

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
DEPARTAMENTO DE BOTÂNICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA VEGETAL
LABORATÓRIO DE ANATOMIA VEGETAL

EFEITOS DO ESTRESSE HÍDRICO EM PLANTAS JOVENS DE
***Hedyosmum brasiliense* MART. (CHLORANTHACEAE)**

Mestranda: Andresa Vieira Machado

Orientadora: Dra. Marisa Santos

Co-orientadora: Dra. Maria Terezinha S. Paulilo

Florianópolis, fevereiro de 2004.

**EFEITOS DO ESTRESSE HÍDRICO EM PLANTAS JOVENS DE
Hedyosmum brasiliense MART. (CHLORANTHACEAE)**

ANDRESA VIEIRA MACHADO

Dissertação de mestrado apresentada como requisito parcial das exigências para obtenção do título de Mestre em Biologia Vegetal, do Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal, da Universidade Federal de Santa Catarina.

Florianópolis, fevereiro de 2004.

AGRADECIMENTOS

À Profa. Dra. Marisa Santos, do Departamento de Botânica da UFSC, pelos conhecimentos transmitidos, orientação e incentivo para a realização deste trabalho.

À Profa. Dra. Maria Terezinha Silveira Paulilo, do Departamento de Botânica da UFSC, pela co-orientação e incentivo para a realização deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Ademir Reis, do Departamento de Botânica da UFSC, pela ajuda na escolha da espécie estudada e auxílio nas coletas das sementes.

Ao Prof. Dr. João de Deus Medeiros, do Departamento de Botânica da UFSC, que gentilmente permitiu a utilização do microscópio com fotoautomático, com o qual foram obtidas as fotomicrografias que ilustram este trabalho.

Ao colega Paulo César Poeta Fermino Jr., pela amizade e por proporcionar dias de trabalho mais descontraídos.

À Ana Cláudia Rodrigues, colega do Laboratório de Anatomia Vegetal, pela amizade e auxílio na realização deste trabalho.

Ao Amarildo, funcionário do Departamento de Botânica da UFSC, pelo auxílio na montagem do experimento.

A todos os professores e funcionários do Departamento de Botânica que em algum momento prestaram sua colaboração a este trabalho.

À Coordenação de Aperfeiçoamento do Pessoal de Ensino Superior (CAPES), pela concessão de bolsa de mestrado no período de março de 2002 a fevereiro de 2004.

Aos meus pais, meu irmão e minha cunhada, pelo incentivo e motivação determinantes para a conclusão deste trabalho.

Em especial, a meu esposo, pelo incentivo, apoio e compreensão em todos os momentos.

SUMÁRIO

RESUMO	v
ABSTRACT	vi
INTRODUÇÃO.....	1
OBJETIVOS.....	4
Objetivos Gerais	4
Objetivos Específicos	4
MATERIAL E MÉTODOS.....	5
1. Área de coleta.....	5
2. Descrição da espécie	5
3. Obtenção de plantas e condições de crescimento.....	7
4. Número de coletas	9
5. Estudo Fisiológico.....	9
6. Estudo Morfo-anatômico.....	10
6.1. Preparação do material para Microscopia Óptica (MO)	10
6.2. Preparação do material para Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)	11
6.3. Procedimentos para o estudo morfométrico.....	12
RESULTADOS E DISCUSSÃO	13
1. Desenvolvimento das plantas	13
2. Níveis de prolina	19
3. Folha.....	19
3.1. Caracterização geral	19
3.2. Epiderme	19
3.3. Mesofilo	29
3.4. Nervura Mediana.....	29
3.5. Pecíolo.....	30
4. Caule.....	37
5. Raiz.....	42
6. Considerações gerais	50
CONCLUSÕES.....	51
BIBLIOGRAFIA.....	53

RESUMO

Hedyosmum brasiliense Mart. é a única espécie representante da família Chlorantaceae no Brasil. *H. brasiliense*, conhecida popularmente como cidrão (SC, PR), tem suas folhas utilizadas na medicina popular para diferentes fins, no entanto, só foram comprovadas suas atividades analgésicas e antimicrobianas. A espécie é encontrada em ambientes com baixa ou alta disponibilidade de água. Assim, o estudo de parâmetros fisiológicos e anatômicos em plantas de *H. brasiliense*, crescidas em diferentes condições hídricas, pode ajudar a esclarecer que mecanismos são utilizados pela espécie para enfrentar a baixa disponibilidade de água, contribuindo não só para uma maior compreensão da auto-ecologia desta espécie, mas também para melhor compreensão da adaptação de espécies à deficiência hídrica. Plantas jovens de *H. brasiliense* foram acondicionadas sob caixas confeccionadas com tela de sombrite (50% de corte de luz) e submetidas a dois regimes hídricos, rega diária com água até percolação (controle) e rega quinzenal com solução de polietilenoglicol de potencial hídrico de $-0,9$ MPa (plantas sob deficiência hídrica). Para comparação entre os resultados obtidos foi utilizado o teste *t*. A concentração de prolina foi maior nas plantas sob deficiência hídrica do que nas plantas controle, sendo indicador de aclimatação ao estresse hídrico. O déficit hídrico resultou num decréscimo da massa seca total, tanto em termos de raiz como de parte aérea. No entanto, a razão raiz/parte aérea foi maior nas plantas sob déficit hídrico, mostrando um maior investimento da planta no desenvolvimento das raízes em detrimento da parte aérea. A TCR também sofreu redução em função da deficiência hídrica. Nas plantas sob déficit hídrico ocorreu uma redução no tamanho das células epidérmicas e estomáticas, que resultou num aumento da densidade estomática, e uma redução da área foliar. Ainda na folha, o déficit hídrico promoveu a senescência foliar, assim como levou a uma diminuição na espessura do mesófilo e da lâmina foliar, principalmente pela redução na espessura do parênquima esponjoso. No caule, as plantas sob deficiência hídrica apresentaram uma redução no diâmetro total, dada principalmente pela menor atividade cambial e pela redução das divisões mitóticas das células do córtex. A raiz, sob déficit hídrico, alongou-se, porém ocorreu uma redução no diâmetro total, embora tenha aumentado o número de arcos xilemáticos. Os resultados indicam que as plantas jovens de *Hedyosmum brasiliense* Mart. possuem plasticidade para modificar algumas características morfo-anatômicas e fisiológicas em função do déficit hídrico, o que favorece seu estabelecimento tanto em ambientes com alta quanto com baixa disponibilidade de água.

Palavras-chave: *Hedyosmum brasiliense* Mart., Chloranthaceae, anatomia, estresse hídrico, raiz, caule, folha.

ABSTRACT

Hedyosmum brasiliense Mart. is the only species representative of the family Chloranthaceae in Brazil. *H. brasiliense*, known popularly as cidrão (SC, PR), has its leaves used in the popular medicine for different ends, however, they were only proven its analgesic and antimicrobial activities. The species is found in environments with low or high water availability. Thus, the study of physiological and anatomical parameters in plants of *H. brasiliense*, grown in different moisture conditions, can help clarify which mechanisms are used by the species to cope with the low availability of water, contributing not only for the understanding of the physiological ecology of this species, but also for a better understanding of the adaptation of the species in response to water stress. Young plants of *H. brasiliense* was conditioned in boxes covered with plastic screen (50% of light reduction) and submitted to two water regimes, daily watering with tap water until percolation (control) and biweekly watering with solution of polyethylene glycol with water potential of $-0,9$ MPa (plants under water stress). For comparison among the obtained results the *t* test was used. Prolina concentration was higher in the plants under water stress than in the control plants, being as indicative of acclimation to water stress. The water stress treatment resulted in lower total biomass, corresponding to lower and shoot biomass. The root/shoot ratio was higher in the plants under water stress, showing a larger investment of the plant in the development of the roots related to shoots when compared to control plants. TCR also suffered reduction in function of the water stress. In plants under water stress it was seen a reduction in the size of the epidermal and stomatal cells, due to an increase of the stomatal density, and a reduction of the leaf area. The water stress treatment promoted the fall of older leaves, decrease in the thickness of the mesophyll and leaf, mainly because of the reduction in the thickness of the spongy parenchyma. In the stem, the plants under water stress presented a reduction in the total diameter, given mainly by the smallest exchange activity and joy the reduction of the mitotic divisions of the cortical cells. The root, under water stress, increased in length, and underwent a reduction in the total diameter, although it has increased the number of xylem arches. The results showed that the young plants of *Hedyosmum brasiliense* Mart. have plasticity to modify some morpho-physiological characteristics in response to availability water stress, which probably, allows the species to cope with environments with low readiness of water.

Key words: *Hedyosmum brasiliense* Mart., Chloranthaceae, anatomy, water stress, root, stem, leaf.

INTRODUÇÃO

A família Chloranthaceae, conforme Todzia (1985), é constituída por 80 espécies distribuídas em quatro gêneros. São plantas arbustivas, herbáceas ou arbóreas, com folhas opostas simples, pinadas e com margens serradas, pecioladas, com estípulas livres, no ápice, e soldadas, na base, entre si e com o pecíolo, formando uma bainha amplexicaule (Reitz 1965; Metcalfe 1987). A família tem uma curiosa distribuição geográfica, compreendendo grandes áreas descontínuas – Américas, ilhas da Oceania e da Ásia oriental e tropical (Occhioni 1954).

Hedyosmum Sw., é o maior dos gêneros, único com ocorrência nas Américas, compreendendo 46 espécies essencialmente tropicais e subtropicais americanas (Occhioni 1954). Conforme Reitz (1965), o gênero totaliza 45 espécies. A abrangência de dispersão do gênero vai desde o México até Peru, Bolívia, Centro e Sul do Brasil, sendo Palhoça, em Santa Catarina, o seu limite austral (Reitz *op cit.*).

Hedyosmum brasiliense Mart. é uma espécie arbustiva que ocorre no Distrito Federal, Rio de Janeiro, Minas Gerais, Mato Grosso, São Paulo, Paraná, Santa Catarina, podendo chegar até a Bolívia (Occhioni 1954). Segundo Reitz (1965), é a única espécie do gênero no Brasil, sendo popularmente chamada canela-cânfora (DF), chá-de-bugre (DF, MG, SP, RJ) e cidreira (SC, PR). As folhas de *H. brasiliense* são muito utilizadas na medicina popular para enxaquecas, doenças do ovário, frieiras, afecções estomacais e, na forma de vinho, é considerada tônica e afrodisíaca (Reitz 1965). Guedes (1997) analisou as propriedades medicinais da espécie, concluindo que essa possui importantes atividades analgésicas e antimicrobianas. Barbosa (1997) refere que a espécie parece ter potencial para recuperação de ambientes impactados.

Occhioni (1954) refere que, no Distrito Federal – Serras dos Órgãos e do Itatiaia, *H. brasiliense* encontra-se nas margens de rios, riachos e cachoeiras ou em barrancos, locais onde há elevado estado higrométrico do ar e grande provisão de água no solo em todas as estações do ano. Em Santa Catarina, de acordo com Reitz (1965), é uma espécie exclusiva da Floresta Ombrófila Densa. No Estado de Santa Catarina, nos municípios de Garuva e Governador Celso Ramos, essa espécie também é encontrada em algumas regiões baixas e alagadiças (Ademir Reis, informação pessoal). Klein (1980) cita *H. brasiliense* como espécie característica da vegetação de topo de morro do Vale do Itajaí, onde os solos pouco profundos e abruptos dificultam o desenvolvimento de outras espécies. O mesmo autor (1979) refere que a umidade relativa do ar no Vale do Itajaí é alta, embora sendo mais baixa no alto das encostas do que nos vales. Segundo Barbosa (1997), *H. brasiliense* aparece no Parque Botânico do Morro Baú ocupando os ambientes naturais de pico de morro e ambientes que sofreram ação antrópica. Também há registros de ocorrência na Reserva de Caraguatá, na Serra de Biguaçú (acima de 800 m de

altitude), localizada no município de Antônio Carlos (Ademir Reis, informação pessoal). Assim, *H. brasiliense* parece ser uma planta com capacidade de tolerar tanto alta quanto baixa quantidade de água no substrato.

Diferentes espécies têm desenvolvido fascinantes mecanismos para enfrentar a baixa quantidade de água no substrato, evitando-a ou tolerando-a (Lambers *et al.* 1998), através de modificações na morfologia externa, na histologia, na citologia e na fisiologia da planta (Dickison 2000). A deficiência no suprimento hídrico pode conduzir ao fechamento estomático e ao movimento de folhas, mecanismos estes que evitam perda de água (Osmond *et al.* 1987). Sob estresse hídrico as plantas também podem alterar a espessura, a área foliar e características anatômicas (Lambers *et al.* 1998), assim como, a taxa de transpiração, a condutância estomática e a taxa fotossintética (Calbo & Moraes 2000). A baixa quantidade de água no substrato pode influenciar a expansão celular, a regulação estomática, a fotossíntese, a respiração, a translocação de substâncias e a síntese da parede celular, levando à redução da taxa de crescimento e a mudanças no padrão de translocação de matéria seca (Kramer 1983 – *apud* Steinberg *et al.* 1990). Para espécies herbáceas de agricultura, numerosos estudos documentam que, sob estresse hídrico, há um maior investimento no desenvolvimento das raízes, resultando em aumento de comprimento (Fitter & Hay 1987) e de matéria seca da raiz (Pereira & Pallardi 1989), redução de matéria seca total (parte aérea + raiz), diminuição da expansão foliar e, em alguns casos, a diminuição da produção de folhas (Steinberg *et al.* 1990). A deficiência de água ocorrida em plantas durante a diferenciação celular das folhas determina redução irreversível da área e do espessamento foliar e aumento da densidade estomática (Zagdanska & Kosdoj 1994).

Sob deficiência hídrica, pode ocorrer acúmulo de prolina no vacúolo celular (Bohnert *et al.* 1995; Pandey & Agarwall 1998), o que aumenta a capacidade das células de extrair água do solo (Boyer 1996). O acúmulo de prolina nas plantas, sob estresse hídrico ou salino, pode ter função na regulação osmótica (Xu *et al.* 2002), proteção da integridade celular (Stewart & Lee 1974; Shevyakova 1984) ou, ainda, participar na constituição de um estoque de N e C que poderia ser utilizado depois do período de estresse (Taylor 1996).

A presença de micorrizas, segundo Mathur & Vyas (2000) e Kaya *et al.* (2003), é um fator que pode aumentar a resistência de algumas plantas à seca. Esse aumento na resistência pode ser decorrente de uma intensa absorção de água e de nutrientes por hifas externas (Augé *et al.* 1986; Davies *et al.* 1992), de uma emissão de sinais hormonais que influenciam na regulação estomática (Duan *et al.* 1996), ou de uma modificação das atividades fotossintéticas e metabólicas (Subramanian & Charest 1995).

Com relação às estruturas anatômicas das plantas, há estudos, por exemplo, associando a presença de hipoderme à deficiência hídrica do substrato, acumulando muitas vezes

mucilagem nos vacúolos, de modo, a evitar a perda excessiva de água na transpiração. Solereder (1908) refere a presença de canais de mucilagem na margem da medula do caule e Metcalfe (1987) descreve a presença de hipoderme nas folhas de espécies de *Hedyosmum*. Metcalfe & Chalk (1957) citam que *H. brasiliense* contém massas esferocristalinas adicionadas à mucilagem dos canais mucilaginosos. A presença de mucilagem é descrita por Silva *et al.* (2001), para plantas xéricas, como alternativa de diminuir a perda hídrica. Essa secreção também é encontrada em plantas aquáticas, mas com uma função contrária. Segundo Sculthorpe (1967), a presença de mucilagem em plantas aquáticas impede a entrada excessiva de água, diminuindo a diferença de potenciais hídricos entre o meio externo e interno e, assim, diminuindo a velocidade de entrada de água no vegetal.

O mesofilo também pode sofrer alterações em função do suprimento hídrico. Geralmente, em função da deficiência hídrica ocorre uma redução na espessura do mesofilo e da lâmina foliar, que pode ser decorrente de uma redução no número de estratos celulares ou de uma redução dos espaços intercelulares (Chartzoulakis *et al.* 2002). Em ambientes alagados o parênquima esponjoso apresenta amplos espaços intercelulares, como reserva de ar, enquanto em ambientes xéricos apresenta-se mais compactado, com reduzidos espaços intercelulares (Mauseth 1988; Dickison 2000), ou até mesmo ausente (Silva *et al.* 2001). No gênero *Hedyosmum*, conforme Solereder (1908), na lâmina foliar ocorrem dois tipos de parênquimas clorofilados: na face adaxial o parênquima é mais compactado, caracterizado por células pequenas, sem a forma de paliçada, e na face abaxial, há um parênquima esponjoso típico, com amplos espaços intercelulares. Occhioni (1954) descreve que o mesofilo da lâmina foliar de *H. brasiliense* está constituído por parênquima homogêneo, apresentando reduzidos espaços intercelulares, na face superior, e amplos, na face inferior. Esse autor ressalta que *H. brasiliense* é uma planta muito variável no que concerne ao seu porte e caracteres morfológicos e dimensionais das folhas.

Com base nas informações disponíveis na literatura, sobre a ocorrência de *H. brasiliense*, em ambientes de diferentes graus de hidratação do substrato, esta espécie parece adequada para servir de modelo na investigação sobre a aclimação de plantas à variações na disponibilidade de água no substrato. Assim, o estudo de parâmetros fisiológicos e anatômicos em plantas jovens de *Hedyosmum brasiliense* Mart., crescidas em diferentes condições hídricas, pode ajudar a esclarecer que mecanismos são utilizados pela espécie para enfrentar a baixa disponibilidade de água, contribuindo não só para uma maior compreensão da auto-ecologia desta espécie, mas também para melhor compreensão da aclimação de espécies à deficiência hídrica.

OBJETIVOS

Objetivos Gerais

Determinar as variações morfo-anatômicas e fisiológicas em indivíduos jovens de *Hedyosmum brasiliense* Mart. submetidos a variações no estado hídrico do substrato, com o intuito de contribuir tanto para o entendimento da auto-ecologia desta espécie como das aclimações que podem ocorrer em espécies sob deficiência hídrica.

Objetivos Específicos

Acompanhar o desenvolvimento de plantas jovens de *H. brasiliense*, submetidas à deficiência hídrica do substrato, de maneira a:

1. Avaliar a taxa de crescimento relativo (TCR), a taxa de assimilação líquida (TAL), a massa seca e a área foliar;
2. Avaliar os níveis de prolina em folhas;
3. Descrever a morfologia externa da raiz e do caule;
4. Descrever as características anatômicas da raiz, do caule e da folha (lâmina e pecíolo);
5. Avaliar o comprimento total e o diâmetro das raízes e do caule;
6. Avaliar o comprimento total e o diâmetro dos elementos de vaso da raiz;
7. Avaliar a densidade estomática e o índice estomático;
8. Avaliar o comprimento e a largura das células-guarda e do poro estomático;
9. Avaliar a espessura da lâmina foliar, do mesofilo, dos tecidos do mesofilo e da epiderme;
10. Identificar a natureza química, através de testes histoquímicos, de componentes da parede celular e inclusões vacuolares.

MATERIAL E MÉTODOS

1. Área de coleta

As sementes de *Hedyosmum brasiliense* Mart. foram coletadas no Parque Botânico Morro Baú (PBMB). O PBMB foi criado em 8 de abril de 1961, com área atual de 750 hectares (Marterer 1996). O PBMB (Fig. 1) situa-se nos municípios de Ilhota e Luiz Alves (Médio Vale do Itajaí), entre as coordenadas 26° 47' 10" e 26° 50' 15"S; e 48° 55' 33" e 48° 57' 35"W, no Estado de Santa Catarina, região Sul do Brasil, estendendo-se de 200 a 819,44 metros acima do nível do mar, com clima tropical úmido, temperatura média anual entre 18 e 20 °C, umidade relativa do ar maior que 85% e precipitação média anual entre 1600 e 1800 milímetros (Atlas de Santa Catarina 1986).

2. Descrição da espécie

Occhioni (1954) apresenta minuciosa descrição macro e microscópica sobre a espécie. *Hedyosmum brasiliense* Mart. é um arbusto de 4-6 metros de altura; as plantas são dióicas, aromáticas, resiníferas, com os ramos opostos, folhas penínérveas, oblongas ou ovais oblongas, base atenuada, ápice acuminado, margens serreadas, pecioladas, com estípulas livres só no ápice e soldadas com o pecíolo em uma bainha muito grande, em forma de ócrea. A espécie possui inflorescências com flores femininas pequenas, esverdeadas, inodoras, sésseis com brácteas carnosas e unidas entre si; e inflorescências do tipo espigas ovais ou cilíndricas, dispostas em panículas axilares, com flores masculinas também esverdeadas com brácteas lineares ou triangulares lanceoladas. Os frutos são pequenas drupas subcarnosas circundadas por brácteas persistentes e soldadas entre si, que durante a maturação são de viva coloração branco-lácteo. O autor descreve as características histológicas de raiz e caule, estrutura primária e secundária, e também de folha (bainha, pecíolo e lâmina).

3. Obtenção de plantas e condições de crescimento

As drupas, contendo as sementes de *Hedyosmum brasiliense* Mart. (Fig. 2), inicialmente foram deixadas em hipoclorito de sódio a 5%, para desinfecção e, posteriormente, lavadas em água corrente. As sementes foram colocadas a germinar em bandejas plásticas, contendo papel filtro umedecido com solução de fungicida (Benlat na concentração de 100mg/l). As bandejas foram recobertas com plástico, para evitar a perda de umidade, e mantidas em laboratório em condições não controladas de luz e temperatura. As sementes (inclusas nas drupas) permaneceram nestas condições até germinarem e formarem plântulas.

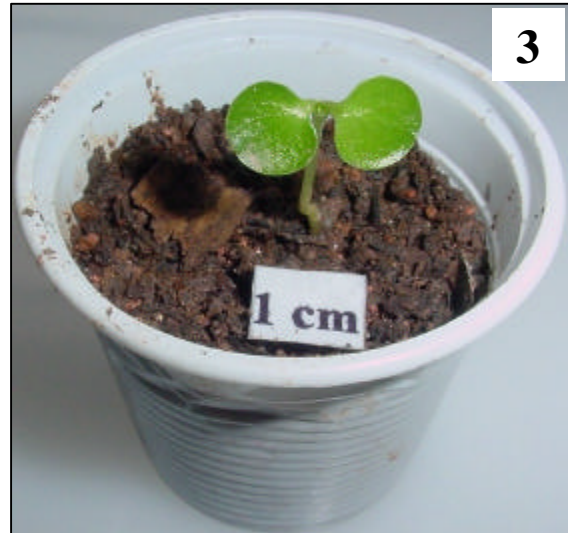
À medida que o hipocótilo das plântulas atingia aproximadamente 2 cm de comprimento, estas eram transplantadas para copos plásticos (com 4 cm de altura e 5 cm de diâmetro), contendo terra de mata, areia e adubo orgânico na proporção 3:1:2 (Fig. 3) permanecendo em casa de vegetação por cerca de um mês e meio, para aclimação. As plântulas foram irrigadas sempre que necessário, de modo a manter o substrato sempre úmido.

Após o período de aclimação, as plântulas foram transplantadas para as condições definitivas de crescimento, ou seja, para sacos plásticos perfurados (com capacidade de 1 litro) contendo o mesmo substrato descrito acima. Os sacos plásticos, contendo uma planta cada, foram colocados sob caixas de 1m³, confeccionadas com tela sombrite de 50% de corte de luz, colocadas em local sombreado e ao ar livre. A taxa de corte de luz adotada, no presente estudo, foi fundamentada nos resultados obtidos por Berkenbrock & Paulilo (1999), os quais verificaram, ao caracterizar o crescimento inicial de *H. brasiliense* em diferentes intensidades de luz, que o melhor desenvolvimento dava-se com 50% da luz incidente.

As plantas jovens (Fig. 4) foram padronizadas por tamanho, para reduzir a variação intra-específica. Um total de 180 plantas selecionadas foram dispostas em quatro caixas (Fig.5), de modo a evitar o auto-sombreamento, e colocadas a céu aberto. Estas plantas foram divididas em dois lotes, distribuídos igualmente nas quatro caixas, para submeter às variações no estado hídrico do substrato, um tratamento submetendo 90 plantas à solução de polietilenoglicol e outro com 90 plantas como controle.

A irrigação das plantas foi feita, quinzenalmente, com solução de polietilenoglicol (PEG)¹ de potencial hídrico de 0,9 MPa, preparada segundo Willians & Shaykewich (1969). Para preparação da solução de polietilenoglicol, foram dissolvidos 315,67g de PEG em 1l de água destilada. O controle foi feito irrigando as plantas, diariamente, com água da torneira. Sob tais condições as plantas foram mantidas por 118 dias.

¹ Polietilenoglicol (PEG) – É utilizado para simular o estresse hídrico e uma das soluções osmóticas mais utilizadas (Fanti & Perez 2003).



Figuras 2-5. *Hedyosmum brasiliense* Mart. **2.** Drupa, contendo semente. **3.** Plântula crescendo em copo plástico com substrato. **4.** Planta jovem em condições definitivas de crescimento (saco plástico com substrato). Barra: 5 cm. **5.** Vista geral das quatro caixas com plantas jovens, em ambiente aberto.

4. Número de coletas

Para as análises fisiológicas e morfo-anatômicas as plantas foram sorteadas aleatoriamente, retiradas dos sacos plásticos e lavadas cuidadosamente para retirada da terra das raízes. Posteriormente, as raízes, os caules e as folhas foram separados. As plantas foram coletadas sempre no mesmo período do dia.

Para análise fisiológica foram realizadas três coletas de 9 plantas de cada tratamento, uma antes do início dos tratamentos e outras aos 40 e aos 118 dias após o início dos tratamentos. Para análise morfo-anatômica foram realizadas duas coletas de 3 plantas de cada tratamento, aos 40 e aos 118 dias, após o início dos tratamentos.

5. Estudo Fisiológico

Para os estudos fisiológicos, em cada coleta, foram determinadas a massa seca da raiz, do caule e das folhas e as taxas de crescimento (TCR) e de assimilação líquida (TAL). O nível de prolina nas folhas foi determinado somente aos 118 dias de tratamento.

A massa seca foi determinada por pesagem após secagem do material vegetal por 24h a 80°C. A área foliar foi determinada, em cm², delineando-se o contorno de cada folha em papel com peso constante (tamanho ofício padrão 75g/m²). Os moldes foram recortados e pesados em balança digital. O peso destes moldes foi relacionado com o peso de área conhecida em cm² do mesmo papel.

As taxas médias de crescimento relativo (TCR) e de assimilação líquida (TAL) foram calculadas segundo Hunt (1982). A taxa média de crescimento relativo foi calculada pela equação $TCR = (\ln M2 - \ln M1) / (T2 - T1)$. A taxa de assimilação líquida foi calculada pela equação $TAL = [(\ln M2 - \ln M1) / (T2 - T1)] \times [(\ln A2 - \ln A1) / (A2 - A1)]$, onde M1 e M2 correspondem as massas secas totais na coleta um e coleta dois, respectivamente, T1 e T2 correspondem ao intervalo de tempo entre a coleta um e coleta dois e A1 e A2 correspondem à área foliar total na coleta um e coleta dois.

A determinação dos níveis de prolina foi feita segundo método de Bokhari & Trent (1985). Inicialmente foi feita a homogeneização de 0,5 g de material fresco de folhas em 8 ml de ácido sulfosalicílico (solução aquosa a 3%). O extrato obtido foi centrifugado, em temperatura ambiente, por 30 minutos a 10000g. A seguir, em tubo de ensaio, foi colocado 1 ml de extrato centrifugado, acrescentando-se 2 ml de reagente de nihidrina. Essa solução nos tubos de ensaio foi aquecida, em banho-maria, por 1 h a 100°C. A reação foi interrompida em banho de gelo e, após, foram acrescentados 3 ml de tolueno à solução. A fração com tolueno foi retirada com pipeta e esfriada até temperatura ambiente, quando, então, sua absorbância foi medida a 520 nm,

em espectrofotômetro, e comparada com a absorbância a 520 nm de soluções-padrão nas concentrações de 2, 6, 12 e 16µg/ml de prolina.

Para comparação entre os resultados obtidos em cada tratamento foi utilizado o teste T, ao nível de significância de 5%.

6. Estudo Morfo-anatômico

Investigações estruturais e morfométricas concentraram-se no terço médio da lâmina de folhas totalmente expandidas, nas regiões intercostais. Apenas a determinação do número total de folhas considerou também folhas jovens. Estudos estruturais incluíram ainda a porção média do pecíolo. No caule foi determinado o número médio de nós, ao longo de todo órgão, sendo considerada apenas a região de entrenó, no ponto médio entre o ápice e base, para as demais análises. Na raiz a investigação ficou restrita a região distante de 2 a 2,5 cm do ápice das raízes.

6.1. Preparação do material para Microscopia Óptica (MO)

Lâminas temporárias – Amostras *in vivo* foram seccionadas, com auxílio de lâminas de barbear, transversalmente, usando suporte de isopor (Quintas 1963), e paradermicamente. Essas preparações serviram para realização de testes histoquímicos: reativo de Steimetz original (Costa 1982), para identificação de suberina, lignina, cutina, celulose, mucilagem, amido e compostos fenólicos; sudan IV (Costa *op.cit.*), para detecção de óleos e cutina; fluoroglucina/ HCl (Costa *op.cit.*), para detecção de lignina; tionina (Purvis *et al.* 1964 – *apud* Kraus & Arduin 1997), para detecção de mucilagem.

Lâminas semipermanentes – Para análise morfométrica de estruturas epidérmicas (densidade estomática, índice estomático, dimensões de células-guarda e poro estomático), em vista frontal, as amostras foliares foram imersas em solução de Jeffrey (Johansen 1940) até a dissociação da epiderme. Porções da epiderme foram montadas em lâminas com gelatina-glicerinada e cobertas com lamínula (Kaiser 1880 – *apud* Kraus & Arduin 1997). Para determinação das dimensões dos elementos de vaso (comprimento e diâmetro médio), amostras de raízes foram dissociadas em solução de Jeffrey (Johansen *op. cit.*) até a total dissociação celular. As lâminas, com material dissociado, foram montadas em glicerina, cobertas com lamínulas e lutadas com esmalte.

Lâminas permanentes – Para análises estruturais e morfométricas (diâmetro médio do caule e raízes e espessura média dos tecidos do mesofilo e epiderme), algumas amostras de folhas, caules e raízes, imediatamente após coleta, foram fixadas, por 24 horas, em glutaraldeído 2,5%, em tampão fosfato de sódio 0,1M, em pH 7,2. Após, o material foi lavado, por 3 vezes, em tampão fosfato de sódio e, a seguir, desidratado em série etílica gradual. Após a desidratação,

algumas amostras foram infiltradas em parafina e outras em hidroxietilmetacrilato. Para isso foram usadas pequenas porções de lâminas foliares, com cerca de 3 mm de largura x 3 mm de comprimento e pecíolo, caule e raiz, com cerca de 3 mm de comprimento.

Para infiltração em parafina, conforme Johansen (1940), o material, após desidratação, passou por xilol. Após a infiltração, em estufa (60°C), foram montados blocos de parafina, como apoio das amostras, os quais foram seccionados em micrótomo de rotação Leica – RM 2125, em 14 µm de espessura. Foi utilizado o adesivo de Bissing (Bissing 1974), para adesão das secções sobre a lâmina, as quais foram distendidas sobre chapa aquecedora (40°C). Depois das lâminas estarem secas, o material foi corado com azul de toluidina 0,25% aquoso e, montado entre lâmina-lamínula com bálsamo do Canadá sintético.

Para infiltração em hidroxietilmetacrilato (*Jung's Histo-resin*, marca Leica), seguiu-se as recomendações do fabricante, o material foi desidratado até etanol 96°GL, mantido por 12 horas em solução de pré-infiltração e 3 dias em solução de infiltração. Foram, então, montados blocos de resina contendo o material. Os blocos foram seccionados com 8 µm de espessura, em micrótomo de rotação Leica — RM 2125. As secções foram distendidas, sobre lâminas contendo água, em chapa aquecedora (40°C). Após as lâminas estarem secas, o material foi corado com azul de toluidina 0,25 % aquoso.

As análises foram feitas em microscópio óptico, marca Carl Zeiss – Jena, modelo Loboal 4, no Laboratório de Anatomia Vegetal da UFSC. Para o registro de imagens foram realizadas representações esquemáticas, com auxílio de câmara clara acoplada ao referido microscópio. Fotomicrografias foram feitas em microscópio óptico Leica MPS30, equipado com fotoautomático, no Laboratório de Anatomia Vegetal da UFSC.

6.2. Preparação do material para Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

Para análises ultra-estruturais, algumas amostras de folhas, caules e raízes fixadas em glutaraldeído 2,5% em tampão fosfato de sódio 0,1M, em pH 7,2, e conservadas em etanol 70°GL, foram desidratadas em série etílica gradual. Após a desidratação, o material foi imerso em hexametildesilane (HMDS), por ½hora, como meio substitutivo de ponto crítico de CO₂, que pelo processo de sublimação reduz a tensão superficial, evitando o colapso das estruturas (Bozzola & Russel 1991). As amostras secas foram fixadas sobre suportes de alumínio, com auxílio de fita de carbono dupla face, e cobertas com 20 nm de ouro, em metalizador marca Baltec, modelo CED030. Essas amostras foram observadas e devidamente documentadas em Microscópio Eletrônico de Varredura, marca Phillips, modelo XL30, pertencente ao Laboratório de Materiais da UFSC.

Para a microanálise química, usando detector de raios-X de Si-Li com janela de Be, com sistema Link-Oxford EDX, acoplado ao Microscópio Eletrônico de Varredura, as amostras de folhas ficaram em estufa, a 40°C, para total desidratação. As amostras foram montadas sobre suportes de alumínio, com fita de carbono dupla face.

6.3. Procedimentos para o estudo morfométrico

A contagem do número de estômatos por área foi feita projetando-se as imagens, com auxílio de câmara clara acoplada ao microscópio óptico, sobre uma área delimitada e aferida com escala micrométrica. Os dados obtidos são apresentados em número de estômatos por mm². O índice estomático foi calculado pela equação $n=(ne/nc+ne).100$, onde "ne" é o número de estômatos por área e "nc" é o número de células epidérmicas na mesma área (Wilkinson 1979).

Para a determinação de tamanho (comprimento e largura de célula-guarda, poro estomático, elementos de vaso da raiz), de espessura (lâmina foliar, mesofilo, tecidos do mesofilo e epiderme) e de diâmetro (caule e raiz) as imagens foram projetadas, com auxílio de câmara clara acoplada ao microscópio óptico, sobre o papel e aferidas com escala micrométrica.

A determinação das dimensões da célula-guarda foi feita considerando o comprimento (eixo longitudinal, entre os dois pólos da célula) e largura (eixo transversal, na porção média da célula). Para a determinação das dimensões do poro também foram considerados o eixo longitudinal e o transversal. Para a determinação do comprimento total do caule e da raiz foi feita a medição da distância do colo até o ápice dos órgãos, para isso foi utilizada uma régua milimetrada.

O número médio de folhas foi determinado considerando o número de folhas que permaneceram presas ao caule.

Para todos parâmetros morfométricos, o número mínimo amostral foi calculado, conforme Sokal & Rohlf (1969), pela equação $n=(t^2.s^2).d^{-2}$, onde "t" é dado pela tabela de Student (considerando n-1, para significância de 0,05), "s" é o desvio padrão e "d" é igual a E/100.média, onde E=10, para 10% de probabilidade, valor considerado satisfatório. Para comparação entre os resultados obtidos foi utilizado o teste T, ao nível de significância de 5%.

As análises estruturais e morfométricas foram feitas em microscópio óptico, marca Zeiss-Jena, modelo Loboal 4, no Laboratório de Anatomia Vegetal da UFSC.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A distribuição de espécies vegetais é limitada por filtros ecológicos dados pela impossibilidade de dispersão da espécie para outro sítio, pela falta de características fisiológicas apropriadas para o desenvolvimento da espécie no novo sítio, ou ainda, pela incapacidade da espécie de interagir com o ambiente biótico do local para onde ela foi dispersada (Lambers *et al.* 1998). Deste modo, uma vez ocorrida a dispersão da espécie, aquela que tiver maior habilidade em crescer e reproduzir-se em diferentes ambientes físicos e bióticos teria maior probabilidade de ocupar maior área de distribuição. Esta maior habilidade está relacionada à capacidade da espécie em alterar sua morfologia e/ou fisiologia para se aclimatar ao novo ambiente. Uma das mais importantes características do ambiente físico que influencia a distribuição de espécies é a deficiência hídrica (Dawson 1993). As espécies que possuem mecanismos que restrinjam a perda de água e mantenham o crescimento, com a diminuição da disponibilidade de água no ambiente, provavelmente, têm mais sucesso em colonizar estes ambientes que espécies onde estes mecanismos não existem (Dias-Filho & Dawson 1995). *Hedyosmum brasiliense* Mart. mostrou possuir mecanismos para aclimatar-se a ambientes de diferentes disponibilidades de água, alterando algumas características morfo-anatômicas e fisiológicas. A comparação de dados obtidos no experimento com plantas de *H. brasiliense* submetidas ou não à deficiência hídrica são apresentadas e discutidas a seguir.

1. Desenvolvimento das plantas

Para avaliação do desenvolvimento das plantas jovens de *Hedyosmum brasiliense* Mart. foram analisadas massa seca da raiz, do caule, das folhas, da parte aérea e total (Tab. 1). Tanto a massa seca dos diferentes órgãos (raiz, caule e folha) e da parte aérea de *H. brasiliense* quanto à massa seca total foi menor nas plantas sob deficiência hídrica do que nas plantas controle, fato constatado já aos 40 dias de tratamento. Percebe-se que o incremento de massa seca total das plantas controle, em relação às plantas sob deficiência hídrica, foi cerca de 39% maior aos 40 dias e 68% maior aos 118 dias. Assim, os dados indicam que as plantas jovens de *H. brasiliense* submetidas à deficiência hídrica apresentaram menor crescimento que as plantas controle (Figs. 6-9).

A determinação da razão raiz/parte aérea (R/PA), que possibilita evidenciar a distribuição de biomassa entre raiz e parte aérea, mostra que aos 40 dias de tratamento, não houve diferenças significativas entre plantas sob deficiência hídrica e controle. No entanto, aos 118 dias tratamento, pode-se evidenciar que com o déficit hídrico ocorreu uma maior alocação de biomassa para a raiz em detrimento da parte aérea, fato este confirmado pela maior razão

R/PA nas plantas sob deficiência hídrica do que nas plantas controle (Tab. 1). A maior alocação de biomassa para a raiz como resposta à deficiência hídrica do solo é geralmente considerado como importante mecanismo de aclimação à seca (Dias-Filho & Dawson 1995; Lambers *et al.* 1998). Paulilo *et al.* (1998) e Pace *et al.* (1999) citam, como resposta à menor disponibilidade de água pelo vegetal, o aumento da razão raiz/parte aérea. Assim, os resultados obtidos para razão R/PA mostram que as plantas jovens de *H. brasiliense* quando submetidas ao déficit hídrico mostram aclimação a esta condição investindo no desenvolvimento das raízes e reduzindo o crescimento da parte aérea, de modo a aumentar a absorção de água e reduzir a transpiração foliar.

Tabela 1. Massa seca de raiz, caule, folhas, parte aérea e total, razão raiz/parte aérea (R/PA) de plantas jovens de *Hedyosmum brasiliense* Mart., submetidas à deficiência hídrica do substrato e controle.

Tempo (dias)	40		118	
Tratamento	Deficiência Hídrica	Controle	Deficiência Hídrica	Controle
Massa Seca (mg)				
Raiz	16,78 ± 5,91 b	28,33 ± 11,86 a	271,60 ± 93,49 b	619,80 ± 183,93 a
Caule	11,44 ± 11,44 b	16,00 ± 3,54 a	76,00 ± 36,59 b	284,40 ± 95,16 a
Folhas	22,00 ± 10,45 b	38,11 ± 11,50 a	227,80 ± 93,43 b	917,60 ± 344,81 a
Parte Aérea	33,40 ± 12,32 b	54,11 ± 14,10 a	303,80 ± 121,72 b	1202,00 ± 487,42 a
Total	50,22 ± 17,87 b	82,44 ± 23,71 a	575,40 ± 187,25 b	822,00 ± 724,02 a
Razão R/PA	0,50 ± 0,09 a	0,52 ± 0,17 a	0,94 ± 0,32 a	0,53 ± 0,06 b

Nota: n= 9. Letras comparam na horizontal apenas dentro de um mesmo tempo. Letras diferentes indicam diferenças estatisticamente significativas entre as médias, ao nível de 0,05 de probabilidade pelo teste *t*.

A taxa média de crescimento relativo (TCR), que indica o quanto o vegetal cresceu em biomassa em relação à biomassa inicial e a taxa média de assimilação líquida (TAL), que indica a assimilação líquida de carbono (fotossíntese líquida) (Hunt 1982), mostraram que a deficiência hídrica em plantas de *H. brasiliense* reduziu a massa seca das plantas por reduzir a TCR (Tab. 2). De acordo com Hunt (1982), a TCR é função da TAL. Através dos dados da Tabela 2, vê-se que a baixa TCR, pelo menos aos 40 dias em plantas sob deficiência hídrica foi reduzida devido à menor taxa de assimilação de carbono (TAL) nestas plantas. Aos 118 dias, no entanto, a TAL de plantas sob deficiência hídrica, embora tenha mostrado valor absoluto menor que a TAL de plantas controle, esta diferença, provavelmente devido ao alto desvio padrão, não foi significativa. A menor TAL em baixa disponibilidade de água é provavelmente consequência

da menor condutância estomática sob estresse hídrico, levando à limitação da fotossíntese (Chapin *et al.* 1987). Segundo Lawlor (1995), a limitação da absorção de CO₂, determinada pelo déficit hídrico, pode aumentar o potencial para danos no aparato fotossintético. Queiroz *et al.* (2002), destacam que, em plantas de aroeira, sob déficit hídrico, a limitação da condutância estomática tem maior influência na redução da atividade fotossintética do que os danos irreversíveis no aparato fotossintético.

Tabela 2. Taxa média de crescimento relativo (TCR) e taxa média de assimilação líquida (TAL) de plantas jovens de *Hedyosmum brasiliense* Mart., submetidas à deficiência hídrica do substrato e controle.

Tempo (dias)	40		118	
Tratamento	Deficiência Hídrica	Controle	Deficiência Hídrica	Controle
TCR (mg.mg ⁻¹ .dia ⁻¹)	0,020 ± 0,013 b	0,032 ± 0,009 a	0,026 ± 0,003 b	0,036 ± 0,004 a
TAL (mg.cm ⁻¹ .dia ⁻¹)	0,109 ± 0,071 b	0,174 ± 0,063 a	0,759 ± 0,131 a	0,954 ± 0,249 a

Nota: n= 9. Letras comparam na horizontal apenas dentro de um mesmo tempo. Letras diferentes indicam diferenças estatisticamente significativas entre as médias, ao nível de 0,05 de probabilidade pelo teste *t*.

Segundo Arkin *et al.* (1983), o déficit hídrico pode afetar o desenvolvimento vegetal por promover alterações no número total de folhas, na taxa de emergência foliar, na expansão e na senescência foliar. As plantas de *H. brasiliense*, sob déficit hídrico, apresentaram menor número médio de folhas, porém somente aos 118 dias de tratamento (Tab. 3). Entretanto, constata-se que não ocorreu alteração no número de nós, indicando que a taxa de emergência foliar não foi afetada, assim o menor número de folhas decorre da senescência foliar.

A determinação da área foliar revelou que as lâminas foliares, nas plantas de *H. brasiliense* do controle, apresentam-se com maiores dimensões do que nas plantas sob estresse hídrico (Tab. 3). A redução da expansão celular, em plantas sob deficiência hídrica, possivelmente está associada com a redução no potencial de turgescência, que causa diminuição da pressão da água sobre a parede celular, pressão esta que causa a expansão celular (van Volkenburgh & Cleland 1984; Rosenthal *et al.* 1987), ou então, com alteração no balanço hormonal de citocininas ou ácido abscísico, alterações estas que podem causar redução na extensibilidade da parede celular e, em consequência, no crescimento foliar (Chapin 1991, Larcher 2000).

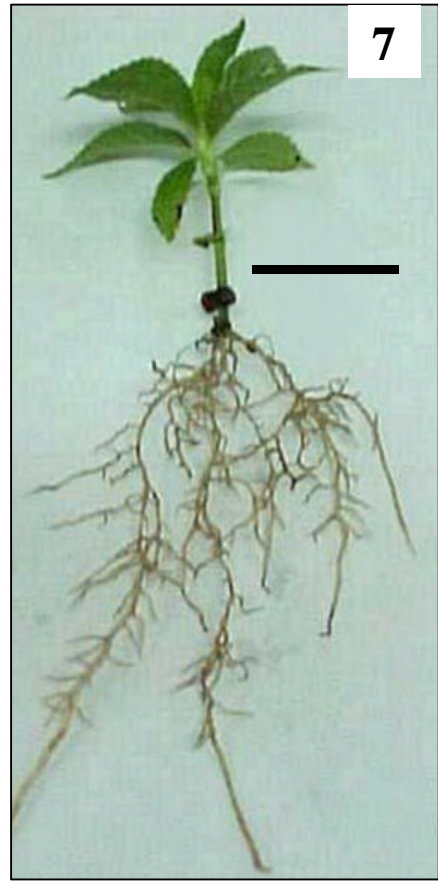
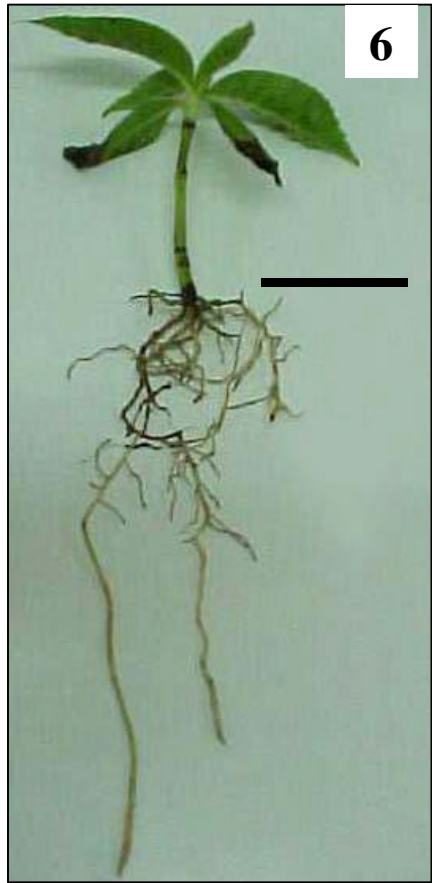
Os ajustes morfológicos ou fisiológicos, apresentados por plantas sob estresse, permitem a elas manter seu metabolismo e promover as condições que possibilitam o

crescimento mesmo sob a continuidade do estresse (Bohnert *et al.* 1995). A redução da área foliar e a senescência de folhas são citadas por Meyers *et al.* (1984), como respostas ao estresse hídrico, diminuindo a taxa de transpiração. Poorter (1999) refere uma maior razão raiz/parte aérea como aumento da capacidade para captação de água. Da mesma maneira, a redução do tamanho das plantas também tem um importante valor adaptativo, uma vez que, quanto menor a planta menor será a demanda de recursos. Desta forma, as modificações morfológicas apresentadas por plantas de *H. brasiliense*, submetidas à baixa disponibilidade de água, como a redução da área da lâmina foliar, a senescência de folhas mais velhas e a maior razão raiz/parte aérea são ajustes que, como salientado por Dias-Filho & Dawson (1995) levam à economia de água, possibilitando à espécie suportar melhor o estresse hídrico.

Tabela 3. Número médio de folhas e de nós e área foliar de plantas jovens de *Hedyosmum brasiliense* Mart., submetidas à deficiência hídrica do substrato e controle.

Tempo (dias)	40		118	
Tratamento	Deficiência Hídrica	Controle	Deficiência Hídrica	Controle
Número de folhas	6,33 ± 1,53a	9,33 ± 2,08a	9,67 ± 0,58b	20,00 ± 5,29a
Número de nós	5,33 ± 0,58a	6,00 ± 1,00a	8,00 ± 1,00a	9,67 ± 0,58a
Área foliar (cm²)	1,56 ± 0,75b	2,45 ± 1,86a	7,96 ± 7,13b	38,51 ± 14,14a

Nota: n= 9. Letras comparam na horizontal apenas dentro de um mesmo tempo. Letras diferentes indicam diferenças estatisticamente significativas entre as médias, ao nível de 0,05 de probabilidade pelo teste *t*.



Figuras 6-7. Plantas jovens de *Hedyosmum brasiliense* Mart., após 40 dias de tratamento. **6.** Planta sob deficiência hídrica. **7.** Planta controle. Barras: 5 cm.



Figuras 8-9. Plantas jovens de *Hedyosmum brasiliense* Mart., após 118 dias de tratamento. **8.** Planta sob deficiência hídrica. **9.** Planta controle. Barras: 5 cm.

2. Níveis de prolina

Em baixa disponibilidade de água, as espécies podem ajustar o teor de água das células através do acúmulo de substâncias osmoticamente ativas, tais como o aminoácido prolina, que reduzem o potencial osmótico da célula, o que leva à retenção ou maior absorção de água, mantendo, em conseqüência, a turgescência (Lambers *et al.* 1998). O aumento na concentração de prolina, sob estresse hídrico, é explicado por Larcher (2000) como resultado de uma inibição na síntese e um aumento da degradação de proteínas, que leva a um acúmulo de aminoácidos e aminas livres. O acúmulo de prolina em células vegetais, sob estresse hídrico, tem sido observado por vários autores (Fedina & Popova 1996; Pandey & Agarwal 1998; Furnis & Pedras 2002). Este aminoácido pertence à classe de pequenas moléculas conhecidas como soluto-compatíveis, que são substâncias que têm alta capacidade de provocar ajustamento osmótico em células, como os íons inorgânicos, sem ter, no entanto, o efeito prejudicial destes últimos sobre enzimas ou outras macromoléculas do citoplasma, mesmo em altas concentrações (Lambers *et al.* 1998). As plantas de *H. brasiliense*, após 118 dias sob deficiência hídrica, apresentaram uma concentração de $1,033 \pm 0,274$ µg/ml de prolina nas folhas, enquanto as plantas controle apresentaram $0,293 \pm 0,062$ µg/ml, diferença esta estatisticamente significativa. Deste modo, o aumento da concentração de prolina nas folhas de *H. brasiliense* sob estresse hídrico, indica que esta espécie apresenta a capacidade para ajustamento osmótico, além das modificações morfo-fisiológicas já referidas, como forma de aclimatar-se à menor disponibilidade de água.

3. Folha

3.1. Caracterização geral

As folhas de *Hedyosmum brasiliense* Mart. são pecioladas, com lâmina foliar dorsiventral e hipostomática.

3.2. Epiderme

A epiderme de *Hedyosmum brasiliense* Mart. é uniestratificada. Em vista frontal, as paredes anticlinais das células epidérmicas, em ambas faces da lâmina (Figs. 10-17), variam de retas a levemente sinuosas.

O número de células epidérmicas, por mm², em ambas as faces, aumentou nas plantas de *H. brasiliense* sob déficit hídrico em relação às plantas controle, já aos 40 dias de tratamento (Tab. 4). Este aumento do número de células epidérmicas, por mm², é resultado de uma redução das dimensões das células epidérmicas nas plantas sob deficiência hídrica (Figs. 10 e 12 – 40 dias; 14 e 16 – 118 dias), em relação às plantas controle (Figs. 11 e 13 – 40 dias; 15 e

17 – 118 dias). Silva *et al.* (1984) citam a redução do tamanho das células epidérmicas, em folhas de *Atriplex repanda* Phil., como resposta ao déficit hídrico. A expansão celular, segundo Andrade *et al.* (1993), é altamente sensível ao déficit hídrico especialmente durante a etapa de crescimento vegetativo. Esta redução da expansão celular está relacionada com o baixo potencial de turgor da célula decorrente do déficit hídrico (Fitter & Hay 1987), ou diminuição da extensibilidade da parede celular, devido à alteração no balanço hormonal (Chapin 1991). Deste modo, a redução da expansão das células epidérmicas em *H. brasiliense* contribuiu para a redução da área foliar e, conseqüentemente, para redução da área fotossintetizante, contribuindo para uma diminuição da fotossíntese e do crescimento das plantas sob deficiência hídrica. A redução da expansão celular, em *H. brasiliense*, foi também evidenciada nas células-guarda das plantas que sofreram deficiência hídrica (Tab. 4). A menor expansão da célula-guarda foi acompanhada por um menor tamanho do poro estomático (Tab. 4). Sam (2000) também constatou a redução no tamanho dos estômatos como resposta ao estresse hídrico. Segundo Lambers *et al.* (1998), as plantas sob deficiência hídrica tendem a diminuir a abertura estomática de modo a maximizar a eficiência do uso de água. Porém, ao mesmo tempo em que a redução da condutividade estomática restringe a perda hídrica pela transpiração, este mecanismo também restringe a entrada de CO₂, conduzindo a um decréscimo na taxa fotossintética e como conseqüência um retardo no crescimento (Nautiyal *et al.* 1994). Assim, a redução da abertura estomática, além da diminuição da área foliar, parece ter contribuído para o menor crescimento das plantas de *H. brasiliense* sob déficit hídrico em relação às plantas controle.

Os estômatos de *H. brasiliense* (Figs. 18 a 23 – 40 dias; 24 a 29 – 118 dias) têm células-guarda localizadas acima das demais células epidérmicas e são do tipo anomocítico.

As células-guarda, em relação às demais células epidérmicas, em *H. brasiliense*, estão acima das demais células epidérmicas, característica que não sofreu alterações em função do déficit hídrico (Figs. 22 e 23; 28 e 29). A posição das células-guarda acima das demais células epidérmicas, é freqüentemente descrita como uma característica hidromorfa (Dickison 2000). Por outro lado, sob limitação do suprimento hídrico, as plantas tendem a proteger sua abertura estomática, aprofundando os estômatos, de modo a reduzir a transpiração (Eames & MacDaniels 1947; Fahn & Cutler 1992). Entretanto, *H. brasiliense* parece não possuir plasticidade para alterar a posição das células-guarda em decorrência da deficiência hídrica.

Diversos autores, entre eles Zaniolo (2001), têm citado estômatos do tipo laterocítico para *H. brasiliense*, porém não foram encontrados na literatura dados referentes à ontogênese. Metcalfe & Chalk (1979) descrevem como estômato laterocítico aquele que possui mais de duas células subsidiárias ao lado de cada célula-guarda, com paredes anticliniais entre células subsidiárias adjacentes dispostas radialmente à célula-guarda. Os mesmos autores citam que o

tipo de estômato para *Hedyosmum* varia entre anomocítico e laterocítico. No entanto, os estômatos de *H. brasiliense* possuem número variado de células ao redor dos estômatos e muitas vezes estômatos próximos compartilham a mesma célula vizinha (Figs. 16 e 17), caracterizando um típico estômato anomocítico. Portanto, nas plantas analisadas no presente estudo, não foram encontradas evidências que fossem de encontro às referências registradas na literatura.

As células epidérmicas, em número variado, que contornam o estômato, em *H. brasiliense*, apresentam estrias cuticulares radiadas (Figs. 20, 21, 26 e 27). Segundo Metcalfe & Chalk (1979), a ornamentação cuticular pode ser utilizada como um caráter de valor diagnóstico para separar espécies. A presença de estrias cuticulares em *Catleya* Lindl. é citada por Salatino *et al.* (1986) como possível adaptação às condições do cerrado, onde predominam altas intensidades luminosas e elevadas taxas de transpiração. O estresse hídrico deve ter afetado a taxa de transpiração nas plantas de *H. brasiliense*, no entanto, em ambos tratamentos observou-se a presença de estrias cuticulares. Portanto, a presença de estrias, na espécie em estudo, não parece ser decorrente do déficit hídrico, podendo talvez ser uma característica importante para diferenciá-la de outras espécies.

Os dados referentes ao índice estomático, nas folhas de *H. brasiliense*, não apresentam diferenças significativas entre os tratamentos (Tab. 4). Este parâmetro, por associar o número de estômatos ao número de células epidérmicas, vem a confirmar que ocorreu uma redução do tamanho das células epidérmicas em função do déficit hídrico. Wilkinson (1979) argumenta que o índice estomático tem sido considerado mais estável do que a densidade estomática para o estudo de diferenças anatômicas. No entanto, em estudos fisiológicos, a densidade estomática expressa melhor a aclimatação da planta ao estresse hídrico do que o índice estomático. Larcher (2000) comenta que a distância entre os estômatos influencia na transpiração, sendo que a maior densidade estomática reduz a transpiração, devido à formação de arcos de transpiração, mais próximos entre si, o que retém maior umidade na área estomática. Em *H. brasiliense*, a densidade estomática foi maior nas plantas sob deficiência hídrica do que nas plantas controle, já aos 40 dias de tratamento (Tab. 4), refletindo, assim, o efeito do estresse hídrico. Zagdanska & Kozdoj (1994) e Silva *et al.* (1999) também citam o aumento da densidade estomática como resposta ao estresse hídrico. Deste modo, a maior proximidade entre os estômatos nas plantas de *H. brasiliense*, sob deficiência hídrica, pode ser explicado como um mecanismo de controle hídrico. Na verdade, as células expandiram-se menos devido à menor disponibilidade de água, porém, com isto, os estômatos aproximaram-se resultando numa maior umidade na área estomática, favorecendo assim o controle hídrico.

Tabela 4. Número médio de células epidérmicas, por mm², das faces adaxial e abaxial, comprimento e largura das células-guarda e do poro estomático, densidade estomática e índice

estomático de plantas jovens de *Hedyosmum brasiliense* Mart., submetidas à deficiência hídrica do substrato e controle.

Tempo (dias)	40		118	
Tratamento	Deficiência Hídrica	Controle	Deficiência Hídrica	Controle
Nº de células epidérmicas (céls. por mm ²)				
Face adaxial	264,58 ± 25,55a	198,54 ± 18,03b	244,17 ± 31,27a	169,17 ± 21,46b
Face abaxial	508,15 ± 57,99a	343,70 ± 41,97b	385,83 ± 48,99a	248,33 ± 22,68b
Célula-guarda				
Comprimento (µm)	46,93 ± 3,33b	50,74 ± 3,62a	47,47 ± 9,86b	54,87 ± 4,89a
Largura (µm)	12,66 ± 1,62b	15,22 ± 1,50a	10,87 ± 1,34b	14,10 ± 1,54a
Poros estomático				
Comprimento (µm)	24,36 ± 2,87b	31,67 ± 3,66a	24,74 ± 2,34b	33,75 ± 2,75a
Largura (µm)	7,63 ± 1,73b	11,06 ± 0,79a	5,13 ± 1,39b	12,60 ± 1,88a
Densidade estomática (estômatos por mm ²)	106,67 ± 17,29a	67,50 ± 16,28b	64,37 ± 3,72a	44,79 ± 7,17b
Índice estomático	17,46 ± 3,15a	16,42 ± 3,44a	14,60 ± 2,99a	15,35 ± 2,61a

Nota: n= 30. Letras comparam na horizontal apenas dentro de um mesmo tempo. Letras diferentes indicam diferenças estatisticamente significativas entre as médias, ao nível de 0,05 de probabilidade pelo teste *t*.

Uma outra estratégia para evitar a perda hídrica é o aumento da espessura da camada epidérmica, como refere Napp-Zinn (1984), para plantas que se desenvolvem em locais mais áridos, quando comparadas com outras de mesma espécie habitando locais mais úmidos. A literatura geralmente associa esse espessamento como meio de aumentar a reflexão da luz (DeLucia *et al.* 1996), uma vez que, plantas que habitam locais áridos geralmente também estão sujeitas a alta incidência luminosa. Nos dados apresentados na tabela 5, constata-se que nas plantas de *H. brasiliense* sob deficiência hídrica, a espessura das células epidérmicas, em ambas as faces, é maior do que nas plantas controle. Como a intensidade luminosa foi a mesma para ambos os tratamentos, o fato de ter sido registrado um aumento da espessura epidérmica, nas plantas sob deficiência hídrica, indica que este parâmetro responde não apenas a alteração da luminosidade, mas também à alteração da disponibilidade hídrica.

Tabela 5. Espessura média, em μm , da lâmina foliar, da epiderme, do mesofilo e dos tecidos do mesofilo de plantas jovens de *Hedyosmum brasiliense* Mart., submetidas à deficiência hídrica do substrato e controle.

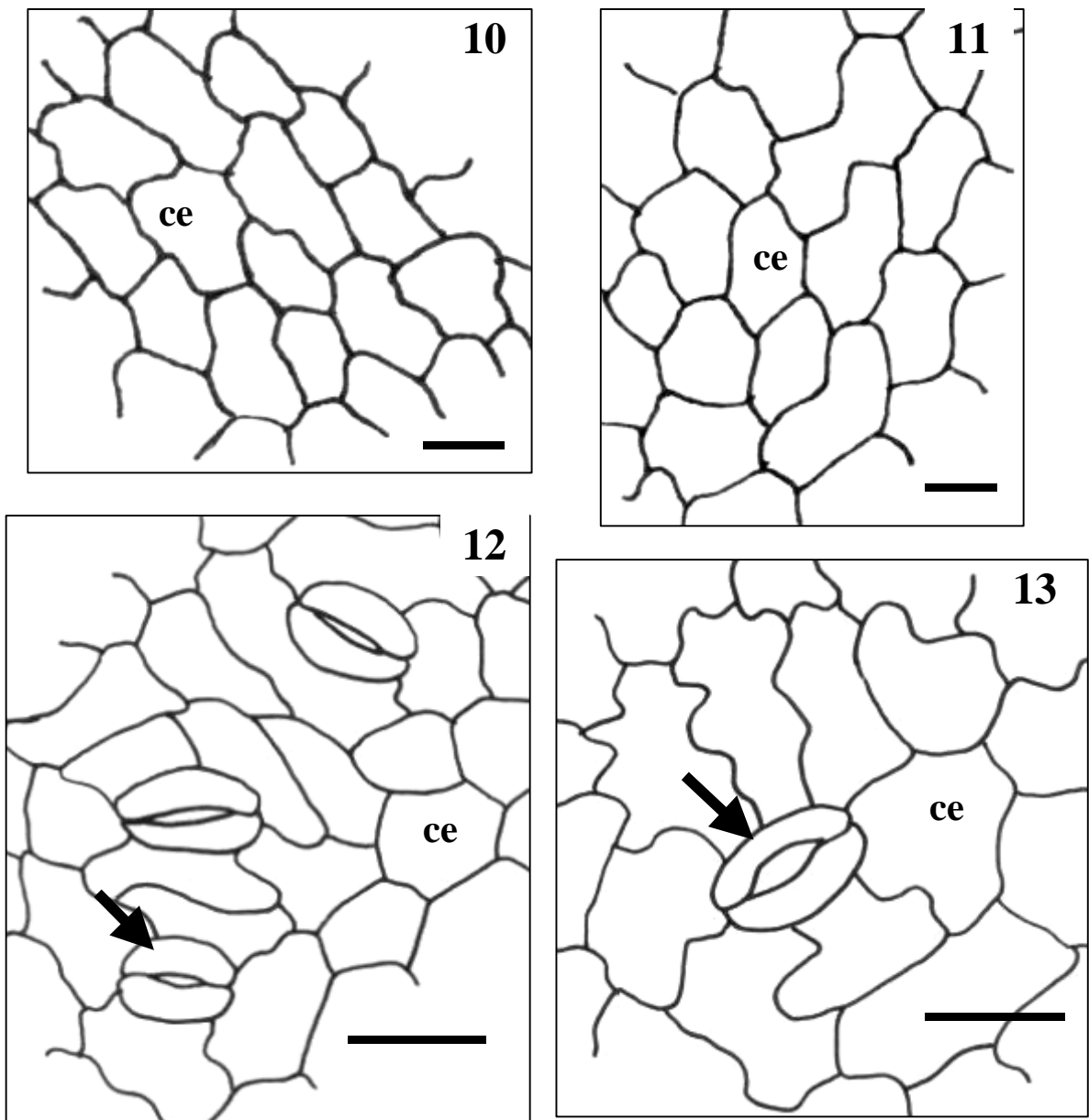
Tempo (dias)	40		118	
Tratamento	Deficiência Hídrica	Controle	Deficiência Hídrica	Controle
Epiderme adaxial	43,72 \pm 8,36a	29,62 \pm 3,52b	42,31 \pm 5,15a	35,90 \pm 4,88b
Epiderme abaxial	18,21 \pm 2,85a	16,67 \pm 2,54b	20,26 \pm 4,51a	17,82 \pm 3,11b
Parênquima compacto	126,15 \pm 26,13a	89,74 \pm 9,81b	121,92 \pm 13,96a	92,82 \pm 17,92b
Parênquima esponjoso	98,59 \pm 19,52b	156,67 \pm 24,45a	95,26 \pm 10,63b	221,28 \pm 21,91a
Mesofilo	198,85 \pm 13,48b	259,49 \pm 33,75a	214,74 \pm 19,64b	314,10 \pm 25,46a
Lâmina foliar	267,18 \pm 17,95b	307,56 \pm 29,65a	272,56 \pm 20,50b	370,26 \pm 24,72a

Nota: n= 30. Letras comparam na horizontal apenas dentro de um mesmo tempo. Letras diferentes indicam diferenças estatisticamente significativas entre as médias, ao nível de 0,05 de probabilidade pelo teste *t*.

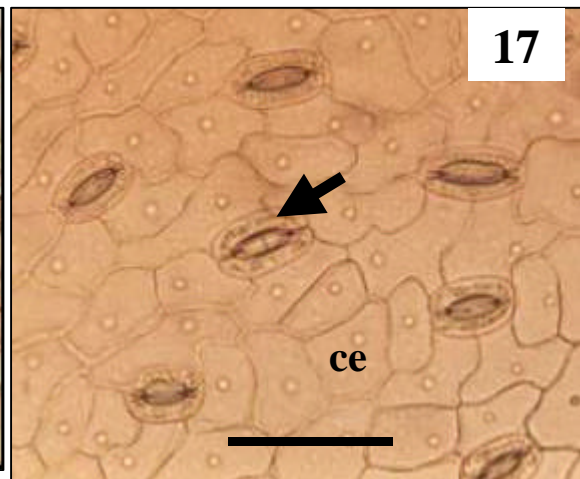
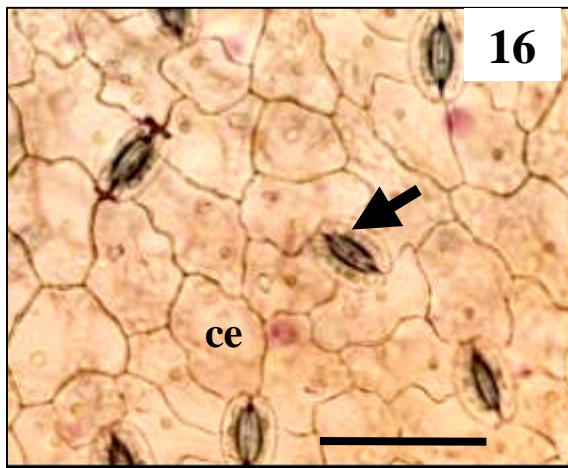
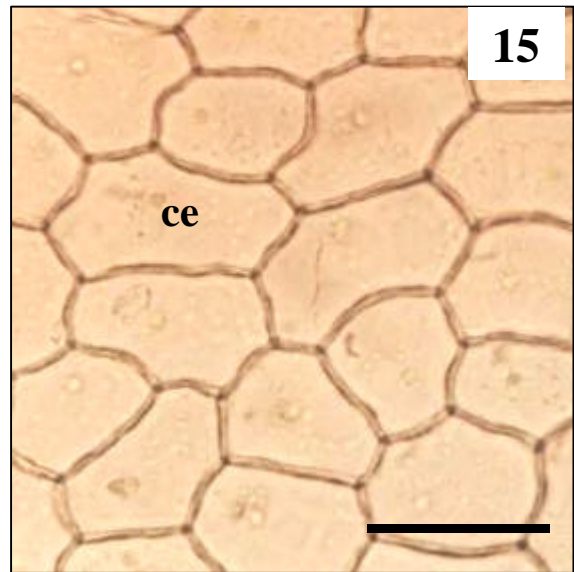
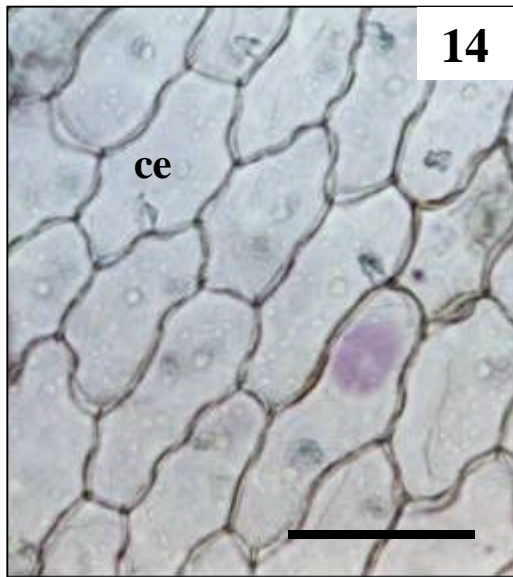
Nas paredes das células epidérmicas de *H. brasiliense* foi constatada a presença de mucilagem, identificada por reação positiva a tionina. Fahn & Cutler (1992) comentam que presença de mucilagem no interior das células ou nas paredes das mesmas auxilia na retenção de água, por causa de sua grande habilidade em reter água. Com isso, o aumento da espessura da camada epidérmica, juntamente com a presença de mucilagem, em *H. brasiliense*, podem ser consideradas estratégias de controle hídrico.

Solereder (1908) refere que manchas translúcidas, de forma esférica e com parede suberizada, podem ser vistas nas folhas, correspondendo às células secretoras, porém salienta que estas não ocorrem na epiderme e sim no mesofilo. Zaniolo (2001) refere a presença de estruturas glandulares na epiderme de *H. brasiliense*. Na epiderme de *H. brasiliense*, não foi observada nenhuma estrutura secretora, em nenhum dos dois tratamentos.

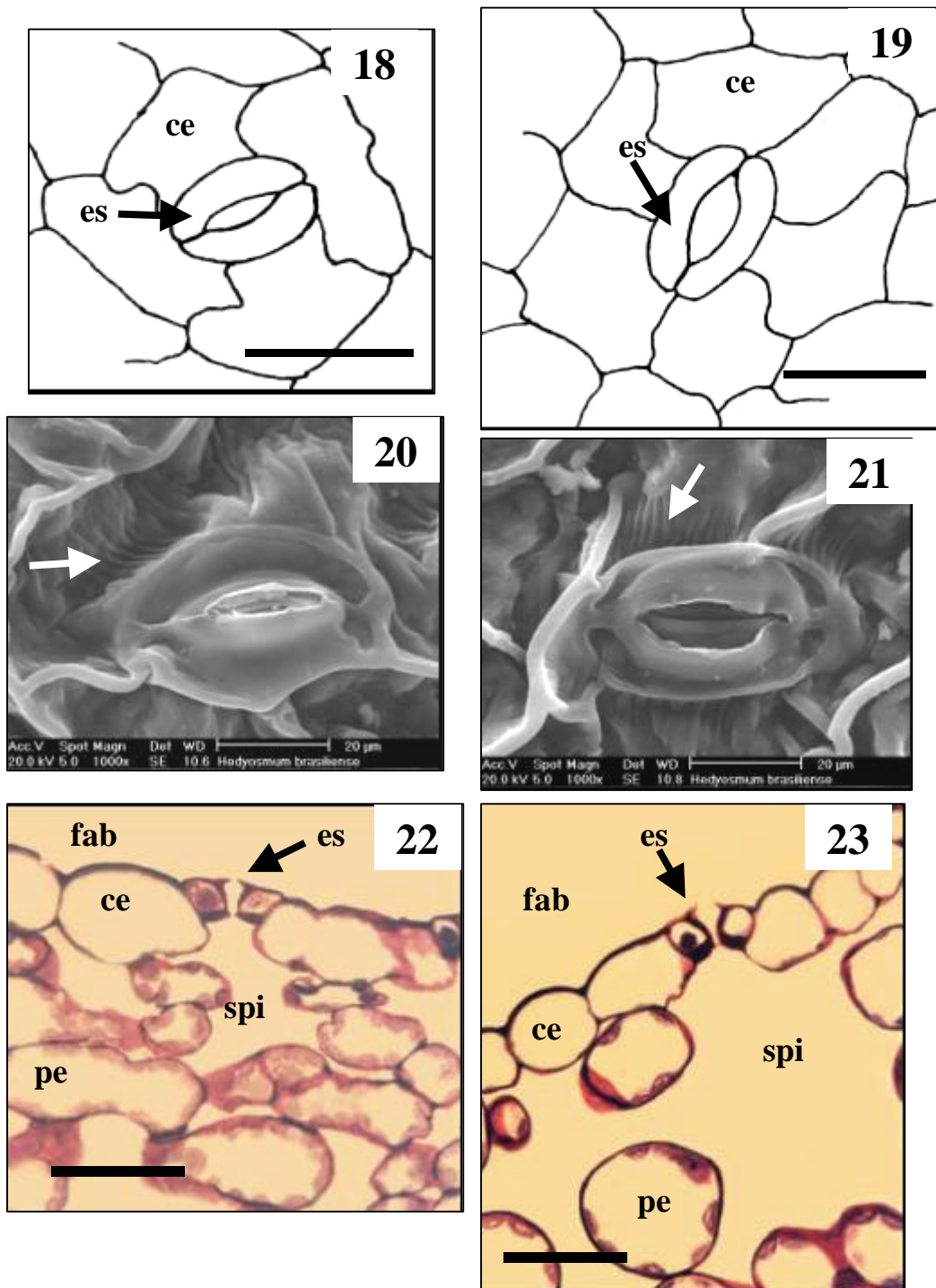
É freqüente encontrar, em ambas as faces da epiderme, a presença de sílica, restrita aos ângulos ou incrustada em toda parede de células epidérmicas adjacentes (Figs. 30 e 31). A presença de sílica foi comprovada com microanálise química, com energia dispersiva de raio-X, em Microscópio Eletrônico de Varredura (Fig. 32). Solereder (1908) e Occhioni (1954) descrevem para *H. brasiliense* células contendo sílica nos ângulos adjacentes. Esta característica não sofreu alterações mediante os diferentes tratamentos.



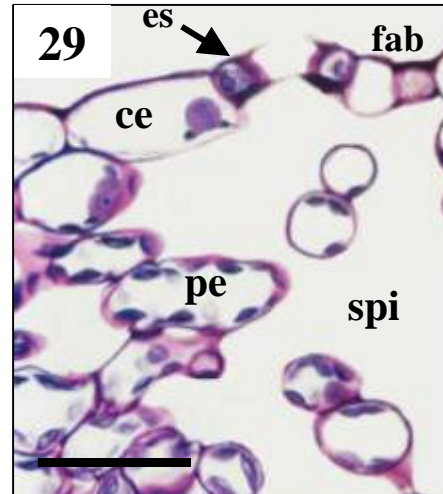
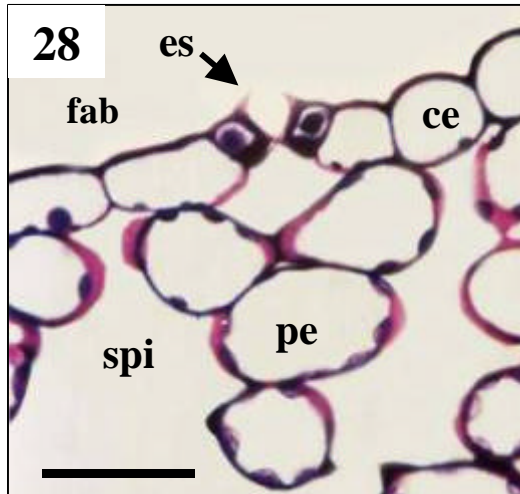
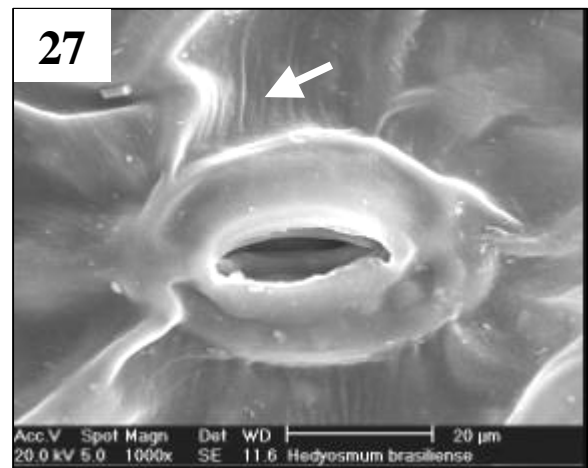
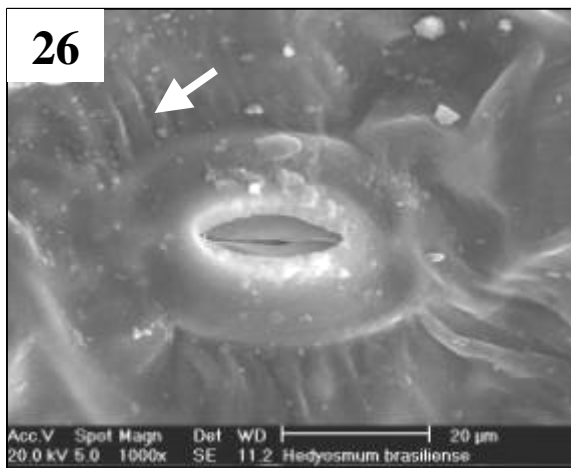
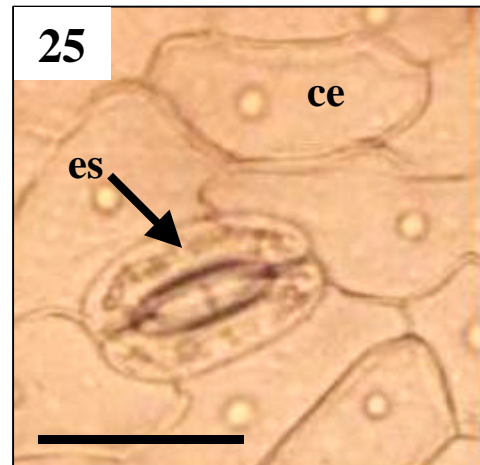
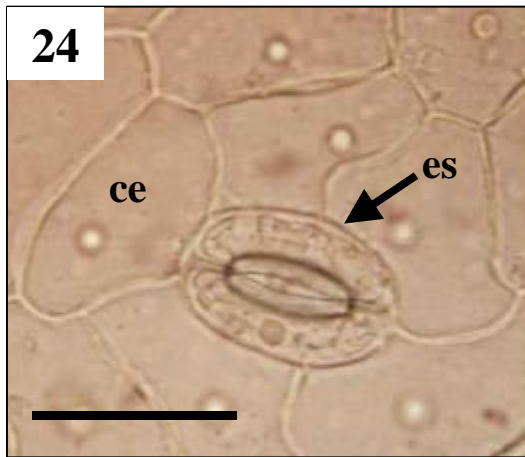
Figuras 10-13. Representações esquemáticas, em MO, da epiderme da lâmina foliar, em vista frontal, de *Hedyosmum brasiliense* Mart., após 40 dias de tratamento. **10 e 11.** Face adaxial. **12 e 13.** Face abaxial. **10 e 12.** Planta sob deficiência hídrica. **11 e 13.** Planta controle. Barras: 50 μ m. Legenda: ce – célula epidérmica. Setas indicam os estômatos.



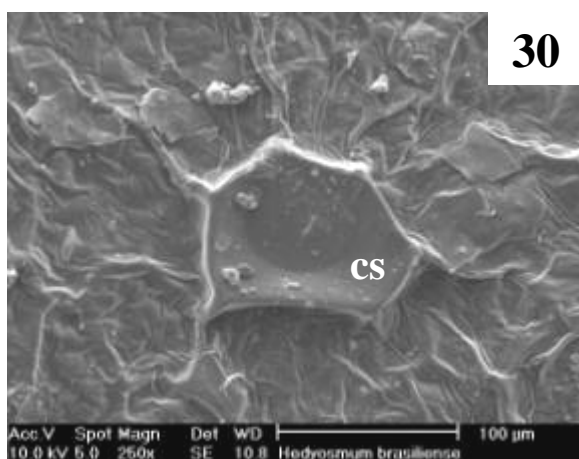
Figuras 14-17. Fotomicrografias, em MO, da epiderme da lâmina foliar, em vista frontal, de *Hedyosmum brasiliense* Mart., após 118 dias de tratamento. **14 e 15.** Face adaxial. Barras: 50 μm . **16 e 17.** Face abaxial. **14 e 16.** Planta sob deficiência hídrica. **15 e 17.** Planta controle. Barras: 100 μm . Legenda: ce – célula epidérmica. Setas indicam os estômatos.



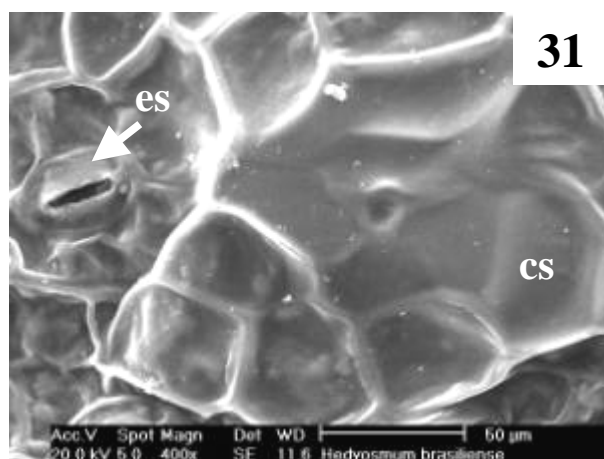
Figuras 18-23. Estômatos, na face abaxial, de folhas de *Hedyosmum brasiliense* Mart., após 40 dias de tratamento. **18 e 19.** Representações esquemáticas, em MO, dos estômatos, em vista frontal. Barras: 50 μm . **20 e 21.** Estômatos, em vista frontal, em MEV. Setas indicam estrias cuticulares. **22 e 23.** Secções transversais, em MO, de lâmina foliar. Barras: 50 μm . **18, 20 e 22.** Planta sob deficiência hídrica. **19, 21 e 23.** Planta controle. Legenda: ce – célula epidérmica; es – estômato; fab – face abaxial; pe – parênquima esponjoso; spi – espaço intercelular.



Figuras 24-29. Estômatos, na face abaxial, de folhas de *Hedyosmum brasiliense* Mart., após 118 dias de tratamento. **24 e 25.** Fotomicrografias, em MO, dos estômatos, em vista frontal. Barras: 50 µm. **26 e 27.** Estômatos, em vista frontal, em MEV. Setas indicam estrias cuticulares. **28 e 29.** Secções transversais, em MO, de lâmina foliar. Barras: 50 µm. **24, 26 e 28.** Planta sob deficiência hídrica. **25, 27 e 29.** Planta controle. Legenda: ce – célula epidérmica; es – estômato; fab – face abaxial; pe – parênquima esponjoso; spi – espaço intercelular.



30



31

Figuras 30 – 31. Epiderme, em vista frontal, de *Hedyosmum brasiliense* Mart., em MEV. **30.** Célula silicificada na face adaxial. **31.** Células silicificadas adjacentes, na face abaxial. Legenda: cs – célula silicificada; es – estômato.

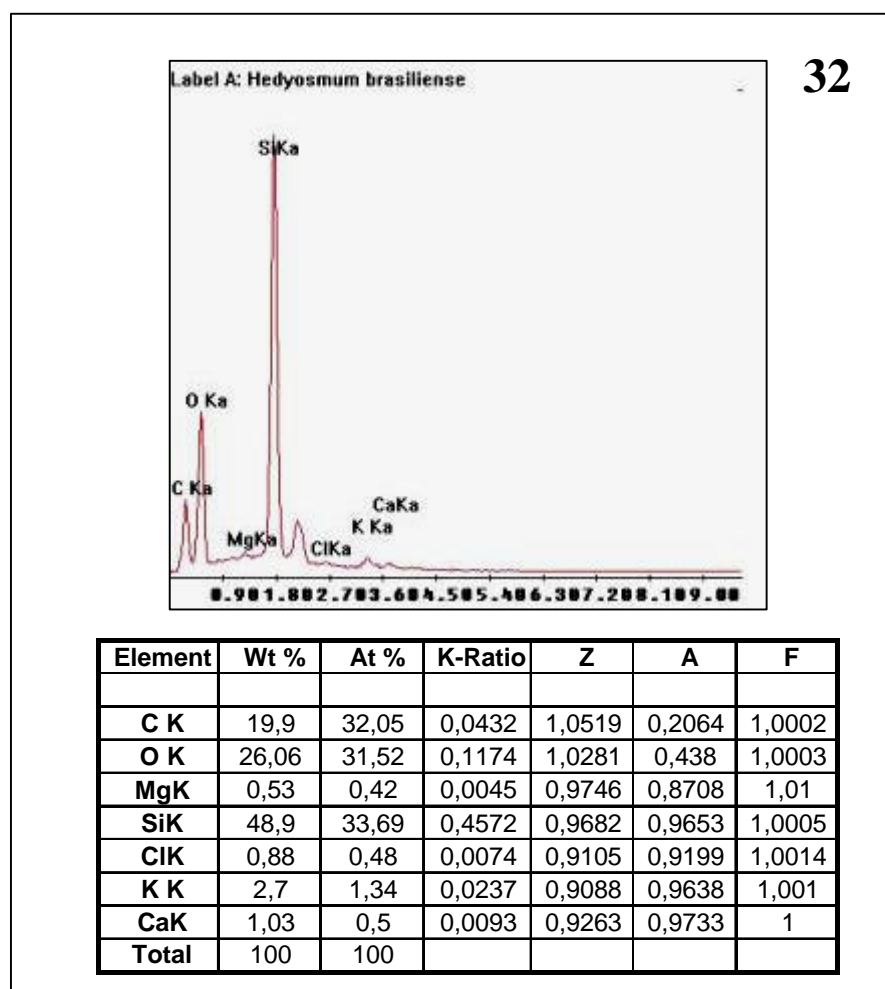


Figura 32. Microanálise química (EDX/MEV; 10kv), indicando a presença de sílica nas células epidérmicas.

3.3. Mesofilo

O mesofilo de *Hedyosmum brasiliense* Mart. está constituído por clorênquima, compacto na face adaxial e esponjoso na face abaxial (Figs. 33-36). O parênquima compacto está restrito a poucos estratos celulares, com células isodiamétricas, sem a forma de paliçada. O parênquima esponjoso é caracterizado por amplos espaços intercelulares, sendo o tecido predominante no mesofilo. Destacam-se, ainda, entre as células do clorênquima, na face adaxial, células secretoras (Fig. 33), com óleo, cuja natureza química foi identificada com sudan. A estrutura histológica do mesofilo não foi alterada em função do déficit hídrico.

Entretanto, ocorreram alterações na espessura do mesofilo e dos tecidos constituintes em função da baixa disponibilidade de água (Tab. 5). A espessura do parênquima compacto aumentou nas plantas sob deficiência hídrica (Figs. 33 e 35), em relação às plantas controle (Figs. 34 e 36), já aos 40 dias de tratamento, tal como referido anteriormente quanto à espessura da epiderme. O aumento na camada paliçádica é citado por Zagdanska & Kozdoj (1994) como estratégia utilizada por vegetais para manter a capacidade fotossintética em potenciais de água muito baixos. Com base nos resultados, verifica-se que o parênquima compacto ocupa 30% do mesofilo nas plantas controle, elevando para 57 % nas plantas sob deficiência hídrica, aos 118 dias. Portanto, constata-se que nas plantas sob estresse hídrico ocorreu maior ocupação, no mesofilo, do parênquima compacto em detrimento do parênquima esponjoso. Assim, as plantas de *H. brasiliense* responderam ao baixo suprimento hídrico espessando o parênquima compacto de modo a manter sua capacidade fotossintética. O parênquima esponjoso sofreu uma redução em sua espessura, sendo assim, este o tecido determinante da redução da espessura total do mesofilo, bem como da espessura total da lâmina foliar. Silva *et al.* (1984) e Zagdanska & Kozdoj (1994) citam a redução da espessura do mesofilo como resposta ao estresse hídrico. A redução dos espaços intercelulares é citado por Silva *et al.* (2001) como alternativa de diminuir a evaporação de água e garantir a eficiência no uso da água. Com a redução dos espaços intercelulares ocorre uma maior compactação do mesofilo, desta maneira, ocorre um aumento da resistência interna ao movimento de vapor d'água, reduzindo assim, a evaporação. Desta maneira, a redução dos espaços intercelulares, assim como o aumento da espessura do parênquima compacto no mesofilo das plantas de *H. brasiliense*, sob deficiência hídrica, podem ser consideradas estratégias para diminuir a perda hídrica.

3.4. Nervura Mediana

A nervura mediana da lâmina foliar de *Hedyosmum brasiliense* Mart., em secção transversal, mostra-se com a face adaxial levemente côncava e a face abaxial convexa (Figs. 37-40). O colênquima, do tipo angular, ocorre em ambas as faces, sendo mais amplo sob a epiderme

abaxial. O clorênquima, presente no mesofilo, é interrompido, na face adaxial, sendo substituído por um parênquima aclorofilado. O sistema vascular, em corte transversal, está constituído por feixes vasculares do tipo colateral, que estão dispostos em forma de semi-arco. Observam-se poucas fibras na parte externa do floema. Ao redor dos feixes vasculares observa-se a presença abundante de grãos de amido, principalmente em torno do floema, porém sem caracterizar uma bainha amilífera. Occhioni (1954) cita a presença de uma endoderme amilífera na nervura principal de *H. brasiliense*. O mesmo autor cita a presença de canais de mucilagem, do tipo esquizógeno, localizados na região média da nervura mediana, acima do sistema vascular, porém estes não foram observados durante o período de estudo. Na face abaxial, sob o colênquima ocorre um amplo parênquima fundamental, aclorofilado, tecido este que também preenche os espaços entre os feixes vasculares. No parênquima aclorofilado, ainda, pode ser observada a presença de drusas. Não foram observadas diferenças histológicas entre as plantas de *H. brasiliense* sob deficiência hídrica e controle.

Porém, observando-se as secções transversais da nervura mediana nas plantas sob estresse hídrico (Fig. 39), em relação às plantas controle (Fig. 40), aos 118 dias de tratamento, ocorreu uma diminuição no tamanho desta estrutura. Constata-se que provavelmente ocorreu um menor número de células nos tecidos constituintes, portanto, o déficit hídrico deve ter afetado o desenvolvimento. Nos feixes vasculares (Figs. 41-44), verifica-se uma redução do número de células do xilema nas plantas sob deficiência hídrica, em relação às plantas controle, o que deve ser decorrente da menor atividade procambial nas plantas sob estresse hídrico, corroborando com as considerações anteriores referentes ao tamanho da nervura.

3.5. Pecíolo

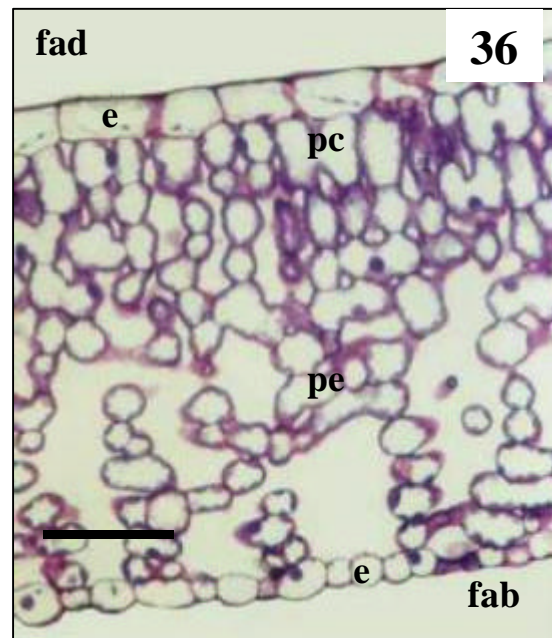
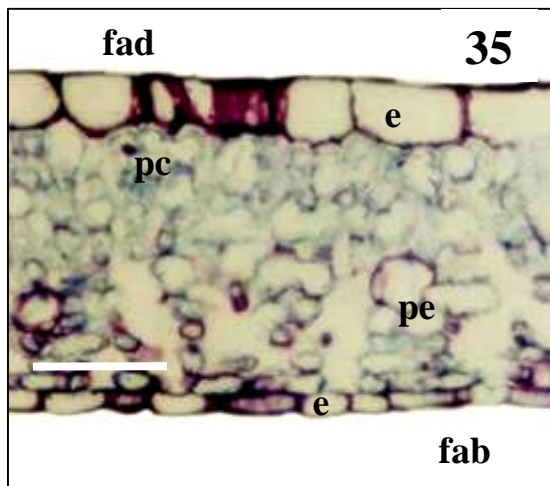
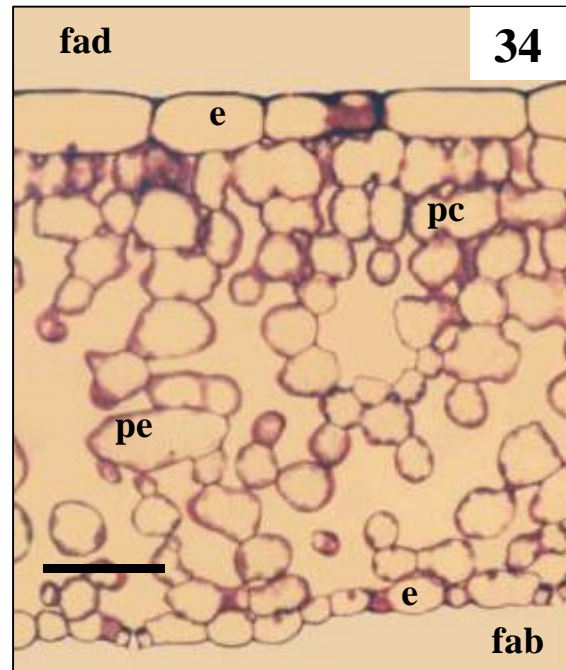
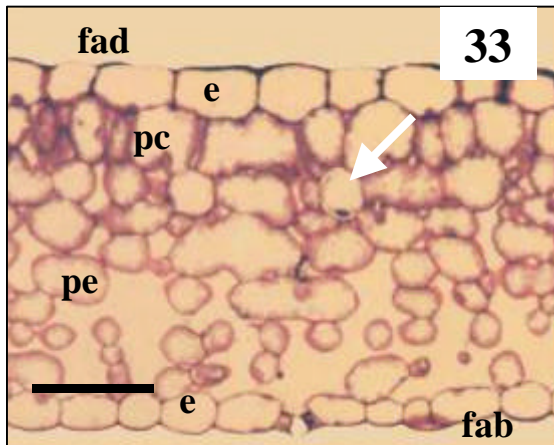
O pecíolo de *Hedyosmum brasiliense* Mart. (Figs. 45 – 52), em secção transversal, é caracterizado por possuir duas expansões laterais, na face adaxial. A face adaxial tem a forma levemente côncava, acentuada principalmente devido à presença das expansões laterais, e a face abaxial é convexa, bastante arredondada.

O córtex é constituído por parênquima clorofilado e, na porção mais externa, sob a epiderme uniestratificada, existe um colênquima angular, que está presente em toda a circunferência do pecíolo, sendo mais amplo nas expansões laterais. Pequenas drusas são encontradas em todo córtex.

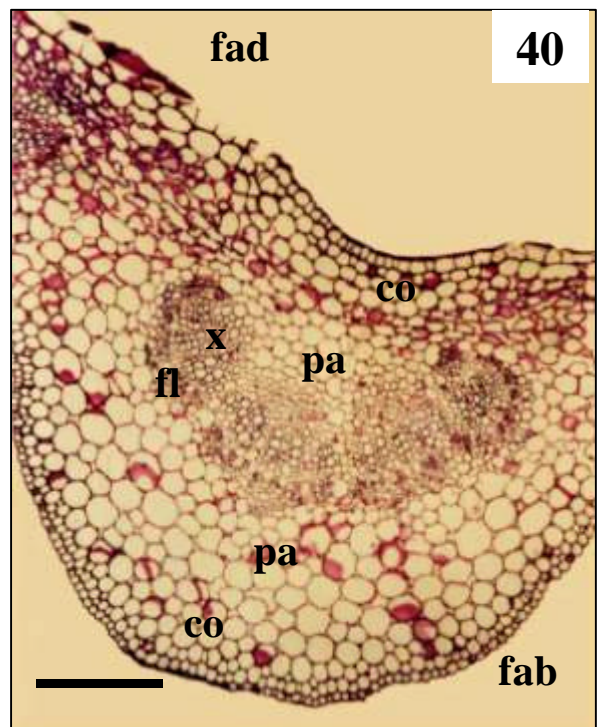
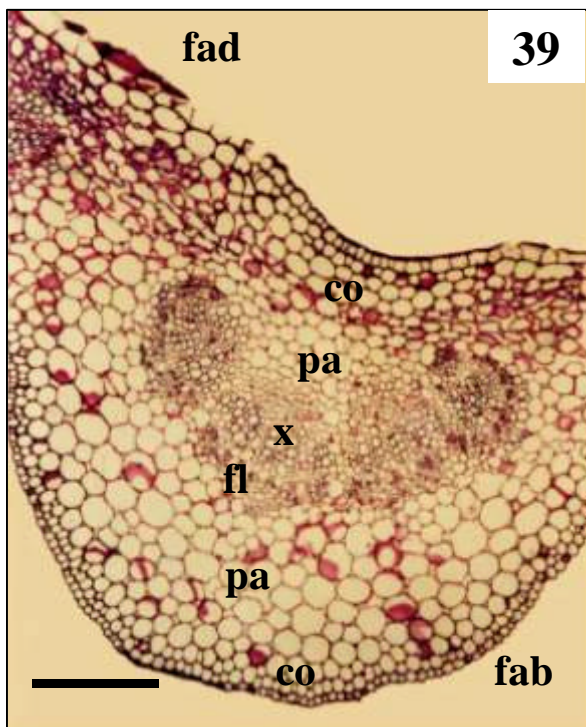
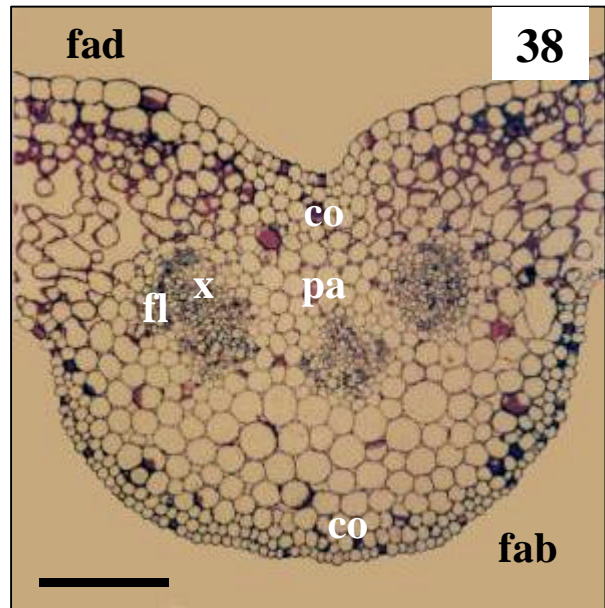
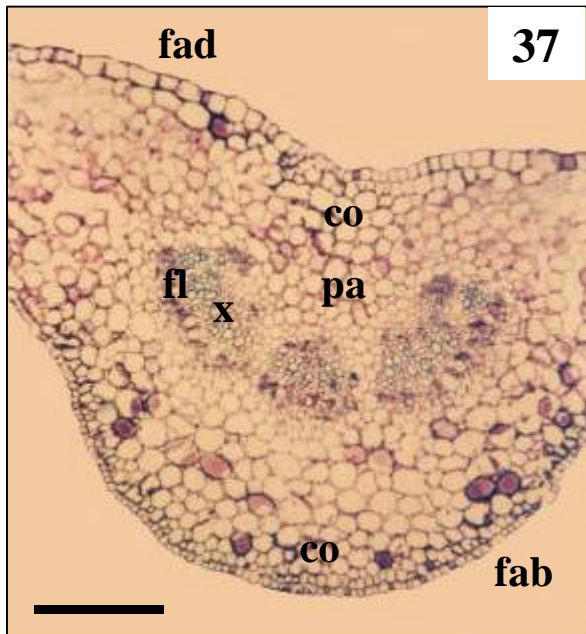
O sistema vascular, em corte transversal, é constituído por feixes vasculares colaterais (Figs. 47, 48, 51 e 52), que estão dispostos em forma de semi-arco (Figs. 45, 46, 49 e 50). Em torno dos feixes vasculares é encontrada grande quantidade de grãos de amido, sem constituir bainha amilífera. Occhioni (1954), cita a presença de uma bainha amilífera.

Ductos de mucilagem são encontrados, na face adaxial, acompanhando a curvatura dos feixes vasculares (Figs. 45 e 50). A presença destas estruturas no pecíolo também é citada por Occhioni (*op. cit.*) e Zaniolo (2001).

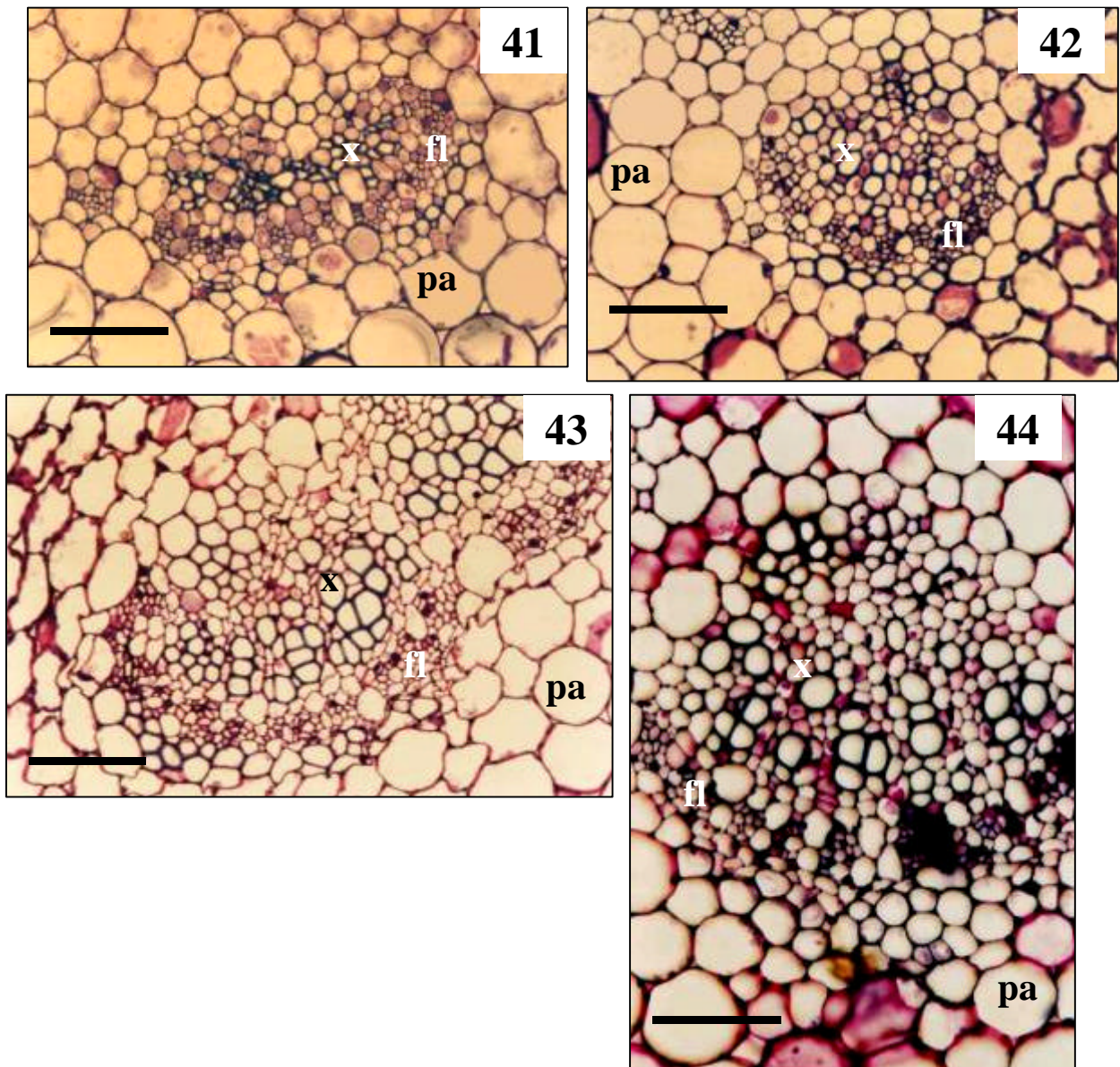
Com relação ao tratamento de deficiência hídrica não foram observadas diferenças histológicas, no pecíolo de *H. brasiliense*, em relação ao controle. Os feixes vasculares, da mesma maneira que na nervura mediana, parecem indicar uma redução na atividade procambial sob efeito do estresse hídrico (Figs. 49-52). Entretanto, uma avaliação quantitativa precisa deste aspecto é difícil de ser realizada.



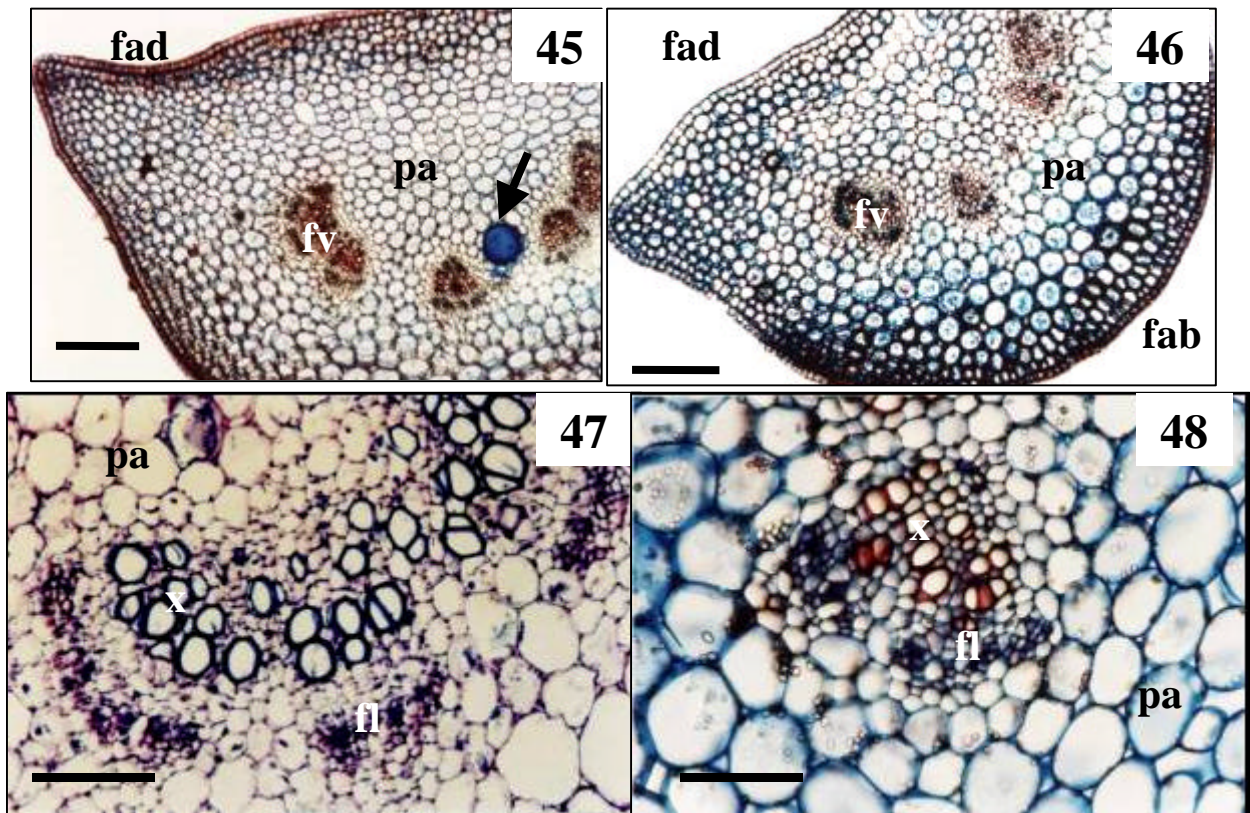
Figuras 33-36. Fotomicrografias, em MO, da lâmina foliar de *Hedyosmum brasiliense* Mart., em seção transversal. **33 e 34.** Após 40 dias de tratamento. **35 e 36.** Após 118 dias de tratamento. **33 e 35.** Planta sob deficiência hídrica. **34 e 36.** Planta controle. Barras: 100 μm . Legenda: e – epiderme; fab – face abaxial; fad – face adaxial; pc – parênquima compacto; pe – parênquima esponjoso. Seta indica célula secretora.



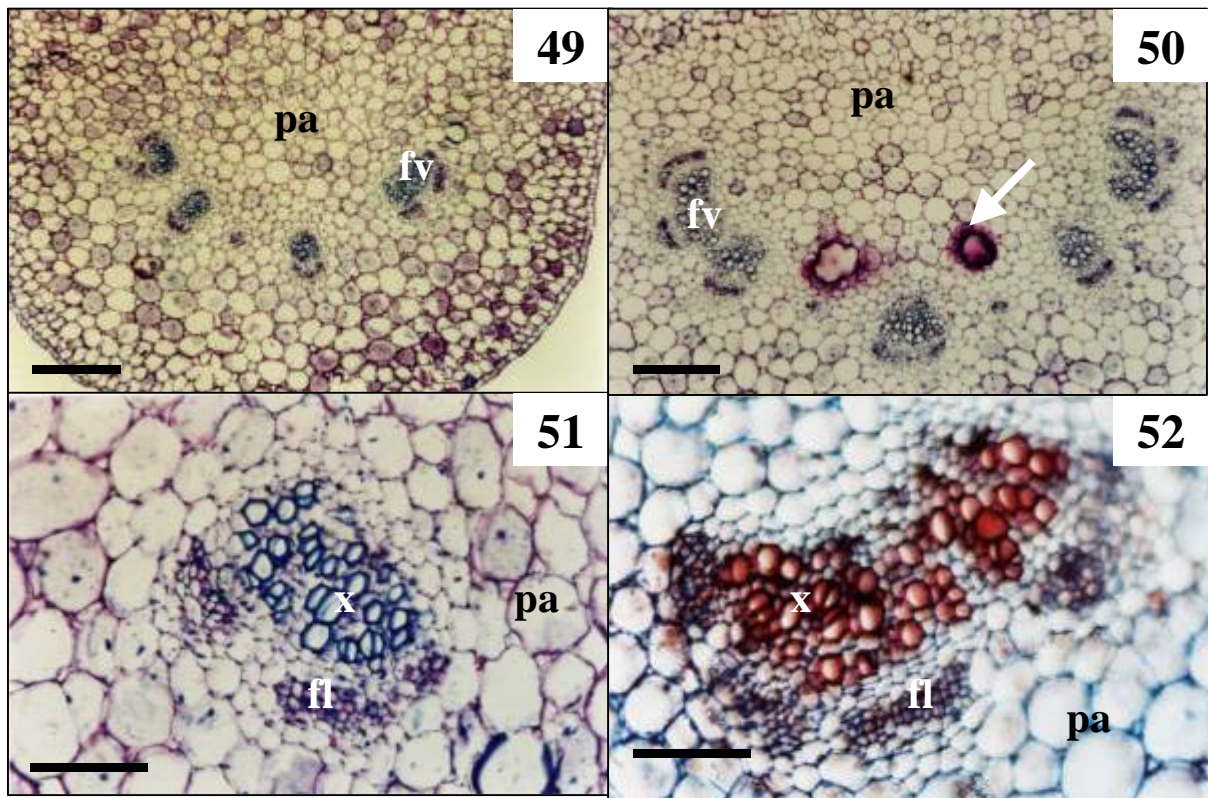
Figuras 37 – 40. Fotomicrografias, em MO, da nervura mediana, em secção transversal, de folhas de *Hedyosmum brasiliense* Mart. **37 e 38.** Após 40 dias de tratamento. **39 e 40.** Após 118 dias de tratamento. **37 e 39.** Planta sob deficiência hídrica. **38 e 40.** Planta controle. Barras: 300 μ m. Legenda: co – colênquima; fab – face abaxial; fad – face adaxial; fl – floema; pa – parênquima; x – xilema.



Figuras 41 – 44. Fotomicrografias, em MO, dos feixes vasculares da nervura mediana, em secção transversal, de folhas de *Hedyosmum brasiliense* Mart. **41 e 42.** Após 40 dias de tratamento. **43 e 44.** Após 118 dias de tratamento. **41 e 43.** Planta sob deficiência hídrica. **42 e 44.** Planta controle. Barras: 100 μm . Legenda: fl – floema; pa – parênquima; x – xilema.



Figuras 45 – 48. Fotomicrografias, em MO, do pecíolo, em secção transversal, de folhas de *Hedyosmum brasiliense* Mart., após 40 dias de tratamento. **45 e 46.** Vista geral do pecíolo. Seta indica canal secretor. Barras: 300 μm . **47 e 48.** Detalhe dos feixes vasculares. Barras: 100 μm . **45 e 47.** Planta sob deficiência hídrica. **46 e 48.** Planta controle. Legenda: co – colênquima; fab – face abaxial; fad – face adaxial; fl – floema; fv – feixe vascular; pa – parênquima; x – xilema.



Figuras 49 – 52. Fotomicrografias, em MO, do pecíolo, em secção transversal, de folhas de *Hedyosmum brasiliense* Mart., após 118 dias de tratamento. **49 e 50.** Vista geral do pecíolo. Seta indica canal secretor. Barras: 300 μm . **51 e 52.** Detalhe dos feixes vasculares. Barras: 100 μm . **49 e 51.** Planta sob deficiência hídrica. **50 e 52.** Planta controle. Legenda: co – colênquima; fab – face abaxial; fl – floema; fv – feixe vascular; pa – parênquima; x – xilema.

4. Caule

O caule de *Hedyosmum brasiliense* Mart., visto em secção transversal, apresenta saliências (Fig. 53), mais freqüentemente em número de quatro. Este órgão está constituído por epiderme, córtex e cilindro central (sistema vascular e medula). Alterações histológicas decorrentes do estresse hídrico foram observadas, algumas já aos 40 dias (Figs. 54-59), outras somente aos 118 dias (Figs. 60-65).

A epiderme é uniestratificada (Figs. 56 e 57). Este foi o tecido de revestimento encontrado nas amostras analisadas, apesar do câmbio vascular já estar instalado aos 40 dias (Figs. 54 e 55), com amplo desenvolvimento da estrutura vascular secundária, inclusive aos 118 dias (Figs. 60 e 61). Occhioni (1954) refere que a epiderme, em *H. brasiliense*, tem longa duração, permanecendo no órgão com estruturação secundária, surgindo só muito tardiamente o meristema da casca e conseqüente formação de periderme.

O córtex (Figs. 56, 57, 60 e 61) está constituído por colênquima e parênquima, ambos clorofilados, e na medula (Figs. 62 e 63) ocorre somente parênquima aclorofilado. O colênquima, mais amplo nas saliências do caule, é do tipo angular. Occhioni (1954) descreve, para a espécie em estudo, a presença de colênquima angular na região periférica do córtex. Nos dois tratamentos com *H. brasiliense*, constatou-se a presença de espaços intercelulares conspícuos no parênquima cortical (Figs. 60 e 61) e pequenos no parênquima medular (Figs. 62 e 63). Segundo Occhioni (*op cit.*), o córtex é delimitado internamente por endoderme amilífera e sem estrias de Caspary. Na região mais interna do córtex, nas plantas investigadas, não foi evidenciada a presença de tal tecido, entretanto ocorre grande concentração de amido (Figs. 58 e 59), nas células parenquimáticas corticais, sem constituir uma camada celular definida, bem como no parênquima radial e na região mais externa da medula.

Células secretoras contendo óleo, cuja natureza química foi identificada com sudan, são encontradas no córtex e na medula.

Canais secretores, contendo mucilagem, são citados por Occhioni (1954), na porção mais externa da medula de *H. brasiliense*. Nas plantas analisadas, no presente estudo, não foram observados canais, entretanto, as paredes das células parenquimáticas, na medula, mostram presença de mucilagem, substância identificada com tionina. A ausência de tais canais pode ter decorrido da investigação em plantas jovens e se o estudo tivesse prolongado-se por mais tempo, talvez os canais fossem observados.

Sculthorpe (1967), para plantas aquáticas, atribui à mucilagem o papel de impedir a entrada excessiva de água, pois diminui a diferença de potenciais hídricos entre o meio externo e interno e, assim, reduz a velocidade de entrada de água no vegetal. Por outro lado, a presença de

mucilagem, nas paredes das células, é descrita por Fahn & Cutler (1992), para plantas terrestres, como estratégia para diminuir a perda hídrica, devido à grande habilidade desta substância em reter água. Com base nestas informações, pode especular-se de que a presença de mucilagem, em *H. brasiliense*, auxiliaria no estabelecimento desta espécie em ambientes com menor disponibilidade de água.

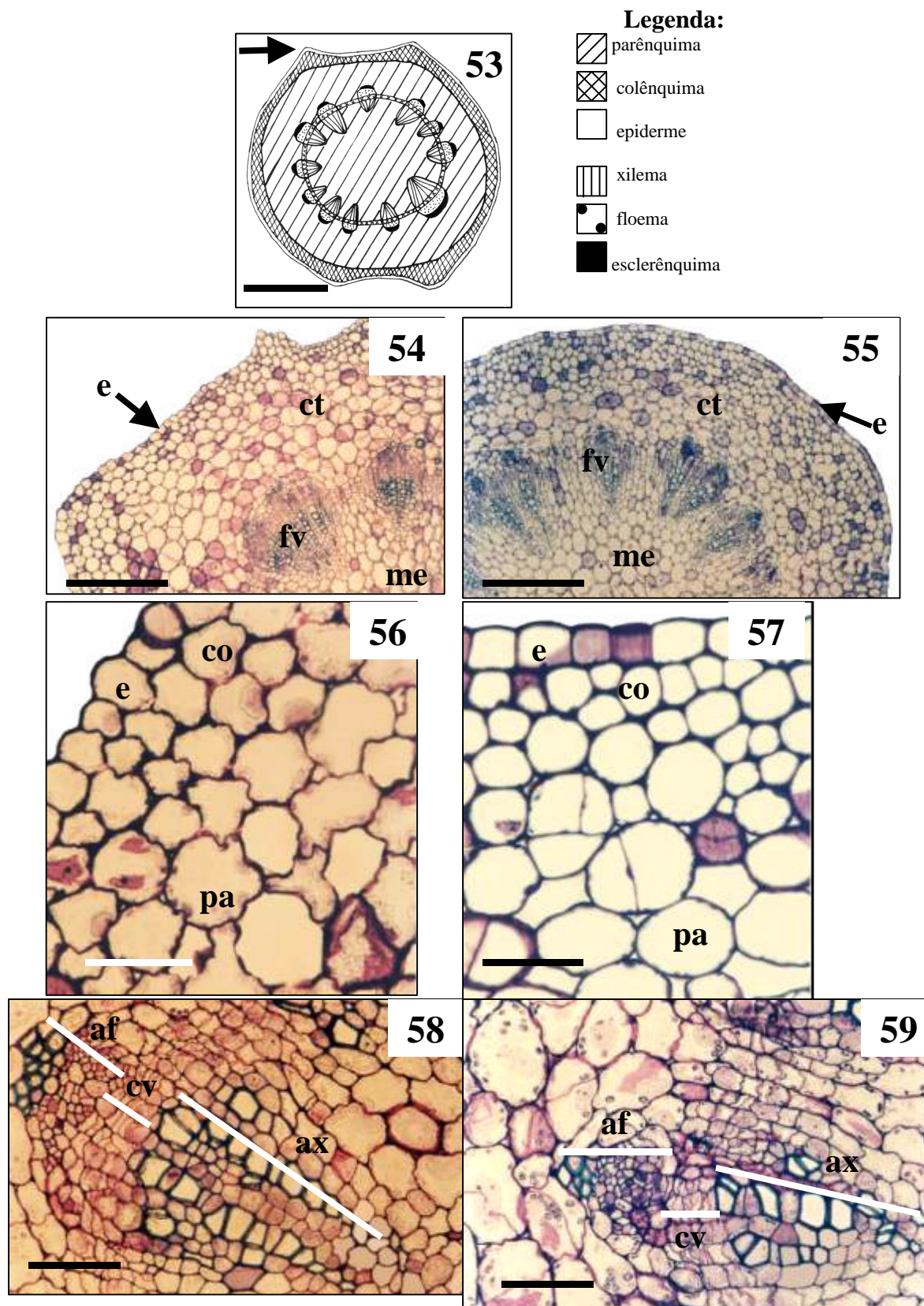
O sistema vascular, como referido anteriormente, já evidencia a presença de câmbio vascular aos 40 dias (Figs. 58 e 59), quando ainda está constituído por feixes vasculares. Cordões de fibras delimitam externamente o floema. No sistema vascular, aos 40 dias, constatou-se que há maior número de raios com elementos de vaso no xilema das plantas sob deficiência hídrica (Fig. 58), do que nas plantas controle (Fig. 59). Isto provavelmente resultou de uma resposta imediata da planta, ao tratamento de déficit hídrico, na busca de acelerar seu desenvolvimento, aumentando o número de elementos de vaso, de modo a ampliar o sistema de condução da água disponível. Porém, o déficit hídrico persistiu após os 40 dias e a análise estrutural das plantas, aos 118 dias de tratamento, revelou que este aumento da vascularização já não é mais observado nas plantas sob deficiência hídrica (Fig. 64) em relação às plantas controle (Fig. 65). Pelo contrário, ocorre uma redução da vascularização, fato que pode ser explicado pela provável menor atividade cambial em função do déficit hídrico. Isto pode ser interpretado com base na menor amplitude da faixa cambial e dos anéis xilemático e floemático, das plantas sob déficit hídrico (Figs. 62 e 64) do que nas plantas controle (Figs. 63 e 65).

Aos 40 dias, as plantas sob déficit hídrico parecem ter priorizado o aumento da vascularização, entretanto este aumento não chegou a alterar o diâmetro total do caule (Tab. 6). No entanto, aos 118 dias, a redução da atividade cambial observada, que refletiu num menor desenvolvimento vascular, promoveu uma redução no diâmetro total do caule nas plantas sob estresse (Tab. 6). Outro fator que deve ter contribuído para esta redução no diâmetro pode ter sido a menor atividade mitótica nas células do córtex, uma vez que, em secções transversais dos caules de plantas controle observa-se maior número de células com evidências de recente divisão, o que raramente é observado nas plantas sob deficiência hídrica (comparar Figs. 56 com 57 e Figs. 60 com 61). Por outro lado, o déficit hídrico não afetou o crescimento longitudinal do caule, uma vez que os dados mostram que não há diferenças no comprimento entre os tratamentos (Tab. 6). Segundo Taiz & Zeiger (2004), o estresse hídrico conduz à inibição da divisão celular e à inibição da síntese de parede celular. Os dados obtidos para *H. brasiliense* indicam que a menor disponibilidade hídrica inibiu a divisão celular, tanto nos tecidos do córtex, quanto no sistema vascular, afetando o espessamento do órgão.

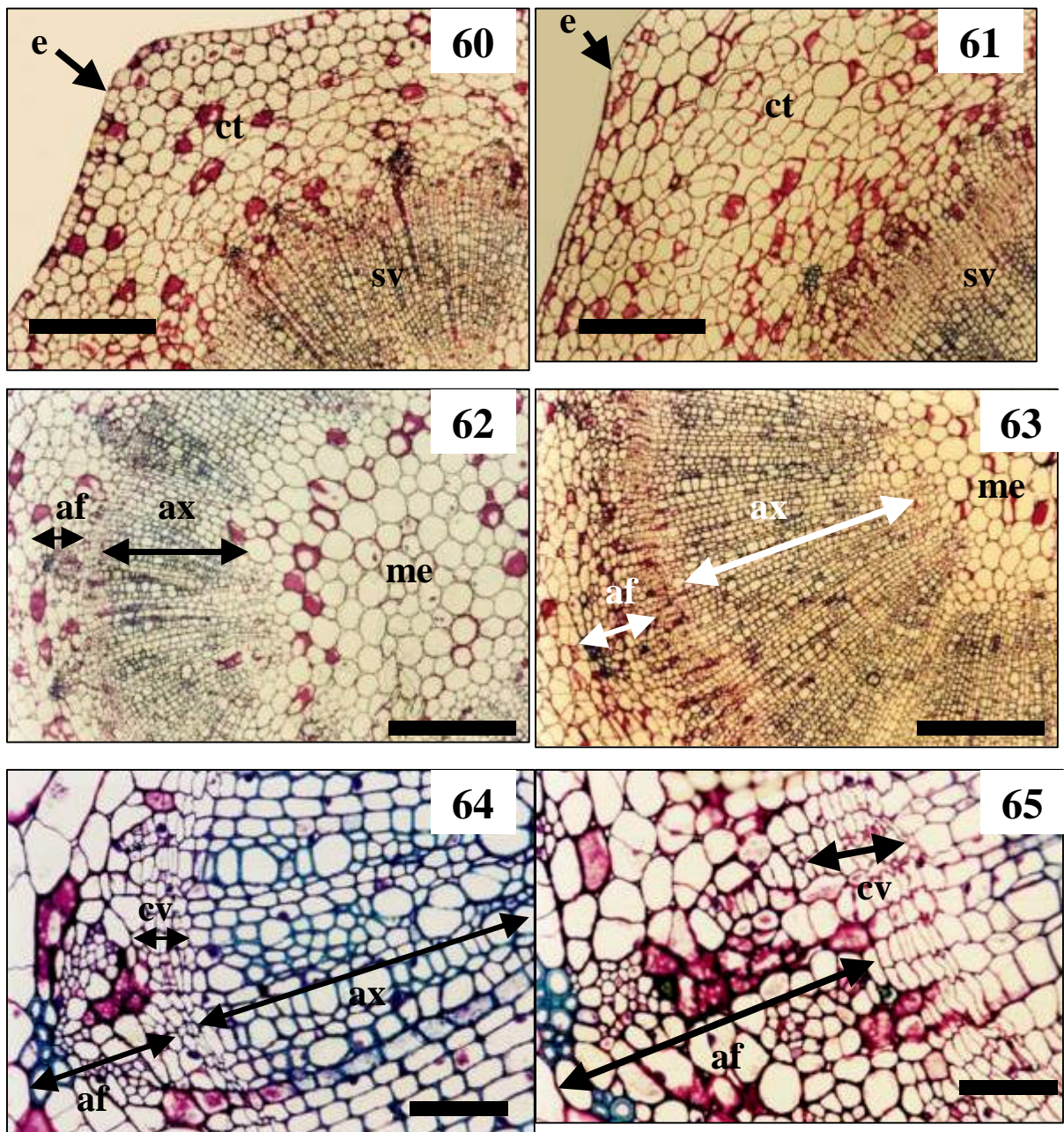
Tabela 6. Comprimento e diâmetro total do caule, da raiz e dos elementos de vaso da raiz de plantas jovens de *Hedyosmum brasiliense* Mart., submetidas à deficiência hídrica do substrato e controle.

Tempo (dias)	40		118	
Tratamento	Deficiência Hídrica	Controle	Deficiência Hídrica	Controle
Caule				
Comprimento (cm)	6,20 ± 1,84a	5,33 ± 1,90a	9,00 ± 2,00a	10,67 ± 0,76a
Diâmetro (mm)	3,11 ± 0,19a	3,03 ± 0,14a	4,00 ± 0,04b	5,60 ± 0,04a
Raiz				
Comprimento (cm)	13,40 ± 4,46a	15,17 ± 6,10a	22,33 ± 1,26a	18,57 ± 0,60b
Diâmetro (mm)	1,42 ± 0,03b	1,98 ± 0,15a	1,94 ± 0,08b	2,39 ± 0,04a
Elemento de vaso				
Comprimento (µm)	1011,82 ± 192,54a	826,92 ± 118,62b	886,52 ± 92,54a	890,19 ± 139,57a
Diâmetro (µm)	15,22 ± 3,19a	13,27 ± 2,05a	12,70 ± 2,97a	12,70 ± 3,32a

Nota: n= 30. Letras comparam na horizontal apenas dentro de um mesmo tempo. Letras diferentes indicam diferenças estatisticamente significativas entre as médias, ao nível de 0,05 de probabilidade pelo teste *t*.



Figuras 53 – 59. Caule de *Hedyosmum brasiliense* Mart., em secção transversal, após 40 dias de tratamento, em MO. **53.** Representação esquemática do caule. Seta indica saliência. Barra: 1000 μm . **54 – 59.** Fotomicrografias. **54 e 55.** Aspecto geral dos tecidos. Barras: 500 μm . **56 e 57.** Detalhe da epiderme e do córtex. Barras: 100 μm . **58 e 59.** Detalhe dos feixes vasculares. Barras: 100 μm . **54, 56 e 58.** Planta sob deficiência hídrica. **55, 57 e 59.** Planta controle. Legenda: af – anel floemático; ax – anel xilemático; e – epiderme; co – colênquima; ct – córtex; cv – câmbio vascular; fv – feixe vascular; me – medula; pa – parênquima.



Figuras 60 - 65. Fotomicrografias, em MO, do caule de *Hedyosmum brasiliense* Mart., em secção transversal, após 118 dias de tratamento. **60 e 61.** Aspecto geral dos tecidos. Barras: 500 μ m. **62 e 63.** Detalhe da epiderme e do córtex. Barras: 500 μ m. **64 e 65.** Detalhe dos feixes vasculares. Barras: 100 μ m. **60, 62 e 64.** Planta sob deficiência hídrica. **61, 63 e 65.** Planta controle. Legenda: af – anel floemático; ax – anel xilemático; e – epiderme; ct – córtex; cv – câmbio vascular; me – medula; sv – sistema vascular.

5. Raiz

As raízes das plantas jovens de *Hedyosmum brasiliense* Mart. têm aspecto fasciculado. Em observações macroscópicas percebe-se claramente que algumas raízes são adventícias, entretanto, com relação às demais, é muito difícil distinguir se há uma raiz principal com ramificações bastante desenvolvidas ou se realmente todas são raízes adventícias. Isto só poderá ser esclarecido em estudo específico sobre a ontogênese do sistema radicular, o que não era objetivo do presente estudo. Como morfo-anatomicamente não foram constatadas diferenças entre as raízes de uma mesma planta, que indicassem tratar-se de raízes embrionárias ou adventícias, a partir daqui serão tratadas todas apenas como raízes, desconsiderando sua origem, pois o principal objetivo é analisar a resposta, à menor disponibilidade hídrica, do órgão responsável pela absorção da solução hídrica do solo.

Em secção transversal das raízes de *H. brasiliense*, observam-se diferenças entre as plantas sob deficiência hídrica e as plantas controle (Figs. 66-69 e Figs. 70-73). As raízes são constituídas por epiderme, córtex, cilindro vascular e medula.

As raízes mais jovens de *H. brasiliense* são revestidas por uma epiderme uniestratificada. Em algumas amostras foram observados os pêlos absorventes (Figs. 74 e 75). A epiderme, bem como seus pêlos absorventes, raramente foram observados, provavelmente pela extrema fragilidade das paredes celulares, resultando na destruição, com a manipulação tanto para retirada da rizosfera, quanto para o processamento do material para análise microscópica. Occhioni (1954) refere que a epiderme prematuramente é perdida, sendo o revestimento do órgão feito pelo tecido adjacente, ou seja, pela exoderme. Algumas secções transversais das raízes de *H. brasiliense* realmente sugerem isto (Figs. 67 e 71), no entanto, isto pode ser resultante da preparação do material como referido anteriormente. Apesar das dificuldades técnicas de preparação, observam-se diferenças neste tecido entre as plantas sob déficit hídrico e as plantas controle. Nas plantas sob deficiência hídrica (Figs. 76 e 77) verifica-se a presença de pêlos absorventes, não encontrados nas plantas controle (Figs. 78 e 79), porém nestas últimas já há evidências, sob a exoderme, da formação de uma periderme. Considerando o fato de que as análises estruturais foram realizadas sempre em amostras a 2 cm do ápice da raiz, pode-se supor que as plantas sob deficiência hídrica aumentaram sua área de absorção, através do aumento da quantidade de pêlos absorventes, como estratégia para se aclimatar à menor disponibilidade de água. A proliferação de pêlos absorventes tem sido associada ao aumento de absorção de água e minerais em ambientes com baixa disponibilidade destes recursos (Tinker 1976; Russell 1977 e Reid & Bowen 1979 – *apud* Mauseth 1988). Por outro lado, nesta mesma região, já se observava um maior grau de maturação nas plantas controle em relação às plantas sob estresse hídrico.

O córtex é constituído por exoderme, uma ampla área de parênquima e endoderme. A exoderme (Figs. 76-79) é uniestratificada, com a parede periclinal externa espessa e suberizada. O parênquima cortical é aclorofilado, com espaços intercelulares, mais amplos nas plantas controle (Figs. 67 e 71), do que nas plantas sob deficiência hídrica (Figs. 66 e 70). Segundo Sculthorpe (1967), as plantas aquáticas possuem raízes com um amplo sistema de lacunas corticais, que promovem a aeração do órgão. Dickison (2000), Vasellati *et al.* (2001) e Chen *et al.* (2002) destacam que as raízes que se desenvolvem em solos encharcados desenvolvem amplos espaços intercelulares no córtex. Entretanto, amplos espaços intercelulares, embora facilitem a aeração, também favorecem a desidratação celular por evaporação de água, o que poderia ser desvantajoso para uma planta em baixo suprimento hídrico. Com base nas análises das raízes de *H. brasiliense*, parece que a espécie também se aclimata à baixa disponibilidade hídrica reduzindo os espaços intercelulares do parênquima radicular cortical, uma vez que as plantas sob estresse possuem menores espaços intercelulares no córtex. North (1991) também comenta a redução das lacunas corticais em raízes de *Agave deserti* em resposta à seca.

Na região mais interna do parênquima cortical são encontradas micorrizas (Figs. 71, 73 e 80). As micorrizas só foram observadas nas plantas aos 118 dias de tratamento. Occhioni (1954) ressalta que a infestação por micorrizas nas raízes de *H. brasiliense* é muito precoce, fazendo supor que represente papel importante na primeira fase da vida da plântula. Nas observações em material fresco estes organismos foram evidenciados em ambos os tratamentos, entretanto, nas amostras de plantas controle selecionadas para confecção de lâminas permanentes eles não estavam presentes. Ressaltamos, assim, que a ausência de micorrizas nas figuras 70 e 72, comparadas com a presença de micorrizas as figuras 71 e 73 não deve ser considerado como consequência do déficit hídrico. Portanto, com relação aos diferentes tratamentos hídricos, não foram observadas diferenças em relação à presença de micorrizas. Embora a presença de micorrizas venha sendo mais associada ao aumento da absorção de nutrientes em solos com baixo teor nutricional (Lambers *et al.* 1998), muitos autores, entre eles Mathur & Vyas (2000), destacam a presença de micorrizas como um fator que pode aumentar a resistência de algumas plantas ao estresse hídrico. Diallo *et al.* (2001) referem que a presença de micorrizas em *Vigna unguiculata* (L.)Walp. não tem efeito significativo na resistência à seca. Em *H. brasiliense*, a presença de micorrizas não parece ter influência sobre a resistência da planta a baixa disponibilidade de água, entretanto estudos quantitativos talvez pudessem evidenciar alguma distinção, porém estes não foram realizados na presente investigação.

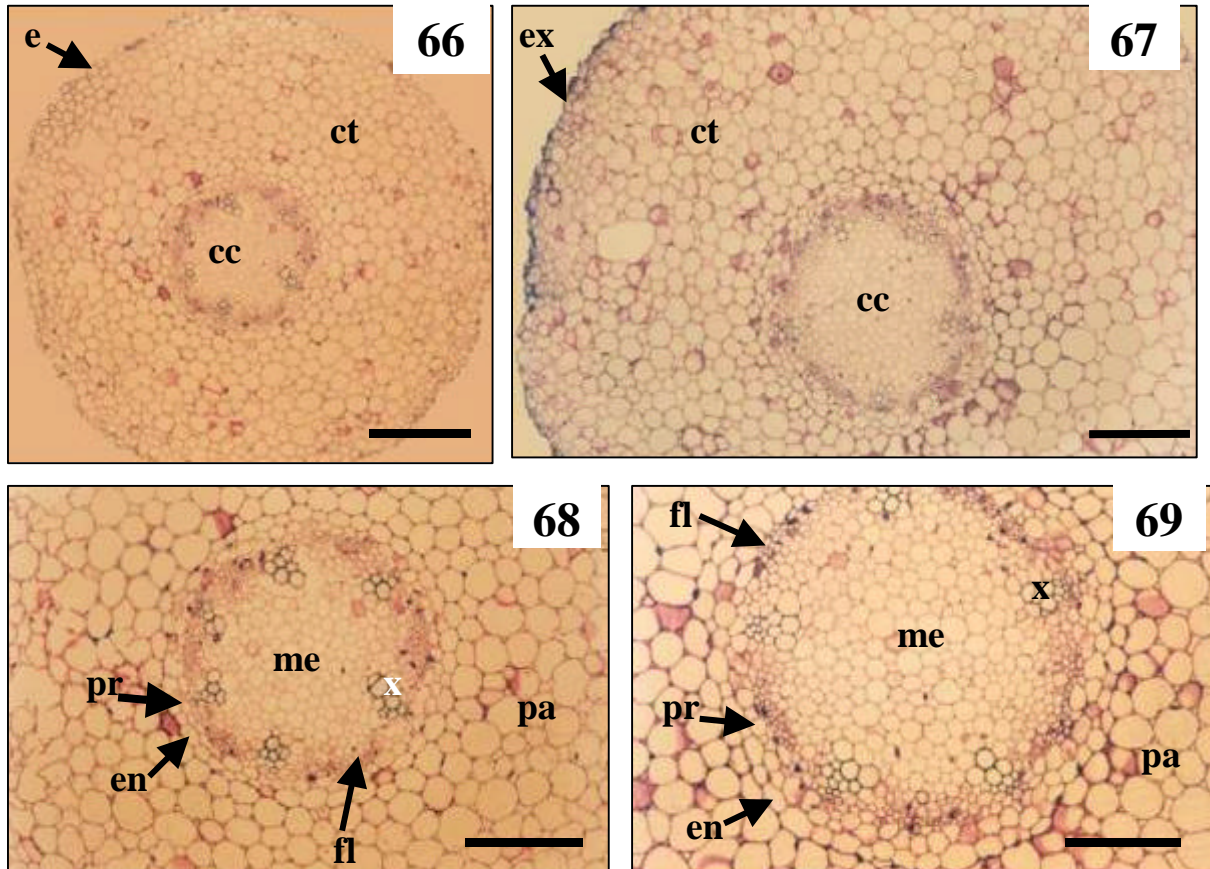
A endoderme, tecido mais interno do córtex, está constituída por células com paredes delgadas (Figs. 72 e 73). Estrias de Caspary foram evidenciadas com o uso de sudan.

O cilindro central é formado por sistema vascular e medula (Figs. 72 e 73). A medula é constituída por parênquima. O sistema vascular mostrou 5 a 7 arcos de xilema, sendo portanto poliarco, os quais têm cordões de floema intercalados. Acompanhando o desenvolvimento das raízes aos 40 e 118 dias de tratamento, observa-se que estas continuaram desenvolvendo seu sistema vascular, aumentando o número de arcos de xilema (comparar Fig. 68 com 72 e Fig. 69 com 73). No entanto, percebe-se diferenças quanto ao número de arcos xilemáticos entre as plantas sob deficiência hídrica e as plantas controle, nos dois períodos avaliados. As plantas de *H. brasiliense* sob déficit hídrico apresentam um maior número de arcos xilemáticos em relação às plantas controle (comparar Fig. 68 com 69 e Fig. 72 com 73). Por outro lado, percebe-se que ocorreu uma diferença entre os arcos xilemáticos das plantas sob déficit hídrico e das plantas controle, quando vistos em secção transversal (Figs. 72-73 e 81-84). Essas diferenças parecem estar relacionadas à quantidade de elementos de vaso de maior calibre nas plantas controle do que nas plantas sob deficiência hídrica. Entretanto, este aspecto não foi avaliado quantitativamente.

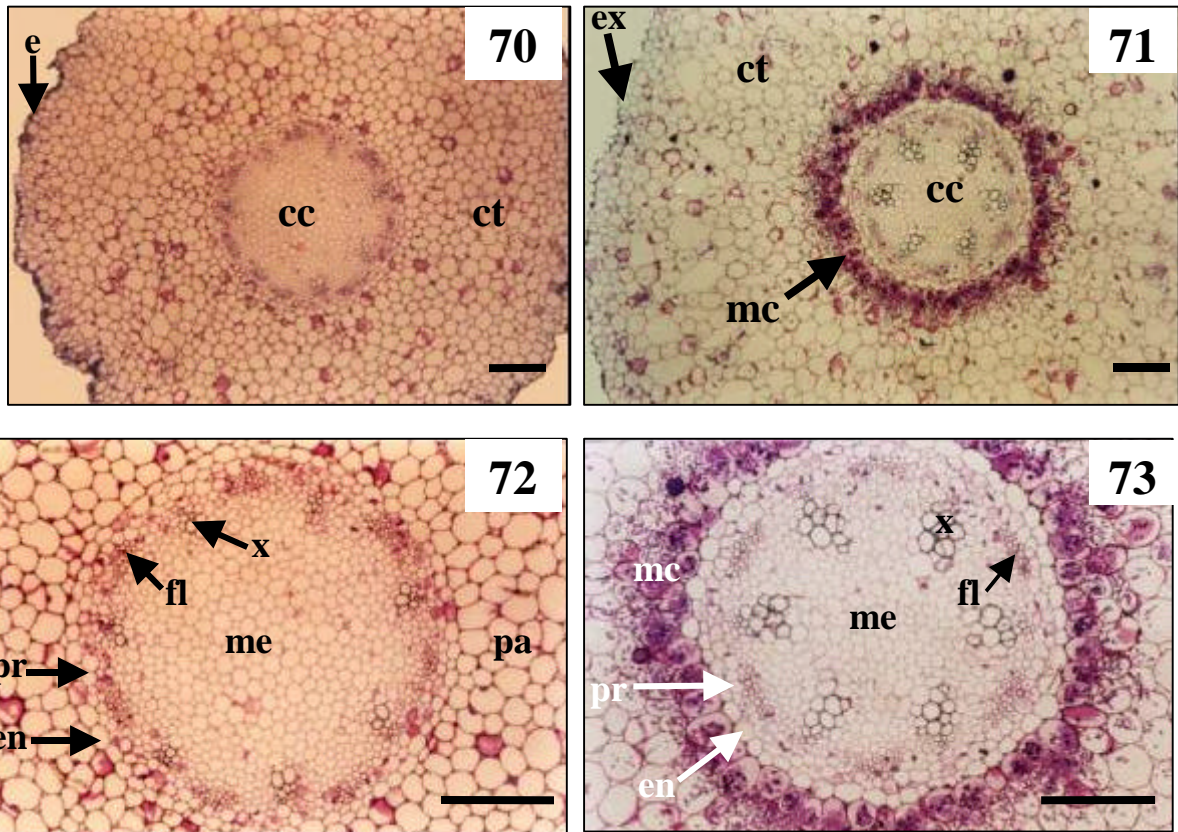
No presente estudo foi avaliado o tamanho dos elementos de vaso com base no comprimento e largura visando determinar se o estresse hídrico afetou o crescimento destas células. Estudos anatômicos do lenho podem eventualmente revelar adaptações particulares ao ambiente hídrico em que o vegetal ocorre, sendo que em ambientes com baixa disponibilidade de água, as características dos elementos de vaso estão relacionadas à garantia do fluxo hídrico (Pinho *et al.* 1992). Segundo Sperry & Tyree (1988), as células condutoras do xilema de maior diâmetro são mais susceptíveis ao embolismo. Elementos de vaso em grande número e de pequeno diâmetro são frequentes em espécies de ambientes xéricos (Yaltirik 1970 e Baas *et al.* 1983 – *apud* Pinho *et al.* 1992). Portanto, plantas submetidas ao estresse hídrico poderiam exibir uma redução no diâmetro dos elementos condutores como adaptação para evitar o embolismo. O comprimento dos elementos de vaso (Tab. 6) das plantas de *H. brasiliense*, aos 40 dias de tratamento, é maior nas plantas sob deficiência hídrica do que nas plantas controle, entretanto, aos 118 dias, não ocorreram alterações em decorrência do déficit hídrico. O diâmetro não foi afetado pelo déficit hídrico (Tab. 6). Assim, parece que apenas o alongamento celular foi afetado no início do desenvolvimento da planta.

O diâmetro total das raízes de *H. brasiliense* sofreu uma redução em função do déficit hídrico (Tab. 6), já observado aos 40 dias de tratamento. Porém, o comprimento total do sistema radicial das plantas de *H. brasiliense*, sob deficiência hídrica, aumentou em relação às plantas controle, mas somente aos 118 dias de tratamento (Tab. 6). Price *et al.* (2002) citam o aumento do comprimento das raízes como resposta ao déficit hídrico. O crescimento das raízes em profundidade em direção ao solo úmido, segundo Taiz & Zeiger (2004), pode ser

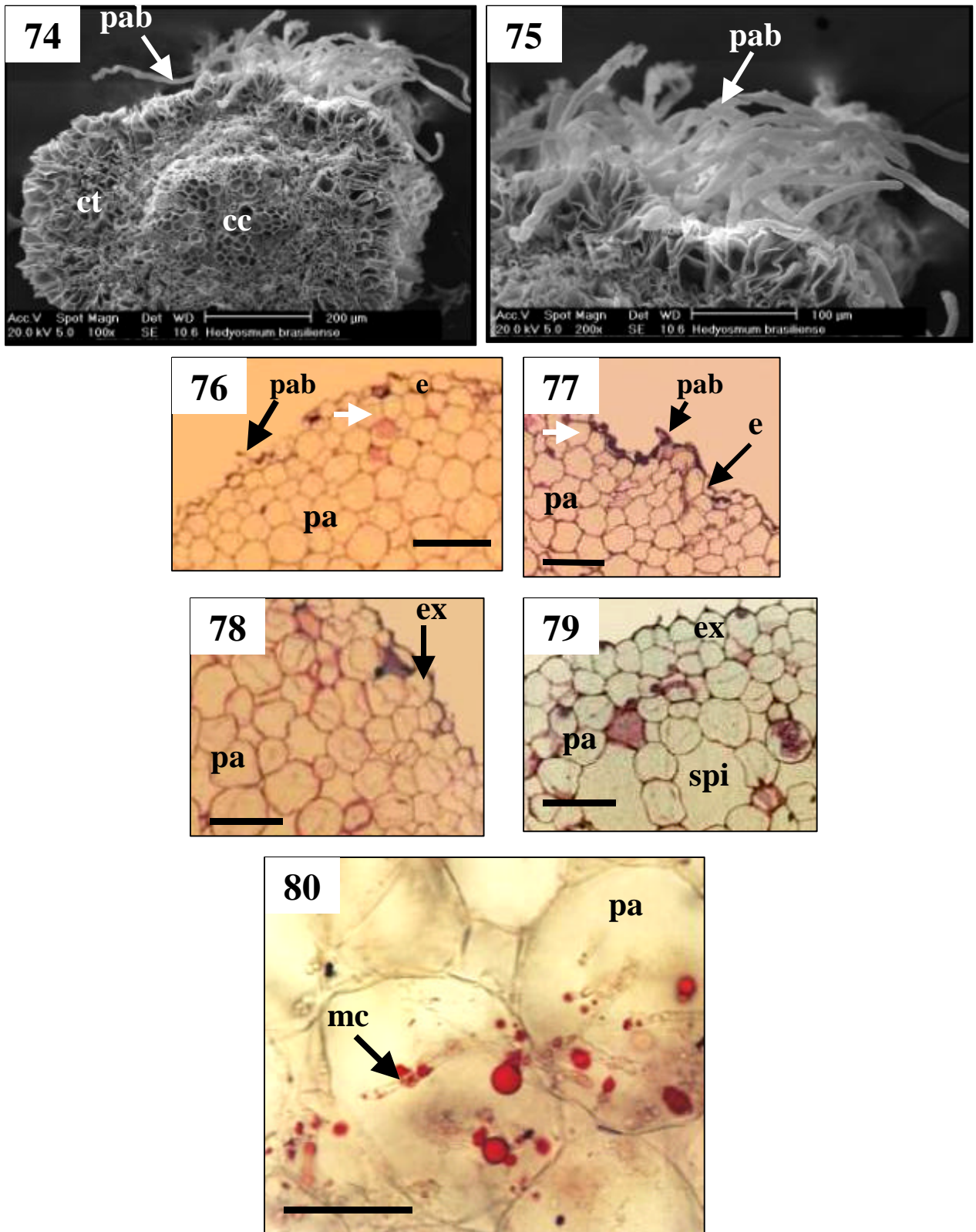
considerado uma defesa contra a seca. Assim, o aumento do comprimento do sistema radicial das plantas de *H. brasiliense* submetidas ao déficit hídrico indica ser uma alternativa da planta de ir em busca de água que poderia estar em maior profundidade.



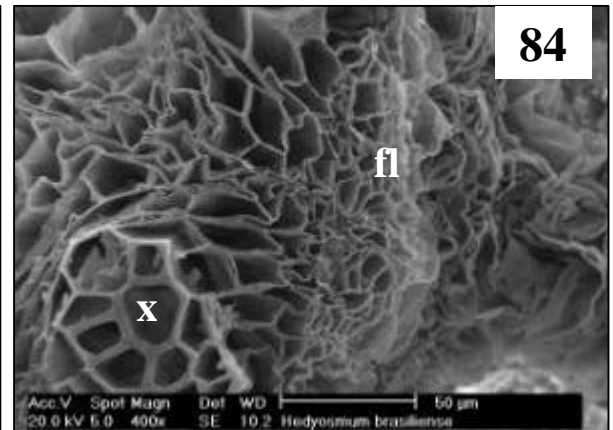
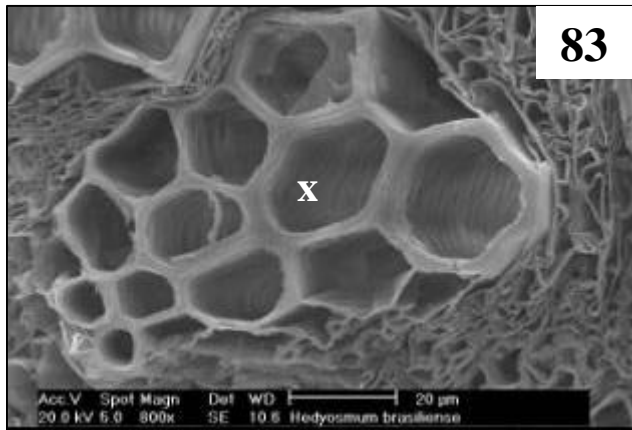
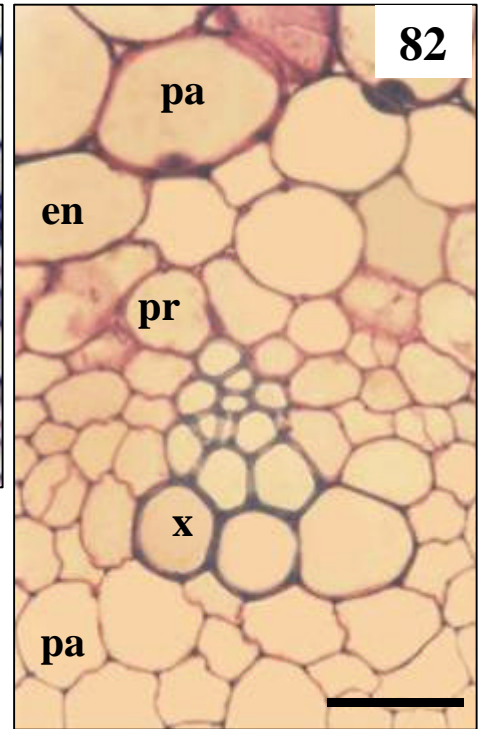
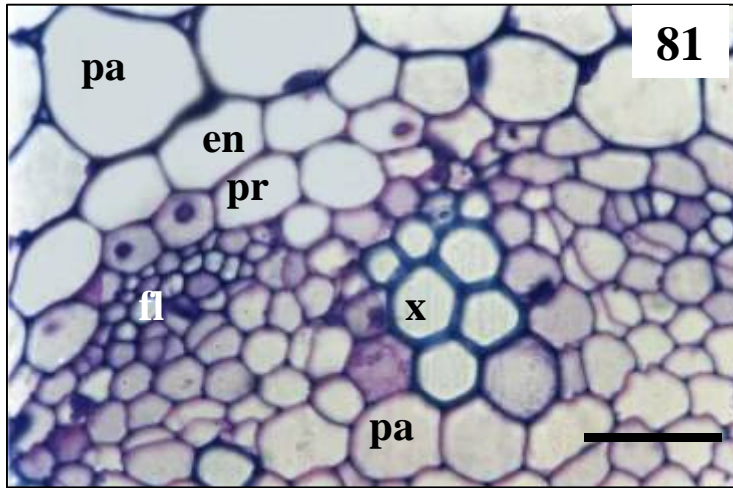
Figuras 66 – 69. Fotomicrografias, em MO, da raiz de *Hedyosmum brasiliense* Mart., em secção transversal, após 40 dias de tratamento. **66 e 67.** Raiz em vista geral. Barras: 300 μm . **68 e 69.** Detalhe do cilindro central. **66 e 68.** Planta sob deficiência hídrica. **67 e 69.** Planta controle. Barras: 200 μm . Legenda: cc – cilindro central; ct – córtex; e – epiderme; en – endoderme; ex – exoderme; fl – floema; me – medula; pa – parênquima; pr – periciclo; x – xilema.



Figuras 70 – 73. Fotomicrografias, em MO, da raiz de *Hedyosmum brasiliense* Mart., em secção transversal, após 118 dias de tratamento. **70 e 71.** Raiz em vista geral. **72 e 73.** Detalhe do cilindro central. **70 e 72.** Planta sob deficiência hídrica. **71 e 73.** Planta controle. Barras: 200 μ m. Legenda: cc – cilindro central; ct – córtex; e – epiderme; en – endoderme; ex – exoderme; fl – floema; mc – micorrizas; me – medula; pa – parênquima; pr – periciclo; x – xilema.



Figuras 74 – 80. Raiz de *Hedyosmum brasiliense* Mart. **74 e 75.** Imagens em MEV. **74.** Secção transversal em vista geral. **75.** Detalhe dos pêlos absorventes. **76 – 79.** Fotomicrografias dos tecidos periféricos, em MO. Barras: 100 µm. **76 e 77.** Plantas sob deficiência hídrica. Seta branca indica exoderme. **78 e 79.** Plantas controle. **76 e 78.** Plantas após 40 dias de tratamento. **77 e 79.** Plantas após 118 dias de tratamento. **80.** Fotomicrografia, em MO, de células parenquimáticas da região interna do córtex, apresentando micorrizas. Barra: 50 µm. Legenda: e – epiderme; ex – exoderme; cc – cilindro central, ct – córtex; mc – micorrizas; pa – parênquima; pab – pêlo absorvente; spi – espaço intercelular.



Figuras 81 – 84. Detalhe do sistema vascular da raiz de *Hedyosmum brasiliense* Mart. **81** e **82.** Fotomicrografias, em MO, dos arcos xilemático e floemático. **83** e **84.** Detalhe dos arcos xilemáticos e floemáticos, em MEV. **81** e **83.** Planta sob deficiência hídrica. **82** e **84.** Planta controle. Barra: 50 µm. Legenda: en – endoderme; fl – floema; pa – parênquima; pr – periciclo; x – xilema.

6. Considerações gerais

O efeito do déficit hídrico sobre as plantas é complexo e estas respondem com diferentes processos adaptativos. De acordo com Henckell (1964), não há um mecanismo universal de resistência à seca. Basicamente, a adaptação à seca é produto de mudanças morfológicas e fisiológicas que têm por objetivo adiar os efeitos do déficit hídrico.

Algumas das alterações citadas pela literatura, como respostas ao déficit hídrico, são: o aumento da densidade estomática, o fechamento estomático, a redução da área foliar, o aumento no comprimento das raízes, a redução no diâmetro dos elementos de vaso, o aumento na concentração de prolina, aumento na espessura da cutícula da lâmina foliar, aumento do número de tricomas nas folhas e de pêlos absorventes nas raízes, entre outras. No entanto, as respostas ao déficit hídrico dependem muito da duração do estresse e da espécie em questão. Algumas espécies possuem plasticidade para alterar uma determinada característica, outras não, ou ainda, se a duração do estresse hídrico for menor ou maior as alterações podem ocorrer ou não.

As plantas jovens de *Hedyosmum brasiliense* Mart. quando submetidas a deficiência hídrica apresentaram, como já citado e discutido anteriormente, algumas alterações morfo-fisiológicas citadas pela literatura. No entanto, para outras modificações esperadas, como redução do diâmetro dos elementos de vaso, esta espécie parece não possuir plasticidade, o que pode ser melhor esclarecido em estudos posteriores.

Por outro lado, percebeu-se, nas plantas jovens de *H. brasiliense*, que algumas características anatômicas apresentaram alterações visíveis em função do déficit hídrico, no entanto, não se encontrou uma metodologia adequada que desse embasamento a essas observações. Assim, futuros estudos poderão elucidar melhor os efeitos decorrentes do estresse hídrico sobre as características anatômicas, além das usuais avaliações das características fisiológicas.

CONCLUSÕES

As plantas de *H. brasiliense*, submetidas à deficiência hídrica, mostraram um aumento na concentração de prolina nas folhas, na densidade estomática e no comprimento das raízes, assim como, uma redução na massa seca total, no crescimento total, na área foliar, no tamanho das células epidérmicas e estomáticas, na espessura da lâmina foliar e nos espaços intercelulares no córtex das raízes.

As plantas sob déficit hídrico também apresentaram uma maior razão R/PA, que reflete uma maior alocação de biomassa para a raiz e um aumento do comprimento das raízes, o que pode nos levar a entender que sejam tentativas de buscar aumentar a absorção de água.

O aumento do número de células epidérmicas, por mm², nas plantas de *H. brasiliense*, sob déficit hídrico, confirma a redução no tamanho das células epidérmicas e, conseqüentemente, a redução da área foliar, que juntamente com a promoção da senescência foliar, redução da abertura estomática e aumento da densidade estomática possibilitam uma redução na perda hídrica através da transpiração.

Do mesmo modo, as plantas de *H. brasiliense* responderam ao baixo suprimento hídrico espessando o parênquima compacto, de modo, a manter sua capacidade fotossintética, e reduzindo a espessura do parênquima esponjoso, que refletiu numa redução da espessura total do mesofilo, bem como da espessura total da lâmina foliar.

Com relação ao caule, num primeiro momento, as plantas sob deficiência hídrica, parecem ter acelerado seu desenvolvimento priorizando o aumento da vascularização, aumentando o número de elementos de vaso, na busca de ampliar o sistema de condução da água disponível, no entanto, logo foi seguido por uma redução da atividade cambial que acarretou numa redução da vascularização, formando menos elementos de vaso nas plantas sob déficit hídrico que nas plantas controle. Essa menor atividade cambial, juntamente com uma menor atividade mitótica nas células do córtex, pode ter contribuído também na redução do diâmetro total do caule. Sendo assim, a menor disponibilidade hídrica inibiu a divisão celular, tanto nos tecidos do córtex, quanto no sistema vascular, afetando, assim, apenas o espessamento do órgão. O alongamento celular parece não ter sido afetado nas plantas com menor suprimento de água, uma vez que, não foram observadas diferenças significativas no comprimento do caule.

Na raiz de *H. brasiliense*, o déficit hídrico levou a um aumento no comprimento total, possivelmente, uma alternativa da planta de ir em busca de água que poderia estar em maior profundidade. Do mesmo modo que, resultou num aumento da área de absorção, uma vez que as plantas sob deficiência hídrica apresentavam maior quantidade de pêlos absorventes do que as plantas controle. A presença de micorrizas, nas raízes de *H. brasiliense*, não parece ter

influência sobre a resistência da planta a baixa disponibilidade de água. Enquanto, a redução do diâmetro total, parece ter sido resultado de menores espaços intercelulares nas plantas sob déficit hídrico.

As plantas jovens de *H. brasiliense* Mart. possuem plasticidade para modificar várias características morfo-fisiológicas em função do déficit hídrico, o que provavelmente, lhes permite habitar tanto ambientes com alta provisão de água, como os ambientes alagados, quanto ambientes com baixa disponibilidade de água, como nos topos de morros. Os resultados obtidos neste estudo contribuem, de maneira geral, para o entendimento da aclimação das plantas à seca, corroborando com o que se entende como estratégias morfo-fisiológicas utilizadas por outras espécies, já descritas pela literatura, que possuem plasticidade para suportar a seca.

BIBLIOGRAFIA

- Andrade, A.; Wolfe, D.W. & Fereres, E. 1993. Leaf expansion, photosynthesis and water relations of sunflowers plants grown on compacte soil. **Plant Soil**, **149**: 175-184.
- Arkin, G.F.; Blum, A. & Burnett, E. 1978. **A root observation chamber field installation**. USA, Texas Agric. Exp. Stn. Misc. Pub. 1386p.
- Atlas de Santa Catarina**. 1986. Gabinete de Planejamento e Coordenação Geral. Subchefia de Estatística, Geografia e Informática. Rio de Janeiro, Aerofoto Cruzeiro. 173p.
- Augé, R.M.; Schekel, K.A. & Wample, R.L. 1986. Osmotic adjustment in leaves of VA Mycorrhizal and Nonmycorrhizal rose plants in response to drought tolerance of winter wheat. **New Phytol.**, **93**: 67-76.
- Barbosa, L.R. 1997. **Estudo das potencialidades de *Hedyosmum brasiliense* Mart. (Chloranthaceae) para seu manejo em regime de rendimento sustentado**. Florianópolis, Curso de Graduação em Ciências Biológicas. Trabalho de Conclusão de Curso. UFSC. 56p.
- Berkenbrock, I.S. & Paulilo, M.T.S. 1999. Efeito da luz na germinação e no crescimento inicial de *Maytenus robusta* Reiss. e *Hedyosmum brasiliense* Mart. **Revta. Bras. Sementes**, **21**: 243-248.
- Bissing, D.R. 1974. Haupt's gelatin adhesive mixed with formalin for affixing paraffin sections to slides. **Stain Techn.**, **49**: 116-117.
- Bohnert, H.J.; Nelson, D.E. & Jensen, R.G. 1995. Adaptations to environmental stresses. **The Plant Cell**, **7**: 1099-1111.
- Bokhari, U.G. & Trent, J.D. 1985. Proline concentrations in water stressed grasses. **J. Range Manage.**, **38**: 37-38.
- Boyer, J.S. 1996. Advances in drought tolerance in plants. **Adv. Agron.**, **56**: 187-217.
- Bozzola, J.J. & Russel, L.D. 1991. **Electron Microscopy. Principles and Techniques for Biologists**. Boston, Jones and Barlett Publ. 542p.
- Calbo, M. E. R. & Moraes, J. A. 2000. Efeitos da deficiência de água em plantas de *Eutepa oleracea* (açai). **Revta brasil. Bot.**, **23**: 225-230.
- Chapin III, F.S.; Bloom, A.J.; Field, C.B. & Waring, R.H. 1987. Plant responses to multiple environmental factors. **BioScience**, **37**: 49-57.
- Chapin III, F.S. 1991. Integrated responses of plants to stress. **BioScience**, **41**: 29-35.

- Chartzoulakis, K.; Patakas, A.; Kofidis, G.; Bosabalidis, A. & Nastou, A. 2002. Water stress affects leaf anatomy, gas exchange, water relations and growth of two avocado cultivars. **Sci. Hortic.**, **95**: 39-50.
- Chen, H.; Qualls, R.G. & Miller, G.C. 2002. Adaptive responses of *Lepidium latifolium* to soil flooding: biomass allocation, adventitious rooting, aerenchyma formation and ethylene production. **Environ. Exp. Bot.**, **48**: 119-128.
- Costa, A.F. 1982. **Farmacognosia**. 3^o vol. Lisboa, Fundação Calouste Gulbenkian. 1032p.
- Davies, F.T.; Potter Jr. J.R. & Linderman, R.G. 1992. Mycorrhiza and repeated drought exposure resistance affect drought resistance and extraradical hyphae development on pepper plants independent of plant size and nutrient content. **J. Plant. Physiol.**, **139**: 289-294.
- Dawson, T.E. 1993. Hydraulic lift and water use by plants: implications for water balance, performance and plant-plant interactions. **Oecologia**, **95**: 565-574.
- Diallo, A.T.; Samb, P.I. & Roy-Macauley, H. 2001. Water status and stomatal behaviour of cowpea, *Vigna unguiculata* (L.) Walp, plants inoculated with two *Glomus* species at low soil moisture levels. **Eur. J. Soil Biol.**, **37**: 187-196.
- Dias-Filho, M.B. & Dawson, T.E. 1995. Physiological responses to soil moisture stress in two Amazonian gap-invader species. **Funct. Ecol.**, **9**: 213-221.
- Dias-Filho, M.B. 1995. Root and shoot growth in response to soil drying in four Amazonian weedy species. **Rev. Bras. Fisiol. Veg.**, **7**: 53-59
- Dickison, W.C. 2000. **Integrative Plant Anatomy**. USA, Academic Press. 533p.
- Duan, X.; Neuman, D.S.; Reiber, J.M.; Green, C.D.; Saxton, A.M. & Augé, R.M. 1996. Mycorrhizal influence on hydraulic and hormonal factors implicated in the control of stomatal conductance during drought. **J. Exp. Bot.**, **47**: 1541-1550.
- Eames, A.J. & MacDaniels, L.H. 1947. **An Introduction to Plant Anatomy**. 2^a Ed. USA, McGraw-Hill Book Company, INC. 426p.
- Fahn, A. & Cutler, D.F. 1992. **Xerophytes**. Germany, Gebrüder Borntraeger. 176p.
- Fanti, S.C. & Perez, S.C.J.G.A. 2003. Efeito do estresse hídrico e envelhecimento precoce na viabilidade de sementes osmocondicionadas de paineira (*Chorisia speciosa*). **Pesq. Agropec. Bras.**, **38**: 537-543.
- Fedina, I.S. & Popova, A.V. 1996. Photosynthesis, photorespiration and proline accumulation in water stressed pea leaves. **Photosynthetica**, **32**: 312-320.

- Fermino Jr., P.C.P. 2002. **Densidade estomática e outras características morfométricas em quatro espécies arbóreas de diferentes estádios sucessionais da Floresta Atlântica.** Florianópolis, Curso de Graduação em Ciências Biológicas. Trabalho de Conclusão de Curso. UFSC. 44p.
- Fitter, A.H. & Hay, R.K.M. 1987. **Environmental Physiology of Plants.** USA, Academic Press. 422p.
- Furnis, T.F. & Pedras, J.F. 2002. Variação nos níveis de prolina, diamina e poliaminas em cultivares de trigo submetidas a déficits hídricos. **Pesq. Agropec. Bras., 37:** 449-453.
- Glória, B.A. & Guerreiro, S.M.C. 2003. **Anatomia Vegetal.** Viçosa, Ed.UFV. 438p.
- Guedes, A. 1997. **Estudo químico e avaliação da atividade analgésica e antimicrobiana de *Hedyosmum brasiliense* Mart. ex. Miq. (Chloranthaceae).** Florianópolis. Dissertação (Mestrado em química) – Centro de Ciências Físicas e Matemáticas, UFSC. 125p.
- Henckell, P.A. 1964. Physiology of plants under drought. **Annu. Rev. Plant Physiol., 15:** 363-386.
- Hunt, R. 1982. **Plant growth curves. The functional approach to plant growth analysis.** London, Edward Arnold. 248p.
- Johansen, D.A. 1940. **Plant microtechnique.** New York, McGraw-Hill Book Co.Inc. 523p.
- Kaya, C.; Higgs, D.; Kirnak, H. & Tas, I. 2003. Mycorrhizal colonization improves fruit yield and water use efficiency in watermelon (*Citrullus lanatus* Thunb.) grown under well-watered and water-stressed conditions. **Plant and Soil, 253:** 287-292.
- Klein, R.M. 1979. Ecologia da flora e vegetação do Vale do Itajaí. **Sellowia, 31:** 1-164.
- Klein, R.M. 1980. Ecologia da Flora e Vegetação do Vale do Itajaí (continuação). **Sellowia, 32:** 1-389.
- Kraus, J.E. & Arduin, M. 1997. **Manual básico de métodos em morfologia vegetal.** Seropédica, RJ. Ed. Universidade Rural. 198p.
- Lambers, H.; Chapin, F.S. & Pons, T.L. 1998. **Plant Physiological Ecology.** New York, Springer-Verlag. 540p.
- Larcher, W. 2000. **Ecofisiologia Vegetal.** São Carlos, Rima Artes e Textos. 531p.
- Lawlor, D.W. 1995. The effects of water deficit on photosynthesis. In: Smirnov, N. (ed). **Environmental and plant metabolism-flexibility and acclimation.** Bios Scientific Publisher, Oxford. p. 129-160

- Marterer, B.T.P. 1996. **Avifauna do Parque Botânico do Morro do Baú**: riqueza, aspectos de frequência e abundância. Santa Catarina: FATMA. 74p.
- Mathur, N. & Vyas, A. 2000. Influence of arbuscular mycorrhizae on biomass production, nutrient uptake and physiological changes in *Ziziphus mauritiana* Lam. under water stress. **J. Arid Environ.**, **45**: 191-195.
- Mauseth, J.D. 1988. **Plant Anatomy**. USA, The Benjamin/Cummings Publishing Company, Inc. 560p.
- Metcalf, C.R. & Chalk, L. 1957. **Anatomy of the Dicotyledons**. Vol. I e II. Oxford, Clarendon Press.
- Metcalf, C.R. & Chalk, L. 1979. **Anatomy of the Dicotyledons**. Vol. I. 2a Ed. Oxford, Clarendon Press. 294 p.
- Metcalf, C.R. 1987. **Anatomy of the Dicotyledons**. Vol. III. 2 ed. Oxford, Clarendon Press. 224 p.
- Meyers, R.J.K.; Foale, M.A. & Done, A.A. 1984. Responses of grain sorghum to varying irrigation frequency in the Ord irrigation area. III. Water relations. **Aust. J. Agric. Res.**, **35**: 43-52.
- Napp-Zinn, P. 1984. **Anatomie des Blattes**. Germany, Gebrüder Borntraeger. 519p.
- Nautiyal, S; Badola, H.K.; Pal, M. & Negi, D.S. 1994. Plant responses to water stress: changes in growth dry matter production, stomatal frequency and leaf anatomy. **Biol. Plant.**, **36**: 91-97.
- North, G.B. & Nobel, P.S. 1991. Changes in hydraulic conductivity and anatomy caused by drying and rewetting roots of *Agave deserti* (Agavaceae). **Am. J. Bot.**, **78**: 906-915.
- Occhioni, P. 1954. **Contribuição ao estudo da família Chloranthaceae com especial referência ao gênero *Hedyosmum* Sw.** Rio de Janeiro. Tese (Professor Catedrático de Botânica Aplicada à Farmácia) – Faculdade Nacional de Farmácia, Universidade do Brasil. 176p.
- Osmond, C.B.; Austin, M.P.; Berry, J.A.; Billings, W.D.; Boyer, J.S.; Dacey, J.W.H.; Nobel, P.S.; Smith, S.M. & Winner W.E. 1987. Stress Physiology and the Distribution of Plants. **BioScience**, **37**: 38-48.
- Pace, P.F.; Cralle, H.T.; El-Halawany, S.H.M.; Cothren, J.T. & Senseman, S.A. 1999. Drought-induced Changes in Shoot and Root Growth of Young Cotton Plants. **J. Cotton Sci.**, **3**: 183-187.

- Pandey, R. & Agarwal, R.M. 1998. Water stress-induced changes in proline contents and nitrate reductase activity in rice under light and dark conditions. **Physiol. Mol. Biol. Plants**, **4**: 53-57.
- Paulilo, M.T.S.; Felipe, G.M. & Dale, J.E. 1998. Root/shoot partitioning and water relations in *Qualea grandiflora* (Vochysiaceae) seedlings under water stress. **Rev. Biol. Trop.**, **46**: 41-44.
- Pereira, J.S. & Pallardi, S. 1989. Water stress limitation to tree productivity. In: **Biomass production by fast growing trees** (J.S. Pereira & J.J. Landsberg eds.). London, Kluwer Academic. p. 37-56.
- Pinho, R.A.; Mazzoni – Viveiros & Sajo, M.G. 1992. Contribuição ao estudo anatômico do lenho de árvores da flora dos cerrados IV. São Paulo, Brasil. **Hoehnea**, **19**: 171-183.
- Poorter, L. 1999. Growth responses of fifteen rain forest tree species to a light gradient: the relative importance of morphological and physiological traits. **Funct. Ecol.**, **13**: 396-410.
- Price, A.H.; Steele, K.A.; Gorham, J.; Bridges, J.M.; Moore, B.J.; Evans, J.L.; Richardson, P. & Jones, R.G.W. 2002. Upland rice grown in soil-filled chambers and exposed to contrasting water-deficit regimes. I. Root distribution, water use and plant water status. **Field Crops Res.**, **76**: 11-24.
- Queiroz, C.G.S.; Garcia, Q.S. & Lemos Filho, J.P. 2002. Atividade fotossintética e peroxidação de lipídios de membrana em plantas de aroeira-do-sertão sob estresse hídrico e após reidratação. **Braz. J. Plant Physiol.**, **14**: 59-63.
- Quintas, A.T. 1963. Novo material apoio para cortes histológicos. **Rev. Fac. Agr. Vet. Univ. RGS**, **6**: 51-4.
- Reitz, P.R. 1965. Clorantáceas. **Flora Ilustrada Catarinense**. Itajaí. 10p.
- Rosenthal, W.D.; Arkin, G.F.; Shouse, P.J. & Jordan, W.R. 1987. Water Deficit Effects on Transpiration and Leaf Growth. **Agron. J.**, **79**: 1019-1026.
- Salatino, A.; Montenegro, G. & Salatino, M.L.F. 1986. Microscopia eletrônica de varredura de superfícies foliares de espécies lenhosas do cerrado. **Revta. Brasil. Bot.**, **9**: 117-124.
- Sam, O.; Jeréz, E.; Dell'Amico, J. & Ruiz-Sanchez, M.C. 2000. Water stress induced changes in anatomy of tomato leaf epidermes. **Biol. Plant.**, **43**: 275-277.
- Sculthorpe, C.D. 1967. **The Biology of Aquatic Vascular Plants**. London, Edward Arnold Ltd. 609p.

- Silva, H. & Acevedo, E. 1984. Adaptaciones anatomorfológicas foliares al déficit hídrico em *Atriplex repanda* Phil. **Rev. Chil. Hist. Nat.**, **57**: 69-78.
- Silva, H.; Martinez, J.P.; Baginsky, C. & Pinto, M. 1999. Efecto del déficit hídrico en la anatomía foliar de seis cultivares de poroto *Phaseolus vulgaris*. **Rev. Chil. Hist. Nat.**, **72**: 219-235.
- Silva, H.; Acevedo, E. & Silva, P. 2001. Anatomía del tejido fotosintético de diez taxa de *Opuntia* establecidos en el secano árido mediterráneo de Chile. **Rev. Chil. Hist. Nat.**, **74**: 341-351.
- Shevyakova, N.I. 1984. Metabolism and the physiological role of proline in plants under conditions of water and salt stress. **Soviet. Plant Physiology**, **30**: 597-608.
- Sokal, R.R. & Rohlf, F.J. 1969. **Biometry**. San Francisco, Freeman and Company. 776p.
- Solereider, H. 1908. **Systematic anatomy of the dicotyledons**. Vol.I e II. Oxford, Clarendon Press. 1183 p.
- Sperry, J.S. & Tyree, M.T. 1988. Mechanism of water stress-induced xylem embolism. **Plant. Physiol.**, **88**: 581-587.
- Steinberg, S.L.; Miller, J.C. & McFarland, M.J. 1990. Dry matter partitioning and vegetative growth of young peach trees under water stress. **Aust. J. Plant Physiol.**, **17**: 23-36.
- Stewart, G.R. & Lee, J.A. 1974. The role of proline accumulation in halophytes. **Planta**, **120**: 279-289.
- Subramanian, K.S. & Charest, C. 1995. Influence of arbuscular mycorrhizae on the metabolism of maize under drought stress. **Mycorrhiza**, **5**: 273-278.
- Taiz, L. & Zeiger, E. 2004. **Fisiología Vegetal**. 3^a Ed. Porto Alegre, Artmed. 719p.
- Taylor, C.B. 1996. Proline and water deficit: ups, downs, ins, and outs. **Plant Cell**, **8**: 1221-1224.
- Tinker, P.B. 1976. Roots and water. Transport of water to plant root in soil. **Phil. Trans. R. Soc. London B**, **273**: 445-61.
- Van Volkenburgh, E. & Cleland, R.E. 1984. Control of leaf growth by changes in wall properties. **What's New Plant Physiol.**, **15**: 25-28.
- Vasellati, V.; Oosterheld, M.; Medan, D. & Loreti, J. 2001. Effects of Flooding and Drought on the Anatomy of *Paspalum dilatatum*. **Ann. Bot.**, **88**: 355-360.

- Wilkinson, H.P. 1979. The plant surface. Part I. Stomata. In: Metcalfe, C. R. & Chalk, L. (ed.). **Anatomy of the Dicotyledons**. Vol. I. 2^a Ed. Oxford, Clarendon Press. p. 97-117.
- Willians, J. & Shaykewich, C.F. 1969. An evaluation of polyethylene glycol (PEG) 6000 and PEG 20000 in the osmotic control of soil water matric potential. **Can. J. Soil Sci.**, **49**: 397-401.
- Xu, S.; An, L.; Feng, H.; Wang, X. & Li, X. 2002. The seasonal effects of water stress on *Ammopiptanthus mongolicus* in a desert environment. **J. Arid Environ.**, **51**: 437-447.
- Zagdanska, B. & Kozdoj, J. 1994. Water stress-induced changes in morphology and anatomy of flag leaf of spring wheat. **Acta Soc. Bot. Pol.**, **63**: 61-66.
- Zanin, V.T.C. 1998. **Dados preliminares da estrutura fitossociológica em um trecho da comunidade florestal arbórea no Parque Botânico do Morro Baú (Ilhota, SC)**. Florianópolis, Trabalho de conclusão de curso de graduação em Ciências Biológicas. Universidade Federal de Santa Catarina. 63p.
- Zaniolo, S.R. 2001. Estrutura da folha de *Hedyosmum brasiliense* Mart. Ex Miq. (Chloranthaceae) como subsídio para o controle de qualidade. **Rev. Bras. Plantas Med.**, **4**: 29-34.