plantas irrigadas a cada 7 (34,12 mg g⁻¹ MS) e 15 dias (32,26 mg g⁻¹ MS) (Figura 8A).

Aos 52 dias, as raízes de plantas irrigadas diariamente apresentaram quase o dobro do teor desses açúcares ($15,36 \text{ mg g}^{-1} \text{ MS}$) quando comparadas com as plantas que ficaram sem água por 7 dias ($8,18 \text{ mg g}^{-1} \text{ MS}$). Nos demais dias do experimento, a concentração de AR nas raízes foi semelhante nos três grupos de plantas (Figura 8B).

O conteúdo de AR nos rizomas foi maior nas plantas controle desde o início do experimento, e este foi aumentando ao longo dos dias. No 52º dia observou-se a maior diferença entre as plantas controle e as tratadas: as plantas irrigadas diariamente apresentaram uma concentração 16 vezes maior de AR ($117,10 \text{ mg g}^{-1} \text{ MS}$) do que as plantas dos tratamentos 7d ($7,87 \text{ mg g}^{-1} \text{ MS}$) e 15d ($7,18 \text{ mg g}^{-1} \text{ MS}$) (Figura 8C).

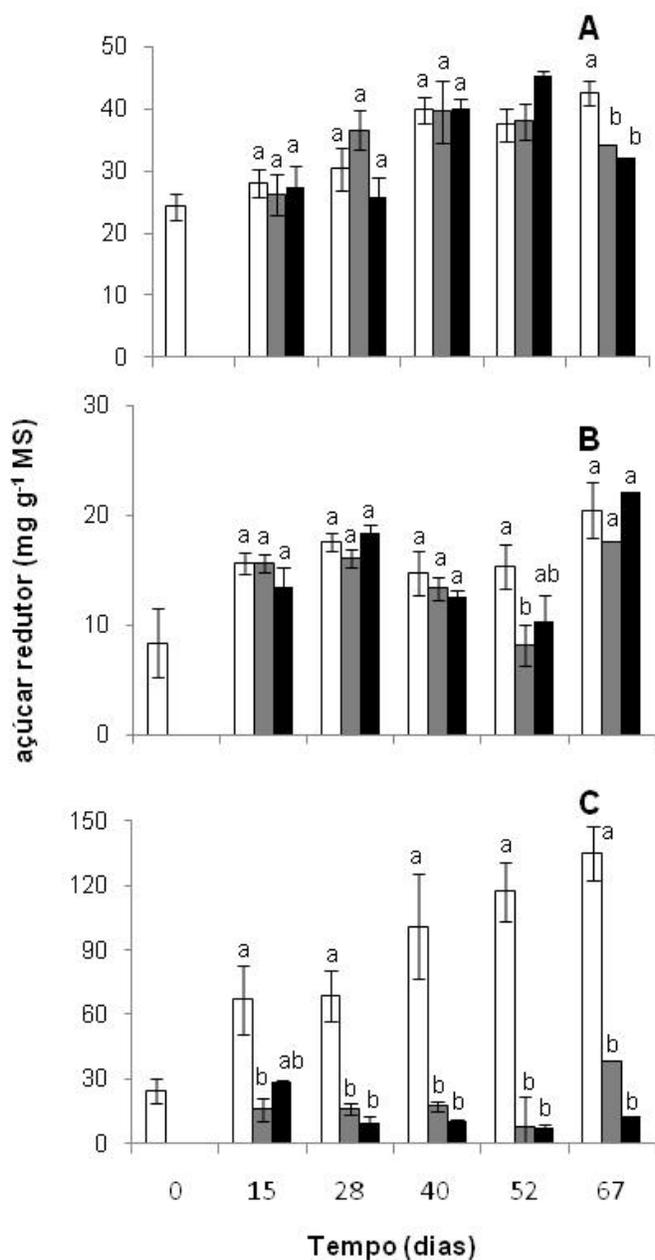


Figura 8 - Conteúdo de açúcares redutores (AR) em folhas (A), raízes (B) e rizomas (C) em plantas de *Costus arabicus* irrigadas diariamente - controle (□) e irrigadas a cada 7 (■) e 15 dias (■). As barras indicam o erro padrão da média (n=5). Médias seguidas de mesma letra em cada tempo de coleta não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey em nível de 5% de probabilidade

A concentração de amido nas folhas das plantas sob rega diária foi, em geral, mais elevada do que nas folhas das plantas tratadas, durante todo o experimento e foi significativamente maior aos 15 e 40 dias quando comparado com as plantas dos tratamentos 7d e 15d (Figura 9A).

O teor de amido nas raízes foi, em geral, mais baixo durante todo o experimento, quando comparado ao teor nas folhas e, principalmente, nos rizomas. A partir do 40º dia, as raízes de plantas submetidas à irrigação diária apresentaram teores significativamente menores deste polissacarídeo do que as plantas tratadas. Aos 67 dias observou-se, aproximadamente, o triplo do teor de amido nas raízes de plantas sob déficit hídrico (Figura 9B).

A figura 9C mostra as variações no teor de amido nos rizomas das plantas controle e tratadas. Nas primeiras, observou-se que os níveis de amido foram significativamente menores do que nas plantas tratadas a partir dos 28 dias.

Adicionalmente, verificou-se que o teor de amido nas folhas, raízes e rizomas das plantas controle diminuiu gradualmente dos 15 aos 67 dias.

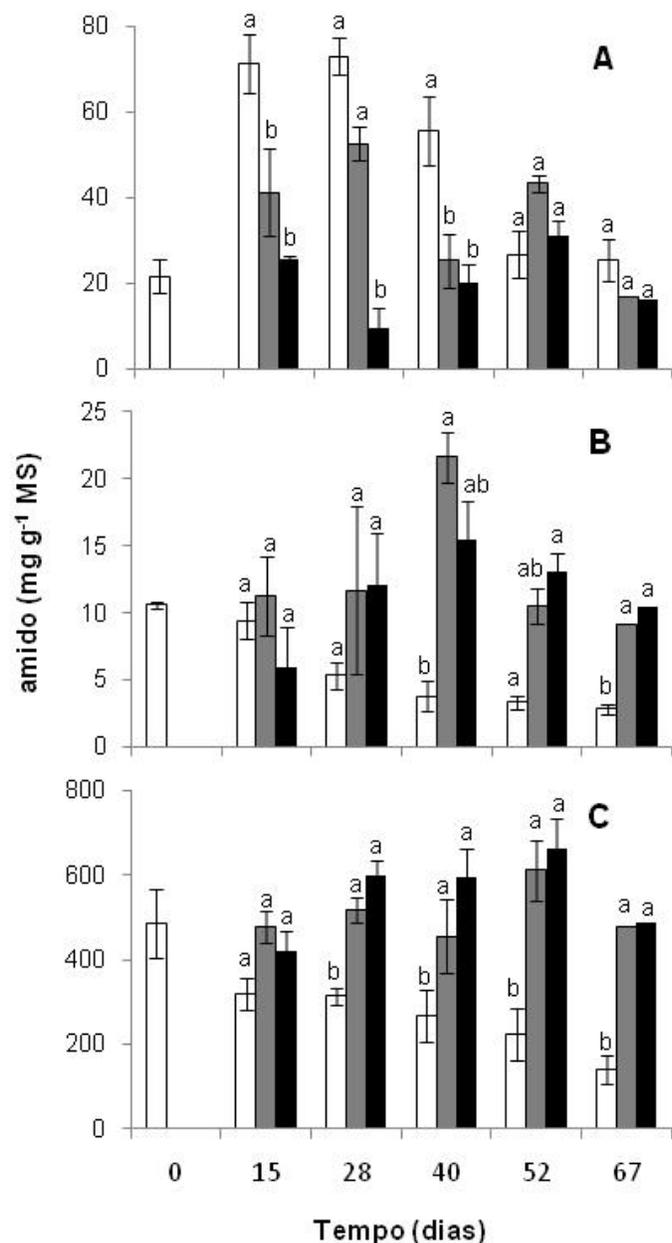


Figura 9 – Conteúdo de amido em folhas (A), raízes (B) e rizomas (C) em plantas de *Costus arabicus* irrigadas diariamente - controle (□) e irrigadas a cada 7 (■) e 15 dias (■). As barras indicam o erro padrão da média (n=5). Médias seguidas de mesma letra em cada tempo de coleta não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey em nível de 5% de probabilidade

Com relação aos teores de aminoácidos livres totais (aa) das folhas e raízes, não houve diferença estatisticamente significativa entre os tratamentos durante o período experimental (Figuras 10A e B).

Nos rizomas, foi observada uma diferença estatisticamente significativa no conteúdo de aa entre as plantas submetidas à rega diária ($32,93 \mu\text{mol g}^{-1} \text{MS}$) e as

plantas do tratamento 15d ($21,12 \mu\text{mol g}^{-1} \text{MS}$) no 40º dia após o início do experimento (Figura 10C). Entretanto, verificou-se uma tendência de diminuição no teor de aa com a diminuição da frequência de regas entre os 28 e 52 dias.

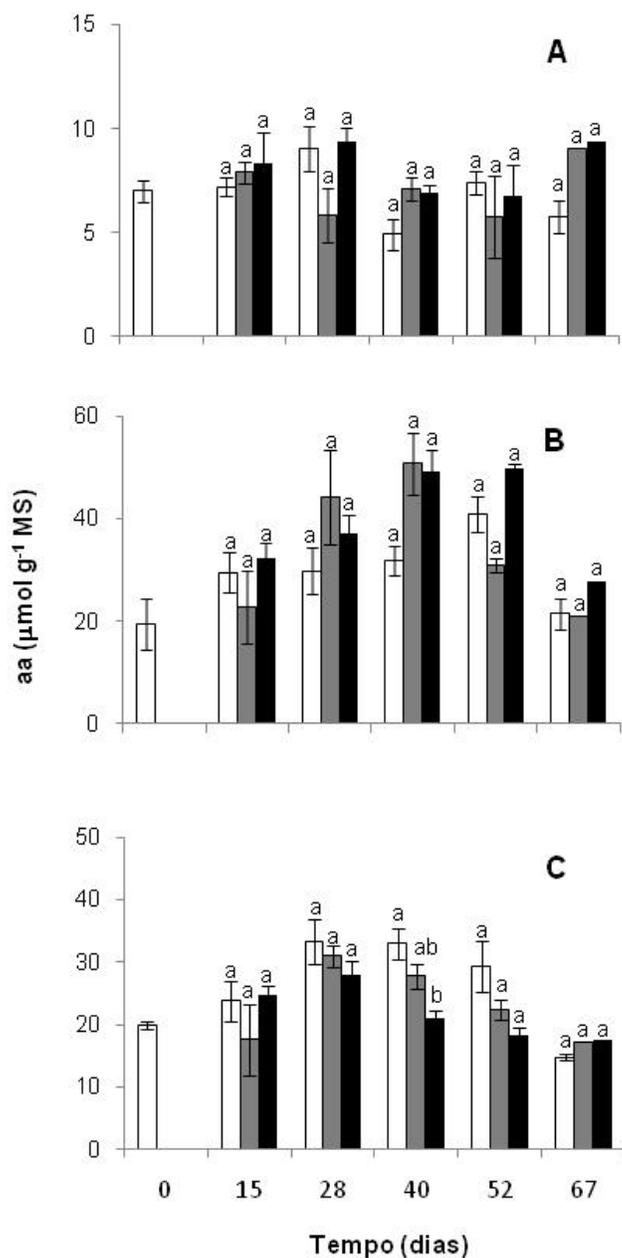


Figura 10 – Conteúdo de aminoácidos livres totais em folhas (A), raízes (B) e rizomas (C) em plantas de *Costus arabicus* irrigadas diariamente - controle (□) e irrigadas a cada 7 (■) e 15 dias (■). As barras indicam o erro padrão da média (n=5). Médias seguidas de mesma letra em cada tempo de coleta não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey em nível de 5% de probabilidade

A figura 11 mostra o teor de prolina nas folhas, raízes e rizomas ao longo do experimento. No 28º dia após a imposição do déficit hídrico, observou-se uma diferença estatisticamente significativa no teor deste aminoácido entre as folhas de plantas controle ($0,04 \mu\text{mol g}^{-1} \text{MS}$) e as de plantas do tratamento 15d ($0,07 \mu\text{mol g}^{-1} \text{MS}$). Neste mesmo dia, os níveis de prolina foram mais elevados nos três grupos de plantas, tendo sido o maior teor observado nas plantas irrigadas a cada 15 dias. Porém, aos 52 dias, as folhas de plantas controle apresentaram um teor de prolina significativamente maior quando comparado com as plantas tratadas (Figura 11A).

Os conteúdos de prolina das raízes são apresentados na figura 11B. A partir do 52º dia, observaram-se diferenças estatisticamente significativas entre as plantas irrigadas diariamente e as plantas irrigadas a cada 15 dias, sendo os teores de prolina superiores nestas últimas.

Aos 28 dias, os teores de prolina foram maiores nos rizomas das plantas controle e do tratamento 15d quando comparados com os das plantas do tratamento 7d. Por outro lado, no 67º dia, as plantas submetidas ao déficit hídrico apresentaram conteúdos mais elevados deste aminoácido do que as plantas irrigadas diariamente (Figura 11C). Em geral, observou-se uma diminuição no teor de prolina até os 52 dias que, nas plantas sob déficit hídrico, foi seguida de um aumento aos 67 dias.

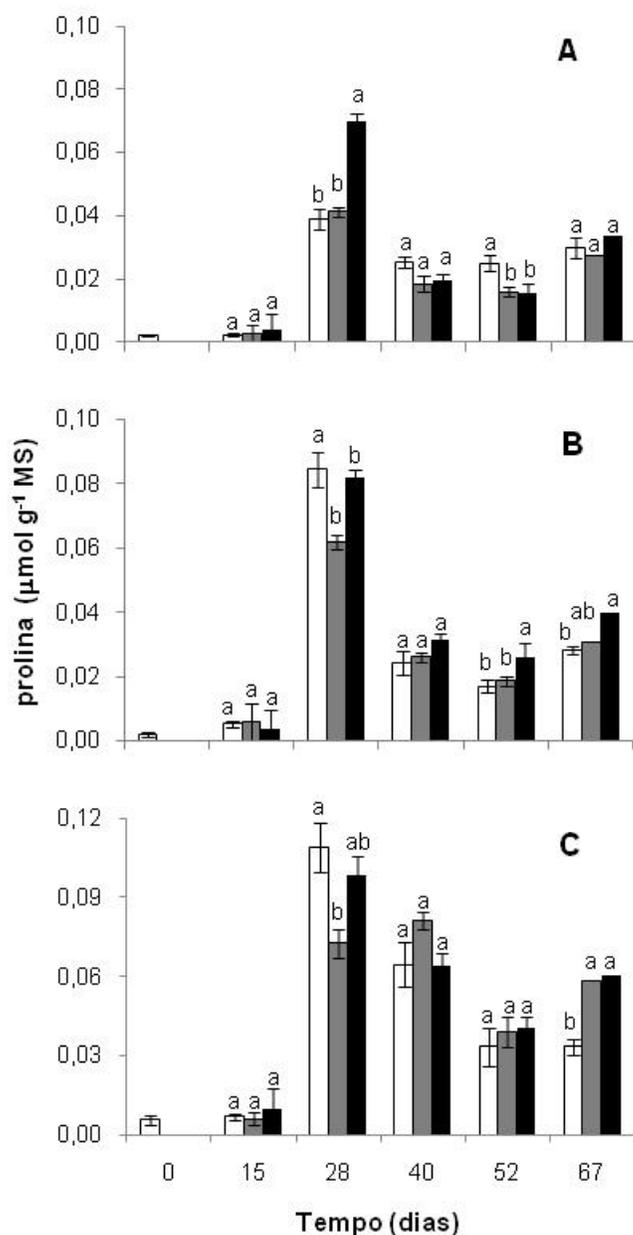


Figura 11 – Conteúdo de prolina em folhas (A), raízes (B) e rizomas (C) em plantas de *Costus arabicus* irrigadas diariamente - controle (□) e irrigadas a cada 7 (■) e 15 dias (■). As barras indicam o erro padrão da média (n=5). Médias seguidas de mesma letra em cada tempo de coleta não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey em nível de 5% de probabilidade

Os conteúdos de glucose, frutose e sacarose nas folhas, estimados por HPAEC-PAD, são mostrados na figura 12. Ao longo do experimento, o padrão observado nas mudanças nos conteúdos de glucose e frutose foram semelhantes e a diferença estatisticamente significativa entre os três grupos de plantas foi verificada apenas aos

28 dias do experimento (Figuras 12A e B). A sacarose, por sua vez, apresentou algumas diferenças nas variações do seu conteúdo quando comparada com os açúcares anteriormente mencionados. O teor de sacarose foi, em geral, menor nas plantas controle do que nas tratadas ao longo do experimento. Sendo assim, no 67º dia, observou-se uma diferença estatisticamente significativa na concentração de sacarose nas folhas de plantas dos tratamentos 7d e 15 d quando comparadas com as plantas controle (Figura 12C).

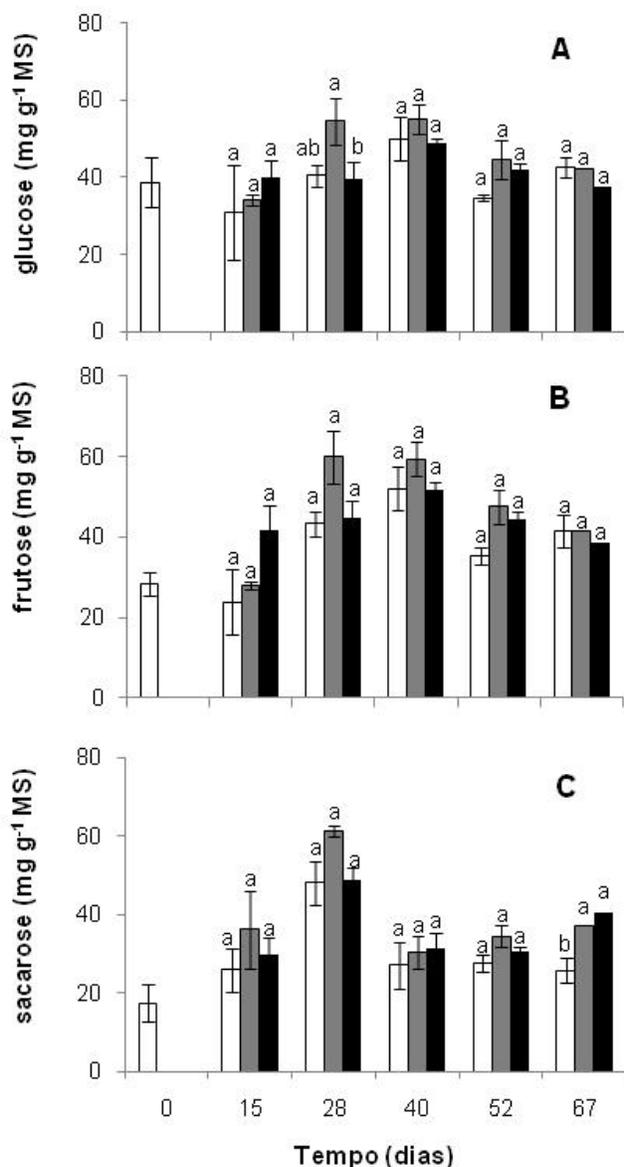


Figura 12 – Teores de glucose (A), frutose (B) e sacarose (C) estimados por HPAEC/PAD nas folhas de plantas de *Costus arabicus* irrigadas diariamente - controle (□) e irrigadas a cada 7 (■) e 15 dias (■). As barras indicam o erro padrão da média (n=3). Médias seguidas de mesma letra em cada tempo de coleta não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey em nível de 5% de probabilidade

Na figura 13 estão mostrados os conteúdos de glucose, frutose e sacarose nos rizomas, estimados por HPAEC-PAD. Assim como verificado nas folhas, o padrão de variação no conteúdo de frutose foi semelhante ao de glucose. Porém, as diferenças estatisticamente significativas entre as plantas controle e as plantas tratadas foram verificadas a partir dos 28 dias. A partir desse dia, os teores de glucose e frutose foram superiores nas plantas controle quando comparados com as plantas submetidas ao déficit hídrico (Figuras 13A e B). O nível de sacarose variou pouco e não ultrapassou o valor de 72 mg g^{-1} MS durante o período experimental (Figura 13C).

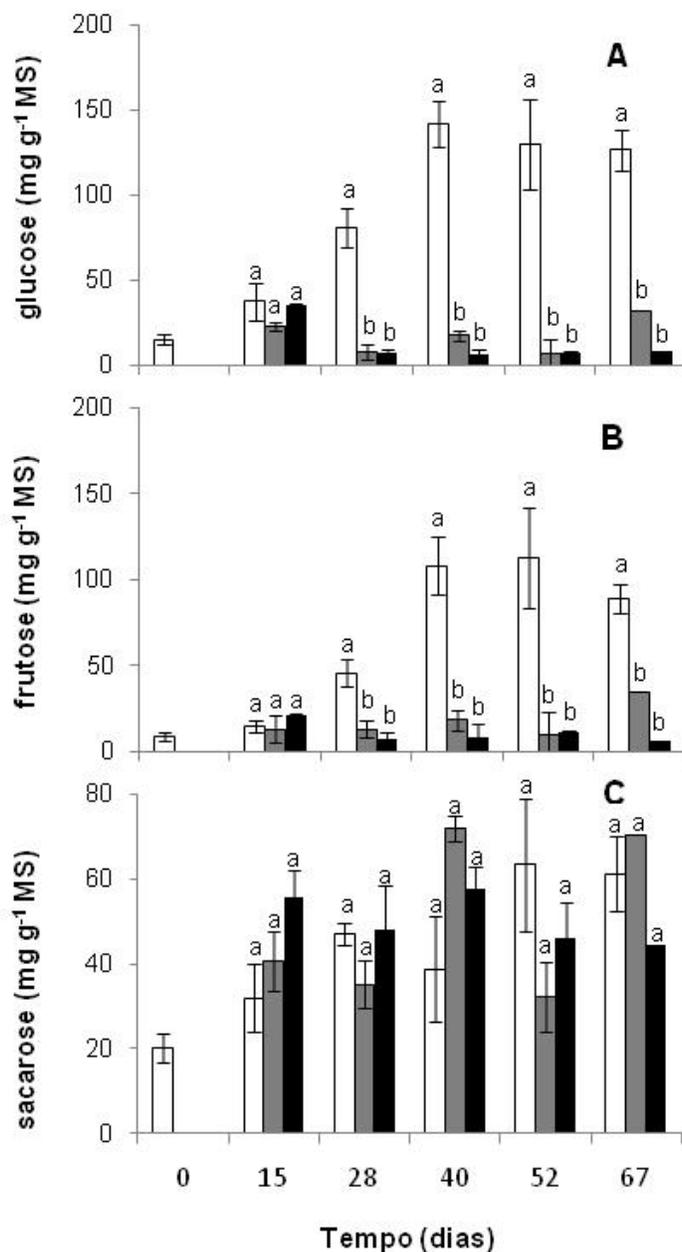


Figura 13 – Teores de glucose (A), frutose (B) e sacarose (C) estimados por HPAEC/PAD nos rizomas de plantas de *Costus arabicus* irrigadas diariamente - controle (□) e irrigadas a cada 7 (■) e 15 dias (■). As barras indicam o erro padrão da média (n=3). Médias seguidas de mesma letra em cada tempo de coleta não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey em nível de 5% de probabilidade

A análise qualitativa dos carboidratos por cromatografia de troca aniônica (HPAEC/ PAD) em rizomas de plantas de *Costus arabicus* L. demonstrou a presença de mio-inositol, glucose, frutose e sacarose, além de um composto ainda não identificado (Figura 14).

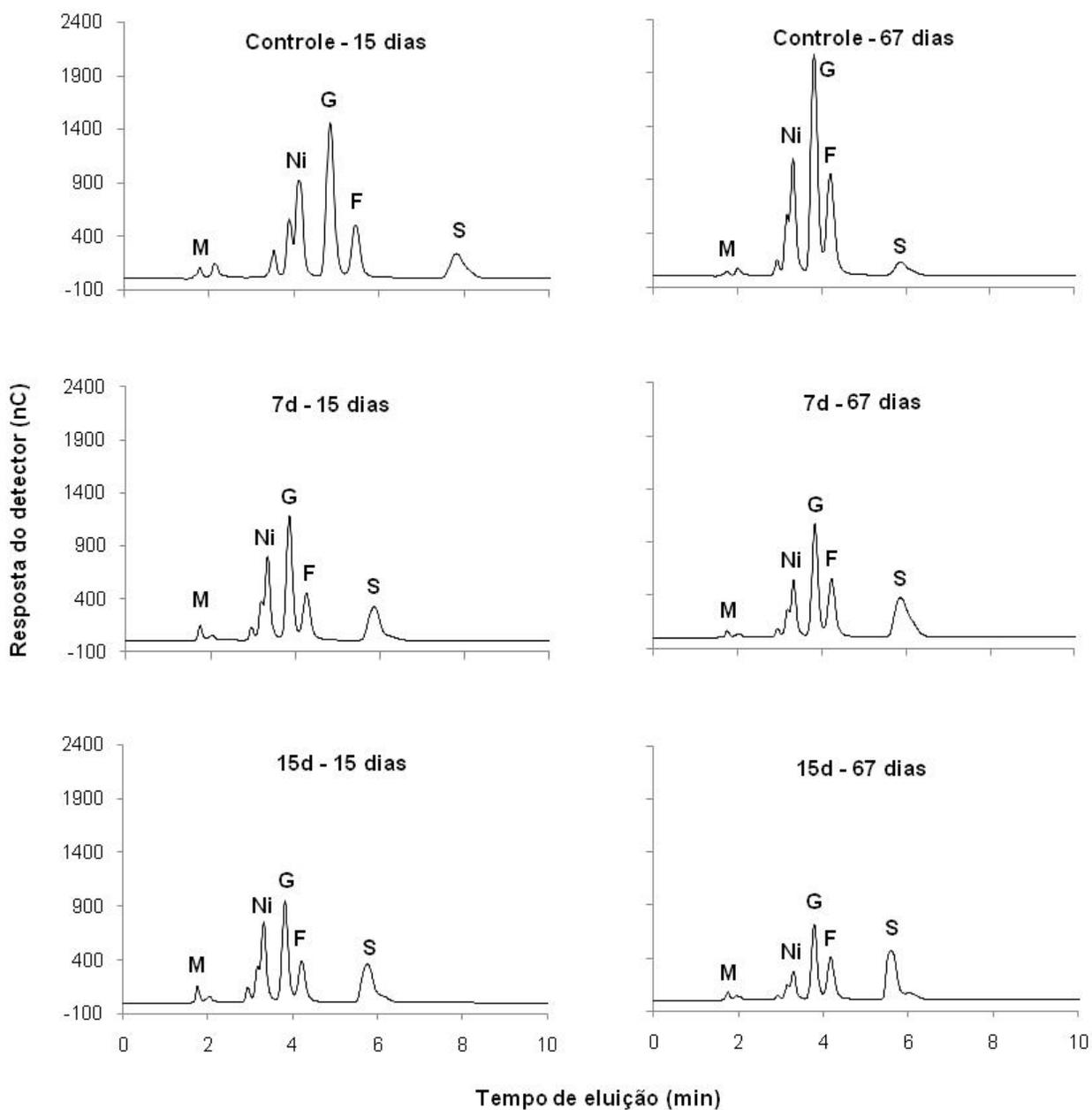


Figura 14 – Análise por HPAEC/PAD dos açúcares totais dos rizomas das plantas de *Costus arabicus* L. irrigadas diariamente (controle) e irrigadas a cada 7 (7d) e 15 dias (15d) aos 15 e 67 dias de experimento. M: mio-inositol; Ni: açúcar não identificado; G: glucose; F: frutose; S: sacarose

2.2.2 Segundo experimento

A figura 15 mostra o teor de umidade do solo (TU Solo) ao longo do período experimental. Esse teor manteve-se praticamente constante (49,16%) nas plantas controle ao longo do experimento, sendo mais elevado do que nas plantas tratadas. Contudo, desde a imposição do déficit hídrico, o teor de umidade do solo das plantas irrigadas a cada 15 dias foi inferior ao das plantas do tratamento 7d e apresentou diminuição durante os 75 dias.

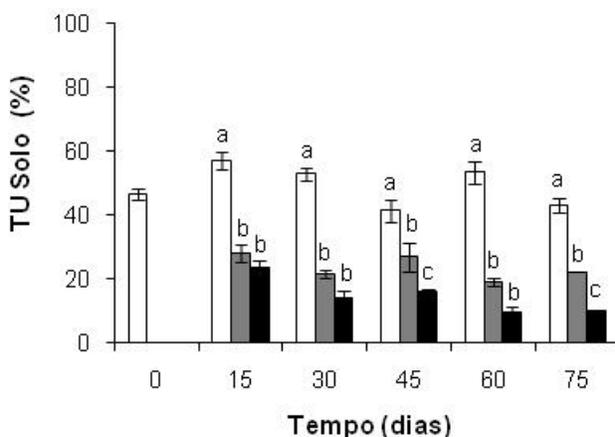


Figura 15 – Teor de umidade do solo (TU Solo) no controle (□) e nos tratamentos de irrigação a cada 7 (■) e 15 dias (■). As barras indicam o erro padrão da média (n=4). Médias seguidas de mesma letra em cada tempo de coleta não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey em nível de 5% de probabilidade

O déficit hídrico imposto às plantas proporcionou um decréscimo do potencial hídrico foliar (Ψ_w) desde os primeiros 15 dias do experimento. Esse decréscimo foi gradual e acentuado em ambos os tratamentos até o 60º dia. Os valores mais negativos foram registrados nas plantas irrigadas a cada 15 dias. Diferenças estatisticamente significativas entre as plantas controle e as plantas tratadas foram observadas entre o 30º e 60º dia (Figura 16A).

O potencial osmótico da seiva do rizoma (Ψ_s) nas plantas irrigadas diariamente foi praticamente constante e inferior ao das plantas tratadas durante todo o experimento. Nas plantas sob déficit hídrico verificou-se, em geral, um aumento significativo do Ψ_s a partir dos 45 dias e, aos 60 dias, as plantas dos tratamentos 7d e 15d apresentaram um Ψ_s significativamente superior ao das plantas controle (Figura 16B).

O teor relativo de água (TRA) manteve-se praticamente constante e superior a 95% nas plantas controle durante todo o período experimental. A suspensão de rega por 7 e 15 dias gerou diferença estatisticamente significativa entre os três grupos de plantas apenas no 30º dia, porém, desde a imposição do déficit hídrico observou-se reduções nos valores de TRA das plantas tratadas (Figura 16C).

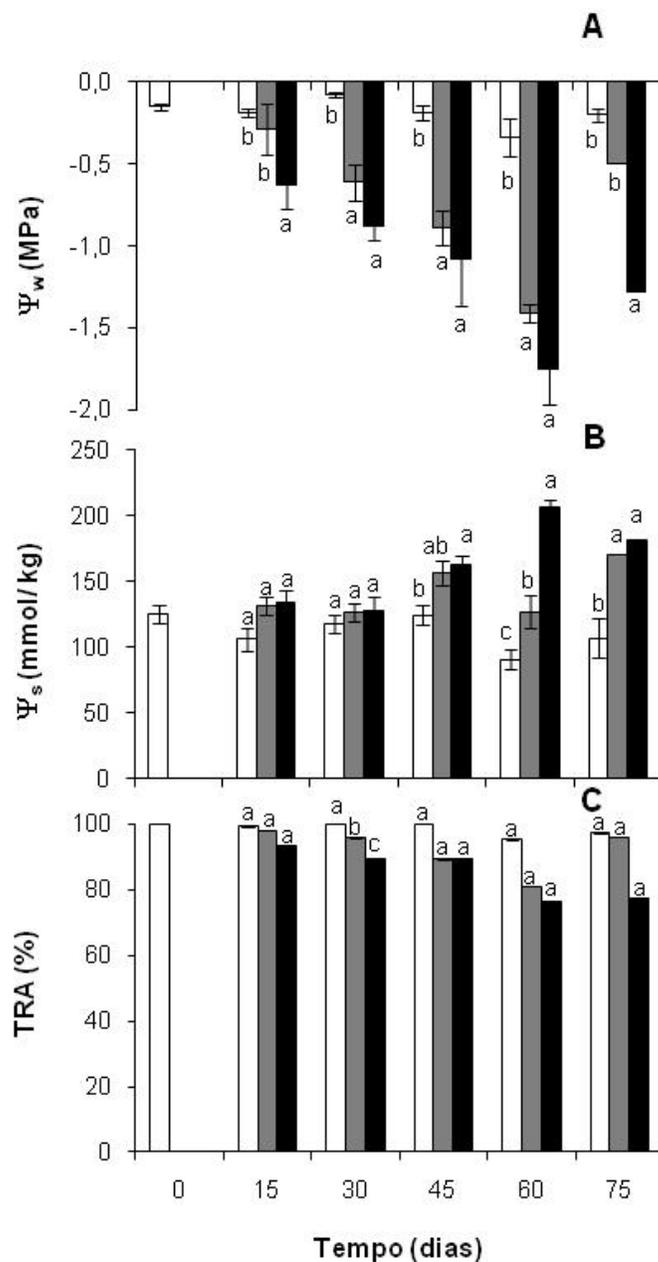


Figura 16 – Potencial hídrico das folhas (Ψ_w) (A), potencial osmótico do rizoma (Ψ_s) (B) e teor relativo de água (TRA) (C) em plantas de *Costus arabicus* irrigadas diariamente - controle (□) e irrigadas a cada 7 (■) e 15 dias (■). As barras indicam o erro padrão da média (n=4). Médias seguidas de mesma letra em cada tempo de coleta não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey em nível de 5% de probabilidade

O conteúdo de massa seca (MS) nas folhas, caules, raízes e rizomas, assim como a MS total estão mostrados na figura 17. O acúmulo de MS de todos os órgãos citados foi influenciado pelos diferentes tratamentos de suspensão de regas. Com relação à MS total, o comportamento das plantas em geral (controle e tratadas) refletiu as alterações observadas em cada órgão, separadamente.

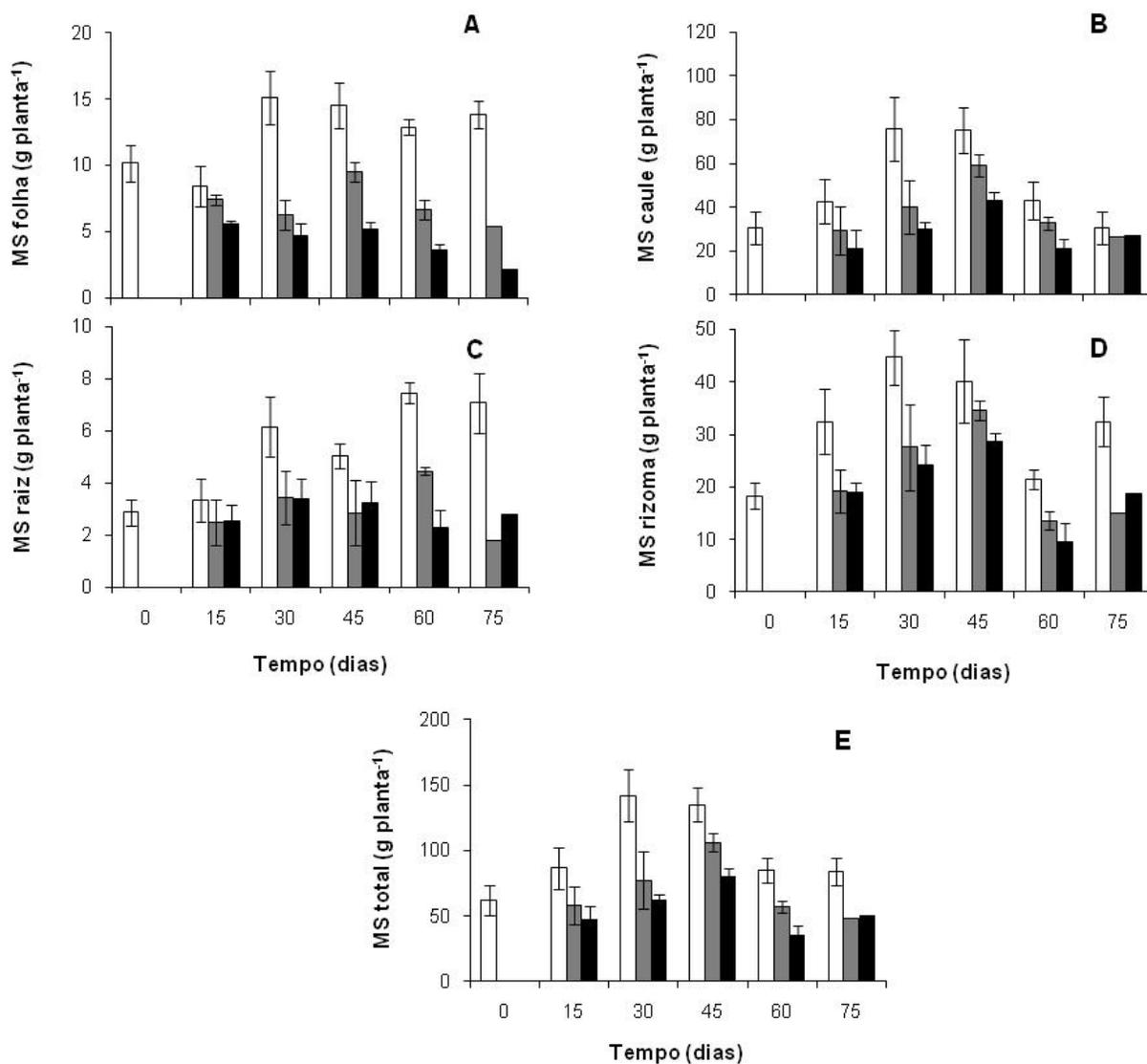


Figura 17 – Conteúdo de massa seca (MS): folhas (A), caules (B), raízes (C), rizomas (D) e total (E) em plantas de *Costus arabicus* irrigadas diariamente - controle (□) e irrigadas a cada 7 (■) e 15 dias (■). As barras indicam o erro padrão da média (n=4)

A figura 18 mostra o número médio de folhas e de folhas senescidas por planta nos três grupos de plantas. Desde a imposição dos tratamentos, as plantas submetidas à rega diária apresentaram maior quantidade de folhas (99) quando comparadas com

as plantas dos tratamentos 7d (62) e 15d (41). Entretanto, a partir do 30º dia, houve uma diminuição gradual mais acentuada do número de folhas nas plantas irrigadas a cada 15 dias (Figura 18A). Durante o experimento, observou-se a senescência de folhas, especialmente nas plantas irrigadas a cada 15 dias (Figura 18B).

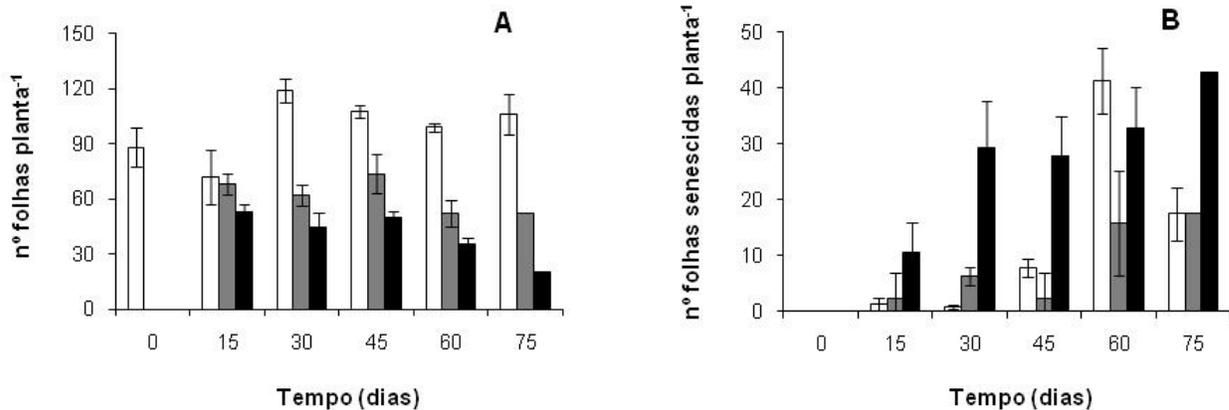


Figura 18 – Número médio de folhas (A) e de folhas senescidas (B) em plantas de *Costus arabicus* irrigadas diariamente - controle (□) e irrigadas a cada 7 (■) e 15 dias (■). As barras indicam o erro padrão da média (n=4)

A área foliar total (AFT) das plantas controle foi superior a das plantas tratadas durante todo o experimento (Figura 19). O valor máximo da AFT das plantas irrigadas diariamente foi registrado no 30º dia (0,33 m²), enquanto os menores valores das plantas irrigadas a cada 7 e 15 dias (0,07 e 0,04 m², respectivamente) foram observados 30 dias depois. Ao longo de todo o período experimental, a AFT foi inferior nas plantas do tratamento 15d quando comparadas com os demais grupos.

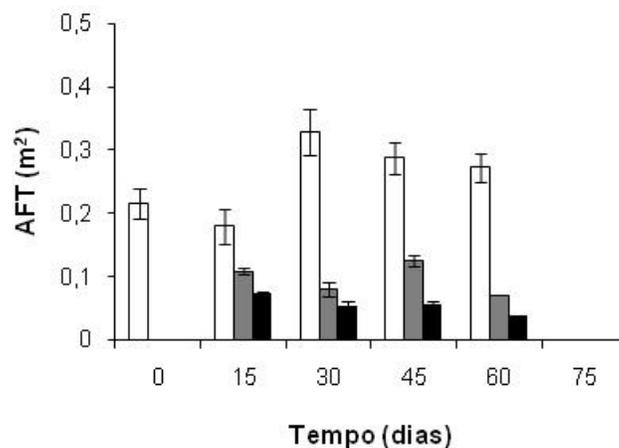


Figura 19 – Área foliar total em plantas de *Costus arabicus* irrigadas diariamente - controle (□) e irrigadas a cada 7 (■) e 15 dias (■). As barras indicam o erro padrão da média (n=4)

O conteúdo de açúcares solúveis totais (AST) nas folhas foi semelhante e praticamente constante entre os três grupos de plantas ao longo do experimento. Variação significativa entre as plantas irrigadas diariamente ($44,40 \text{ mg g}^{-1} \text{ MS}$) e as plantas irrigadas a cada 15 dias ($68,60 \text{ mg g}^{-1} \text{ MS}$) foi observada apenas no 60º dia (Figura 20A).

Os teores de AST das raízes foram, em geral, similares aos verificados nas folhas. Contudo, diferença estatisticamente significativa entre as plantas controle e as plantas submetidas ao déficit hídrico foi registrada aos 30 dias do experimento (Figura 20B).

A partir do 30º dia, o conteúdo de AST foi maior no rizoma das plantas sob rega diária. Os menores teores de AST dos tratamentos 7d e 15d ($72,14$ e $76,88 \text{ mg g}^{-1} \text{ MS}$, respectivamente) foram observados no último dia do experimento, enquanto, a maior concentração desses açúcares foi verificada nas plantas irrigadas diariamente aos 30 dias ($186,77 \text{ mg g}^{-1} \text{ MS}$). Variações significativas nesse conteúdo, entre as plantas controle e as plantas tratadas, foram observadas aos 30, 60 e 75 dias (Figura 20C).

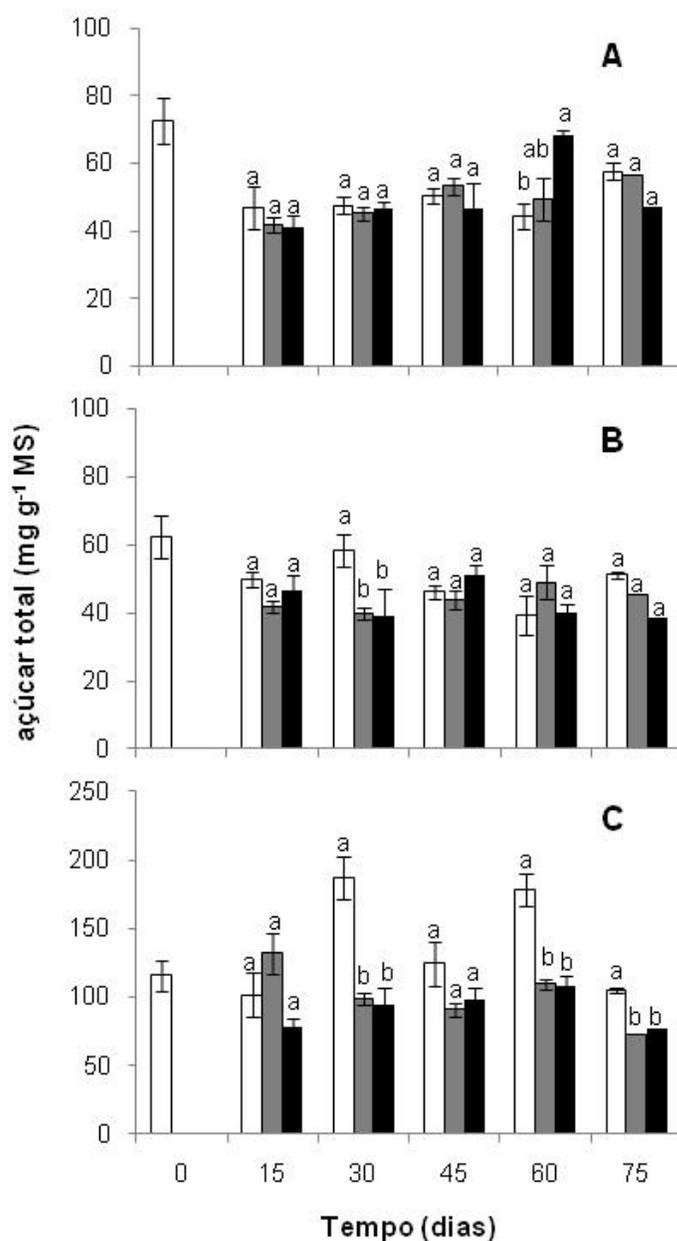


Figura 20 – Conteúdo de açúcares solúveis totais (AST) em folhas (A), raízes (B) e rizomas (C) em plantas de *Costus arabicus* irrigadas diariamente - controle (□) e irrigadas a cada 7 (■) e 15 dias (■). As barras indicam o erro padrão da média (n=4). Médias seguidas de mesma letra em cada tempo de coleta não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey em nível de 5% de probabilidade

A figura 21A mostra os teores de açúcares redutores (AR) em folhas. Até o 45º dia, não foi observada diferença estatisticamente significativa entre os três grupos de plantas. Entretanto, aos 75 dias de experimento, registrou-se um conteúdo

significativamente maior desses açúcares nas plantas do tratamento 7d (35,49 mg g⁻¹ MS) quando comparado com as plantas do tratamento 15d (25,02 mg g⁻¹ MS).

Ao longo do experimento, o maior teor de AR nas raízes foi verificado nas plantas controle (24,88 mg g⁻¹ MS) aos 30 dias. Nesse mesmo dia, as plantas irrigadas a cada 7 e 15 dias apresentaram concentrações desses açúcares de 17,77 e 10,56 mg g⁻¹ MS, respectivamente. No 75º dia após o início do experimento, diferença estatisticamente significativa também foi registrada entre as plantas do tratamento 7d (15,73 mg g⁻¹ MS) e 15d (11,45 mg g⁻¹ MS) (Figura 21B).

O teor de AR nos rizomas foi, em geral, mais elevado nas plantas controle com tendência à diminuição até os 75 dias. Os teores desses açúcares foram semelhantes nas plantas tratadas e também apresentaram uma diminuição ao longo do período experimental. Diferenças estatisticamente significativas entre as plantas controle e as plantas tratadas foram verificadas aos 45 e 75 dias e, entre as plantas controle e as plantas do tratamento 7d, aos 60 dias (Figura 21C).

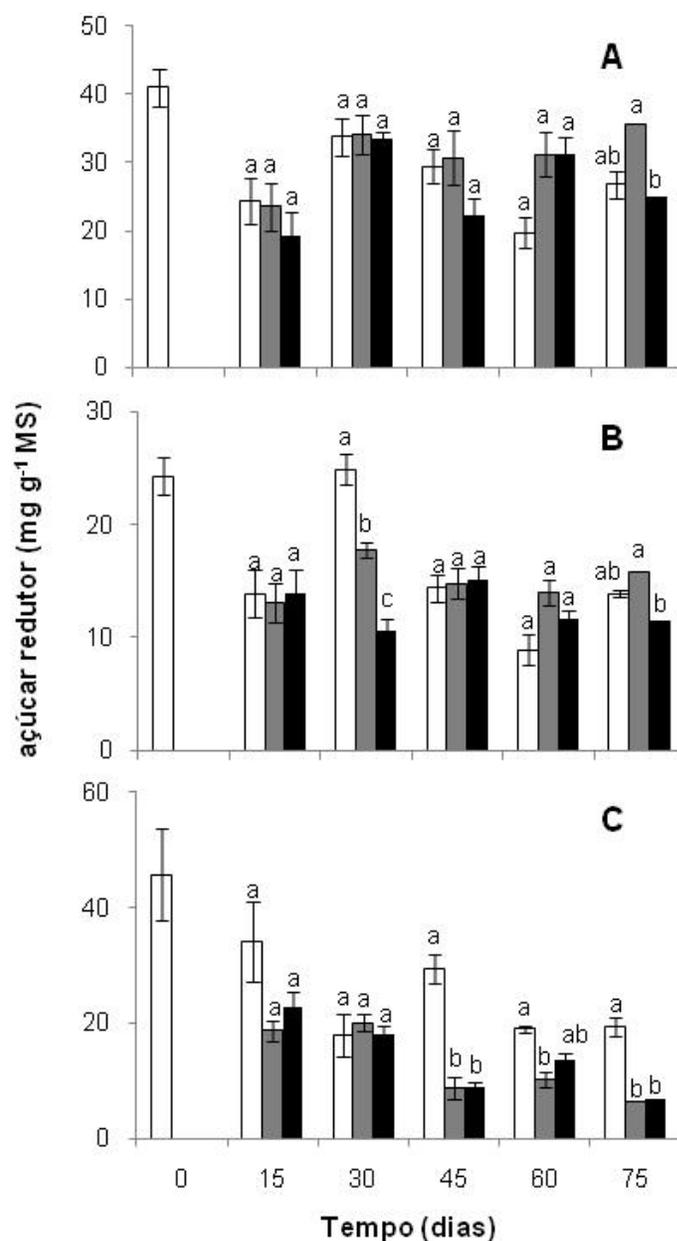


Figura 21 – Conteúdo de açúcares redutores (AR) em folhas (A), raízes (B) e rizomas (C) em plantas de *Costus arabicus* irrigadas diariamente - controle (□) e irrigadas a cada 7 (■) e 15 dias (■). As barras indicam o erro padrão da média (n=4). Médias seguidas de mesma letra em cada tempo de coleta não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey em nível de 5% de probabilidade

O conteúdo de amido nas folhas foi, em geral, mais elevado nas plantas controle e apresentou um aumento gradual até os 60 dias. Porém, diferenças estatisticamente significativas entre as plantas controle e as tratadas foram observadas apenas aos 45 e 75 dias (Figura 22A).

Com relação ao teor de amido nas raízes, as plantas irrigadas a cada 15 dias apresentaram uma tendência a aumentos até o 45º dia e diminuição até o final do experimento. Por outro lado, plantas do tratamento 7d tiveram esses teores aumentados até o 60º dia e uma diminuição desse carboidrato aos 75 dias. No 30º dia, o teor de amido nas raízes das plantas do tratamento 15d foi significativamente maior do que nos demais grupos. Trinta dias depois, esse teor foi superior nas plantas irrigadas a cada 7 dias quando comparado com as demais plantas (Figura 22B).

O conteúdo de amido nos rizomas foi superior ao de folhas e raízes, uma vez que o amido é o polissacarídeo de reserva deste órgão (Figura 22C). Em geral, houve um aumento nos teores de amido nos três grupos de plantas ao longo do experimento. Contudo, as plantas do tratamento 15d apresentaram conteúdos levemente mais altos do que as plantas controle e bem mais elevados do que as plantas do tratamento 7d entre o 15º e 45º dias do período experimental.

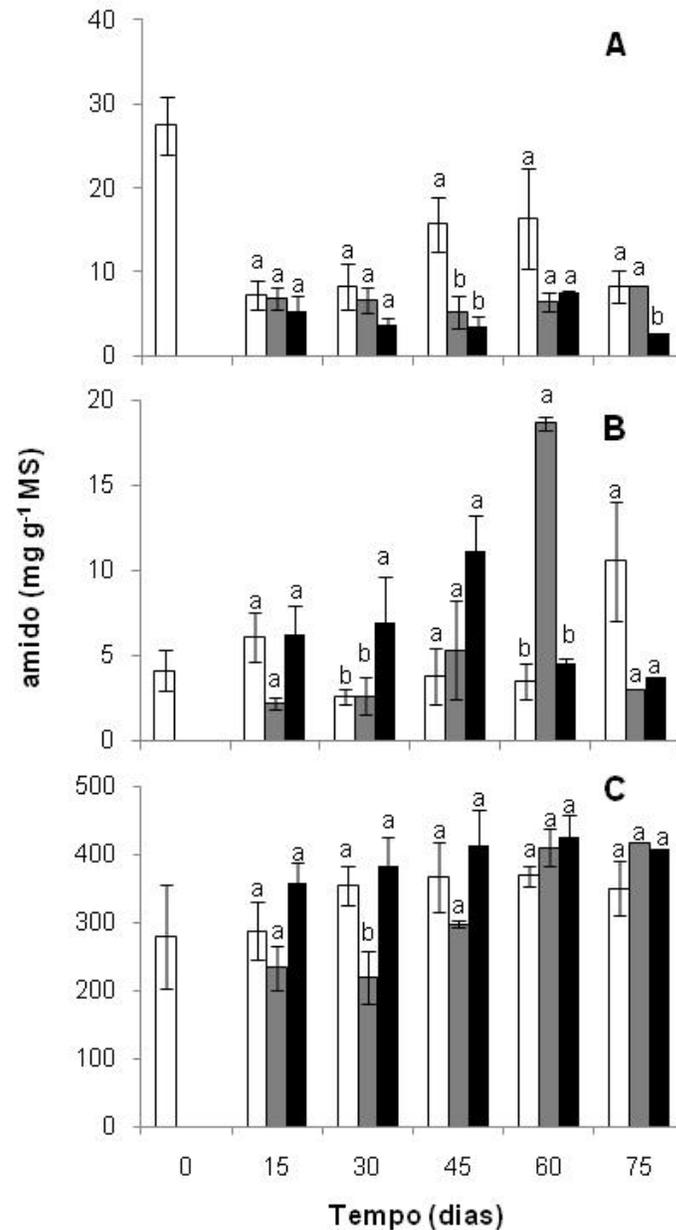


Figura 22 – Conteúdo de amido em folhas (A), raízes (B) e rizomas (C) em plantas de *Costus arabicus* irrigadas diariamente - controle (□) e irrigadas a cada 7 (■) e 15 dias (■). As barras indicam o erro padrão da média (n=4). Médias seguidas de mesma letra em cada tempo de coleta não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey em nível de 5% de probabilidade

Nas folhas, foram observadas diferenças estatisticamente significativas nos conteúdos de aminoácidos livres totais (aa) desde o início da imposição do déficit hídrico. A partir do 15º dia, este conteúdo foi significativamente mais elevado nas plantas tratadas do que nas plantas controle (Figura 23A).

Com relação aos teores de aa nas raízes, não houve diferenças estatisticamente significativas entre os diferentes grupos durante todo o período experimental. Porém, verificou-se uma tendência a diminuições nos conteúdos de aa (Figura 23B).

Na figura 23C nota-se que, em geral, as concentrações de aa nos rizomas foram maiores nas plantas sob déficit hídrico do que nas plantas irrigadas diariamente desde os primeiros 15 dias da imposição dos tratamentos. Porém, diferença estatisticamente significativa entre os três grupos de plantas foi registrada aos 60 dias de experimento.

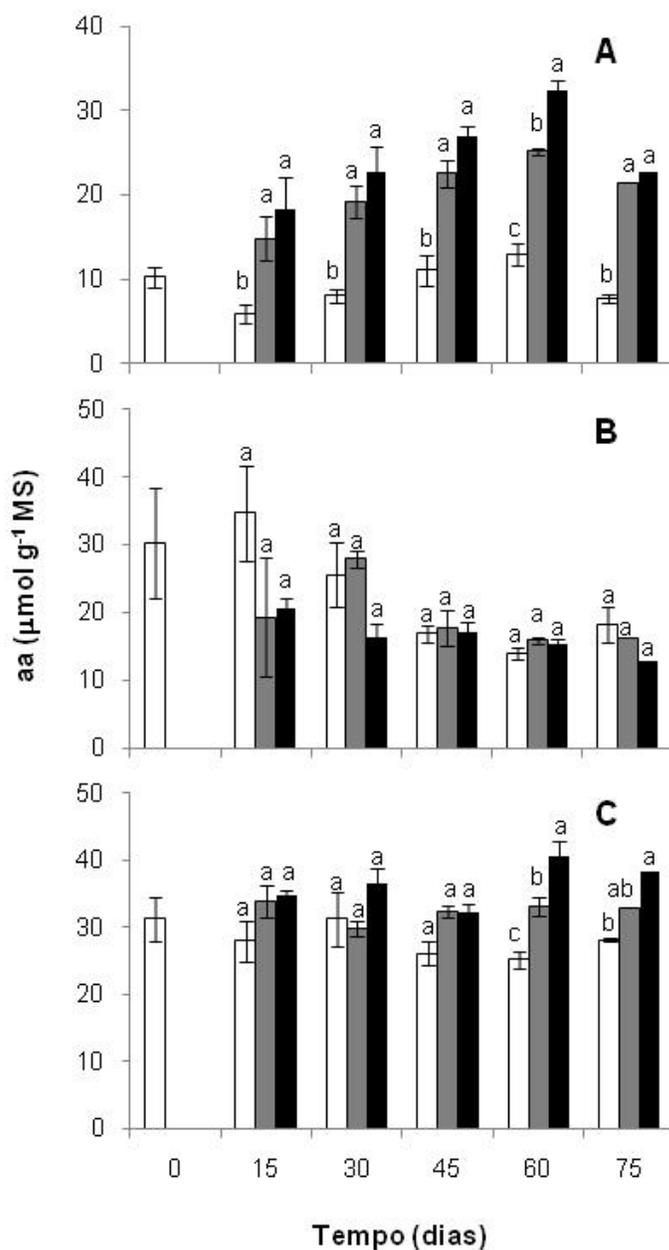


Figura 23 – Conteúdo de aminoácidos livres totais em folhas (A), raízes (B) e rizomas (C) em plantas de *Costus arabicus* irrigadas diariamente - controle (□) e irrigadas a cada 7 (■) e 15 dias (■). As barras indicam o erro padrão da média (n=4). Médias seguidas de mesma letra em cada tempo de coleta não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey em nível de 5% de probabilidade

Os conteúdos de prolina em folhas, raízes e rizomas estão apresentados na figura 24. Nas folhas verificou-se que, em geral, a partir do 45º dia, as plantas tratadas apresentaram maiores teores do que as plantas controle, embora essas diferenças não tenham sido estatisticamente significativas. Já nas amostras de rizoma, essa mesma

tendência foi observada desde o início do experimento. Contudo, os rizomas das plantas irrigadas a cada 15 dias apresentaram, em geral, os teores mais elevados deste aminoácido (Figuras 24A e C).

Até o 30º dia, os teores de prolina foram maiores nas raízes das plantas controle do que nas plantas dos tratamentos 7d e 15d. Porém, a partir desse dia, as plantas irrigadas a cada 15 dias passaram a apresentar, em geral, valores mais altos de prolina do que as demais plantas (Figura 24B).

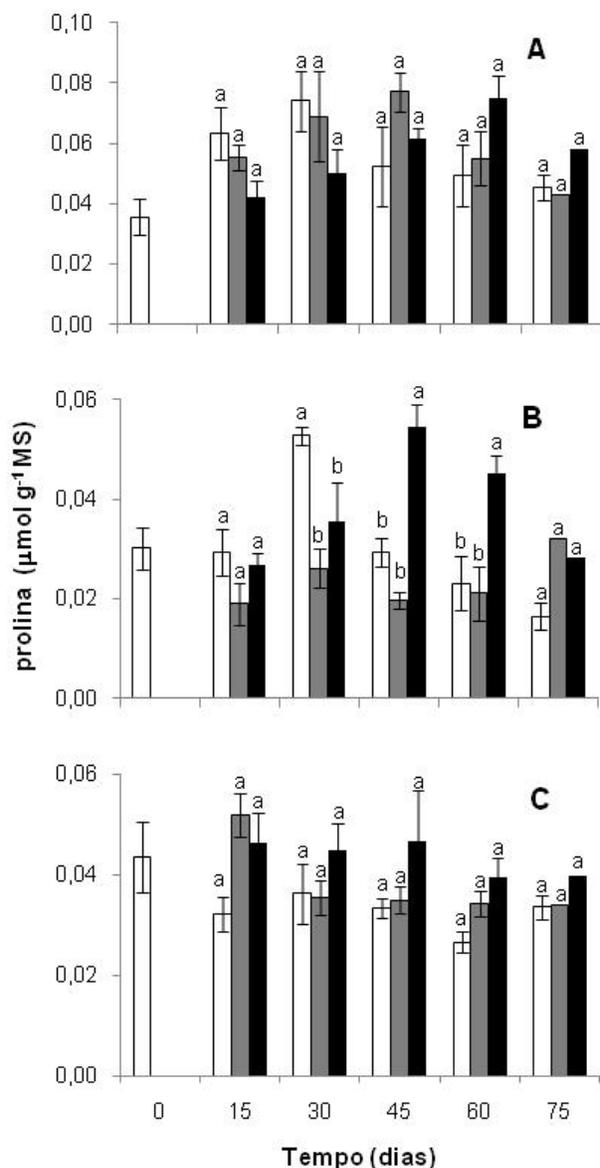


Figura 24 – Conteúdo de prolina em folhas (A), raízes (B) e rizomas (C) em plantas de *Costus arabicus* irrigadas diariamente - controle (\square) e irrigadas a cada 7 (\blacksquare) e 15 dias (\blacksquare). As barras indicam o erro padrão da média (n=4). Médias seguidas de mesma letra em cada tempo de coleta não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey em nível de 5% de probabilidade

Os teores de glucose e frutose nas folhas, determinados por HPAEC-PAD, apresentaram perfis de variação semelhantes ao longo do experimento. Desde a imposição dos tratamentos, foi observada uma tendência a teores mais elevados nas plantas tratadas. Aos 60 dias, verificou-se aproximadamente o dobro do teor de glucose e frutose nas plantas irrigadas a cada 15 dias (62,31 e 63,93 mg g⁻¹ MS, respectivamente) em relação às plantas controle (35,25 e 31,47 mg g⁻¹ MS, respectivamente) (Figuras 25A e B). Com relação ao teor de sacarose nas folhas, este foi também, em geral, mais elevado nas plantas submetidas ao déficit hídrico durante todo o período, em especial nas plantas do tratamento 15d (Figura 25C).

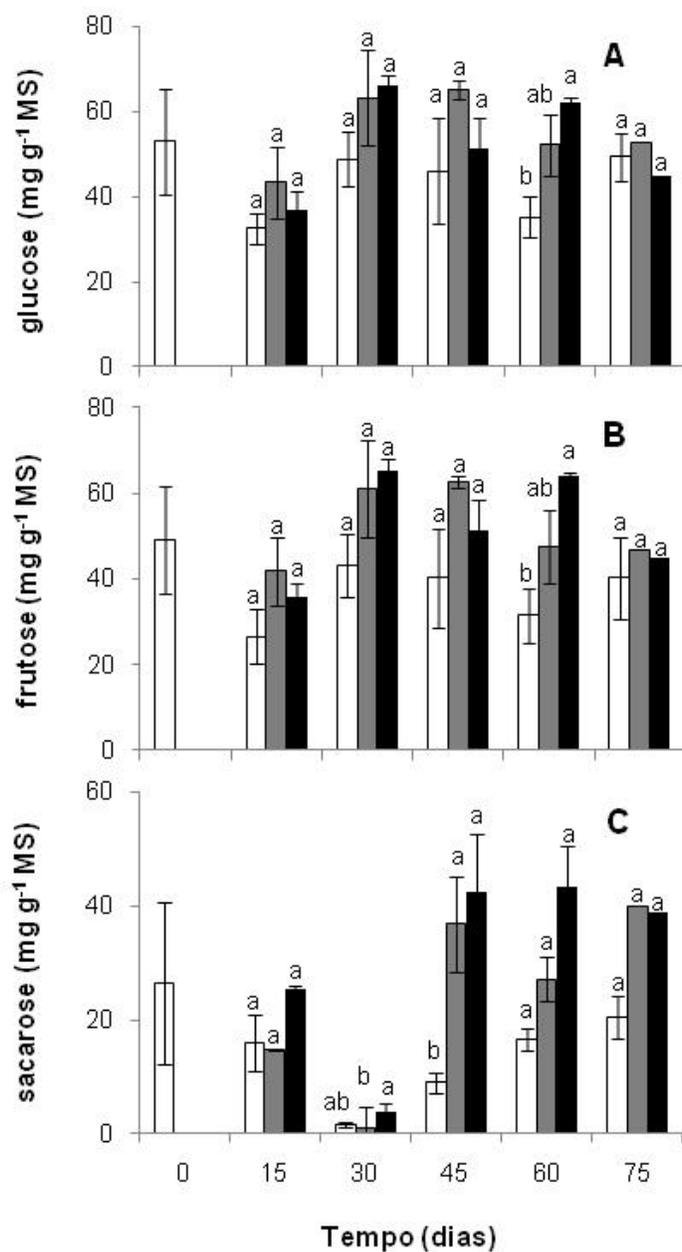


Figura 25 – Teores de glucose (A), frutose (B) e sacarose (C) estimados por HPAEC/PAD nas folhas de plantas de *Costus arabicus* irrigadas diariamente - controle (□) e irrigadas a cada 7 (■) e 15 dias (■). As barras indicam o erro padrão da média (n=3). Médias seguidas de mesma letra em cada tempo de coleta não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey em nível de 5% de probabilidade

A figura 26 apresenta as variações nos teores de glucose, frutose e sacarose nos rizomas. Os perfis de variação de glucose e frutose foram semelhantes: teores nitidamente mais elevados foram encontrados nas plantas controle desde o início do período analisado. Plantas irrigadas diariamente apresentaram um aumento nesses

conteúdos no 30º dia e uma diminuição gradual até o final do experimento. Nas plantas tratadas (7d e 15d) houve uma diminuição desses açúcares entre os 15 e 75 dias (Figuras 26A e B). Com relação à sacarose, ocorreu um aumento deste conteúdo dos 30 aos 75 dias e os teores foram, em geral, mais elevados nas plantas tratadas. Uma variação significativa de aproximadamente $24 \text{ mg g}^{-1} \text{ MS}$ no conteúdo de sacarose entre as plantas irrigadas a cada 15 dias e os demais tratamentos foi observada no 60º dia (Figura 26C).

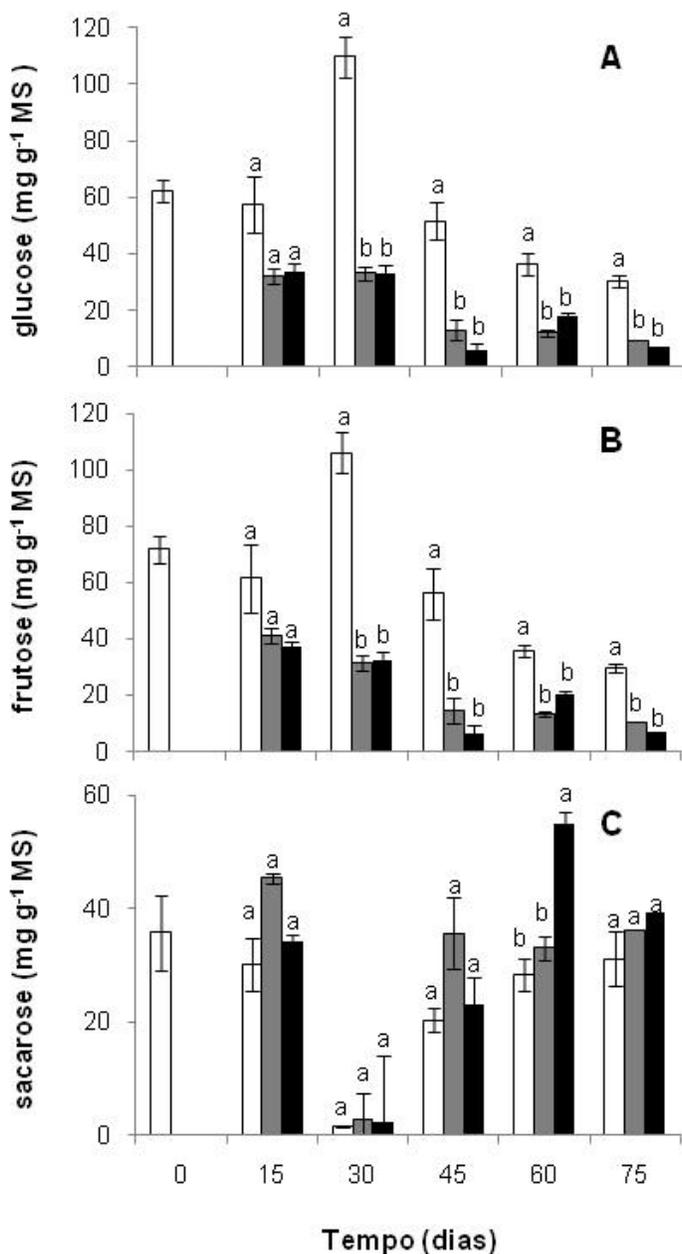


Figura 26 – Teores de glucose (A), frutose (B) e sacarose (C) estimados por HPAEC/PAD nos rizomas de plantas de *Costus arabicus* irrigadas diariamente - controle (□) e irrigadas a cada 7 (■) e 15 dias (■). As barras indicam o erro padrão da média (n=3). Médias seguidas de mesma letra em cada tempo de coleta não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey em nível de 5% de probabilidade

A exemplo do observado no experimento de inverno, a análise qualitativa dos carboidratos por cromatografia de troca aniônica (HPAEC/ PAD) em rizomas de plantas de *Costus arabicus* L. demonstrou a presença de mio-inositol, glucose, frutose e

sacarose, além de um composto não identificado, com diferenças quantitativas entre esses componentes nas duas épocas analisadas (Figura 27).

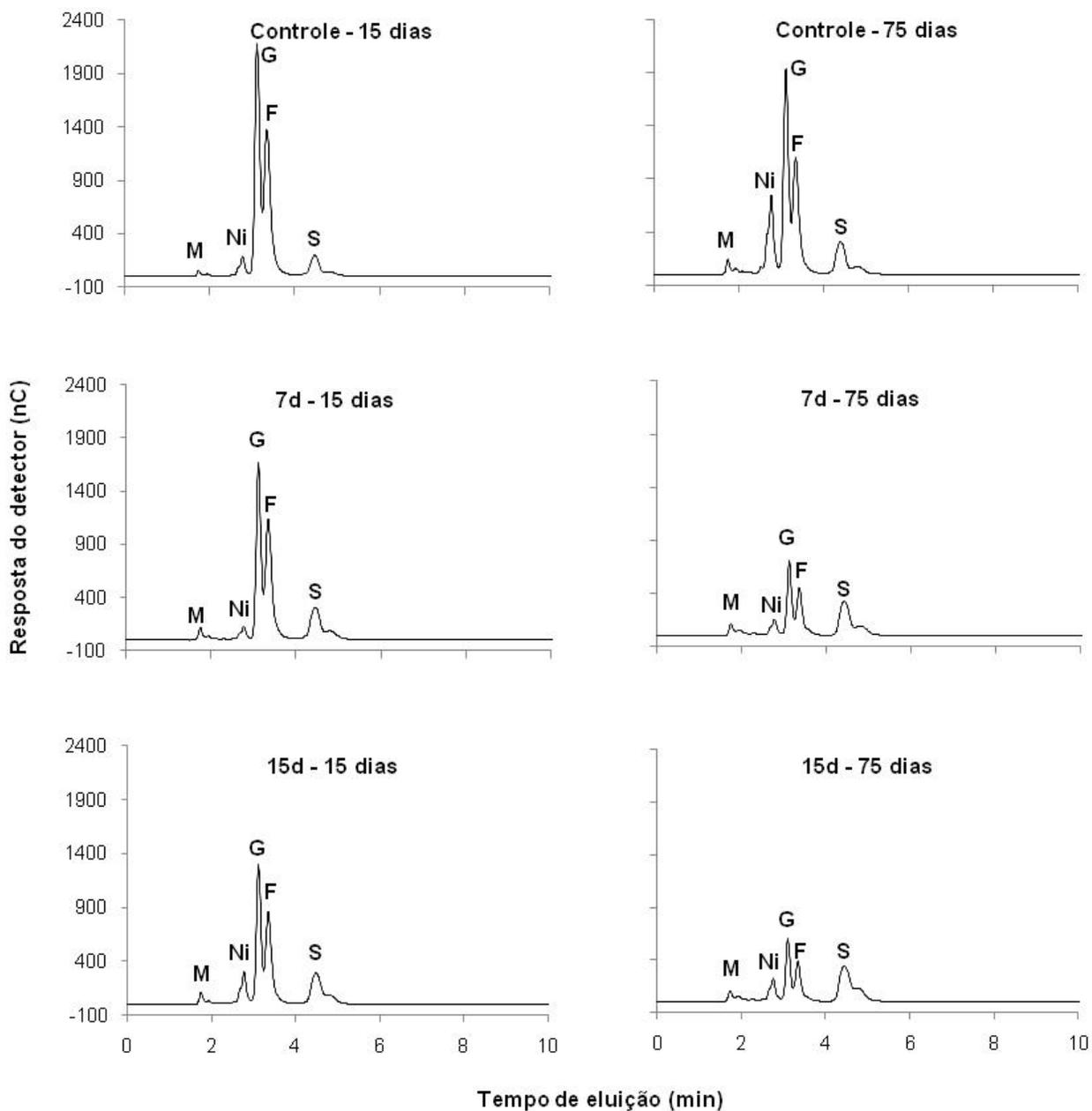


Figura 27 – Análise por HPAEC/PAD dos açúcares totais dos rizomas das plantas de *Costus arabicus* L. irrigadas diariamente (controle) e irrigadas a cada 7 (7d) e 15 dias (15d) aos 15 e 75 dias de experimento. M: mio-inositol; Ni: açúcar não identificado; G: glucose; F: frutose; S: sacarose

Aspectos anatômicos e ultra-estruturais dos rizomas das plantas de *Costus arabicus* L. sob rega diária (controle)

Costus arabicus L. (Figura 28) possui o sistema subterrâneo constituído por rizomas com crescimento horizontal, nós e entrenós marcantes, gemas protegidas por catafilos e raízes adventícias originadas na região dos nós. O rizoma, quando observado em secção transversal, exhibe a seguinte estrutura: epiderme ou súber estratificado, córtex e cilindro vascular (Figura 29).

A epiderme é uniestratificada, constituída por células pequenas de formato retangular e paredes finas, e apresenta estômatos (Figura 29A). Posteriormente, com o crescimento em diâmetro do rizoma, o revestimento é substituído pelo súber estratificado (Figuras 29B e C).

O córtex é amplo e formado por células parenquimáticas de contorno arredondado e de diferentes tamanhos (Figura 29A). Foi observada a presença de idioblastos providos de conteúdo fenólico de coloração amarelada in vivo e de aspecto denso ou granuloso, evidenciados pela coloração marrom a preto em material fixado em sulfato ferroso em formalina (Figura 29B). Verificou-se também o acúmulo de grãos de amido, exceto nas camadas subepidérmicas (Figuras 29C e 30A). Os grãos de amido apresentaram diferentes tamanhos e formas alongadas (bastonetes), redondas, ovais ou poligonais (Figuras 30A e B). Devido à sua característica birrefringente, observou-se a formação de uma típica “cruz de malta” sob luz polarizada (Figura 30C). Verificaram-se traços vasculares foliares envoltos por 1-2 camadas de bainha esclerenquimática distribuídos por todo o córtex (Figuras 29A-C). Idioblastos com conteúdo fenólico de coloração amarelada e aspecto denso ou granuloso também foram observados nos traços vasculares foliares. A presença de cristais também foi observada em algumas células parenquimáticas. A endoderme, a camada mais interna do córtex, é constituída por uma camada de células arredondadas e menores cujas paredes apresentam estrias de Caspary.

O cilindro vascular é atactostélico, constituído pelo periciclo e tecidos vasculares. O periciclo apresenta 1-2 camadas de células retangulares de paredes finas as quais dão origem aos feixes vasculares (Figuras 29A-C). Os feixes vasculares são do tipo colateral e podem apresentar idioblastos com conteúdo fenólico (Figura 29B). Esses

feixes encontram-se envoltos por 1-2 camadas de bainha esclerenquimática (Figuras 29A-C), sendo que em algumas das células da bainha grãos de amido podem ser visualizados. No cilindro vascular, verificou-se, também, o acúmulo de grãos de amido nas células parenquimáticas e a presença de idioplastos com conteúdo fenólico.

O teste com Sudan IV foi negativo para a presença de substâncias lipofílicas.

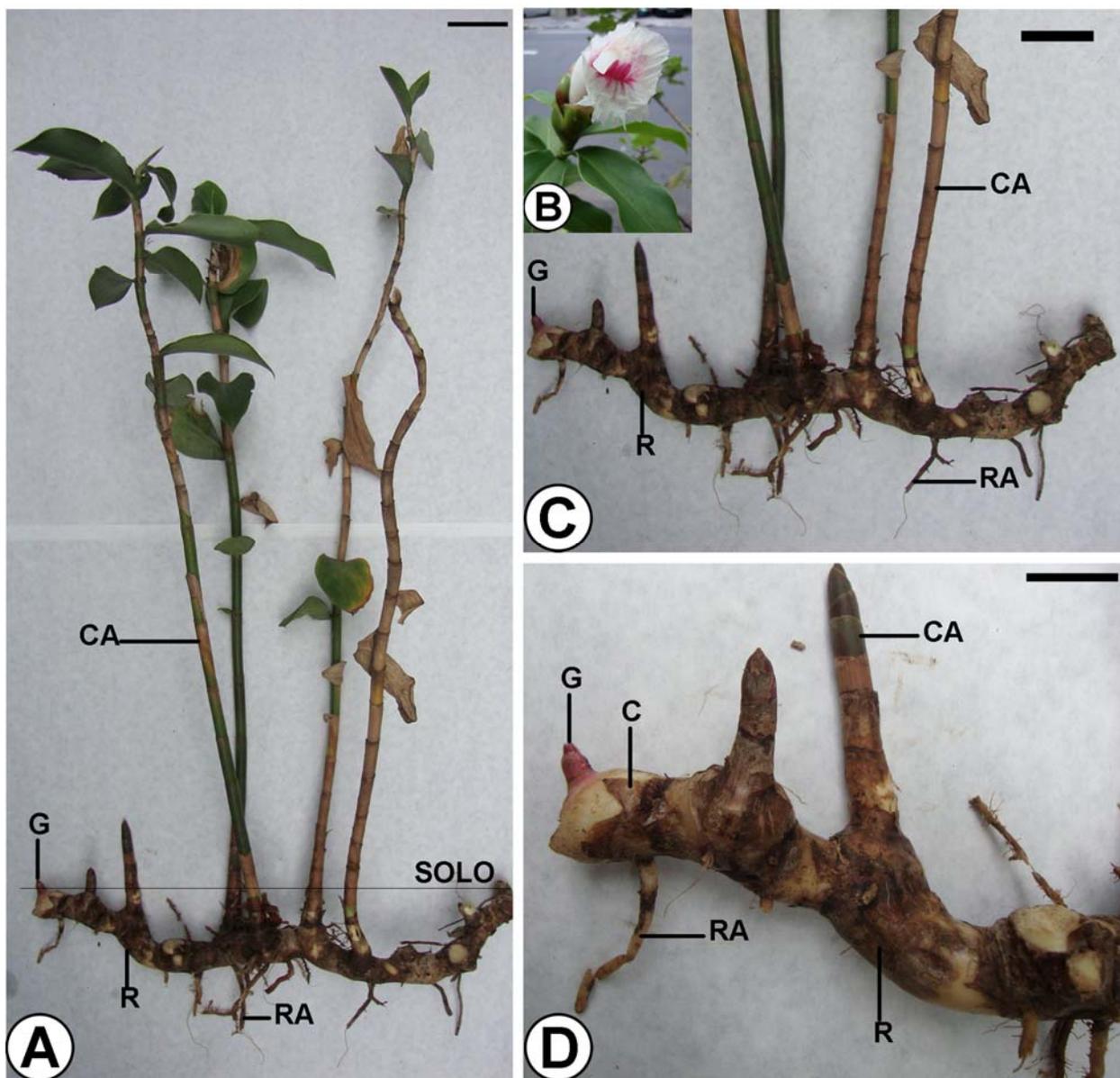


Figura 28 – Planta de *Costus arabicus* L. **A.** Aspecto geral da planta. **B.** Inflorescência com uma única flor. **C.** Rizoma com crescimento horizontal, nós e entrenós marcantes. **D.** Gema protegida por catafilos e raízes adventícias originadas na região dos nós. C = catafilo; CA = caule aéreo; G = gema; R = rizoma; RA = raiz adventícia. Barras: A e C = 5cm; D = 2,5 cm

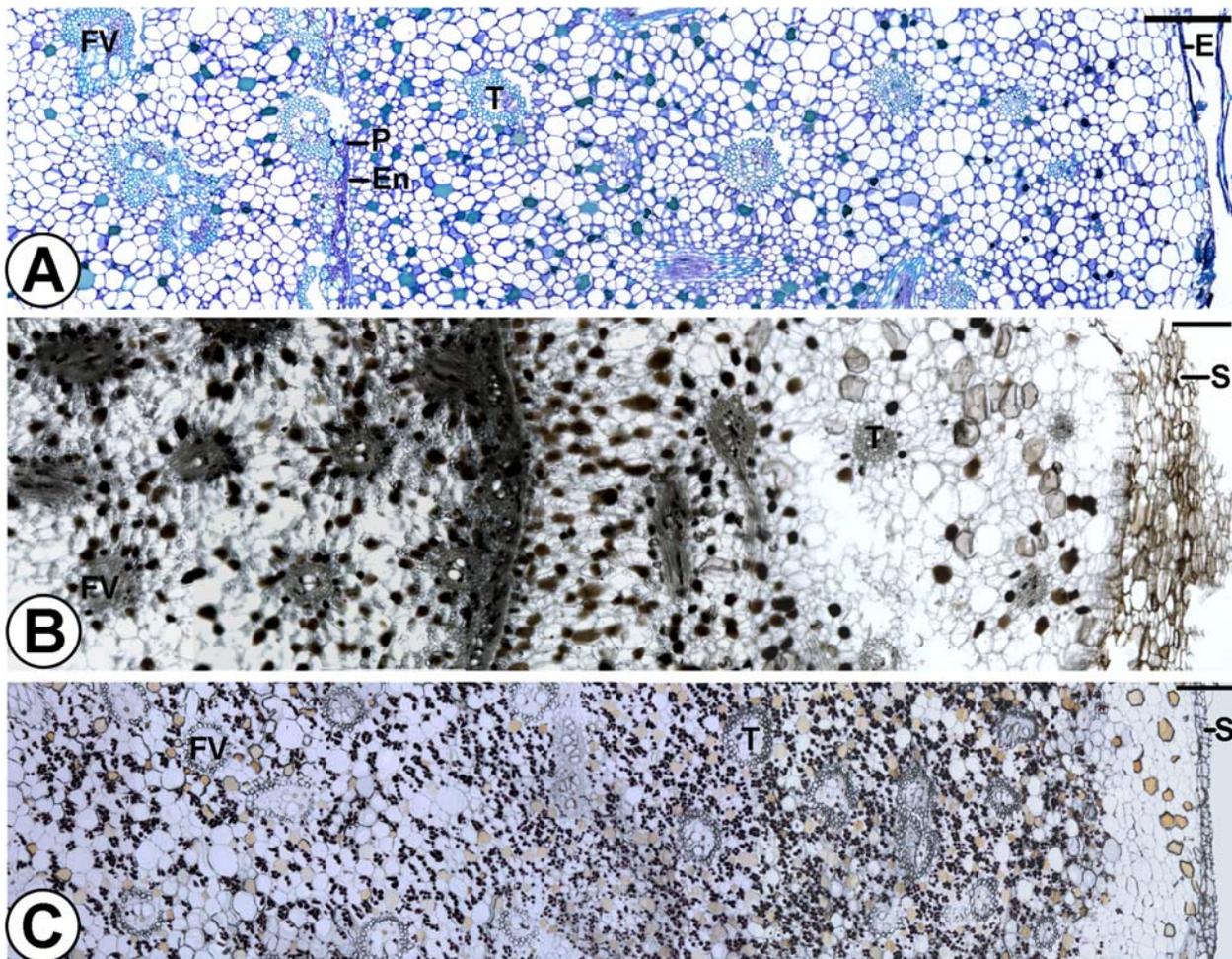


Figura 29 – Secções transversais em microscopia de luz do rizoma de plantas de *Costus arabicus* L. irrigadas diariamente (controle). **A.** Secção corada com azul de toluidina mostrando a estrutura anatômica do rizoma. **B.** Idioblastos com conteúdo fenólico (coloração marrom a preto) no córtex e cilindro vascular do material fixado em sulfato ferroso em formalina. **C.** Grãos de amido do córtex e do cilindro vascular corados com lugol. Observe a ausência dos grãos de amido nas camadas subepidérmicas. E = epiderme; En = endoderme; FV = feixe vascular; P = periciclo; S = súber; T = traço foliar. Barras: A, B e C = 5mm

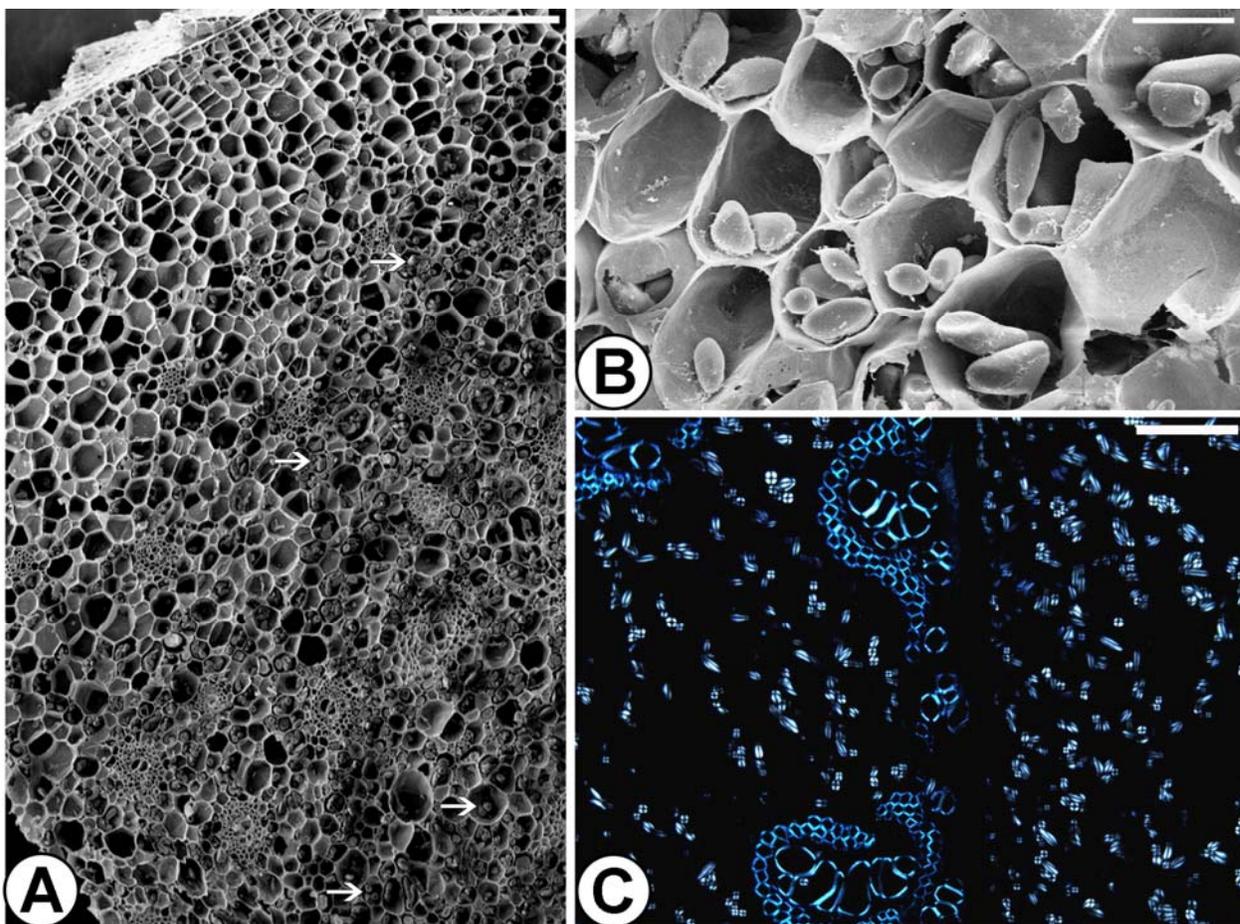


Figura 30 – Secções transversais em microscopia eletrônica de varredura (A e B) e em microscopia de luz (C) do rizoma de plantas de *Costus arabicus* L. irrigadas diariamente (controle). **A.** Aspecto geral do rizoma, mostrando os grãos de amido (setas). **B.** Detalhe dos grãos de amido. **C.** Grãos de amido sob luz polarizada. Barras: A = 0,5 mm; B = 50 μ m; C = 2 mm

Aspectos anatômicos e ultra-estruturais dos rizomas das plantas de *Costus arabicus* L. sob déficit hídrico

Os rizomas das plantas irrigadas a cada 7 dias (Figura 31) apresentaram características anatômicas semelhantes às das plantas controle (Figuras 29 e 30). No entanto, nos rizomas das plantas irrigadas a cada 15 dias (Figura 32), as células epidérmicas ou do súber estratificado e das camadas corticais mais externas tornaram-se mais achatadas e apresentaram paredes sinuosas, com tendência ao colapso das células. A progressão dessa sinuosidade da parede também pôde ser observada nas demais células em direção ao interior do órgão, mas de forma menos acentuada.

As células parenquimáticas das plantas tratadas também apresentaram inúmeros grãos de amido com diferentes tamanhos e formatos (bastonetes, redondas, ovais ou poligonais (Figuras 31C e D e 32C e D), como observado nas plantas que foram irrigadas diariamente (Figuras 30A e B). A presença de idioblastos providos de conteúdo de coloração amarelada in vivo e de aspecto denso ou granuloso também foi verificada nas plantas que foram irrigadas a cada 7 e 15 dias (Figuras 31A e 32A), inclusive nos feixes vasculares. Observaram-se traços vasculares foliares envoltos por 1-3 camadas de bainha esclerenquimática (Figuras 31A e 32A) distribuídos por todo o córtex. Cristais foram visualizados em algumas células parenquimáticas.

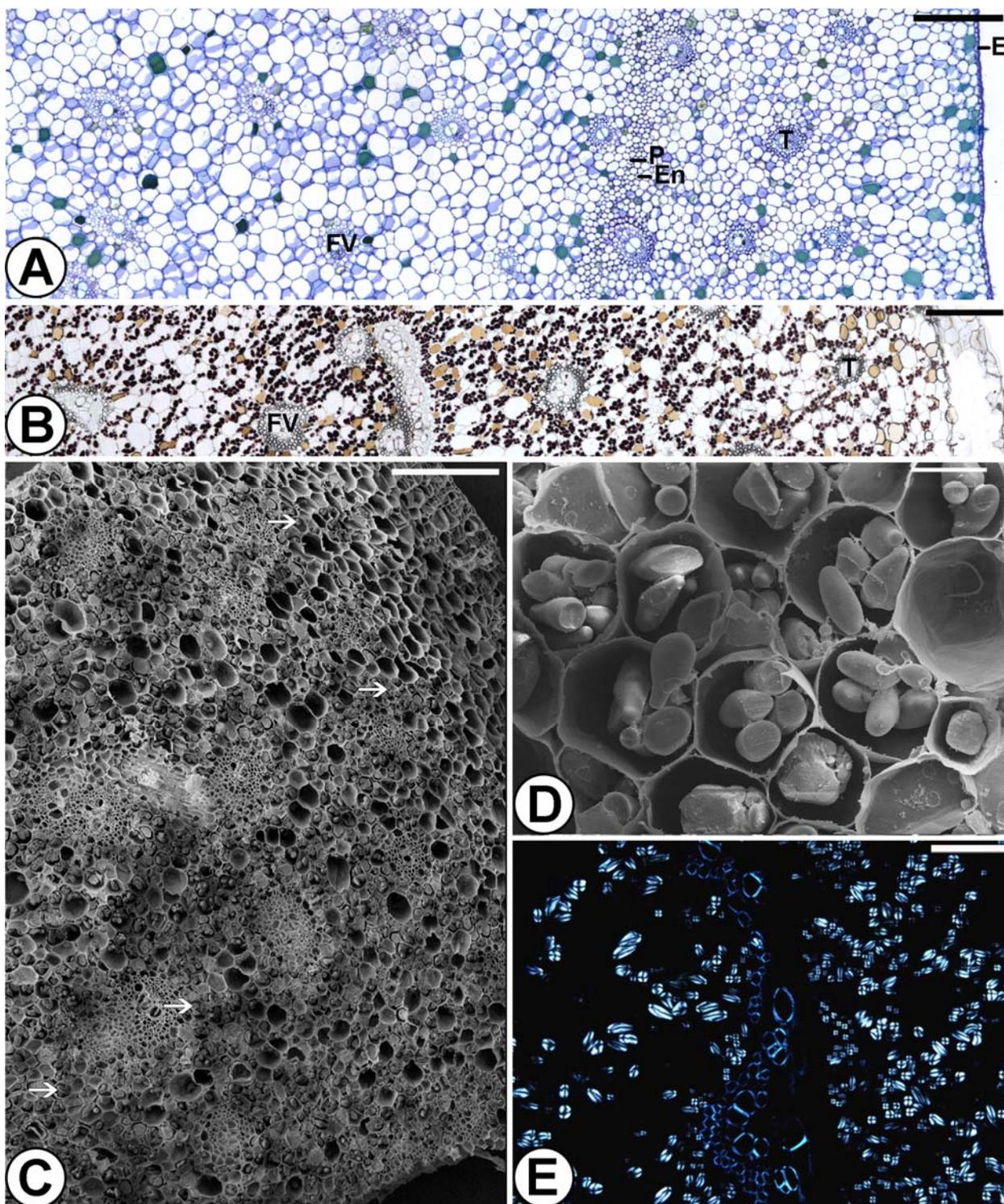


Figura 31 – Secções transversais em microscopia de luz (A, B e E) e em microscopia eletrônica de varredura (C e D) do rizoma de plantas de *Costus arabicus* L. irrigadas a cada 7 dias (7d). **A.** Secção corada com azul de toluidina mostrando a estrutura anatômica do rizoma. **B.** Grãos de amido do córtex e do cilindro vascular corados com lugol. **C.** Aspecto geral do rizoma, mostrando os grãos de amido (setas). **D.** Detalhe dos grãos de amido. **E.** Grãos de amido sob luz polarizada. E = epiderme; En = endoderme; FV = feixe vascular; P = periciclo; T = traço foliar. Barras: A e B = 5mm; C = 0,5 µm; D = 50 µm; E = 2 mm

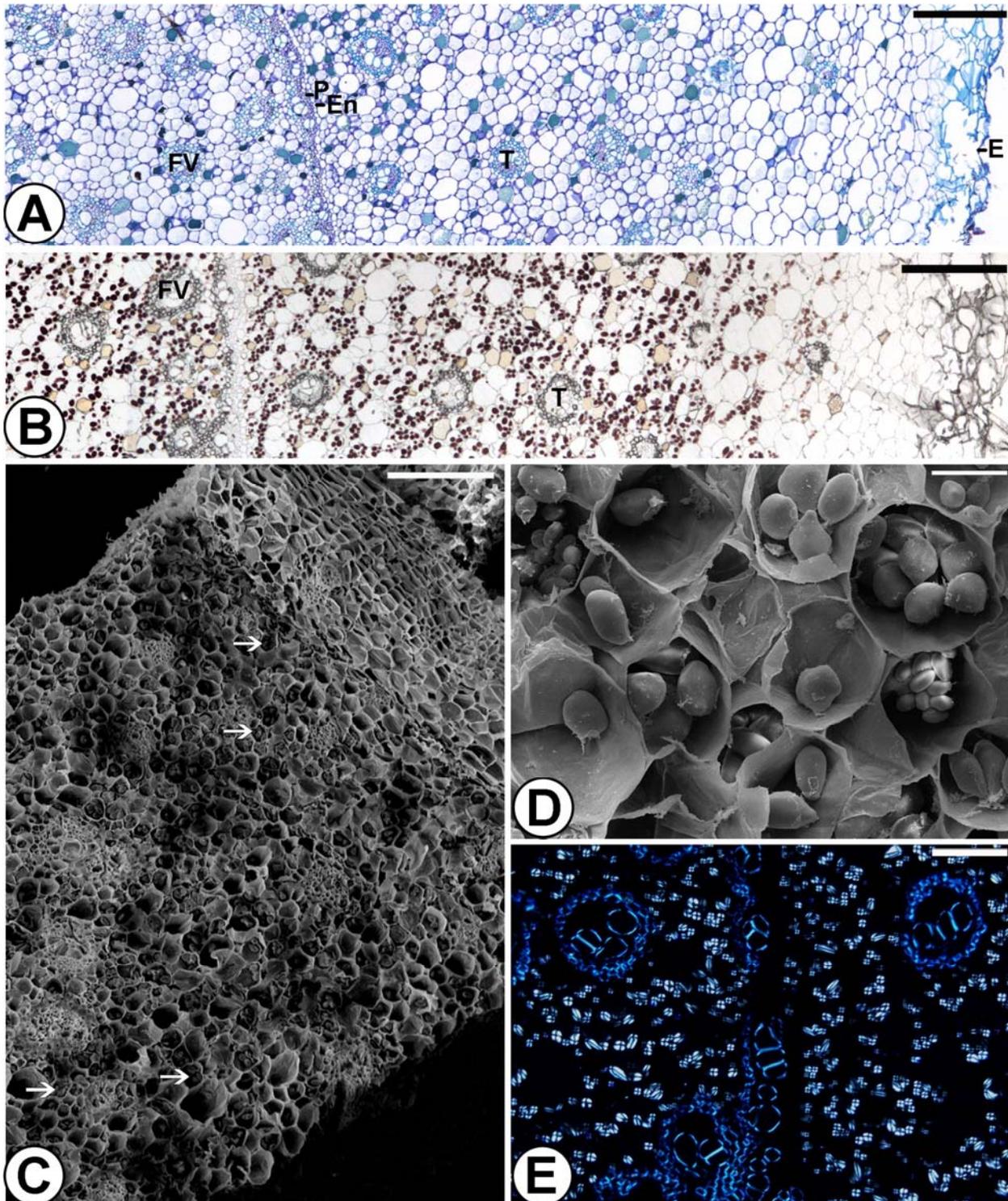


Figura 32 – Seções transversais em microscopia de luz (A, B e E) e em microscopia eletrônica de varredura (C e D) do rizoma de plantas de *Costus arabicus* L. irrigadas a cada 15 dias (15d). **A.** Seção corada com azul de toluidina mostrando a estrutura anatômica do rizoma. **B.** Grãos de amido do córtex e do cilindro vascular corados com lugol. Observe a ausência dos grãos de amido nas camadas subepidérmicas. **C.** Aspecto geral do rizoma, mostrando os grãos de amido (setas). **D.** Detalhe dos grãos de amido. **E.** Grãos de amido sob luz polarizada. E = epiderme; En = endoderme; FV = feixe vascular; P = periciclo; T = traço foliar. Barras: A e B = 5mm; C = 0,5 μ m; D = 50 μ m; E = 2 mm

2.3 Discussão

Tanto no primeiro experimento (período seco e frio – inverno) quanto no segundo (período quente e úmido – verão), observou-se que o teor de umidade do solo (TU Solo) manteve-se praticamente constante nas plantas irrigadas, demonstrando que a rega diária foi suficiente para manter a alta umidade do solo, com teores volumétricos médios de 64 e 55%, respectivamente. Porém, nas plantas irrigadas a cada 7 e 15 dias, observou-se, desde o início dos experimentos, reduções significativas. Essas reduções chegaram a valores 50 e 75% menores nos respectivos tratamentos.

Com efeito, plantas controle não apresentaram variações no potencial hídrico das folhas (Ψ_w) nem no potencial osmótico da seiva do rizoma (Ψ_s) durante os dois experimentos, ao passo que ambos, Ψ_w e Ψ_s , foram significativamente reduzidos em resposta aos tratamentos, embora o teor relativo de água (TRA) das folhas tenha sido semelhante ao das plantas controle. De acordo com Chaves Filho e Stacciarini-Seraphin (2001) uma vez que o TRA não é afetado pelo tratamento de estresse hídrico, o decréscimo do potencial osmótico em resposta ao déficit hídrico pode ser atribuído ao aumento na concentração intracelular de solutos. A diminuição do potencial osmótico através do aumento real de solutos intracelulares (ajuste osmótico) é um importante mecanismo desenvolvido pelas plantas que são submetidas à seca (TURNER, 1986; BRAY, 1993).

Os dados de massa seca (MS) de folhas obtidos nos experimentos realizados no inverno e no verão indicaram que o acúmulo de biomassa aérea foi influenciado pelo déficit hídrico, sendo os maiores valores observados nas plantas irrigadas diariamente. Esses dados, quando relacionados com os parâmetros hídricos, com a maior quantidade de folhas nas plantas controle e de folhas senescidas nos tratamentos 7d e 15d, demonstram que a disponibilidade hídrica do solo afetou o crescimento das plantas de *Costus arabicus*, principalmente com relação ao ganho e manutenção da área foliar. A suspensão de rega também influenciou o conteúdo de MS dos demais órgãos (caule, raiz e rizoma) sendo as principais alterações observadas aos 67 e 75 dias de experimento.

No segundo experimento, avaliou-se também a área foliar total (AFT). Assim como verificado para a MS, as plantas que foram irrigadas diariamente apresentaram

uma AFT mais elevada do que as plantas submetidas aos diferentes tratamentos de suspensão de rega. Existem na literatura relatos do efeito inibidor da produção total de biomassa em consequência do estresse hídrico (BAJJI; LUTTS; KINET, 2001; MARTÍNEZ et al., 2003, 2004; LIZANA et al., 2006). A diminuição na produção de biomassa total está associada, principalmente, a uma redução da biomassa foliar em resposta à redução da fotossíntese, transpiração e área foliar; sendo esta resultante da diminuição do número de folhas, da produção de folhas novas e do tamanho das folhas (BREVEDAN; EGLI, 2003; MAHAJAN; TUTEJA, 2005). Além disso, a diminuição do crescimento da parte aérea, principalmente devido à redução da área foliar, pode ser estratégica para as plantas sob déficit hídrico, pois permite uma redução da superfície transpirante (ASHRAF; FOOLAD, 2007) permitindo re-estabelecer um balanço com a superfície absorvente, em contato com o solo.

Os teores de açúcares solúveis totais (AST) em folhas, raízes e rizomas das plantas controle e tratadas foram semelhantes em ambos os experimentos. Contudo, os rizomas apresentaram diferentes padrões de variação desses compostos em relação à disponibilidade de água. A diminuição dos AST em condições de deficiência hídrica pode ser um indicativo de um baixo potencial osmorregulador das plantas, e possivelmente, esta diminuição está associada ao consumo destes compostos para a manutenção da sobrevivência, conforme sugeriram Melo et al. (2007). Diferentemente dos resultados obtidos em plantas de *C. arabicus*, Pastorini et al. (2003) observaram um aumento no teor de AST em tubérculos de batata cultivadas sob estresse hídrico no período da primavera.

Em relação ao conteúdo de açúcares redutores (AR), os níveis encontrados nas folhas e raízes no experimento realizado no inverno foram próximos aos verificados no verão, não tendo sido observados, em geral, diferenças estatisticamente significativas entre os três grupos de plantas. Porém, nos rizomas, verificaram-se significativas variações no conteúdo de AR entre as plantas irrigadas diariamente e as plantas irrigadas a cada 7 e 15 dias. Esse padrão de variação diferiu nos dois experimentos: no inverno, o teor de AR nos rizomas das plantas controle aumentou a cada coleta, tendo atingido o valor máximo de aproximadamente $135 \text{ mg g}^{-1} \text{ MS}$ aos 67 dias e, no verão, a

concentração mais elevada desses açúcares foi de 46 mg g⁻¹ MS, no início do período experimental, seguida de uma diminuição ao longo do período.

Assim como foi verificado para os AST, a concentração de AR nos rizomas diminuiu significativamente em resposta ao estresse hídrico. Diferentemente do encontrado em *C. arabicus*, estudos realizados com plantas de *Gossypium hirsutum* L. (MARUR, 1998) e *Solanum lycocarpum* St.-Hil. (CHAVES FILHO; STACCIARINI-SERAPHIN, 2001) sob deficiência hídrica, mostraram que os níveis de carboidratos solúveis totais e redutores aumentaram nas plantas submetidas ao déficit hídrico.

Praticamente durante todo o experimento realizado no inverno, uma maior concentração de amido foi verificada nas folhas das plantas controle. Esse resultado é semelhante aos dados obtidos com plantas de pessegueiro (ESCOBAR-GUTIÉRREZ et al., 1998) e de macieira (WANG; STUTTE, 1992) submetidas ao estresse hídrico.

Em um estudo realizado por Santos (2009) sobre crescimento, propagação, floração e compostos de reserva em *Costus arabicus* L. foi verificado que o amido é o principal carboidrato de reserva encontrado nos rizomas. No presente trabalho, verificou-se que, em geral, a concentração deste polissacarídeo foi mais elevada nas raízes e nos rizomas das plantas submetidas à suspensão de rega. A diminuição no conteúdo de amido nos rizomas das plantas irrigadas diariamente no experimento realizado no inverno sugere que esse polissacarídeo de reserva pode ter sido utilizado como fonte de energia para o crescimento da planta. Carvalho e Dietrich (1993) observaram essa mesma tendência com relação aos frutanos armazenados nos órgãos subterrâneos, rizóforos, de plantas de *Vernonia herbaceae*, uma espécie de Cerrado. Em contrapartida, a manutenção dos teores de amido nos rizomas das plantas dos tratamentos 7d e 15d sugere a ocorrência de dormência do órgão subterrâneo possivelmente em resposta ao déficit hídrico imposto. No experimento realizado no verão, observou-se nas folhas basicamente o mesmo padrão de variação observado no do inverno, com relação ao conteúdo de amido, embora as concentrações tenham sido mais baixas neste último.

No inverno, em geral, não foram observadas variações significativas entre os três grupos de plantas no conteúdo de aminoácidos livres totais nas folhas, raízes e rizomas, embora nestes últimos tenha se observado uma tendência à diminuição

desses compostos nas plantas tratadas. No entanto, no verão, verificou-se um aumento significativo deste conteúdo nas folhas das plantas submetidas à deficiência hídrica desde a imposição dos tratamentos. Este resultado confirma a hipótese de que o aumento no teor de aminoácido livre pode contribuir para a tolerância das plantas ao estresse hídrico por meio de um aumento no potencial osmótico (NAVARI-IZZO; QUARTACCI; IZZO, 1990).

Diferentemente do que foi verificado em um estudo recente com plantas de *Vernonia herbacea* submetidas a diferentes intensidades de déficit hídrico (GARCIA, 2009), os baixos teores de prolina ($< 0,15 \mu\text{mol g}^{-1} \text{MS}$) encontrados nas folhas, raízes e rizomas de plantas de *C. arabicus* nos dois experimentos sugerem que esse aminoácido não atuou na osmorregulação dessas plantas. Esperava-se que este aminoácido fosse acumulado nas folhas ou nos rizomas da espécie estudada, de forma a favorecer a aclimatação e/ou adaptação da planta ao déficit hídrico imposto (NAYYAR; WALIA, 2003; YAMADA et al., 2005).

As análises dos AST por HPAEC-PAD evidenciaram a presença de mio-inositol, glucose, frutose e sacarose nas folhas e nos rizomas. Além desses açúcares, as análises mostraram a presença de outro açúcar álcool que ainda não foi precisamente identificado. Padrão de pinitol foi analisado na tentativa de identificar este açúcar, uma vez que o pinitol é acumulado significativamente em algumas espécies vegetais sob estresse hídrico (GUO; OOSTERHUIS, 1997). Porém, essa hipótese não foi confirmada para as plantas de *C. arabicus*. Mais recentemente, a análise de algumas amostras realizadas por CG-MS sugerem que este composto seja o açúcar álcool sorbitol, porém análises adicionais ainda são necessárias para confirmação desse resultado.

Nas folhas, a variação nas concentrações de glucose e frutose foram semelhantes nos dois experimentos e, em geral, não foram observadas variações significativas nas concentrações desses açúcares entre os três grupos de plantas. Embora os teores de sacarose tenham sido mais baixos do que os das hexoses glucose e frutose, verificou-se uma tendência a aumentos na sua concentração nas folhas das plantas tratadas.

Os resultados obtidos nos dois períodos experimentais mostraram que os rizomas das plantas irrigadas diariamente apresentaram uma maior concentração de

glucose e frutose do que nas plantas irrigadas a cada 7 e 15 dias. Esse perfil de variação foi semelhante no experimento do inverno e no do verão. Assim como foi observado nas folhas, o teor de sacarose também apresentou, em geral, uma tendência a aumentos nos rizomas das plantas tratadas.

Sendo a sacarose um metabólito chave nos mecanismos de osmoregulação em plantas que passam por restrição hídrica (MÜLLER et al., 1997), é possível sugerir com base nos resultados obtidos neste trabalho, que as plantas de *C. arabicus* não utilizam esse carboidrato, nem tampouco a prolina, como mecanismo de resistência ao estresse hídrico temporário. A manutenção das altas concentrações de amido nos rizomas das plantas irrigadas a cada 7 e 15 dias, quando comparadas com as plantas controle, associadas aos baixos níveis de prolina livre e às reduções no crescimento das plantas e senescência da parte aérea, sugere a ocorrência de dormência do órgão subterrâneo de reserva como principal resposta ao déficit hídrico imposto neste experimento. Esse comportamento evidencia uma estratégia de evitação à seca, a qual é plausível de ocorrência em plantas de ambientes úmidos, como *Costus arabicus*, no entanto, estudos adicionais considerando as relações fonte-dreno, regulação da via de síntese de amido:sacarose e sinalização hormonal, com ênfase no ácido abscísico poderão colaborar significativamente no entendimento das respostas ora observadas e na confirmação de um mecanismos de evitação à seca.

Em relação aos estudos estruturais dos órgãos subterrâneos, existem poucos trabalhos com representantes de *Costus* (TOMLINSON 1956, 1962, 1969; OLIVEIRA; SAITO; CHUNZUM, 1986; LORCA et al., 1995; EDEOGA; OKOLI, 1997; JORGE et al., 1998; SILVA, 2009).

Baseado em Solereder e Meyer (1930 apud TOMLINSON 1956), Tomlinson (1956) descreveu que o rizoma das espécies das subfamílias Costoideae e Zingiberoideae nem sempre apresenta periderme. Posteriormente, este mesmo autor relatou que as camadas superficiais dos rizomas das espécies da família Costaceae são comumente suberizadas e que esta suberização às vezes ocorre apenas após a formação da periderme (TOMLINSON, 1969). Ao caracterizar morfológicamente a espécie *Costus spiralis* (Jacquin) Roscoe, Oliveira, Saito e Chunzum (1986) observaram que o rizoma dessa espécie é protegido por um conjunto de células suberosas,

diferentemente do rizoma de *Costus pilgeri* K. Schum., que apresenta periderme precocemente desenvolvida e felogênio pouco diferenciado (LORCA et al., 1995). No presente trabalho, verificou-se que o revestimento do rizoma das plantas de *Costus arabicus* é feito pela epiderme ou pelo súber estratificado.

Espécies da família Heliconiaceae, como por exemplo, *Heliconia angusta* Vell. e *Heliconia velloziana* L. Emygd. (SIMÃO; SCATENA, 2001) apresentam organização anatômica do rizoma semelhante à da espécie estudada neste trabalho: endoderme, inúmeros grãos de amido e substâncias fenólicas no córtex e no cilindro vascular. Em *Canna indica* L. (Cannaceae), a presença da endoderme no rizoma foi inicialmente observada por Van Fleet (1942) e um estudo com *Canna edulis* Kerr-Gawler constatou que no rizoma dessa espécie a endoderme característica com estrias de Caspary delimita o córtex do cilindro vascular (ALONSO; MORAES-DALLAQUA, 2004). Essa caracterização anatômica de *Canna edulis* corrobora os dados obtidos neste trabalho. Menezes et al. (2005) também observou a presença da endoderme no rizoma de *Zingiber officinale* Roscoe (Zingiberaceae).

Os rizomas das espécies das subfamílias Costoideae e Zingiberoideae apresentam tecido vascular interno à endoderme, que é visível a olho nu em cortes transversais e delimita o córtex do cilindro vascular, e parênquima com inúmeros grãos de amido (TOMLINSON, 1956). A região cortical e o cilindro vascular do rizoma de *Costus spiralis* apresentam características anatômicas semelhantes. Idioblastos providos de conteúdo amorfo amarelado, algumas vezes de aspecto granuloso, foram visualizados nas duas regiões. No córtex, verificou-se a presença de cristais prismáticos e endoderme típica com células com espessamento em U (OLIVEIRA; SAITO; CHUNZUM, 1986) e com estrias de Caspary (SILVA, 2009). Lorca et al. (1995) observaram uma grande área cortical no rizoma de *Costus pilgeri* e, nessa região, foram visualizados inúmeros grãos de amido, exceto na última camada (endoderme), assim como cristais (drusas). Um estudo microscópico-comparativo revelou a presença de cristais prismáticos nas espécies *Costus spiralis* (Jacquin) Roscoe e *Costus arabicus* L. e de material amorfo pardo-amarelado em idioblastos parenquimáticos no rizoma de *C. spiralis*, *C. arabicus* e *Hedychium coronarium* Koenig (JORGE et al., 1998). Contudo, dados obtidos no presente trabalho corroboram parte das descrições feitas

acima, tais como a semelhança estrutural entre o córtex e o cilindro vascular e a presença de idioblastos, parênquima amilífero, cristais e endoderme desprovida de amido com estrias de Caspary que separa o córtex do cilindro vascular.

Segundo Menezes et al. (2005), o periciclo do caule de *Zingiber officinale* é, sem dúvida, a camada de geração de tecidos vasculares. Diferentemente das espécies *Heliconia angusta*, *Heliconia velloziana* (SIMÃO; SCATENA, 2001) e *Costus pilgeri* (LORCA et al., 1995) que apresentam periciclo unisseriado e *Canna edulis* que possui periciclo plurisseriado (ALONSO; MORAES-DALLAQUA, 2004), a espécie estudada neste trabalho apresentou periciclo bisseriado. Em um estudo recente, Silva (2009) observou no rizoma de *Costus spiralis* que o periciclo, ao gerar novos feixes, produzia, junto a esse tecido, células que se tornaram fibras. Dessa forma, os feixes gerados pelo periciclo estão envoltos total ou parcialmente pelas fibras que ele próprio produziu. Em contrapartida, as fibras que envolvem os traços foliares são geradas pelo procâmbio. Na espécie estudada no presente trabalho, verificou-se que as fibras formavam uma bainha que envolvia completamente o feixe vascular.

Assim como foi verificado no presente trabalho, *Heliconia angusta* e *Heliconia velloziana* também possuem feixes vasculares colaterais (SIMÃO; SCATENA, 2001). Com o objetivo de criar inter-relações entre as espécies *Costus afer* e *Costus lucanusianus*, uma vez que essas são previamente confundidas, Edeoga e Okoli (1997) investigaram a estrutura anatômica da lâmina foliar, do rizoma e da raiz desses táxons. Esses autores observaram algumas diferenças anatômicas nos rizomas dessas espécies com relação ao tamanho dos vasos de xilema e ao número de camadas de esclerênquima ao redor do feixe vascular. Enquanto *Costus afer* possui apenas uma camada de esclerênquima ao redor dos feixes e pequenos vasos de xilema, *Costus lucanusianus* possui de 2-3 camadas e os vasos de xilema são grandes. No presente trabalho, verificaram-se traços vasculares envoltos por 1-3 camadas de bainha esclerenquimática. Lorca et al. (1995) verificaram que os feixes vasculares colaterais do córtex e do cilindro central do rizoma de *Costus pilgeri* possuem bainha de fibras pouco lignificada em seu entorno.

Análises ao microscópio eletrônico de varredura dos grãos de amido de espécies que possuem órgãos subterrâneos tuberosos evidenciaram diferentes tamanhos e

formatos, tais como: *Curcuma* sp (Zingiberaceae) possuem grãos arredondados e ovais; *Typhonium* sp (Araceae) apresentam grãos arredondados e poligonais e *Vigna vexillata* (L.) A. Rich. possui grãos cupuliformes, convexos e biconvexos (VIMALA, NAMBISAN, 2005). Embora o formato dos grãos de amido encontrados nos rizomas pareça ser constante e característico para determinados gêneros, entre eles o gênero *Costus* (TOMLINSON, 1956), algumas diferenças foram documentadas para as espécies desse gênero. Segundo Lorca et al. (1995), *Costus pilgeri* possui grãos simples, heteromórficos, geralmente ovais. Diferenças foram observadas nos rizomas das espécies *Costus afer* e *Costus lucanusianus*: na primeira, os grãos de amido se apresentaram com formatos achatado, oval, circular e irregular; enquanto na segunda, os mesmos foram visualizados apenas nas formas achatada e oval (EDEOGA; OKOLI, 1997). Contudo, essas análises não foram feitas através da microscopia eletrônica de varredura, assim como no presente trabalho, que mostrou realmente o formato do grão de amido, visto que em secções transversais visualizadas em microscopia de luz, os grãos de amido podem não estar íntegros. Através das análises das eletromicrografias, observou-se que os grãos de amido das plantas de *Costus arabicus* que foram irrigadas diariamente e das que foram submetidas ao déficit hídrico possuem os mesmos formatos.

Com relação aos taninos, Tomlinson (1956) relatou que é muito frequente a presença de compostos fenólicos em todas as espécies de Zingiberaceae e que esses aparecem comumente associados aos feixes vasculares ou adjacentes ao parênquima da bainha. Várias funções essenciais têm sido atribuídas a diferentes classes de compostos fenólicos. Os fenóis proporcionam defesa contra patógenos e possuem notável atividade antimicrobiana e os taninos, impedem a herbivoria (CASTRO; DEMARCO, 2008).

Tomlinson (1969) descreveu o rizoma e a raiz das espécies da família Costaceae como sendo iguais aos da família Zingiberaceae, com apenas uma diferença: ausência de células secretoras de óleo em Costaceae. O teste com Sudan IV foi negativo para a presença de substâncias lipofílicas em plantas de *Costus arabicus*.

3 CONCLUSÕES

Desde que temperaturas permitam, o principal fator que controla a distribuição das espécies vegetais é a disponibilidade hídrica do solo.

Neste trabalho, de modo geral, o déficit hídrico imposto nos dois experimentos realizados foi suficiente para gerar alterações fisiológicas, bioquímicas e anatômicas nas plantas de *Costus arabicus* L., tais como:

1. O déficit hídrico do solo afetou o crescimento das plantas, uma vez que os menores valores de potencial hídrico da folha e potencial osmótico do rizoma das plantas tratadas coincidiram com os menores valores de massa seca e número total de folhas verdes e aumentos do número de folhas senescidas;
2. A análise conjunta dos parâmetros ecofisiológicos e bioquímicos permitem sugerir um mecanismo de evitação à seca como resposta ao déficit hídrico imposto;
3. As alterações anatômicas como resposta ao estresse hídrico foram dependentes da intensidade e duração do déficit hídrico imposto, sendo somente observadas nos rizomas das plantas irrigadas a cada 15 dias;
4. O baixo teor de prolina presente nas plantas sob déficit hídrico sugere que esse aminoácido não atuou na osmorregulação dessas plantas;
5. Análises ultra-estruturais realizadas nesse estudo demonstraram que os grãos de amido não são indicadores do estresse hídrico nessa espécie, uma vez que estes apresentaram características morfológicas semelhantes nas plantas controle e tratadas.

REFERÊNCIAS

- ALONSO, A.A.; MORAES-DALLAQUA, M.A. Morfoanatomia do sistema caulinar de *Canna edulis* Kerr-Gawler (Cannaceae). **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 27, p. 229-239, 2004.
- AMARAL, L.I.V.; COSTA, P.M.F.; AIDAR, M.P.M.; GASPAR, M.; BUCKERIDGE, M.S. Novo método enzimático rápido e sensível de extração e dosagem de amido em materiais vegetais. **Hoehnea**, São Paulo, v. 34, p. 425-431, 2007.
- APG II. New update of the angiosperm phylogeny group classification for the orders and families of flowering plants: APG II. **Botanical Journal of the Linnean Society**, London, v. 141, p. 399-436, 2003.
- ASHRAF, M.; FOOLAD, M.R. Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance. **Environmental and Experimental Botany**, Oxford, v. 59, p. 206–216, 2007.
- ASSENG, S.; RITCHIE, J.T.; SMUCKER, A.J.M.; ROBERTSON, M.J. Root growth and water uptake during water deficit and recovering in wheat. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 201, p. 265–273, 1998.
- AYRES, M.; AYRES JR.; AYRES, D.L.M.; SANTOS, A.S. **BioEstat 2.0**: aplicações estatísticas nas áreas de ciências biológicas e médicas. Belém: Sociedade Civil Mamirauá; CNPq, 2000. 259 p.
- BAJJI, M.; LUTTS, S.; KINET, J.M. Water deficit effects on solute contribution to osmotic adjustment as a function of leaf ageing in three durum wheat (*Triticum durum* Desf.) cultivars performing differently in arid conditions. **Plant Science**, Amsterdam, v. 160, p. 669-681, 2001.
- BASU, P.S.; BERGER, J.D.; TURNER, N.C.; CHATURVEDI, S.K.; ALI, M.; SIDDIQUE, K.H.M. Osmotic adjustment of chickpea (*Cicer arietinum*) is not associated with changes in carbohydrate composition or leaf gas exchange under drought. **Annals of Applied Biology**, Cambridge, v. 150, p. 217-225, 2007.
- BATES, L.S.; WALDREN, R.P.; TEARE, I.D. Rapid determination of free proline for water-stress studies. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 39, p. 205-207, 1973.
- BERLYN, G.P.; MIKSCHE, J.P. **Botanical microtechnique and cytochemistry**. Ames: Iowa State University Press, 1976. 326 p.
- BLAKE, G.R. Bulk density. In: BLACK, C.A.; EVANS, D.D.; WHITE, J.L.; ENSMINGER, L.E.; CLARK, F.E. **Methods of soil analysis**. Madison: SSSA, 1965. p. 374-390.

BOHRNETT, H.J.; JENSEN, R.G. Strategies for engineering water stress tolerance in plants. **Trends in Biotechnology**, Cambridge, v. 14, p. 89-97, 1996.

BRAY, E.A. Molecular responses to water deficits. **Plant Physiology**, Rockville, v. 103, p. 1035-1040, 1993.

BREVEDAN, R.E.; EGLI, D.B. Short periods of water stress during seed filling, leaf senescence and yield of soybean. **Crop Science**, Madison, v. 43, p. 2083–2088, 2003.

BUCKERIDGE, M.S.; TINÉ, M.A.S.; SANTOS, H.P.; LIMA, D.U. Polissacarídeos de reserva de parede celular em sementes: estrutura, metabolismo, funções e aspectos ecológicos. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Campinas, v. 12, p. 137-162, 2000.

CARVALHO, M.A.M.; DIETRICH, S.M.C. Variation in fructans content in the underground organs of *Vernonia herbacea* (Vell.) Rusby at different phenological phases. **New Phytologist**, Lancaster, v. 123, p. 735-740, 1993.

CARVALHO, M.A.M.; PINTO, M.M.; FIGUEIREDO-RIBEIRO, R.C.L. Inulin production by *Vernonia herbacea* as influenced by mineral fertilization and time of harvest. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 21, p. 275-280, 1998.

CARVALHO, M.A.M.; ZAIDAN, L.B.P.; DIETRICH, S.M.C. Growth and fructan content of plants of *Vernonia herbacea* (Asteraceae) regenerated from rhizophores. **New Phytologist**, Lancaster, v. 136, p. 153-161, 1997.

CASTRO, C.E.F. Inter-relações das famílias das Zingiberales. **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**, Campinas, v. 1, p. 2-1, 1995.

CASTRO, M.M.; DEMARCO, D. Phenolic compounds produced by secretory structures in plants: a brief review. **Natural Product Communications**, Westerville, v. 8, p. 1273-1284, 2008.

CHAVES, M.M.; MAROCO, J.P.; PEREIRA, J.S. Understanding plant responses to drought – from genes to the whole plant. **Functional Plant Biology**, Victoria, v. 30, p. 239-264, 2003.

CHAVES, M.M.; PEREIRA, J.S.; MAROCO, J.; RODRIGUES, M.L.; RICARDO, C.P.P.; OSORIO, M.L.; CARVALHO, I.; FARIA, T.; PINHEIRO, C. How plants cope with water stress in the field? Photosynthesis and growth. **Annals of Botany**, Oxford, v. 89, p. 907–916, 2002.

CHAVES FILHO, J.T.; STACCIARINI-SERAPHIN, E. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 24, p. 199-204, 2001.

- CHU, E.P.; FIGUEIREDO-RIBEIRO, R.C.L. Growth and carbohydrate changes in shoot cultures of *Dioscorea* species as influenced by photoperiod, exogenous sucrose and cytokinin concentrations. **Plant Cell Tissue and Organ Culture**, Dordrecht, v. 70, p. 241-249, 2002.
- CLARK, R.B. Characterization of phosphatase of intact maize roots. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, London, v. 23, p. 458-460, 1975.
- COOCKING, E.C.; YEMM, E.W. Estimation of amino acids by ninhydrin. **Biochemical Journal**, Colchester, v. 58, p. xii-xiii, 1954.
- CÔRREA, M.P. **Dicionário das plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas**. Rio de Janeiro: Instituto Brasileiro de Desenvolvimento Florestal, 1984. v. 1.
- CRILEY, R.A. Techniques of cultivation in the ornamental Zingiberaceae. **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**, Campinas, v. 1, p. 22-32, 1995.
- DAVIES, W.J.; ZHANG, J. Root signals and the regulation of growth and development of plants in drying soil. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, Palo Alto, v. 42, p. 55-76, 1991.
- DIAS-TAGLIACOZZO, G.M.; ITAYA, N.M.; CARVALHO, M.A.M.; FIGUEIREDO-RIBEIRO, R.C.L.; DIETRICH, S.M.C. Fructans and water suppression on intact and fragmented rhizophores of *Vernonia herbacea*. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, Curitiba, v. 47, p. 363-373, 2004.
- DUBOIS, M.; GILLES, K.A.; HAMILTON, J.K.; REBERS, P.A.; SMITH, F. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. **Analytical Chemistry**, Washington, v. 28, p. 350-356, 1956.
- EDEOGA, H.O.; OKOLI, B.E. Anatomy and systematics in the *Costus afer* – *C. lucanusianus* complex (Costaceae). **APG. Acta Phytotaxonomica et Geobotanica**, Tokyo, v. 48, p. 151-158, 1997.
- ESCOBAR-GUTIÉRREZ, A.J.; ZIPPERLIN, B.; CARBONNE, F.; MOING, A.; GAUDILLÈRE, J.P. Photosynthesis, carbon partitioning and metabolite content during drought stress in peach seedlings. **Australian Journal of Plant Physiology**, Melbourne, v. 25, p. 197-205, 1998.
- FAN, L.; NEUMANN, P.M. The spatially variable inhibition by water deficit of maize root growth correlates with altered profiles of proton flux and cell wall pH. **Plant Physiology**, Rockville, v. 135, p. 2291-2300, 2004.

FAN, L.; LINKER, R.; GEPSTEIN, S.; TANIMOTO, E.; YAMAMOTO, R.; NEUMANN, P.M. Progressive inhibition by water deficit of cell wall extensibility and growth along the elongation zone of maize roots is related to increase lignin metabolism and progressive stellar accumulation of wall phenolics. **Plant Physiology**, Rockville, v. 140, p. 603-612, 2006.

GARCIA, P.M.A. **Variações no metabolismo de frutanos em *Vernonia herbacea* (Vell.) Rusby (Asteraceae) em resposta ao déficit hídrico e sua relação com a tolerância à seca.** 2009. 130 p. Dissertação (Mestrado em Biodiversidade Vegetal e Meio Ambiente) - Instituto de Botânica da Secretaria do Meio Ambiente, São Paulo, 2009.

GEIGENBERGER, P.; REIMHOLZ, R.; GEIGER, M.; MERLO, L.; CANALE, V.; STITT, M. Regulation of sucrose and starch metabolism in potato tubers in response to short-term water deficit. **Planta**, Berlin, v. 201, p. 502-518, 1997.

GRAZIANO, T.T.; DIETRICH, S.M.C.; FIGUEIREDO-RIBEIRO, R.C.L. Characterization of starch of the underground system of *Xanthoxoma sagittifolium* (L.) Schott (Araceae) during plant development. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Campinas, v. 4, p. 7-10, 1992.

GUO, C.; OOSTERHUIS, D.M. Effect of water-deficit stress and genotypes on pinitol occurrence in soybean plants. **Environmental and Experimental Botany**, Oxford, v. 37, p. 147-152, 1997.

HORRIDGE, G.A.; TAMM, S.L. Critical point drying for scanning electron microscopy study of ciliary motion. **Science**, Washington, v. 163, p. 817-818, 1969.

HSIAO, T.C.; XU, L.K. Sensitivity of growth of roots versus leaves to water stress: biophysical analysis and relation to water transport. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 51, p. 1595–1616, 2000.

HUTCHINSON, J. **Families of flowering plants: monocotyledons.** Oxford: Clarendon Press, 1959.

JENSEN, W.A. **Botanical histochemistry: principles and practice.** San Francisco: W.H. Freeman, 1962. 408 p.

JOHANSEN, D.A. **Plant microtechnique.** New York: Mc Graw – Hill, 1940. 523 p.

JONES, H. G.; CORLETT, J. E. Current topics in drought physiology. **Journal of Agricultural Science**, Zemun, v. 119, p. 291–296, 1992.

JORDAN, W.R. Whole plant response to water deficits: an overview. In: TAYLOR, H.D.; JORDAN, W.R.; SINCLAIR, T.R. (Ed.). **Limitations to efficient water use in crop production.** Madison: American Society of Agronomy, 1983.

JORGE, L.I.F.; GONZALEZ, E.; SILVA, M.L.P.; VICENTE, R. Exame microscópico-comparativo das espécies popularmente designadas “cana-do-brejo”. **Revista de Ciências Farmacêuticas**, São Paulo, v. 19, p. 39-47, 1998.

JUDD, W.S.; CAMPBELL, C.S.; KELLOGG, E.A.; STEVENS, P.F.; DONOGHUE, M.J. **Sistemática Vegetal: Um Enfoque Filogenético**. 3. ed., Porto Alegre, RS, Artmed Editora, 2009. 632 p.

KARNOVSKY, M.J. A formaldehyde-glutaraldehyde fixative of high osmolality for use in electron microscopy. **Journal of Cell Biology**, New York, v. 27, p. 137-138, 1965.

KUSAKA, M.; OHTA, M.; FUJIMURA, T. Contribution of inorganic components to osmotic adjustment and leaf folding for drought tolerance in pearl millet. **Physiologia Plantarum**, Kobenhavn, v. 125, p. 474–489, 2005.

LIN, R.C.; HANQUET, B.; DUBOIS, M.A.L. Aferoside A, a steroidal saponin from *Costus afer*. **Phytochemistry**, Oxford, v. 43, p. 665-668, 1996.

LIZANA, C.; WENTWORTH, M.; MARTÍNEZ, J.P.; VILLEGAS, D.; MENESES, R.; MURCHIE, E.H.; PASTENES, C.; LERCARI, B.; VERNIERI, P.; HORTON, P.; PINTO, M. Differential adaptation of two varieties of common bean to abiotic stress. I. Effects of drought on yield and photosynthesis. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 57, p. 685–697, 2006.

LORCA, G.L.; AMAT, A.G.; YAJIA, M.E.; GONZALEZ, C.F. Caracteres microscópicos del rizoma de *Costus pilgeri* K. Schum. (Zingiberaceae), utilizado como agente antihipertensivo y abortivo em la medicina popular de Misiones (Argentina). **Acta Farmaceutica Bonaerense**, Buenos Aires, v. 14, p. 17-20, 1995.

LORENZI, H.; MATOS, F.J.A. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas**. Nova Odessa: Instituto Plantarum de Estudos da Flora, 2002. 512 p.

LORENZI, H.; SOUZA, H.M. **Plantas ornamentais do Brasil: arbustivas, herbáceas e trepadeiras**. 2. ed. Nova Odessa, Instituto Plantarum, 1999. 1072 p.

MAHAJAN, S.; TUTEJA, N. Cold, salinity and drought stresses: an overview. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, New York, v. 444, p. 139–158, 2005.

MARTÍNEZ, J.P.; LEDENT, J.F.; BAJJI, M.; KINET, J.M.; LUTTS, S. Effect of water stress on growth, Na⁺ and K⁺ accumulation and water use efficiency in relation to osmotic adjustment in two populations of *Atriplex halimus* L. **Plant Growth Regulation**, Dordrecht, v.41, p. 63–73, 2003.

MARTÍNEZ, J.P.; LUTTS, S.; SCHANCK, A.; BAJJI, M.; KINET, J.M. Is osmotic adjustment required for water stress resistance in the Mediterranean shrub *Atriplex halimus* L.? **Journal of Plant Physiology**, Stuttgart, v. 16, p. 1041–1051, 2004.

MARUR, C.J. Fotossíntese e translocação de carboidratos em algodoeiros submetidos a déficit hídrico após a aplicação de cloreto de mepiquat. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Campinas, v. 10, p. 59-64, 1998.

McILVAINE, T.C. A buffer solution for colorimetric comparison. **Journal of Biological Chemistry**, Baltimore, v. 49, p. 183-186, 1921.

MELO, H.C.; CASTRO, E.M.; SOARES, A.M.; MELO, L.A.; ALVES, J.D. Alterações anatômicas e fisiológicas em *Setaria anceps* Stapf ex Massey e *Paspalum paniculatum* L. sob condições de déficit hídrico. **Hoehnea**, São Paulo, v. 34, p. 145-153, 2007.

MENEZES, N.L.; SILVA, D.C.; ARRUDA, R.C.O.; MELO-DE-PINNA, G.F.; CARDOSO, V.A.; CASTRO, N.M.; SCATENA, V.L.; SCREMIN-DIAS, E. Meristematic activity of the Endodermis and the Pericycle in the primary thickening in monocotyledons. Considerations on the "PTM". **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, Rio de Janeiro, v. 77, p. 259-274, 2005.

MORILLON, R.; LASSALLES, J-P. Water deficits during root development: effects on the growth of roots and the osmotic water permeability of isolated root protoplasts. **Planta**, Berlin, v. 214, p. 392-399, 2002.

MÜLLER, J.; SPRENGER, N.; BORTILIK, K.; BOLLER, T.; WIEMKEN, A. Desiccation increases sucrose levels in Ramonda and Haberlea, two genera of resurrection plants in the Gesneriaceae. **Physiology Plantarum**, Kobenhavn, v. 100, p. 153-158, 1997.

NAKAI, T. Notulae ad Plantas Asiae Orientalis (XVI). **Journal of Japanese Botany**, Tokyo, v. 17, p. 189-203, 1941.

NAVARI-IZZO, F.; QUARTACCI, M.F.; IZZO, R. Water-stress induced changes in protein and free amino acids in field-grown maize and sunflower. **Plant Physiology and Biochemistry**, Paris, v. 28, p. 531-537, 1990.

NAYYAR, N.; WALIA, D.P. Water stress induced proline accumulation in contrasting wheat genotypes as affected by calcium and abscisic acid. **Biologia Plantarum**, Praha, v. 46, p. 275-279, 2003.

OLIVEIRA, C.C.; CABRINI, D.A.; SANTOS, E.P.; MARQUES, M.C.A.; BUCHI, D.F. Canova medication and medicinal plants in south of Brazil. In: PRETORIUS, R. (Ed.). **Trends and developments in ethnopharmacology**. Kerala: Research Signpost, 2008. chap. 6.

OLIVEIRA, F.; SAITO, M.L.; CHUNZUM, M. Caracterização morfológica da cana-do-brejo. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, João Pessoa, v. 1, p. 123-135, 1986.

OPARKA, K.J.; WRIGHT, K.M. Osmotic regulation of starch synthesis in potato tubers. **Planta**, Berlin, v. 174, p. 123-126, 1988a.

_____. Influence of cell turgor on sucrose partitioning in potato tuber storage tissues. **Planta**, Berlin, v. 175, p. 520-526, 1988b.

OSORIO, J.; OSORIO, M.L.; CHAVES, M.M.; PEREIRA, J.S. Water deficits are more important in delaying growth than in changing patterns of carbon allocation in *Eucalyptus globulus*. **Tree Physiology**, Victoria, v. 18, p. 363–373, 1998.

PARENTE, J.P.; BERNARDO, R.R.; SILVA, B.P. Flavonol glycosides from *Costus Spicatus*. **Phytochemistry**, Oxford, v. 53, p. 87-92, 2000.

PASTORINI, L.H.; BACARIN, M.A.; TREVIZOL, F.C.; BERVALD, C.M.P.; FERNANDES, H.S. Produção e teor de carboidratos não estruturais em tubérculos de batata obtidos em duas épocas de plantio. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 21, p. 660-665, 2003.

PELLESCHI, S.; ROCHER, J.P.; PRIOUL, J.L. Effect of water restriction on carbohydrate metabolism and photosynthesis on mature maize leaves. **Plant, Cell and Environment**, Nottingham, v. 20, p. 493-503, 1997.

PIRO, G.; LEUCCI, M.R.; WALDRON, K.; DALESSANDRO, G. Exposure to water stress causes changes in the biosynthesis of cell wall polysaccharides in roots of wheat cultivars varying in drought tolerance. **Plant Science**, Amsterdam, v. 165, p. 559-569, 2003.

RAI, V.K. Role of amino acids in plant responses to stresses. **Biologia Plantarum**, Praha, v. 45, p. 481-487, 2002.

RAMANJULU, S.; BARTELS, D. Drought- and dissection-induced modulation of gene expression in plants. **Plant, Cell and Environment**, Nottingham, v. 25, p. 141-151, 2002.

SAKAI, W.S. Simple method for differential staining of paraffin embedded plant material using toluidine blue O. **Stain Technology**, Baltimore, v. 48, p. 47-249, 1973.

SANTISOPASRI, v.; KUROTJANAWONG, K.; CHOTINEERANAT, S.; PIYACHOMKWAN, K.; SRIROTH, K.; OATES, C.G. Impact of water stress on yield and quality of cassava starch. **Industrial Crops and Products**, Amsterdam, v. 13, p. 115-129, 2001.

SANTOS, V.R. **Crescimento, propagação, floração e compostos de reserva em *Costus arabicus* L.** 2009. 92 p. Tese (Doutorado em Biologia Vegetal) - Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2009.

SCHUMANN, K. Zingiberaceae. In **Engler's Pflanzenreich**, v. 4, p. 1-458, 1904.

SHARP, R.E.; LENOBLE, M.E. ABA, ethylene and the control of shoot and root growth under water stress. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 53, p. 33-37, 2002.

SHARP, R.E.; POROYKO V.; HEJLEK, L.G.; SPOLLE, W.G.; SPRINGER, G.K.; BOHNERT, H.J.; NGUYEN H.T. Root growth maintenance during water deficits: physiology to functional genomics. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 55, p. 2343-2351, 2004.

SHINOZAKI, K.; YAMAGUCHI-SHINOZAKI, K. Gene expression and signal transduction in water stress response. **Plant Physiology**, Rockville, v. 115, p. 327-334, 1997.

SILVA, C.G. **O espessamento primário no sistema caulinar e a continuidade entre esses tecidos nos órgãos vegetativos de Zingiberaceae e Costaceae: enfoque nos tecidos endoderme e periciclo**. 2009. 212 p. Dissertação (Mestrado em Botânica) – Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2009.

SIMÃO, D.G.; SCATENA, V.L. Morphology and anatomy in *Heliconia angusta* Vell. and *H. velloziana* L. Emygd. (Zingiberales: Heliconiaceae) from the Atlantic forest of southeastern Brazil. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 24, p. 415-424, 2001.

SOLEREDER, H.; MEYER, F.J. Zingiberacea. In **Systematische Anatomie der Monokotyledonen**, v. 6, p. 27-56, 1930.

SOMOGYI, M. A new reagent for the determination of sugars. **Journal of Biological Chemistry**, Baltimore, v.160, p. 61- 63, 1945.

STEVENSON, D.W.M.; STEVENSON, J.W. Costaceae (Costus Family). **Flowering plants of the neotropics**. Princeton: Princeton University Press, 2004. 594 p.

TOMLINSON, P.B. Studies in the systematic anatomy of Zingiberaceae. **Journal of the Linnean Society**, London, v. 55, p. 547-592, 1956.

_____. Phylogeny of the Scitamineae: morphological and anatomical considerations. **Evolution**, v. 16, p. 192-213, 1962.

_____. Commelinales-Zingiberales. In: _____. **Anatomy of the monocotyledons**. Oxford: Oxford University Press, 1969. v. 3, p. 295-324.

TURNER, N.C. Adaptation to water deficits: a changing perspective. **Australian Journal of Plant Physiology**, Melbourne, v. 13, p. 175-190, 1986.

VAN FLEET, D.S. The developmental and distribution of the endodermis and an associated oxidase system in monocotyledonous plants. **American Journal of Botany**, New York, v. 29, p. 1-15, 1942.

VIMALA, B.; NAMBISAN, B. **Tropical minor tubers crops**. Trivandrum: Central Tuber Crops Research Institute, 2005. 24 p.

WANDERLEY, M.G.L.; SHEPHERD, G.J.; GIULIETTI, A.M.; MELHEM, T.S. **Flora fanerogâmica do Estado de São Paulo**, São Paulo: FAPESP; RiMa, 2003. v. 3.

WANG, Z.; STUTTE, G.W. The role of carbohydrates in active osmotic adjustment in apple under water stress. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Geneva, v. 117, p. 816-823, 1992.

WEATHERLEY, P.E. Studies in the water relations of cotton plant. I. The field measurement of water deficits in leaves. **New Phytologist**, Lancaster, v. 49, p. 81-97, 1950.

WHITTAKER, A.; MARTINELLI, T.; FARRANT, J.M.; BOCHICCHIO, A.; VAZZANA, C. Sucrose phosphate synthase activity and the co-ordination of carbon partitioning during sucrose and amino acid accumulation in desiccation-tolerant leaf material of the C4 resurrection plant *Sporobolus stapfianus* during dehydration. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 58, p. 3775-3787, 2007.

YAMADA, N.; MORISHITA, H.; URANO, K.; SHIOZAKI, N.; YAMAGUCHI-SHINOZAKI, K.; SHINOZAKI, K.; YOSHIBA, Y. Effects of free proline accumulation in petunias under drought stress. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 56, p. 1975-1981, 2005.

ZOBAYED, S.M.A.; AFREEN, F.; KOZAI, T. Phytochemical and physiological changes in the leaves of St John's wort plants under a water stress condition. **Environmental and Experimental Botany**, Oxford, v. 59, p. 109-116, 2007.

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](#)