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

**Variação da pressão de turgor de plantas de milho em condições de
déficit hídrico**

Lucas Baiochi Riboldi

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

**Piracicaba
2014**

Lucas Baiochi Riboldi
Engenheiro Agrônomo

Variação da pressão de turgor de plantas de milho em condições de déficit hídrico

versão revisada de acordo com a resolução CoPGr 6018 de 2011

Orientador:
Prof. Dr. **RICARDO FERRAZ DE OLIVEIRA**

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

Piracicaba
2014

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

Riboldi, Lucas Baiochi

Variação da pressão de turgor de plantas de milho em condições de déficit hídrico / Lucas Baiochi Riboldi. - - versão revisada de acordo com a resolução CoPGr 6018 de 2011. - - Piracicaba, 2014.
57 p. : il.

Dissertação (Mestrado) - - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", 2014.
Bibliografia.

1. Déficit hídrico 2. Sonda magnética de turgor 3. *Zea mays* I. Título

CDD 633.15
R486v

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

Aos meus pais Júlio e Maria da Penha
e meus irmãos Marina, Victor e Rafael

Dedico

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus por ter me dado a vida pra chegar até aqui.

Ao programa de Fisiologia Vegetal e à CAPES pela oportunidade de cursar o mestrado.

Aos meus pais Júlio e Maria da Penha por sempre terem me apoiado, tanto nas horas de alegria como de tristeza.

Aos meus irmãos Marina, Victor, Rafael e Hélio, por sempre estarem ao meu lado.

Aos meus familiares e em especial à minha avó Angelina.

Ao Prof. Dr. Ricardo Ferraz de Oliveira pela oportunidade e confiança.

Ao Prof Dr. Ulrich Zimmermann e toda equipe da Zim-Plant-Technology, pela disponibilidade e ajuda na elaboração do projeto.

À equipe do Laboratório de Estudos de Plantas sob Estresse (LEPSE): Marina Gentil, Bruno Domingues, Francynês Macedo, Gabriel Daneluzzi, Diogo Capelin, Karina Lima e tantos outros que passaram por lá, pelas horas de discussões, mas também de diversão. Obrigado por cada momento que vivemos juntos.

À Profa. Dra. Sonia Maria de Stefano Piedade e Ricardo Klein Sercundes pela elaboração do delineamento estatístico e análises.

À Maria Solizete Granziol Silva pela competência, apoio e amizade.

A todos meus amigos da ESALQ e CENA pelos momentos juntos, meu obrigado.

*“UTOPIA: Ela está no horizonte,
acерco-me um passo e ela se afasta dois.
Caminho dez passos e o horizonte corre dez passos mais.
Por muito que eu caminhe - Nunca a alcançarei.
Para que serve a utopia? Serve para isso.
Para nos fazer caminhar”.*

Eduardo Galeano

SUMÁRIO

RESUMO.....	11
ABSTRACT	13
1 INTRODUÇÃO	15
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	17
2.1 Efeitos fisiológicos da falta de água	17
2.2 Sonda magnética de turgor foliar	21
2.3 Pesquisas recentes utilizando a sonda de turgor	24
3 MATERIAL E MÉTODOS	27
3.1 Material Vegetal	27
3.2 Condições de déficit hídrico	27
3.3 Análises fisiológicas	28
3.4 Análise estatística	31
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	33
5 CONCLUSÕES	49
REFERÊNCIAS	51

RESUMO

Variação da pressão de turgor de plantas de milho em condições de déficit hídrico

O milho é relativamente tolerante ao estresse hídrico, principalmente nas suas fases iniciais de crescimento, mas caso sujeito ao déficit hídrico apresenta diminuição do crescimento pela redução da taxa fotossintética e da disponibilidade de água em seus tecidos. O monitoramento do potencial da água da planta é importante indicador do grau de déficit hídrico. Porém, os métodos existentes para sua determinação não são passíveis de automatização e por serem de natureza destrutiva, nem sempre se mostram adequados na determinação do estresse hídrico. Com a nova sonda magnética desenvolvida por Zimmermann e colaboradores (2008) para a determinação do turgor foliar, pode-se avaliar o status hídrico da planta e, em certos casos, até indicar o momento ideal para a irrigação. Ela é altamente sensível, versátil, não destrutiva, fácil de manusear, apresentando resultados imediatos e disponíveis *online*. Assim o objetivo deste trabalho foi verificar se plantas de milho em crescimento, submetidas a ciclos de estresse hídrico possuíam a capacidade de recuperação, além de testar a eficácia desta nova técnica para o monitoramento do estresse. As plantas cresceram em vasos em casa de vegetação, onde além das medidas de turgor expressas pela variável Pp (“pressão resultante” da sonda) foram monitorados, também, o potencial da água foliar, a condutância estomática, a assimilação de CO₂ e variáveis de crescimento por 30 dias, a partir de um mês e meio após a semeadura. Foram estabelecidos dois tratamentos, um em que a planta era mantida irrigada e outro onde foi suspensa a irrigação. Conforme o passar dos dias, as plantas mostraram os primeiros sinais visuais de estresse, como o enrolamento das folhas. Nesse período foi possível observar uma flutuação dos valores de Pp ao longo do dia, mas com uma recuperação do turgor no período noturno. Houve diferença significativa entre os tratamentos para condutância estomática, potencial da água, Pp e fotossíntese. Após cada irrigação, notou-se uma recuperação rápida em todos os parâmetros analisados. Deste modo, foi possível concluir que as plantas de milho foram capazes de se recuperar do déficit hídrico rapidamente, apresentando uma recuperação total em apenas um dia para todos os ciclos analisados. A sonda de turgor foi capaz de indicar e monitorar o status hídrico da planta, mas nos 10 dias finais de estresse no último ciclo de secagem do solo, as suas medidas sinalizavam uma possível manutenção do turgor não condizente com a condição real das plantas, que nesse momento apresentavam baixos valores de potencial da água, de condutância estomática e de assimilação de CO₂, além de enrolamento das folhas. Portanto, maiores estudos são necessários para conhecer as possíveis causas desse comportamento da sonda nessas circunstâncias.

Palavras-chave: Déficit hídrico; Sonda magnética de turgor; *Zea mays*

ABSTRACT

Turgor pressure variation among maize plants under water deficit condition

Maize is a relatively tolerant plant water stress, especially in their early stages of growth. Plants subjected to water deficit have reduced growth by decreased photosynthetic rate and the availability of water in their tissues. The monitoring of water potential is important as an indicator of water stress, but the few methods for determining it are not amenable to automation and for being destructive nature; the results are not always consistent with the actual conditions. With the new leaf patch clamp pressure probe developed by Zimmermann et al (2008) for the determination of leaf turgor, one can assess the water status of the plant and in some cases up to indicate the ideal time for irrigation. It is highly sensitive, versatile, non-destructive, easy to handle, with immediate results and available online. Thus the aim of this study was to determine if the maize plants subjected to drought cycles, had the ability to recover from water deficit, in addition to testing the effectiveness of this new method for monitoring stress. Plants were grown in pots in a greenhouse, where the leaf status was monitored through the leaf water potential, stomata conductance, leaf turgor pressure and photosynthesis. Plant growth (height, leaf area and dry mass) was continuously evaluated. Measures initiated one and half month after sowing and plants were monitored for about 30 days, by using the variable Pp (resulting pressure) given by the probe. Two treatments were imposed, one where the plant was kept irrigated and another where irrigation was suspended were established. As the days passed, the plants showed the first visual signs of stress, such as curling leaves. During this period we observed a fluctuation in the values of Pp throughout the day signaling loss of turgor, but with a recovery at night. There were significant differences between treatments for stomata conductance, water potential, photosynthesis and Pp over the days. After each irrigation, noticed a rapid recovery in all parameters analyzed. Thus, we concluded that maize plants were able to recover quickly from the water deficit, with a full recovery in just one day for all cycles analyzed. The turgor probe was able to display and monitor the water status of the plant, but in the last ten days of deficit it was not signaling an evident turgor loss as demonstrated by other indicators, as leaf curling, low leaf water potential, CO₂ assimilation and stomata conductance. So, more studies are required to explain the probe response under these circumstances.

Keywords: Water deficit; Pressure probes; *Zea mays*

1 INTRODUÇÃO

Quando a planta está sujeita a déficit hídrico, muitos de seus processos fisiológicos são afetados, tais como: abertura estomática, fotossíntese, síntese de proteínas, atividade enzimática e hormonal, dentre outros (VILELLA; BULL, 1999). Estas variações ocorrem concomitantemente, porém algumas plantas respondem mais rapidamente tanto ao déficit hídrico quanto à irrigação.

A fotossíntese em plantas é negativamente afetada pelo déficit hídrico determinado pelas mudanças do potencial da água da folha (GHANNOUM, 2009). De outro modo, as plantas C₄, como o milho, cana-de-açúcar e sorgo, são mais eficientes no uso da água pela sua morfologia e metabolismo diferenciados (EVERT, 2006) e assim, são plantas mais adaptadas a altas temperaturas e sazonalidade hídrica, devido ao mecanismo de concentração interna de CO₂ nos tecidos.

Plantas de milho submetidas à condição de déficit hídrico apresentam uma diminuição do potencial da água, causando o fechamento estomático e, por conseguinte, a diminuição da fotossíntese e assimilação de carbono (OTEGUI et al., 1995). Os principais efeitos da falta de água em plantas de milho são diminuição da biomassa e produção de grãos (KORSAKOV et al., 2008), principalmente se ela ocorrer durante o pendoamento e o espigamento (TOLLENAAR; LEE, 2011).

O monitoramento das condições hídricas das plantas é importante para a determinação do momento ideal de irrigação, evitando deste modo perdas decorrentes da falta de água. Para isso, tem sido utilizados com frequência indicadores do status hídrico da planta, tanto pela medida do potencial da água de seus órgãos (principalmente as folhas) por métodos de equilíbrio de pressão de vapor (psicrometria/higrometria de termopar) e de equilíbrio de pressão (câmara de pressão), como pela medida da variação de dimensões da espessura foliar pela técnica de transdutores lineares e/ou do diâmetro de troncos/caules pela microdendrometria. O grau de déficit hídrico de uma planta pode ser inferido, também, a partir das suas respostas fisiológicas, como variação da condutância estomática à difusão de vapor, da temperatura do dossel vegetativo e do fluxo de seiva bruta.

Apesar de todas essas alternativas de avaliação do status hídrico de plantas, os estudos nessa área de pesquisa ressentem-se de problemas envolvendo a representatividade desses indicadores de déficit baseados na própria planta,

principalmente naqueles com uso de inferências a partir das respostas fisiológicas e, também, por problemas práticos de aplicação, como dificuldade de automação das medidas e tempo demandado para cada medida, que ocorre na determinação do potencial da água e da condutância foliar à difusão de vapor. Além disso, os resultados obtidos nem sempre condizem com a condição real da planta (ZIMMERMANN et al., 2004).

Com base nessas dificuldades, um novo método foi desenvolvido por pesquisadores alemães (ZIMMERMANN et al., 2004), pela instalação de uma sonda que mede em tempo real o turgor relativo da folha, indicando o status hídrico da planta. Além do monitoramento contínuo das condições hídricas, ao fornecer uma informação detalhada das mudanças relativas da pressão de turgor (FERNANDES, 2011) o emprego da sonda magnética tem revelado novidades sobre a dinâmica da água na planta (Zimmermann et al. 2008; 2010), como na sinalização do estresse desde as raízes até as folhas, composto de três possíveis mecanismos, o hidráulico (STRECK, 2004), o químico (PASSIOURA, 1988) e o elétrico (HAFKE et al., 2013), mas ainda hoje, tenta-se entender a relevância de cada um. O sinal hidráulico foi o mais extensivamente estudado, mas, apesar disto, ainda existe muita controvérsia sobre os resultados obtidos, devido ao uso dos métodos correntes.

Além das novidades que o uso da sonda magnética tem revelado sobre a dinâmica da dinâmica da água na planta, tem-se aventado a hipótese dela contribuir para avaliar possíveis erros metodológicos executados no passado (ZIMMERMANN et al, 2008). Desse modo, o emprego da sonda constitui-se numa técnica complementar para a avaliação da condição hídrica da folha.

Assim, objetivou-se com este trabalho determinar a capacidade das medidas de turgor pela sonda magnética de servir como base para avaliar o grau de déficit hídrico de plantas de milho, subsidiadas por medidas de potencial da água da folha, assimilação de CO₂ e condutância estomática.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Efeitos fisiológicos da falta de água em plantas

A disponibilidade hídrica no solo e as temperaturas extremas (frio ou calor em excesso) são os fatores ambientais mais limitantes para a produção vegetal. Elementos e fatores ambientais, como a temperatura e a umidade do ar, e o vento influenciam a transpiração na medida em que alteram o gradiente de vapor d'água entre a superfície das folhas e o ar. (ANGELOCCI, 2002).

O déficit hídrico afeta o metabolismo das plantas de várias maneiras, sendo o fechamento estomático e consequentemente a diminuição da condutância estomática um primeiro mecanismo de ação contra o estabelecimento do déficit (GOODGER; SCHATCHMAN, 2010), o que reduz a transpiração e previne a excessiva perda de água (COCHARD et al., 2002). Por outro lado, essa diminuição da abertura estomática prejudica a absorção de CO_2 e consequentemente a fotossíntese (LIU et al., 2005), afetando o crescimento da planta (CHAVES et al., 2008).

A elevação do déficit hídrico acarreta também mudanças no metabolismo fotossintético, promovendo uma inadequada regeneração da ribulose-1,5-bisfosfato (RuBP), inibição da rubisco e da rubisco ativase, todas presentes no mecanismo de absorção e utilização do CO_2 (LAWLOR; CORNIC, 2002). Um déficit severo leva à formação de espécies reativas de oxigênio, o que causa a fotoxidação das membranas lipoproteicas fotossintéticas e desorganização das membranas dos tilacóides. A diminuição da fotossíntese acarreta alteração na síntese de sacarose e amido, assim como ATP e NAD(P)H, fontes de energia armazenadas pela planta (YORDANOV et al., 2003).

Com uma quantidade baixa de água nos tecidos, o crescimento da planta fica prejudicado, já que tanto a multiplicação como o alongamento celular estão ligados intimamente com a turgescência das células. Plantas de girassol submetidas a déficit hídrico médio, com potencial da água ao redor de $-1,0$ MPa, começaram a apresentar diminuição do crescimento, quando comparadas a plantas bem hidratadas (NARDINI; SALLEO, 2005).

Em milho foi determinado que valores menores que $-0,4$ MPa afetavam a expansão foliar, entretanto, quando os valores atingiam entre $-0,6$ e $-0,8$ MPa, a fotossíntese era máxima (BOYER, 1970). Mas essa conexão entre turgor e

expansão foliar não é tão simples, já que existem outros mecanismos que afetam o crescimento, como por exemplo, a ação do ácido abscísico, auxinas e giberelinas (PASSIOURA, 1988).

O milho possui alta eficiência de uso da água, sendo relativamente tolerante, apresentando respostas que diferem de acordo com as fases de desenvolvimento da cultura (CAKIR, 2004). O milho sob déficit hídrico leve pode ser estimulado a um maior desenvolvimento de raízes em detrimento da parte aérea, melhorando assim a sua busca pela água (KORSAKOV et al., 2009).

Há redução desse crescimento quando o milho é submetido a longos períodos de seca (SHARP; DAVIES, 1979), pela diminuição da conversão da radiação em biomassa (OTEGUI et al., 1995), sendo que o período crítico ocorre na sua fase reprodutiva, principalmente durante o pendoamento e o espigamento (TOLLENAAR; LEE, 2011). O mesmo foi observado em plantas jovens de girassol submetidas a um pequeno déficit hídrico, mas com perdas expressivas de produtividade quando elas atingiam a fase de floração e frutificação (D'ANDRIA et al., 1995).

A medida do potencial da água é importante para a determinação do estado hídrico da planta, variando de valores próximos de zero, quando as plantas se apresentam sem déficit, a valores bem negativos, quando estas se apresentam em déficit severo (KRAMER; BOYER, 1995).

Do mesmo modo, o potencial da água das folhas flutua durante o dia, de acordo com a demanda evaporativa e a abertura estomática. Os maiores valores são encontrados no amanhecer, logo antes dos primeiros raios solares e os menores valores ao redor do meio dia (TARDIEU; SIMONNEAU, 1997). Porém, algumas plantas classificadas como isohídricas, grupo no qual o milho é incluído, promovem um fechamento progressivo dos estômatos durante o dia, balanceando o aumento da demanda evaporativa, fato que independe do status hídrico do solo.

Um dos fatores atribuídos a esse controle da condutância estomática é a concentração de ácido abscísico (ABA) xilemático que se mantém constante, principalmente durante a tarde (TARDIEU; SIMONNEAU, 1997). Uma das hipóteses existentes relata que durante o secamento do solo uma fonte de ácido abscísico (ABA) radicular chega às folhas, através do xilema, e regula a condutância estomática evitando a perda de água (ZHANG; DAVIES, 1989).

Outro fator a ser levado em consideração é a capacidade da planta em se recuperar de déficits durante seu ciclo. Esta capacidade de recuperação é determinante para uma maior tolerância a ciclos curtos de déficit. Plantas de milho submetidas a condições em que o potencial da água da folha variou de -1,2 a -1,5 MPa recuperaram a sua condição hídrica após o fechamento dos estômatos (BERGONCI et al., 2000).

Algumas plantas estudadas apresentam um mecanismo de tolerância a condições de déficit hídrico, denominado ajuste osmótico. Este mecanismo envolve a acumulação de solutos na célula em resposta a queda no potencial da água no ambiente celular. Como consequência, o potencial osmótico é diminuído, o que força a entrada de água nas células, mantendo a pressão de turgor (BABU et al., 1999). Esta acumulação pode ser passiva, conforme ocorre a desidratação da célula, ou ativa, a qual se caracteriza exclusivamente de ajuste osmótico (PATAKAS et al., 2002).

Existem diversas linhas de pesquisa indicando três componentes principais para esta sinalização do estresse: um componente químico (PASSIOURA, 1988), um componente hidráulico (STRECK, 2004) e por último e mais recente, um componente elétrico (FELLE; ZIMMERMANN, 2007).

Nos últimos anos, tem aumentado o número de trabalhos com o propósito de identificar os componentes responsáveis pela sinalização raiz-folha. O principal agente tido como o mais provável sinalizador químico, o ácido abscísico (ABA), tem sido bastante estudado (KIM et al., 2012).

Há 50 anos o fechamento estomático era tido como um mecanismo efetivo ao aumento da resistência ao fluxo de água para fora da planta e que o potencial da água na folha sempre seria menor quanto maior o déficit hídrico no solo (STRECK, 2004). Assim desenvolveu-se a ideia de que um sinal hidráulico nas folhas era o mecanismo que causava fechamento estomático em resposta ao secamento do solo (STRECK, 2004).

Muitos estudos mostram que esse decréscimo da abertura estomática precede mudanças no potencial da água na folha, assim em estágios iniciais de estresse hídrico, parece que as folhas respondem a um sinal químico, em vez do hidráulico, transportado no xilema desde as raízes (GOODGER; SCHATCHMAN, 2010).

A teoria de que a planta, o solo e a atmosfera estão interligados e formam um contínuo é verdadeira e pode ser quantificada através de medidas diretas e/ou indiretas em cada um deles (BEN-GAL et al., 2010). O monitoramento do status hídrico com base na própria planta pode envolver medidas diretas de respostas fisiológicas ou apenas medir mudanças de processos secundários indiretamente afetados pelo status hídrico, como por exemplo, o crescimento (BEN-GAL et al., 2010).

Para se medir o potencial da água de plantas os métodos disponíveis mais utilizados são o da câmara de pressão (SCHOLANDER et al., 1965), e o de equilíbrio de vapor entre a amostra e a atmosfera da câmara em que ela é inserida, determinando-se o valor de potencial pela relação deste com a pressão de vapor em equilíbrio, pelo uso ou da técnica psicrométrica ou da higrométrica (BAUGHN; TANNER, 1976). Porém, Zimmermann (1995) contesta estas metodologias por vários motivos: os valores extremamente negativos de pressão no xilema medido de modo indireto e deste modo à teoria da coesão-tensão amplamente aceita pela comunidade científica, explicando toda a movimentação de água pela planta.

Tais métodos são invasivos e as medidas demandam muito tempo (principalmente no caso dos métodos psicrométrico e higrométrico); não são passíveis de automatização; o número de folhas necessário para uma boa análise é elevado, devido à variabilidade do potencial da água entre folhas é elevado. Além disso, a validade destes métodos nunca foi demonstrada em modelos apropriados e independentes (ZIMMERMANN, 1995; WESTHOFF et al., 2009;).

Várias outras técnicas para caracterizar o déficit hídrico das plantas foram testadas por Balling e Zimmermann (1990) para medição da pressão xilemática, também estudadas por Melcher et al. (1998) e Wei et al. (2001) mas que apresentam ressalvas quanto aos resultados finais, dado a dificuldade operacional principalmente ao se manusear uma micropipeta componente da sonda em um vaso tão fino quanto o xilema. Outra técnica para caracterizar o grau de déficit hídrico, não invasiva e que permite automação das medidas é a detecção de microvariações do caule ou tronco, que apresenta como problema a interpretação dos valores e a representatividade das próprias medidas (Ortuño et al., 2004).

Zimmermann et al. (2008) propõem um novo método para medida de turgor celular, a chamada sonda magnética. Ela é altamente sensível, versátil, fácil

de manusear, apresentando resultados imediatos. São resultados dos efeitos da transpiração e/ou regimes de irrigação, de acordo com as relações hídricas na folha.

A sonda surge como mais uma ferramenta para auxiliar as medidas das condições hídricas da folha. Em Bramley et al. (2013) ela é utilizada para determinar a resistência a seca de um genótipo de trigo, substituindo as medidas destrutivas e outras técnicas mais antigas como o uso de câmeras de infravermelho (método utilizado para a seleção de genótipos mais resistentes a perda de água). Medidas comparativas dos resultados obtidos com a câmara de pressão e a sonda magnética, mostram que os valores de pressão relativa ou resultante (P_p) gerados pela sonda podem ser utilizados conjuntamente com outros métodos de determinação de potencial da água para um resultado mais detalhado das variações hídricas da folha, com a vantagem das medidas da sonda não serem destrutivas e poderem ser disponibilizadas *online* (FERNANDÉZ et al., 2011).

Deste modo, medidas de turgor foliar em tempo real abrem novas possibilidades, já que com diversas sondas pode-se fazer um mapeamento hídrico entre as folhas, raízes e atmosfera. Assim, toda a dinâmica da água na planta pode ser detalhada, aproximando-se dos valores reais (ZIMMERMANN et al., 2008).

2.2 Sonda magnética de turgor foliar

Esta sonda é caracterizada por alta precisão, operacionalidade conveniente, custos mínimos e adequação da automação. Os dados podem ser transferidos via *wireless* a um computador pessoal ou a um servidor de internet via serviços telefônicos para avaliação em tempo real. A tecnologia inclui um sensor de pressão em miniatura de silicone integrado a duas peças de metal, onde uma delas possui um ímã que permite um aperto constante das duas sobre o limbo da folha. A magnitude da função de transferência depende de dois termos, um independente de turgor (relacionado com a compressão da cutícula, paredes celulares e outros elementos estruturais) e um outro dependente do turgor (ZIMMERMANN et al., 2008).

A teoria mostra que a pressão dependente do turgor é parte da função de transferência T_f , da pressão de turgor da célula da folha, P_c , e prevê que T_f assumirá valores próximos a zero se P_c é alto e vice versa, valores próximos a esta unidade se P_c é baixo.

Os dados também demonstraram que mudanças no regime de irrigação e no microclima podem ser detectados pela sonda, e o uso de várias delas permite estudar o transporte diurno de água em múltiplas escalas, desde folhas únicas até o organismo todo (ZIMMERMANN et al., 2008).

O *Zim-clamping* é um equipamento de utilização conjunta com as sondas, desenvolvido para ajustar a pressão inicial do equipamento sobre a folha, com base em experimentos realizados durante o desenvolvimento do equipamento. O equipamento é ligado nas sondas e após ajustada essa pressão, pode se iniciar as medidas após a estabilização das medidas. Assim é possível realizar uma calibração da pressão de aperto inicial, sendo que o valor de referência é 30 kPa.

Após a instalação e verificação das sondas, elas são ligadas ao sistema de transmissão para o começo das leituras. Essa pressão de aperto pode ser ajustada por uma rosca existente na parte superior da sonda, que em algumas situações de folhas sensíveis ao aperto como a *Arabidopsis thaliana*, se torna necessário.

A remoção das sondas para inspeção após dois meses de medidas mostra pequenas marcas, mas nenhuma lesão. Quando deixadas por mais de três meses, esta área começa a ficar amarelada, indicando um decréscimo no conteúdo de clorofila, mas sem nenhuma mudança anatômica, decorrente da falta de exposição ao ambiente (ZIMMERMANN et al., 2010).

O princípio básico da sonda magnética, também chamada de *leaf patch clamp pressure probe* (LPCP), é a de que uma área relativamente pequena da folha é um contato hidráulico com o ambiente e usado como elemento sensível a mudanças de pressão de turgor nas áreas adjacentes não cobertas de tecido vegetal. O diagrama esquemático do princípio de funcionamento da sonda é mostrado na Figura 1 (ZIMMERMANN et al., 2010).

Figura 1 - Diagrama esquemático do princípio da sonda magnética (*Leaf Patch Clamp Pressure Probe*), (P_{clamp} : pressão exercida pelos ímãs, T_f : turgor foliar, P_p : pressão resultante da interação da sonda com as folhas) (ZIMMERMANN et al., 2010)

O fato de a área de folha amostrada pela sonda ser a menor possível garante a troca de solutos e produtos fotossintéticos entre o tecido que está sob a sonda e o não coberto, evitando danos celulares (ZIMMERMANN et al., 2010).

A turgescência da folha é determinada medindo a função da transferência de pressão na sonda, isto é, através da medida de pressão de saída no pedaço de folha (P_p), durante a aplicação de uma pressão de aperto constante P_{clamp} (até 250 kPa), este pode ser gerado tanto por uma mola como por um ímã. Uma análise detalhada tem mostrado (ZIMMERMANN et al., 2008) que P_p é uma função de potência da pressão de turgor celular (P_c):

$$P_p = \left(\frac{b}{aP_c + b} \right)^{\frac{1}{a}} \cdot F_a \cdot P_{clamp} \quad (1)$$

onde a e b são constantes e iguais ou maiores que um, F_a é um fator de atenuação da pressão específica da folha, dependente da compressibilidade do sensor de silicone e elementos estruturais da folha, como a presença de cutícula e as paredes celulares.

Medições tem mostrado que F_a pode ser assumido constante por no máximo três meses. A equação (1) mostra que P_p e P_c são inversamente proporcionais. O uso de metal na construção da sonda permite dissipação mais rápida de calor do que no plástico, assim os efeitos da temperatura no sensor ou na folha são excluídos (ZIMMERMANN et al., 2010; RÜGER et al., 2010).

2.3 Pesquisas recentes utilizando a sonda de turgor

Resultados de pesquisa demonstraram que a sonda (LPCP) é precisa, não invasiva e uma técnica robusta para monitoramento *online* de mudanças no status hídrico de folhas de banana, oliveira, citros, carvalho, videiras entre outras, durante vários meses (FERNANDÉZ et al., 2011).

Em oliveiras, as medidas revelaram pressões (P_p) entre 75 kPa e 15 kPa em plantas sob condições normais de irrigação e 180 kPa e 30 kPa onde a irrigação era deficiente (EHRENBERGER et al., 2011). Além disso, mudanças na condição de iluminação (dia/noite) favoreciam essas alterações.

Foram observados indicadores promissores na detecção de déficit hídrico utilizando as sondas, que são: a elevação dos picos P_p ao meio dia, aumento do tempo de recuperação da pressão de turgor durante a tarde e o aumento dos valores de P_p a noite (ZIMMERMANN et al., 2010). Plantas de oliveira submetidas a condições de limitação de água apresentaram estes indicadores (FERNADÉZ et al., 2011) e valores similares a outras metodologias adotadas foram obtidos (BEN-GAL et al., 2010).

Em plantas de videira sob condições de déficit hídrico, a turgescência da folha foi maior durante a noite e decresceu ao longo do dia, com seu pico máximo ao meio dia, condição que apenas confirmou a eficácia das medições (RÜGER et al., 2010). Estas responderam ao déficit de água severo em decorrência de oscilações na condutância estomática e assim em P_p . Isto foi observado com tal regularidade após quatro dias sem irrigação.

Além disso, usando a sonda, concluiu-se que os tratamentos de irrigação dado as plantas pelos agricultores não eram ótimos, e deste modo, permitiu-se uma melhor adequação dos regimes de irrigação para a produção máxima (RÜGER et al., 2010).

Ehrenberger et al. (2012), trabalhando com carvalho europeu (*Quercus robur* L.) mostrou que a incidência da radiação solar modifica drasticamente os

níveis da turgescência da folha e a espessura do caule (medidas dendrométricas). Tais respostas são instantâneas e variam de acordo com a variação na incidência de luz solar. Porém, em caules as variações não são instantâneas, já que deve existir algum mecanismo que limita a ligação da água entre as folhas e os tecidos de estocagem de água nos ramos.

Ache et al. (2010) utilizando a sonda de turgor, foram capazes de captar a mudança na pressão causada pela modificação na condutância estomática em resposta a estímulos como luz, concentração de CO₂, temperatura e umidade. As medidas de pressão foliar dadas pela sonda foram proporcionais à transpiração, mesmo quando aplicadas substâncias capazes de inibir a mesma, como ozônio e DCMU e o próprio ABA.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Material Vegetal

Foram utilizadas sementes de milho (cultivar AG5055) fornecidas pelo Laboratório de Sementes da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” (ESALQ). As sementes foram germinadas em câmara de germinação (BOD), em papel *germitest* e transplantadas para os vasos de 5 litros, preenchidos com terra argilosa e substrato orgânico na proporção de mistura peneirada (60:40 v/v).

As plantas foram adubadas semanalmente com solução nutritiva de Hoagland com adição de micronutrientes, para condições ótimas de crescimento e cultivadas na casa de vegetação do Laboratório de Estudos de Plantas sob Estresse – LEPSE/ESALQ.

3.2 Condições de déficit hídrico

Após um período de crescimento de aproximadamente um mês e meio, as plantas foram submetidas à condição de déficit hídrico, sendo esta avaliada pelas medidas da sonda de turgor, potencial da água, além da observação do enrolamento das folhas (CARLESSO, 1997; MOULIA, 2000).

As sondas foram instaladas após a total expansão da 5ª folha. Foram realizados dois tratamentos:

- 1- Plantas em condição hidratada (controle)
- 2- Plantas em déficit hídrico controlado

O volume de irrigação foi realizado com base em teste preliminar, sendo o volume médio necessário para atingir a capacidade de campo para cada vaso, de 1 litro de água. Este valor foi assumido como valor-base para a irrigação das plantas.

Para a manutenção das plantas sob condição hidratada, a irrigação foi realizada diariamente. As plantas submetidas a déficit hídrico foram monitoradas da mesma maneira e a irrigação foi realizada somente quando o potencial da água na planta atingia valores abaixo de $-1,5$ MPa e concomitante estabilidade nos valores de Pp diários (observação com base nos dias anteriores)

Em cada tratamento foi instalada uma sonda para acompanhar o status hídrico da planta. Durante 31 dias as sondas ficaram instaladas realizando-se medidas ininterruptamente, sempre revelando mudanças em Pp (pressão resultante)

que sinaliza o inverso do turgor foliar. A análise de potencial da água, trocas gasosas e biometrias foram realizadas três vezes por semana, com plantas do mesmo tratamento, a fim de se correlacionar as medidas.

Após cada reidratação das plantas sob déficit hídrico, foram realizadas as mesmas medições, a fim de verificar a recuperação das plantas. Cada dia de experimento consistiu as repetições dos tratamentos, ou seja, os blocos do delineamento estatístico. Foram analisadas quatro plantas a cada amostragem.

3.3 Análises fisiológicas

Determinação do turgor foliar

As plantas foram submetidas a análises de turgescência através da sonda magnética, conjuntamente com os pesquisadores do *Zim Plant Technology*, situado em Berlim. O esquema geral dos componentes do sistema de medidas é mostrado na Figura 2.

Figura 2 - Esquema do fluxo de medidas de turgor das folhas, incluindo os componentes de transmissão de sinais e de recepção dos dados em equipamento eletrônico do usuário (Zim-Plant- technology.com, 2013)

As sondas foram instaladas no limbo foliar tomando cuidado para evitar tanto a nervura central como aquelas mais salientes, além de evitar a proximidade da borda. Para não danificar os sensores de silicone, as folhas foram limpas e secas, tendo sido as plantas escoradas com auxílio de varetas de bambu, para impedir movimentação excessiva da sonda e danos aos fios de conexão dos ímãs ao

transmissor (Figura 3). Com o aparelho *ZIM-clamping*, pôde-se encontrar a pressão ótima de “aperto” e também testar a função apropriada da sonda fixada à folha.

Figura 3 - Sondas de turgor instaladas sobre as folhas nos dois tratamentos (A: com déficit e B: sem déficit)

Após fixadas nas folhas e corrigida a pressão de aperto, as sondas foram conectadas aos transmissores *wireless* que enviaram os resultados de pressão até o equipamento central (*data center*) (Figura 2). Os detalhes do equipamento e sua utilização correta são descritos em Zimmermann et al. (2008).

As plantas foram submetidas a um total de cinco ciclos de estresse e cinco irrigações. Deste modo, foi possível obter a dinâmica de cada ciclo e do ciclo total (24 de abril a 27 de maio de 2013) para ambos os tratamentos.

A utilização da sonda deve ser ininterrupta, ou seja, existe a necessidade de que se evite sua substituição durante a sequência de um turno de medidas, já que a cada recolocação há uma variação grande da pressão inicial de aperto, o que ocasiona um erro na avaliação dos dados. Ocorrendo isto, existe a necessidade de se analisar separadamente os períodos.

Neste experimento houve a necessidade de troca das folhas amostradas, devido a sua senescência em decorrência do déficit. Para tanto, as avaliações com a sonda foram divididas em dois períodos distintos em ambos os tratamentos. No primeiro período não houve déficit hídrico significativo e no segundo foi visível a influência do déficit hídrico.

Potencial da água da folha

Para a determinação do potencial da água da folha, foi utilizado o método de equilíbrio de pressão de vapor com emprego da técnica higrométrica, utilizando um microvoltímetro modelo HR-33T (Wescor, Logan, UT, USA) acoplado a câmaras Wescor C52 e a leitura foi corrigida de acordo com o π_v de cada câmara. Na transformação do sinal das câmaras para potencial da água foi utilizada uma constante de calibragem fixa de 7,5 $\mu\text{V}/\text{MPa}$.

As análises foram realizadas três vezes por semana e nos dias onde foi realizada a reidratação (24/04, 29/04, 06/05, 13/05 e 21/05) com o objetivo de se verificar uma possível correlação com as medidas da sonda. Em cada dia de análise, uma planta de cada tratamento foi selecionada para a determinação de seu potencial da água foliar, para comparação com as outras duas em que a sonda foi instalada.

As medidas de potencial da água tinham início às 7:00 h, sendo feita outra coleta às 7:30 h (repetição). Estes horários foram escolhidos com base no ambiente interno da estufa quanto à demanda atmosférica nos períodos de medidas (baixa irradiância direta e dias com ocorrência de nevoeiro nas primeiras horas da manhã). Outras amostragens foram realizadas às 12:30 h, 13:00 h, 16:00 h e 16:30 h. As plantas foram levadas ao laboratório e coletados dois discos foliares de 5 mm de diâmetro da 5ª folha totalmente expandida) de cada tratamento, sendo um de cada planta do tratamento. Os discos foram inseridos nas câmaras C52 e após o período de estabilização, que consistiu do tempo para que o potencial da água se equilibrasse com a atmosfera da câmara higrométrica, foi realizada a medida. Com base em testes preliminares, o tempo adotado para equilíbrio da amostra, em diferentes condições de turgor, foi de 30 minutos.

Fotossíntese e condutância estomática

As medições foram realizadas com auxílio do analisador de gás por infravermelho (IRGA, modelo LI-6400XT, LI-COR, Lincoln, EUA). Foram obtidas as taxas de assimilação de CO_2 (assimilação líquida) (A , $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) e condutância estomática (g_s , $\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$). As medições foram realizadas em casa de vegetação, utilizando o valor de radiação solar externa como referência, ou seja, quando a radiação do equipamento no momento da medida se igualava a radiação

solar incidente dentro da casa de vegetação; esta se manteve em torno de $900 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. As medidas de fotossíntese e condutância estomática ocorreram nos mesmos dias onde houveram medições de potencial da água, porém no horário onde a fotossíntese é maior, entre as 10:00 e 12:00 h, repetidas 4 vezes nas mesmas plantas onde as sondas foram instaladas.

Foi utilizado um galão de volume conhecido com a função de amortecimento da variação da concentração de CO_2 no ar. As condições de medida se aproximaram das condições ambientais dentro da casa de vegetação, no intuito de se obter a relação da planta com o ambiente. Nas medições foram utilizadas a 5ª folha expandida, sendo a folha completamente expandida àquela que possui aurícula visível.

Avaliações ambientais e biométricas

Durante a medida de turgescência, foram medidas a temperatura e a umidade relativa do ar do local, através das sondas de temperatura e umidade da Zim Plant Technology.

Foram realizadas análises biométricas ao final de cada dia de medida que consistiram de: área foliar, altura das plantas e massa seca, para cada tratamento.

As medidas de área foliar foram realizadas por. medidor de área foliar (LI-3100C Area Meter, LI-COR). Após as medidas da área as plantas foram pesadas e colocadas em estufa para a secagem a $62,5^\circ \text{C}$ até massa constante e pesadas novamente para a obtenção da massa seca da parte aérea.

3.4 Análise estatística

O delineamento experimental utilizado foi em blocos casualizados no esquema fatorial 2×2 , onde as repetições são os dias de experimento. Os fatores envolvidos no experimento são as metodologias (convencional e sonda magnética) e os manejos da condição hídrica (plantas hidratadas e submetidas a déficit hídrico). Foi realizado o teste F da análise de variância e o teste de Tukey para comparação das médias, ambos ao nível de 5% de significância. Foram realizados testes de paralelismo (comparação das relações ajustadas para diferentes situações, esperando-se encontrar um padrão), para as análises biométricas.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise de variância mostrou que houve diferença estatística entre os tratamentos, para as variáveis Pp (pressão resultante), potencial da água (Ψ), taxa fotossintética líquida (A) e condutância estomática (g_s) (Tabela 1).

Tabela 1 - Teste de comparação de médias entre os tratamentos com e sem déficit, para as variáveis Pp (kPa), Ψ (MPa), A ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2}\text{s}^{-1}$) e g_s ($\text{mol H}_2\text{O m}^{-2}\text{s}^{-1}$).

Tratamento	Pp (kPa)	Ψ (MPa)	A ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2}\text{s}^{-1}$)	g_s ($\text{mol H}_2\text{O m}^{-2}\text{s}^{-1}$)
Com déficit	31,72 a	-1,39 a	22,45 a	0,14 a
Sem déficit	19,70 b	-1,08 b	18,04 b	0,10 b

* Médias seguidas por letras diferentes na coluna diferem estatisticamente a 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey. O teste foi realizado utilizando todo o período de análise, sendo 31 dias para a variável Pp e 17 dias para Ψ , A e g_s . Para Pp foi utilizada a média diária dos valores obtidos

As amplitudes das curvas apresentaram-se aproximadamente constantes ao longo do tempo nas plantas sem déficit hídrico no primeiro período (Figura 4). No segundo período, nos dias 17, 22 e 25 de maio (Figura 5) houve diminuição da amplitude das curvas devido às variações de temperatura e umidade relativa do ar, já que a temperatura foi bem mais baixa que nos outros dias (valor médio de 20° C) e a umidade relativa ligeiramente maior (valor médio de 70%), com diminuição dos valores máximos de Pp.

Figura 4 – **A** - Variação temporal de P_p , **B** - de $P_{p\max}$ e $P_{p\min}$ e **C** - da temperatura (T) e da umidade relativa do ar ($R.H.$) durante o primeiro período de análise em planta de milho sem déficit hídrico. As barras brancas se referem ao período diurno e as escuras se referem ao período noturno

Figura 5 - **A** - Variação temporal de P_p , **B** - de $P_{p\max}$ e $P_{p\min}$ e **C** - da temperatura (T) e da umidade relativa do ar ($R.H.$) durante o segundo período de análise em planta de milho sem déficit hídrico. As barras brancas se referem ao período diurno e as escuras se referem ao período noturno

Nas plantas sem déficit hídrico, não houve acréscimo significativo dos valores máximos de Pp, que geralmente ocorreram próximos do meio dia, porém, para os valores mínimos, que ocorreram durante a madrugada, houve uma diminuição gradual. Como as plantas foram adubadas com solução de Hoagland, sendo a fonte de nitrogênio de origem amoniacal, tal fonte pode ter ocasionado uma elevação na turgescência da planta, já que em outro experimento realizado onde a fonte de nitrogênio foi o nitrato, não houve tal modificação (dados não mostrados). Esta elevação do turgor foi mais pronunciada a noite, já que neste período a evapotranspiração é pequena. Houve pequenas variações pontuais no Pp máximo em ambos os períodos, mas pode-se notar claramente que isso ocorreu devido ao efeito ambiental nesses dias.

Nas plantas submetidas a déficit hídrico houve um acréscimo gradual de Pp diário após cada irrigação (Figuras 6 e 7). Quando o Pp foi máximo observou-se que as plantas apresentaram potencial da água muito negativo, assim como fotossíntese nula (Figuras 8; ver, também, Figura 14, pg. 42). Com o passar dos dias, observou-se que houve um acréscimo gradativo de Pp máximo após a primeira irrigação (dia 24 de abril) e de diminuição de Pp mínimo, mas após a segunda irrigação (29 de abril) os valores máximos de Pp mostraram tendência de diminuição (portanto inversa ao período entre entr 24 e 29 de abril) até o dia 06 de maio, quando a sonda foi reinstalada em outra folha.

Assim como verificado em outros trabalhos (ZIMMERMANN et al., 2008, 2010; EHRENBARGER et al., 2012), existem alguns indicativos a serem utilizados para a avaliação de déficit hídrico utilizando a sonda, como: elevação dos picos de Pp ao meio dia (quando esse acréscimo se torna máximo, passa a ser denominado de pico de Pp ou Pp max, aumento dos valores de Pp noturno (acrécimo nos valores mínimos) e o tempo de recuperação de Pp entre os valores máximos e mínimos.

Dessa forma, pode-se assumir. que a elevação gradual e diária dos picos seja uma condição na qual o grau de déficit está aumentando, até atingir valores extremos e a partir daí, a planta vai perdendo a capacidade de recuperação tanto noturna como diurna. Porém, a diminuição dos valores máximos de Pp após a irrigação de 29 de abril somente tendeu a aumentar a partir de 11 de maio (Figuras 6 e 7), ou seja, o período para entrada em déficit foi mais longo do que no período anterior (entre a primeira e a segunda irrigação) .

Neste trabalho, porém foi possível observar apenas o acréscimo nos valores máximos de P_p (P_p máx), lembrando que quanto maior P_p menor o turgor e assim houve uma perda da habilidade de manutenção de turgor com a elevação do déficit, facilmente constatada pela presença de enrolamento foliar e murcha nos horários mais quentes do dia (Figura 9).

Figura 6 - **A** - Variação temporal de P_p , **B** - de P_p max e P_p mín e **C** - da temperatura (T) e da umidade relativa do ar (R.H.) durante o primeiro período de análise em planta de milho sob déficit hídrico. As barras brancas se referem ao período diurno e as escuras se referem ao período noturno

A partir do dia 6 de maio, o sensor foi colocado em outra folha, devido a senescência da anterior. Esta mudança provocou uma alteração em P_p , devido a uma da variação natural de cada folha. Dessa forma, vale ressaltar que as medições com as sondas de turgor devem levar em conta a variação temporal de cada folha e não os valores absolutos encontrados (ZIMMERMANN et al., 2010).

Nos três últimos ciclos de estresse entre (7 e 27 de maio), foi possível observar uma variação maior de P_p (Figura 7). No período entre os dias 9 e 13 de maio, houve uma elevação de P_p em função da intensidade do déficit e uma redução de P_p após a irrigação feita nesse último dia citado (Figura 8). As linhas diagonais presentes nessa figura correspondem exatamente à elevação do déficit e a diminuição após a irrigação. No dia 12 de maio o P_p atingiu o valor máximo de 45

kPa, mas após o dia 13 de maio foi realizada uma irrigação a qual a planta respondeu rapidamente, havendo o decréscimo de P_p a 30 kPa no dia seguinte..

Figura 7 - **A** - Variação temporal de P_p , **B** - de $P_{p\max}$ e $P_{p\min}$ e **C** - da temperatura (T) e da umidade relativa do ar (R.H.) durante o segundo período de análise em planta de milho sob déficit hídrico. As barras brancas se referem ao período diurno e as escuras se referem ao período noturno. As sondas foram inseridas na folha V5, em plantas cultivadas em casa de vegetação

Alguns autores observaram que plantas sob estresse hídrico tendem a perder a capacidade de recuperação do turgor, principalmente após o pôr do sol, com o acréscimo do déficit hídrico. Estes valores são reestabelecidos após a irrigação (BEN-GAL et al., 2010; BRAMLEY et al., 2013).

Para explicar o decréscimo gradativo de $P_{p\min}$ após cada irrigação (Figuras 6 e 7) é possível aventar algumas possibilidades, como: um reflexo da recuperação limitada da turgescência da planta, aumento da tolerância da planta ao déficit hídrico a cada ciclo, recuperando-se e mantendo-se mais hidratada, a presença de células buliformes e de presença de cavitação.

Figura 8 - A – Análise detalhada da variação temporal de P_p e **B** - da temperatura (T) e da umidade relativa do ar (R.H.) entre os dias 9 a 16 de maio em planta de milho sob déficit hídrico. As barras brancas se referem ao período diurno e as escuras se referem ao período noturno

Plantas da família Poaceae, da qual o milho faz parte, possuem algumas estratégias para resistir ao déficit hídrico. Uma delas é a presença de um conjunto de células motoras denominadas células buliformes que estão presentes na face adaxial das folhas, dispostas em fileiras longitudinais, paralelas às nervuras, podendo estar agrupadas em uma seção transversal de 2 a 8 células. Essas células promovem o enrolamento das folhas em condições de perda excessiva de água, diminuindo sua área específica e formando uma espiral (EVERT, 2006).

Foi observado que a maioria das plantas do tratamento sob déficit hídrico já apresentava esta condição de enrolamento após dois dias da irrigação, principalmente durante os horários mais quentes do dia (Figura 9). Assim, tanto o potencial da água como P_p não tiveram decréscimo elevado no período em que as folhas se apresentavam enroladas.

Durante o enrolamento das folhas, com o decréscimo da condutância estomática, pode ocorrer uma mudança no status hídrico delas, causando a falsa impressão de que as plantas estejam mais adaptadas a esta condição de déficit, pela elevação do turgor. Além disso, durante o enrolamento do limbo, pode ocorrer

uma movimentação dos imãs, o que pode ter influenciado as medidas de Pp, alterando a amplitude das curvas durante este período. Porém são necessários mais estudos para mostrar a real influência disto na variação de Pp.

Figura 9 – Plantas de milho do tratamento de déficit hídrico com folhas enroladas no dia 13 de maio. Dia de déficit hídrico máximo, no qual então fez-se a irrigação

Do mesmo modo, a diminuição do potencial da água para valores muito negativos facilita a ocorrência de cavitação (ZIMMERMANN et al., 1995, 2004), que consiste na quebra da continuidade da coluna de água no interior do xilema, com consequente formação de bolhas de ar que dificultam ou impedem a ascensão da água no interior deste tecido. Com o aumento do estresse, principalmente nos dois últimos ciclos, o potencial da água decresceu para valores próximos a $-2,5$ MPa (Figura 10), o que facilitaria a ocorrência da cavitação. Um detalhamento dos valores de potencial da água foliar em cada horário de medida durante o quarto ciclo de déficit, para os tratamentos com e sem déficit, pode ser visto na Figura 11.

Figura 10 – Variação diária média do potencial da água foliar durante os 5 ciclos (C1 a C5) de déficit e reidratação em plantas de milho, para os tratamentos com déficit e sem déficit

Figura 11 - Variação diária do potencial da água foliar para cada horário de medida, durante o 4º ciclo (C4) de imposição de déficit hídrico em plantas de milho, para os tratamentos com e sem déficit

Com a entrada de ar no xilema das folhas, há uma diminuição na capacidade de resposta da planta às variações ambientais. Deste modo, a sonda interpreta este sinal como se a planta estivesse mantendo o turgor em níveis elevados. Porém com as análises de potencial da água e mesmo visual é possível observar uma situação antagônica, ou seja, a planta estava sofrendo os efeitos da seca. Deste modo, haveria a possibilidade das plantas, ao invés de estarem mais adaptadas ao estresse, estarem sofrendo cavitação nos seus xilemas.

Este processo foi confirmado por Kaufmann et al. (2009) em milho sob condições de estresse, onde foi verificado aumento do número de cavitações com a elevação do tempo de estresse. Os vasos se tornam funcionais seis horas após a irrigação. Deste modo, a presença dessas bolhas de ar poderia influenciar o resultado obtido pela sonda em condições de déficit severo, simulando uma adaptação da planta ao estresse. De qualquer forma, são resultados que necessitam de estudos mais aprofundados, para se entender até que ponto eles modificam o turgor foliar e influenciam na resposta da sonda.

Durante o quarto ciclo de déficit (entre os dias 13 e 20 de maio) (Figuras 10 e 11), o mínimo potencial da água alcançado foi próximo a -2,5 MPa, mas logo após a irrigação, a planta se recuperou rapidamente, apresentando fotossíntese máxima dois dias após (Figura 14), com valores próximos ou superiores ao controle. As plantas nas quais não foi aplicado o déficit hídrico apresentaram valores entre -1,0 a -1,5 MPa, apenas em decorrência da alta demanda evaporativa da atmosfera, principalmente se observarmos a temperatura e umidade de cada dia (Figuras 4 a 7). Fato parecido foi descrito anteriormente por Kramer e Boyer (1995).

Esses valores se mantiveram relativamente constantes ao longo de todo período experimental, apresentando-se menos negativos nas medidas próximas ao amanhecer.

O potencial da água foliar médio diário no experimento sofreu flutuação ao longo dos dias, porém houve diferença mais acentuada entre os tratamentos a partir de 13 de maio (Figura 10). Entretanto, pode-se observar nas Figuras 11, 12 e 13 que para períodos nos quais o déficit hídrico se mostrou mais acentuado, não houve uma variação marcante nos tratamentos sem déficit. Nos tratamentos com déficit a variação ao longo do dia acentuou-se a partir do dia 17 de maio. Este comportamento observado em algumas plantas, como as C4, é denominado isohídrico (TARDIEU; SIMONNEAU, 1998), onde a variação diária do potencial da

água é pequena, auxiliada por um controle estomático eficiente, que impede a perda excessiva de água. No dia 21 de maio, logo após a irrigação, houve o aumento do potencial da água rapidamente, que se manteve constante durante o resto do dia (Figura 13).

Figura 12 – Variação do potencial da água no dia 17 de maio em plantas de milho submetidas ao tratamento com e sem déficit hídrico

Figura 13 - Variação do potencial da água no dia 21 de maio em plantas de milho submetidas ao tratamento com e sem déficit hídrico. A irrigação ocorreu neste dia, logo antes da primeira retirada de amostra para determinação do potencial da água

A diminuição do potencial da água demonstra uma resposta da planta principalmente à diminuição do potencial de pressão celular. Assim como o observado por Bianchi et al. (2005), esta queda de potencial pode não afetar o crescimento da planta, dependendo da intensidade do déficit hídrico. Além disso, a planta pode desenvolver um mecanismo de ajuste osmótico, que permite um

crescimento celular e atividade estomática mesmo em potenciais hídricos foliares bem negativos (BABU et al., 1999). Esta seria, também, uma explicação plausível para o aumento de turgor foliar, medido pelas sondas, nas plantas sob déficit hídrico. Porém mais análises seriam necessárias para confirmar essa hipótese de ajuste osmótico.

A manutenção de um potencial da água relativamente constante ao longo do dia pôde ser observada quando a planta é submetida a condições de déficit severo, mas os menores valores de potencial normalmente ocorrem entre 13 e 16 horas, como observados por Vieira-Junior et al. (2007) e Martins et al. (2010), e como ocorreu no presente trabalho (ver Figura 12). Isso ocorreu devido ao aumento do déficit de pressão de vapor do ar, ocasionado principalmente pela temperatura do ar estar mais elevada (Figuras 4 a 7) neste período do dia.

Durante o período de análise, observou-se uma variação na fotossíntese (Figura 14). A resposta mais comum ao déficit hídrico é o fechamento estomático, que provoca reduções na taxa de fotossíntese, pois reduz a disponibilidade de CO₂ nos sítios de carboxilação (SANTOS et al., 2009). Nos dias em que o déficit foi máximo, também houve uma queda drástica na fotossíntese.

Conforme a planta foi sendo submetida ao déficit hídrico e posterior irrigação, a mesma apresentou-se mais resistente, já que após a irrigação, esta apresentou uma fotossíntese superior ao período de déficit anterior (Figura 14). Este tempo de recuperação da fotossíntese máxima foi em geral de um dia apenas. De alguma forma, estas plantas melhoraram seu desempenho, o que mostra a sua capacidade de recuperação, assim como o ocorrido em Pp (Figuras 6 e 7).

O milho apresenta decréscimo da fotossíntese sob deficiência hídrica moderada, principalmente devido à diminuição da condutância estomática, mas sob déficit severo, limitações bioquímicas começam a ocorrer, causando danos muitas vezes irreversíveis (GRZESIAK et al., 2007). Estudos conduzidos em soja e feijão caupi (BERTOLLI et al., 2012) também mostram que a capacidade de recuperação da atividade fotossintética de cada planta depende de sua sensibilidade, presença e localização de estômatos e bioquímica fotossintética, variando em grau e tempo de recuperação. Isso se deve pela extensão dos danos causados aos fotossistemas.

Figura 14 – Variação da assimilação de CO₂ durante os 5 ciclos (C1 a C5) de déficit e reidratação em plantas de milho, para os tratamentos com déficit e sem déficit

Existem relatos de que um déficit hídrico prévio em determinadas fases do desenvolvimento podem causar uma resistência da planta em fases posteriores, ocorrendo o mesmo com a fotossíntese (RIBEIRO et al., 2008). Deste modo, pôde-se concluir que as plantas quando submetidas aos ciclos contínuos de estresse, podem ter desenvolvido tal capacidade de recuperação e pouco tempo após a diminuição drástica do potencial da água, a fotossíntese se apresentava máxima.

Do mesmo modo, a condutância estomática das plantas apresentou uma variação ao longo dos dias de análise (Figura 15), com valores próximos de zero nos dias de déficit máximo. Neste caso, além da diminuição da condutância, o enrolamento foliar foi mais uma estratégia da planta para a manutenção da água em seus tecidos .. Segundo Jones (1985), o fechamento estomático pode ocorrer dentro de uma larga faixa de potencial da água na folha, sendo dependente da espécie.

Figura 15 – Variação da condutância estomática durante os 5 ciclos (C1 a C5) de déficit e reidratação em plantas de milho, para os tratamentos com déficit e sem déficit pelas plantas de milho

Turner (1986) demonstrou que os estômatos do milho se fecham com potenciais de água na folha em torno de -1,7 MPa e outros autores mostram que houve diminuição da condutância estomática a partir de -1,5 MPa (BONO et al., 2001, BERGONCI; PEREIRA, 2002). Isto corrobora os dados obtidos neste trabalho, pois comparando-se os dados de variação de potencial da água (Figura 10) e de condutância estomática (Figura 15), observa-se que em dias com acentuado decréscimo desta última (29 de abril e 3, 20 e 21 de maio), o potencial da água médio foi inferior a -1,4 MPa, atingindo um mínimo de -2,5 MPa no dia 20 de maio.

O efeito do déficit hídrico no crescimento das plantas foi significativo. A diminuição da fotossíntese (Figura 14) impediu que o crescimento fosse igual ao tratamento sem déficit (Figura 16). O teste de paralelismo indicou uma altura média de 33 cm no tratamento sem déficit e de 20 cm no tratamento sob déficit hídrico, mas mesmo assim nesse último tratamento houve um crescimento gradativo no período de análise.

Figura 16 - Crescimento em altura das plantas de milho submetidas ou não a déficit hídrico durante 30 dias de tratamento, representando o ciclo completo de análise. Teste de paralelismo significativo para o fator dias; 15 dias se referem aos dias onde houve coleta de amostras

Para a área foliar (Figura 17) ocorreu o mesmo comportamento. As plantas sob condição de déficit apresentaram uma menor área foliar, em decorrência da falta de água. Uma menor área foliar nas plantas sob déficit pode ter favorecido uma menor perda de água através dos estômatos nos dias onde o estresse não foi máximo, deste modo, a manutenção do potencial da água e do turgor, pode estar relacionada com uma menor área evaporativa, além de aspectos já abordados anteriormente, como o enrolamento foliar e a cavitação.

Figura 17 - Área foliar (cm²) de milho submetido ou não a déficit hídrico durante 30 dias de tratamento, representando o ciclo completo de análise. Teste de paralelismo significativo para o fator dias; 15 dias se referem aos dias onde houve coleta de amostras

A relação entre área foliar e demanda evaporativa é direta, ou seja, quanto maior a área foliar, maior a perda de água pelas folhas (KRAMER; BOYER, 1995). Portanto, os valores de P_p que se correlacionam inversamente com o turgor, podem ter afetado tanto o crescimento da planta em altura (Figuras 7 e 16), como o crescimento do limbo foliar.

A planta, teve seu crescimento em massa seca diminuído no tratamento sob déficit hídrico (Figura 18). Até praticamente o dia 5 não houve alteração significativa do acréscimo de massa seca entre as plantas. A partir do décimo dia de análise, observou-se um maior acréscimo de massa seca para as plantas.

Figura 18 – Variação da massa seca da parte aérea de milho submetido ou não a déficit hídrico durante 30 dias de tratamento, representando o ciclo completo de análise. Teste de paralelismo significativo para o fator dias; 15 dias se referem aos dias onde houve coleta de amostras

Mesmo com a recuperação da fotossíntese máxima após a reidratação, o crescimento foi menor em decorrência da falta de água. Os resultados obtidos pela sonda no segundo período de estresse, que sinalizavam uma possível manutenção do turgor, não foram condizentes com a condição real da planta, pois tendo havido redução no crescimento da planta podendo-se concluir que não houve manutenção do turgor como especulado anteriormente, mas sim a possibilidade da alteração das medidas com a sonda, influenciadas pela cavitação e o enrolamento foliar ocasional.

5 CONCLUSÕES

Confirmou-se no trabalho que a sonda de turgor (ZIM-PROBE) é um equipamento versátil, com vantagens em relação a outros usados no monitoramento das relações hídricas de plantas, permitindo a determinação instantânea e contínua da pressão relativa de turgor (P_p), tendo sido possível monitorar o status hídrico do milho nos dois tratamentos. Entretanto, nos 10 dias finais de estresse hídrico, ao contrário do observado nas medidas anteriores, suas medidas sinalizaram uma possível manutenção do turgor não condizentes com a visualização de enrolamento das folhas e os valores baixos de potencial da água foliar, de condutância estomática e de assimilação de CO_2 . Portanto, maiores estudos são necessários para se entender as causas desse comportamento da sonda nessas circunstâncias.

As plantas de milho submetidas ao déficit hídrico apresentaram redução do crescimento e diminuição da condutância estomática, fotossíntese e potencial da água. A diminuição das últimas três variáveis tendeu a ser gradual, se apresentando máxima apenas no último dia de cada ciclo de estresse. Houve recuperação da atividade fotossintética, assim como das outras variáveis medidas, em geral um dia após a irrigação, demonstrando elevada capacidade de resposta desta planta a reidratação. As melhora na atividade fotossintética a cada ciclo de déficit pode ter ocorrido pela melhor utilização da água.

REFERÊNCIAS

- ACHE, P.; BAUER, H.; KOLLIST, H.; AL-RASHEID, K.A.S.; LAUTNER, K.; HARTUNG, W.; HEDRICH, R. Stomatal action directly feeds back on leaf turgor: new insights into the regulation of plant water status from non-invasive pressure probe measurements. **The Plant Journal**, Oxford, v. 62, p. 1072-1082, 2010.
- ANGELOCCI, L.R. **Água na planta e trocas gasosas/energéticas com a atmosfera. Introdução ao tratamento biofísico**. Piracicaba: O Autor, 2002. 272 p.
- BABU, C.; PATHAN, M.S.; BLUM A.; NGUYEN, H. T. Comparision of measurement methods of osmotic adjustment in rice cultivars. **Crop Science**, Madison, v. 39, p. 150-158, 1999.
- BALLING, A.; ZIMMERMANN, U. Comparative measurements of the xylem pressure of *Nicotiana* plants by means of pressure bomb and pressure probe. **Planta**, Berlin, v. 182, p. 325-338, 1990.
- BAUGHN, J.W.; TANNER, C.B. Leaf water potential: Comparison of pressure chamber and in situ hygrometer on five herbaceous species. **Crop Science**, Madison, v. 16, p. 181-184, 1976.
- BEN-GAL, A.; KOOL, D.; AGAM, N., VAN HALSEMA, G.E.; YERMIYAHU, U.; YAFE, A.; PRESNOV, E.; EREL, R.; MAJDOP, A.; ZIPORI, I.; SEGAL, E.; RÜGER, S.; ZIMMERMANN, U.; COHEN, Y.; ALCHANATIS, V.; DAG, A. Whole-tree water balance and indicators for short-term drought stress in non-bearing 'Barnea' olives. **Agricultural Water Management**, Amsterdam, v. 98, p. 124-133, 2010.
- BERGONCI, J.I.; BERGAMASCHI, H.; BERLATO, M.A.; SANTOS, O.S. Potencial da água na folha como um indicador de déficit hídrico em milho. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 35, p. 1531-1540, 2000.
- BERGONCI, J.I.; PEREIRA, P.G. Comportamento do potencial da água na folha e da condutância estomática do milho em função da fração de água disponível no solo. **Revista Brasileira de Agrometeorologia**, Santa Maria, v. 10, n. 2, p. 229-235, 2002.
- BONO, L.; BERGAMASCHI, H.; ROSA, L.M.G.; FRANÇA, S.; RADIN, B.; SANTOS, A.O.; BERGONCI, J.I. ALTERAÇÕES NO PADRÃO DE RESPOSTA A luz da condutância do milho causadas pelo déficit hídrico. **Revista Brasileira de Agrometeorologia**, Santa Maria, v. 9, n. 1, p.27-34, 2001.
- BOYER, S.J. Leaf enlargement and metabolic rates in corn, soybean and sunflower at various leaf water potentials. **Plant Physiology**, Minneapolis, v. 46, p. 233-235, 1970.
- BRAMLEY, H.; EHRENBERGER, W.; ZIMMERMANN, U.; PALTA, J.A.; RÜGER, S.; SIDDIQUE, K.H.M. Non-invasive pressure probes magnetically clamped to leaves to monitor the water status of wheat. **Plant and Soil**, The Hague, v. 369, p. 257-268, 2013.

CAKIR, R. Effect of water stress at different development stages on vegetative and reproductive growth of corn. **Field Crops Research**, Amsterdam, v. 89, p. 1-16, 2004.

CARLESSO, R. Enrolamento e orientação de folhas de milho causadas por déficits hídricos. **Revista Brasileira de Agrometeorologia**, Santa Maria, v. 5, n. 1, p. 171-176, 1997.

CHAVES, M.M.; FLEXAS, J.; PINHEIRO, C. Photosynthesis under drought and salt stress: regulation mechanisms from whole plant to cell. **Annals of Botany**, London, v. 103, p. 551-560, 2008.

COCHARD, H., COLL, L., LE ROUX, X. AMEGLIO, T. Unraveling the effects of plant hydraulics on stomatal closure during water stress in walnut. **Plant Physiology**, Minneapolis, v. 128, p. 282-290, 2002.

D'ANDRIA, R.; CHIARANDA, F.Q.; MAGLIULO, V.; MORI, M. Yield and soil water uptake of sunflower sown in spring and summer. **Agronomy Journal**, Madison, v. 87, p. 1122-1128, 1995.

DAVIES, W.J., ZHANG, J. Root signals and the regulation of growth and development of plants in drying soil. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, Palo Alto, v. 42, p. 55-76, 1991.

EHRENBERGER, W.; RÜGER, S.; FITZKE, R.; VOLLENWEIDER, P.; GÜNTHARDT-GOERG, M.; KUSTER, T. ZIMMERMANN, U.; AREND, M. Concomitant dendrometer and leaf patch pressure probe measurements reveal the effect of microclimate and soil moisture on diurnal stem water and leaf turgor variations in young oak trees. **Functional Plant Biology**, Victoria, v. 39, p. 297-305, 2012.

EHRENBERGER, W.; RÜGER, S.; RODRIGUEZ-DOMINGUEZ, C.M.; DIAZ-ESPEJO, A.; FERNANDEZ, J.E. MORENO, J.; ZIMMERMANN, D.; SUKHORUKOV, V.L.; ZIMMERMANN, U. Leaf patch clamp pressure probe measurements on olive leaves in a nearly turgorless state. **Plant Biology**, Stuttgart, v. 14, p. 666-674, 2011.

EVERT, R.F. **Esau's plant anatomy: meristems, cells and tissues of the plant body: their structure, function and development**. 3rd ed. New Jersey: John Wiley, 2006. 601 p.

FELLE, H.H.; ZIMMERMANN, M.R. Systemic signaling in barley through action potentials. **Planta**, Berlin, v. 226, p. 203-214, 2007.

FERNÁNDEZ, J.E.; RODRIGUEZ-DOMINGUEZ, C.M.; PEREZ-MARTIN, A.; ZIMMERMANN, U. RÜGER, S. MARTÍN-PALOMO, M.J.; TORRES-RUIZ, J.M.; CUEVAS, M.V.; SANN, C.; EHRENBERGER, W.; DIAZ-ESPEJO. Online-monitoring of tree water stress in a hedgerow olive orchard using a leaf patch clamp pressure probe. **Agricultural Water Management**, Amsterdam, v. 100, p. 25-35, 2011.

GHANNOUM, O. C4 photosynthesis and water stress. **Annals of Botany**, London, v. 103, p. 635–644, 2009.

GOODGER, J.Q.D.; SCHACHTMAN, D.P. Re-examining the role of ABA as the primary long-distance signal produced by water-stresses roots. **Plant Signaling & Behavior**, Austin, v. 5, n.10, p. 1298-1301, 2010.

GRZESIAK, M.T.; RZEPKA, A.; HURA, T.; HURA, K.; SKOCZOWSKI, A. Changes in response to drought stress of triticale and maize genotypes differing in drought tolerance. **Photosynthetica**, Praha, v. 45, p. 280-287, 2007.

HAFKE, J.B.; EHLERS, K.; FÖLLER, J.; HÖLL, S.R.; BECKER, S.; VAN BEL, A.J.E. Involvement of sieve element cytoskeleton in electrical responses to cold shocks. **Plant Physiology**, Minneapolis, v. 162, n. 2, p. 707-719, 2013.

HAMILTON, D.W.A.; HILLS, A.; KOHLER, B.; BLATT, M.R. Ca²⁺ channels at the plasma membrane of stomatal guard cells are activated by hyperpolarization and abscisic acid. **Proceedings of the National Academy of Sciences of United States of America**, Washington, v. 97, p. 4967–4972, 2000.

JACKSON, M. Hormones from roots as signals for the shoots of stressed plants. **Trends in Plant Science**, Oxford, v. 2, p. 22–28, 1997.

JONES, C.A. **C4 grasses and cereals: growth, development and stress responses**. New York: John Wiley, 1985. 419 p.

KAUFMANN, I.; SCHULZE-TILL, T.; SCHNEIDER, H.U.; ZIMMERMANN, U.; JAKOB, P.; WEGNER, L.H. Functional repair of embolized vessels in maize roots after temporal drought stress, as demonstrated by magnetic resonance imaging. **New Phytologist**, Cambridge, v. 184, p. 245-256, 2009.

KIM, T.H.; BÖHMER, M.; HU, H.; NISHIMURA, N.; SCHROEDER, J.I. Guard cell signal transduction network: advances in understanding abscisic acid, CO₂, and Ca²⁺ signaling. **Annual Review of Plant Biology**, Palo Alto, v. 61, p. 561–91, 2010.

KORSAKOV, H.R.; RUBIO, G.; LAVADO, R.S. Effect of water stress in maize crop production and nitrogen fertilizer fate. **Journal of Plant Nutrition**, New York, v. 32, p. 565-578, 2009.

KRAMER, P.J.; BOYER, J.S. **Water relations of plants and soils**. San Diego: Academic Press, 1995. 495 p.

LAWLOR, D.W.; CORNIC, G. Photosynthetic carbon assimilation and associated metabolism in relation to water deficits in higher plants. **Plant, Cell and Environment**, Oxford, v. 25, p. 275–294, 2002.

LIU, F.; ANDERSEN, M.N.; JACOBSEN, S.E. JENSEN, C. R. Stomatal control and water use efficiency of soybean (*Glycine max* L. Merr.) during progressive soil drying. **Environmental and Experimental Botany**, Elmsford, v. 54, p. 33-40, 2005.

MARTINS, J.D.; CARLESSO, R.; KNIES, A.E.; OLIVEIRA, Z.B.; BROETTO, T.; RODRIGUES, G.J. Potencial da água foliar em milho submetido ao déficit hídrico. **Irriga**, Botucatu, v. 15, n. 3, p. 324-334, 2010.

MELCHER, P.J.; MEINZER, F.C.; YOUNT, D.E.; GOLDSTEIN, G.; ZIMMERMANN, U. Comparative measurements of xylem pressure in transpiring and non-transpiring leaves by means of the pressure chamber and the xylem pressure probe. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 49, p. 1757-1760, 1998.

MOULIA, B. Leaves as shell structures: double curvature, auto-stress and minimal mechanical energy constraints on leaf rolling in grasses. **Journal of Plant Growth Regulation**, New York, v. 19, n. 1, p. 19-30, 2000.

MÜLLER-RÖBER, B.; EHRHART, T.; PLESCH, G. Molecular features of stomatal guard cells. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 49, p. 293-304, 1998.

NARDINI, A.; SALLEO, S. Water stress-induced modification of leaf hydraulic architecture in sunflower: co-ordination with gas exchange. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 56, n. 422, p. 3093-3101, 2005.

NETTING, A.G. Ph, abscisic acid and the integration of metabolism in plants under stressed and non-stressed conditions: cellular responses to stress and their implication for plant water relations. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 51, p. 147- 158, 2000.

NEZAMI, A.; KHAZAEI, H.R.; REZAZADEH, Z.B.; HOSSEINI, A. Effects of drought stress and defoliation on sunflower (*Helianthus annuus*) in controlled conditions. **Desert**, Tehran, v.12, p. 99-84, 2008.

ORTUÑO, M.F.; ALARCÓN, J.J.; NICOLÁS, E.; TORRECILLAS, A. Interpreting trunk diameter changes in Young lemon trees under déficit irrigation. **Plant Science**, Limerick, v. 167, p. 275-280, 2004.

OTEGUI, M.E.; ANDRADE, F.H.; SUERO, E.E. Growth, water use, and kernel abortion of maize subjected to drought at silking. **Field Crops Research**, Amsterdam, v. 40, p. 87–94, 1995.

PASSIOURA, J.B. Root signals control leaf expansion in wheat seedlings growing in drying soil. **Australian Journal of Plant Physiology**, Melbourne, v. 15, p. 687-693, 1988.

PATAKAS, A.; NIKOLAOU, N.; ZIOZIOIU, E.; RADOGLU, K.; NOITSAKIS, B. The role of organic solute and ion accumulation in osmotic adjustment in drought-stressed grapevines. **Plant Science**, Limerick, v.163, p. 361-367, 2002.

PIMENTEL, C. **A relação da planta com a água**. Seropédica: Edur., 2004. 191 p.

QIN, X.Q.; ZEEVAART J.A.D. The 9-cis-epoxycarotenoid cleavage reaction is the key regulatory step of abscisic acid biosynthesis in water-stressed bean.

Proceedings of the National Academy of Sciences of United States of America, Washington, v. 96, p. 15354–15361, 1999.

RIBEIRO, R. V., SANTOS, M. G., MACHADO, E. C.; OLIVEIRA, R. F. Photochemical heat-shock response in common bean leaves as affected by previous water deficit.

Russian Journal of Plant Physiology, New York, v. 55, n. 3, p. 387–396, 2008.

RÜGER, S.; NETZER, Y.; WESTHOFF, M.; ZIMMERMANN, D.; REUSS, R.; OVADIYA, S.; GESSNER, P.; ZIMMERMANN, G.; SCHWARTZ, A.; ZIMMERMANN, U. Remote monitoring of leaf turgor pressure of grapevines subjected to different irrigation treatments using the leaf patch clamp pressure probe. **Australian Journal of Grape and Wine Research**, Adelaide, v. 16, p. 405–412, 2010.

SANTOS, M.G.; RIBEIRO, R.V.; MACHADO, E.C.; PIMENTEL, C. Photosynthetic parameters and leaf water potential of five bean genotypes under mild water deficit. **Biologia Plantarum**, Praga, v. 53, n. 2, p. 229-236, 2009.

SCHOLANDER, P.F.; HAMMEL, H.T.; BRADSTREET, E.D.; HEMMINGSEN, E.A. Sap pressure in vascular plants. **Science**, Washington, v. 148, p. 339-346, 1965.

SCHWARTZ, A., WU, W.-H., TUCKER, E.B., ASSMANN, S.M. Inhibition of inward K^+ channels and stomatal response by abscisic acids: An intracellular locus of phytohormone action. **Proceedings of the National Academy of Sciences of United States of America**, Washington, v. 91, p. 4019–4023, 1994.

SHARP, R.E.; DAVIES, E.J. Solute regulation and growth by roots and shoots of water-stressed maize plants. **Planta**, Berlin, v. 147, p. 43–49, 1979.

STRECK, N.A. Do we know how plants sense a drying soil? **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 34, n. 2, p. 581-584, 2004.

TAN, B.C.; SCHWARTZ, S.H.; ZEEVAART, J.A.D.; MCCARTY, D.R. Genetic control of abscisic acid biosynthesis in maize. **Proceedings of the National Academy of Sciences of United States of America**, Washington, v. 94, p. 12235–12240, 1997.

TARDIEU, F.; SIMONNEAU, T. Variability among species of stomatal control under fluctuating soil water status and evaporative demand: modeling isohydric and anisohydric behaviours. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 49, special issue, p. 419-432, 1998.

TOLLENAAR, M.; LEE, E.A. Strategies for enhancing grain yield in maize. **Plant Breeding Reviews**, Westport, v. 34, p. 37-38, 2011.

TURNER, N.C. Crop water deficit: a decade of progress. **Advances in Agronomy**, San Diego, v. 39, p. 1-51, 1986.

VIEIRA JUNIOR, P.A.; DOURADO NETO, D.; OLIVEIRA, R.F.; PERES, L.E.P.; MARTIN, T.N.; MANFRON, P.A.; BONNECARRÉRE, R.A.G. Relações entre o potencial e a temperatura da folha de plantas de milho e sorgo submetidas a estresse hídrico. **Acta Scientiarum Agronomy**, Maringá, v. 29, n. 4, p. 555-561, 2007.

VILELLA, E.F.; BULL, L.T. Avaliação do crescimento de plantas de milho em função de doses de potássio e estresse hídrico. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Campinas, v. 23, p. 281-289, 1999.

WEI, C.; STEUDLE, E.; TYREE, M.T.; LINTILHAC, P. M. The essentials of direct xylem pressure measurement. **Plant, Cell and Environment**, Oxford, v. 24, p. 549-555, 2001.

WESTHOFF, M.; REUSS, R.; ZIMMERMANN, D.; NETZER, Y.; GESSNER, A.; GEßNER P.; ZIMMERMANN, G.; WEGNER, L.H.; BAMBERG, E.; SCHWARTZ, A.; ZIMMERMANN, U. A non-invasive probe for online-monitoring of turgor pressure changes under field conditions. **Plant Biology**, Stuttgart, v. 11, p. 701-712, 2009.

WHITE, C.N.; PROEBSTING, W.M.; HEDDEN, P.; RIVIN, C.J. Gibberellins and seed development in maize. I. Evidence that gibberelin/abscisic acid balance governs germination versus maturation pathways. **Plant Physiology**, Minneapolis, v. 122, p. 1081-1088, 2000.

YORDANOV, I.; VELIKOVA, V.; TSONEV, T. Plant responses to drought and stress tolerance. **Bulgarian Journal of Plant Physiology**, Sofia, special issue, p. 187–206, 2003

ZHANG, J., DAVIES, W.J. Absciscic acid produced in dehydrating roots may enable the plant to measure the water status of the soil. **Plant, Cell and Environment**, Oxford, v. 12, p. 73–81, 1989.

ZHANG, J.; JIA, W.; YANG, J. ISMAIL, A.M. Role of ABA in integrating plant responses to drought and salt stresses. **Field Crops Research**, Amsterdam, v. 97, p. 111-119, 2006.

ZHANG, J., SCHURR, U., DAVIES, W.J. Control of stomatal behaviour by abscisic acid which apparently originates in roots. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 38, p. 1174–1181, 1987.

ZIM-PLANT-TECHNOLOGY. **Data transfer**. Disponível em: <http://www.zim-plant-technology.com/?Technology:Data_Transfer>. Acesso em: 24 nov. 2013.

ZIMMERMANN, D.; REUSS, R.; WESTHOFF, M.; GEBNER, P.; BAUER, W.; BAMBERG, E.; BENTRUP, F-W.; ZIMMERMANN, U. A novel, non-invasive, online-monitoring, versatile and easy plant-based probe for measuring leaf water status. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 59, p. 3157–3167, 2008.

ZIMMERMANN, U. Xylem pressure measurements in intact laboratory plants and excised organs: A critical evaluation of literature methods and the xylem pressure probe. In: TERAZAWA, M.; MCLEOD, C.A.; TAMAY, Y. **Tree sap**. Sapporo: Hokkaido University Press, 1995. p. 59-70.

ZIMMERMANN, U.; SCHNEIDER, H.; WEGNER, L.H.; HAASE, A. Water ascent in tall trees: does evolution of land plants rely on a highly metastable state? **New Phytologist**, Cambridge, v. 162, p. 575-615, 2004.

ZIMMERMANN, U.; RÜGER, S.; SHAPIRA, O.; WESTHOFF, M.; WEGNER, L.H.; REUSS, R.; GESSNER, P.; ZIMMERMANN, G.; ISRAELI, Y.; ZHOU, A.; SCHWARTZ, A.; BAMBERG, E.; ZIMMERMANN, D. Effects of environmental parameters and irrigation on the turgor pressure of banana plants measured using the non-invasive, online monitoring leaf patch clamp pressure probe. **Plant Biology**, Stuttgart, v. 12, p. 424–436, 2010.