

**PADRÃO DE RESPOSTAS METABÓLICAS DE *Curcuma zedoaria* (Christm.)
ROSCOE SOB A APLICAÇÃO DE REGULADORES VEGETAIS E EM
CONDIÇÕES DE DEFICIÊNCIA HÍDRICA**

ROBERTO DE OLIVEIRA PORTELLA

Dissertação apresentada ao Instituto de
Biotecnologia, Campus de Botucatu,
UNESP, para obtenção do título de
Mestre no Programa de Pós-Graduação
em Ciências Biológicas (Botânica). Área
de concentração: Fisiologia e
Bioquímica Vegetal

BOTUCATU-SP

-2016-

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

“Júlio de Mesquita Filho”

INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS DE BOTUCATU

PADRÃO DE RESPOSTAS METABÓLICAS DE *Curcuma zedoaria* (Christm.) ROSCOE SOB A
APLICAÇÃO DE REGULADORES VEGETAIS E EM CONDIÇÕES DE DEFICIÊNCIA
HÍDRICA

ROBERTO DE OLIVEIRA PORTELLA

PROF. DR. LUIZ FERNANDO ROLIM DE ALMEIDA

(Orientador)

PROFA. DRA. MARCIA ORTIZ MAYO MARQUES

(Co-Orientador)

Dissertação apresentada ao Instituto de Biociências, Campus de Botucatu, UNESP, para obtenção do título de Mestre no Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas (Botânica). Área de concentração: Fisiologia e Bioquímica Vegetal

BOTUCATU-SP

-2016-

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE-CRB 8/5651

Portella, Roberto de Oliveira.

Padrão de respostas metabólicas de *Curcuma zedoaria* (Christm.) Roscoe sob a aplicação de reguladores vegetais e em condições de deficiência hídrica. / Roberto de Oliveira Portella. - Botucatu, 2016

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Instituto de Biociências de Botucatu
Orientador: Luiz Fernando Rolim de Almeida
Coorientador: Marcia Ortiz Mayo Marques
Capes: 20303009

1. Cúrcuma - Fisiologia. 2. Plantas tintoriais. 3. Desidratação (Hídrica). 4. Fisiologia vegetal. 5. Ecofisiologia vegetal. 6. Dormência em plantas.

Palavras-chave: Aparato fotoquímico; Dormência; Ecofisiologia vegetal; Metabolismo.

“Chame de intuição. É disso que se trata por enquanto. Mas pretendo chegar a uma conclusão sobre o assunto. Uma sequência de raciocínios válidos só pode levar à determinação da verdade...”

Eu, Robô, de Issac Asimov

*Dedico a minha família, aos meus amigos,
as entidades espirituais, e
a todos que acreditaram que essa aventura era possível.*

Agradecimentos

Agradeço à CAPES pela concessão da bolsa de estudo;

Agradeço à toda minha família por acreditar que esse trabalho era possível. Em especial, agradeço meus pais Lúcia e Rogério e meu irmão Marcos, por todos os ensinamentos.

Ao Nestor, meu amigo, por me mostrar como a ciência é uma arte.

À minha noiva Karin, por me apoiar nesses últimos sete anos e por depositar sua confiança em mim.

Aos meus amigos de São José dos Campos e de Botucatu pelos momentos de diversão, diálogo e pela confiança.

À todos os estudantes, técnicos-administrativos e aos docentes do Departamento de Botânica, do Instituto de Biociências de Botucatu, UNESP, pelo auxílio nos momentos que precisei, pelas descontrações e pelos ensinamentos.

À todos do Laboratório de Ecofisiologia Vegetal pelo apoio, confiança e pela amizade.

Agradeço minha co-orientadora, Marcia Ortiz Mayo Marques, por todos os ensinamentos, pela dedicação e pela confiança.

Agradeço meu orientador, Luiz Fernando Rolim de Almeida, pela confiança, dedicação e pelos ensinamentos na pesquisa e na docência.

Sumário

RESUMO	1
ABSTRACT	2
I-INTRODUÇÃO GERAL.....	3
II. OBJETIVOS.....	7
Resumo.....	9
Material e Métodos	12
Resultados.....	15
Discussão	17
Conclusões.....	21
Referencial bibliográfico.....	23
Tabelas	30
Figuras	38
IV-CAPÍTULO II	42
Resumo.....	43
Introdução.....	44
Material e Métodos.....	46
Resultados.....	51
Discussão	52
Conclusões.....	57
Referencial bibliográfico.....	58
Tabelas	66
Figuras	67
Anexo.....	69
V-CONSIDERAÇÕES FINAIS	77
VI. REFERENCIAL BIBLIOGRÁFICO DA INTRODUÇÃO GERAL.....	78

Lista de Tabelas

Tabela	Página
1 Efeitos das concentrações de cinetina (Kt) e dos tempos de imersão dos rizomas ao regulador vegetal no crescimento dos rizomas de <i>Curcuma zedoaria</i> (Christm.) Roscoe, representado pela porcentagem de brotação de gemas (%), pelo índice de velocidade de brotação de gemas (IVB) e pelo comprimento total de raízes (mm).....	30
2 Efeitos de cinetina (Kt) e dos tempos de imersão dos rizomas de <i>C. zedoaria</i> na porcentagem de brotação de gemas (%), no índice de velocidade de brotação de gemas (IVB) e no comprimento total de raízes (mm).....	31
3 Efeitos das concentrações de ethephon (ETH) e dos tempos de imersão dos rizomas ao regulador vegetal no crescimento dos rizomas de <i>Curcuma zedoaria</i> (Christm.) Roscoe, representado pela porcentagem de brotação de gemas (%), pelo índice de velocidade de brotação de gemas (IVB) e pelo comprimento total de raízes (mm).....	32
4 Efeitos de ethephon (ETH) e dos tempos de imersão dos rizomas de <i>C. zedoaria</i> na porcentagem de brotação de gemas (%), no índice de velocidade de brotação de gemas (IVB) e no comprimento total de raízes (mm).....	33
5 Efeitos dos reguladores vegetais cinetina (Kt) e ethephon (ETH) na performance da brotação das gemas dos rizomas de <i>C. zedoaria</i> em função dos dias de coleta...	34
6 Substâncias voláteis dos rizomas de <i>C. zedoaria</i> e razão de produção de Monoterpenos/Sesquiterpenos (M/S) sob condições normais de crescimento (controle), sob ação de cinetina (150mg.L ⁻¹ ; t=30min) e de ethephon (600mg.L ⁻¹ ; t=30min).....	35
7 Dinâmica da produção das classes de substâncias voláteis nos rizomas de <i>C. zedoaria</i> entre o 1º e o 11º dias após aplicação dos reguladores vegetais ethephon e cinetina.....	37
8 Variáveis fisiológicas (Média±DP) que compõem o estado hídrico das plantas de <i>C. zedoaria</i> durante o período de déficit hídrico.....	66
9 Análise física do substrato utilizado nos vasos que continham plantas de <i>Curcuma zedoaria</i> (Christm.) Roscoe.....	71
10 Análise química do substrato utilizado nos vasos que continham plantas de <i>Curcuma zedoaria</i> (Christm.) Roscoe.....	72
11 Valores da assíntota máxima da taxa de transporte de elétrons (<i>ETR</i>) e do <i>quenching</i> fotoquímico (<i>qP</i>) para plantas de <i>C. zedoaria</i> durante a deficiência hídrica.....	73

Lista de Figuras

Figura		Página
1	Efeitos dos reguladores vegetais cinetina (círculos pretos) e ethephon (círculos brancos) na performance da brotação das gemas dos rizomas de <i>C. zedoaria</i> em função dos dias de coleta. Análise de regressão linear do número de gema brotadas <i>versus</i> o 1º, 6º, 11º e 31º dias de experimento. Ambas as retas apresentam a equação da reta, o coeficiente de determinação (R^2) e o ângulo de inclinação da reta (α). Reta contínua: Kt em 150 mg.L ⁻¹ , t=30min. Reta tracejada: ETH em 600 mg/L ⁻¹ , t=30min.....	38
2	Cromatogramas de íons totais (TIC) do perfil das substâncias voláteis dos rizomas de <i>C. zedoaria</i> produzidas durante a situação controle no 1º dia (1A) e no 11º dia (2A), sob a ação de cinetina no 1º dia (1B) e no 11º dia (2B) e de ethephon no 1º dia (1C) e no 11º dia (2C). 1: α -pineno; 2: canfeno; 3: sabineno; 4: β -pineno; 5: 6-metil-5-hepten-2-ona; 6: mirceno; 7: δ -3-careno; 8: α -terpineno; 9: <i>p</i> -cimeno; 10: <i>o</i> -cimeno; 11: 1,8-cineol; 12: Z- β -ocimeno; 13- γ -terpineno; 14: terpinoleno; 15: 2-nonanona; 16: 2-nonanol; 17: <i>n</i> -nonanal; 18: α -canfolenal; 19: <i>exo</i> -isocitral; 20: cânfora; 21: isoborneol; 22: borneol; 23: terpinen-4-ol; 24: α -terpineol; 25: 2-docanona; 26: mirtenal; 27: 2-decanol; 28: <i>n</i> -decanal; 29: carvona; 30: acetato de isobornila; 31: 2-undecanona; 32: β -elemeno; 33: β -cariofileno; 34: α -humuleno; 35: <i>trans</i> - β -farneseno; 36: germacreno D; 37: β -selineno; 38: curzereno; 39: β -himachaleno; 40: β -cadineno; 41: germacreno B; 42: óxido de cariofileno; 43: globulol; 44: curzerenona; e 45: germacrona.....	39
3	Efeito do tempo na padronização das substâncias voláteis dos rizomas de <i>C. zedoaria</i> segundo a aplicação de cinetina e ethephon, proporcionado pela análise de componentes principais (PCA). Montada utilizando o algoritmo da correlação de Pearson (n-1).	40
4	Efeito do tempo no agrupamento da situação em condições normais de crescimento, sob ação de cinetina e ethephon para as substâncias voláteis dos rizomas de <i>C. zedoaria</i> . Análise Hierárquica de Cluster (AHC) construída com matriz de dissimilaridade, usando o <i>Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean</i> (UPGMA) como método de aglomeração e o algoritmo da Distância Euclideana.....	41
5	Variáveis fisiológicas mensuradas nas folhas de <i>Curcuma zedoaria</i> (Christm.) Roscoe. Condutância estomática (a), rendimento quântico máximo do PSII (b), fluorescência basal (c), fluorescência máxima (d), eficiência de excitação (e), rendimento quântico efetivo do PSII (f), rendimento quântico da perda regulada de energia não-fotoquímica do PSII (g) e rendimento quântico da perda não-regulada de energia não-fotoquímica do PSII (h) no tratamento controle (círculos pretos) e no tratamento sob déficit hídrico (círculos brancos). *indicam diferenças significativas pelo teste <i>t</i> ($p < 0,05$).....	67
6	Concentração equivalente de glicose (a), concentração equivalente de sacarose (b) e concentração equivalente de amido (c) nos rizomas de <i>Curcuma zedoaria</i> (christm.) Roscoe, para os tratamentos controle (barras pretas), tratamento sob déficit hídrico (barras cinzas) e tratamento reidratado (barras cinzas tracejadas).	

- *letras diferentes entre tratamentos de um mesmo dia (35° dia ou 99° dia) indicam diferenças significativas pelo teste t ($p < 0,05$)..... **68**
- 7** Teor de água no solo (Média±DP) das plantas de *Curcuma zedoaria* (Christm.) Roscoe ao longo dos dias de experimento para o controle (barras brancas), tratamento sob déficit hídrico até o 35° dia (barras cinzas) e tratamento reidratado, do 36° dia até o 99° dia (barras cinzas tracejadas)..... **74**
- 8** Taxa de transporte de elétrons (*ETR*) em *C. zedoaria* do tratamento controle ao longo dos dias de tratamento. As linhas pretas da regressão linear indicam dias mais distantes da perda da parte aérea e as linhas tracejadas indicam os dias mais próximos da perda total da parte aérea..... **75**
- 9** *Quenching* fotoquímico (*qP*) em *C. zedoaria* do tratamento controle ao longo dos dias de tratamento. As linhas pretas da regressão linear indicam dias mais distantes da perda da parte aérea e as linhas tracejadas indicam os dias mais próximos da perda total da parte aérea..... **76**

Lista de Abreviaturas

Kt: Cinetina	PSII: Fotossistema II
ETH: Ethephon	Fo: Fluorescência basal
IVB: Índice de velocidade de brotação de gemas	Fm: Fluorescência máxima
SPME: Microextração em Fase Sólida	Fv/Fm: Rendimento quântico máximo do PSII
CG/EM: Cromatógrafo Gasoso acoplado à Espectrômetro de Massas	qP: <i>quenching</i> Fotoquímico
DFFF: Densidade de Fluxo de Fótons	ETR: Taxa de transporte de elétrons
MEP: rota do Metil-eritritol-fosfato	Y(II)/qP ou Yexc: Eficiência de excitação
MVA: rota do Mevalonato	Y(II): Rendimento quântico efetivo do PSII
PD: <i>Predawn</i> – período de coleta às 05:30 horas	Y(NO): Rendimento quântico da perda não-regulada de energia não-fotoquímica do PSII
MD: <i>Midday</i> – período de coleta às 12:00 horas	Y(NPQ): rendimento quântico da perda regulada de energia não-fotoquímica do PSII
CRA_{MD}: Conteúdo Relativo de Água nas folhas durante o <i>Midday</i>	
Ψ_{H₂O} folha PD: Potencial da água das folhas durante o <i>Predawn</i>	
Ψ_{H₂O} folha MD: Potencial da água das folhas durante o <i>Midday</i>	
Ψ_{H₂O} solo: Potencial da água do solo	
Ψ_{H₂O} rizoma: Potencial da água do rizoma	
gs: Condutância estomática	

RESUMO

A dormência de gemas é um mecanismo metabólico e fisiológico do ciclo de vida de plantas, regulado pelo ambiente e pelos hormônios vegetais. A partir disso, nesse estudo foram investigados dois momentos cruciais no ciclo da dormência de *Curcuma zedoaria* (Christm.) Roscoe. O primeiro momento se trata da ação dos reguladores vegetais ethephon (ETH) e cinetina (Kt) na superação da dormência de gemas e na alteração do perfil metabólico volátil nos primeiros dias após as gemas superarem a dormência. O segundo momento consiste da ação do déficit hídrico na mudança dos padrões metabólicos da planta e na comparação dos ajustes metabólicos durante a perda da parte aérea ocasionada pelo déficit hídrico. Diante da primeira etapa da investigação, altas concentrações de ETH (600 mg.L⁻¹) atrasam a brotação das gemas de rizomas e as demais concentrações diminuem o crescimento de raízes. Ethephon aumenta a proporção relativa de sesquiterpenos oxigenados e diminui a proporção de hidrocarbonetos monoterpênicos. Cinetina manteve a brotação de gemas semelhante às condições normais de crescimento. Além disso, Kt promoveu aumento das proporções relativas de monoterpênicos e queda de sesquiterpenos. Na segunda etapa da investigação, as plantas que sofreram déficit hídrico apresentaram tolerância ao estresse até o 17º dia de experimento. Plantas totalmente irrigadas também entraram em dormência, apresentando perda total da parte aérea após 99 dias de experimento. Além disso, a variação na fluorescência da clorofila *a* dessas plantas foi semelhante às plantas que sofreram déficit hídrico. Apesar do déficit hídrico causar degradação do amido, após a entrada da dormência e a reidratação desses rizomas, o metabolismo nesse órgão de resistência retoma as funções originais na formação de reservas de amido. Logo, reguladores vegetais e o déficit hídrico modificam os padrões metabólicos no ciclo da dormência. Além disso, os padrões metabólicos auxiliam na interpretação das respostas ambientais expressas nas plantas e abrem novas perspectivas nas áreas da comunicação vegetal, ecofisiologia e bioquímica vegetal.

Palavras-chave: dormência, metabolismo, ecofisiologia vegetal, aparato fotoquímico

ABSTRACT

Bud dormancy is a metabolic and physiologic mechanism occurring during the plant life cycle, which is regulated by environment and plant hormones. In this study, we investigated two crucial points of dormancy cycle on *Curcuma zedoaria* (Christm.) Roscoe. The first one focused on the action of ethephon (ETH) and kinetin (Kt) on bud break and the alterations on volatile metabolic profile during the days after releasing of bud dormancy. The second aspect focused on the action of drought in changes of plant metabolic patterns and comparing the metabolic adjustments during leaf shedding provoked by water deficit. The first investigation showed that high concentrations of ETH (600 mg.L⁻¹) delays the rhizome bud flush and the other concentrations of ETH decrease root growth. Ethephon enhances oxygenated sesquiterpenes and decreases monoterpene production. Kinetin maintains bud sprout similarly to control. Further, Kt increases the relative proportions of monoterpenes and decrease the relative proportions of sesquiterpenes. The second step of this investigation showed that plants under water stress presented drought tolerance until the 17th day of experiment. Plants totally irrigated also enter in dormancy, showing total aboveground loss after 99 days of experiment. Furthermore, the variation of chlorophyll *a* fluorescence of those plants was similar between plants that went through drought. Instead of water stress causes starch degradation, after dormancy entrance and rehydration of *C. zedoaria* rhizomes, the metabolism in this organ returns to your original functionality of starch synthesis. Thus, plant regulators and drought modify the metabolic patterns during dormancy cycle. Furthermore, metabolic patterns are useful for interpret the environmental responses expressed in plants and open new perspectives on plant communication, ecophysiology and plant biochemistry.

Keywords: dormancy, metabolism, plant ecophysiology, photochemical apparatus

I-INTRODUÇÃO GERAL

O ambiente atua de forma complexa na produção de sinais, os quais são captados por receptores específicos nas plantas. A interpretação e a transformação das informações ambientais em sinais químicos são realizados por diferentes estruturas distribuídas no organismo vegetal. Esses sinais químicos são transportados por diferentes vias, desencadeando ajustes metabólicos e conferindo a manutenção da homeostase na planta (LARCHER, 2000; BABY et al., 2010; BERTOLLI et al., 2014; SOUZA & LUETTGE, 2015). A dormência de gemas é alvo de grande interesse na ciência, dado sua característica de desencadear padrões metabólicos complexos. Além disso, o mecanismo da dormência é regulado por uma cascata de vias metabólicas, as quais recebem sinais do ambiente e dos hormônios vegetais (ROHDE & BHALERAO, 2007). Tanto os hormônios vegetais, quanto o ambiente controlam a entrada da planta à dormência em condições desfavoráveis e sua superação durante os períodos favoráveis de crescimento (SUTTLE, 2007; RÍOS et al., 2014). Para plantas que apresentam dormência, seu ciclo normal de vida ocorre com a brotação das gemas no verão; o cessar do crescimento, a formação de gemas e a senescência e abscisão foliar no outono e a dormência no inverno (RINNE et al., 2010; DING & NILSSON, 2016).

O estado da dormência de gemas está envolvido com o controle do crescimento, do desenvolvimento e da divisão celular, processos regulados pelas mesmas vias de sinalização (HORVATH et al., 2003). Tanto a entrada, quanto a superação da dormência de gemas são influenciados por diversos fatores ambientais, como a temperatura, o fotoperíodo e o déficit hídrico (RÍOS et al., 2014). Além disso, os hormônios vegetais são os fatores-chave que desempenham papel no controle endógeno da entrada, manutenção e superação da dormência (ANDERSON et al., 2001). Logo, oscilações no ambiente e nos teores dos hormônios vegetais regem o ciclo da dormência das plantas.

Durante a entrada da dormência, o fotoperíodo regula o relógio endógeno das plantas, o armazenamento e a distribuição de reservas (HORVATH et al., 2003; SUTTLE, 2007; ROHDE & BHALERAO, 2007). Os dias curtos influenciam a síntese do ácido abscísico (ABA), hormônio que aumenta a expressão de genes da família *DMRI/DRP (DORMANCY-ASSOCIATED GENE-1/AUXIN-REPRESSED PROTEIN)*, responsáveis pela entrada e manutenção da dormência (RAE et al., 2013). Além disso, baixas temperaturas promovem quedas no funcionamento do metabolismo e a falta de água no ambiente altera o balanço hormonal (ROHDE & BHALERAO, 2007), desencadeando a entrada da dormência (DURYEA, 1985; ROHDE & BHALERAO, 2007).

Contudo, a elevação das temperaturas (DURYEA, 1985; KUEHNY et al., 2005) e os dias longos (HORVATH et al., 2003; KUEHNY et al., 2005) conduzem à superação da

dormência de gemas. Nas etapas finais da dormência, o conteúdo de ABA nos meristemas declina e o aumento dos níveis de citocininas (CK) acompanham o começo da brotação (SUTTLE, 2007). As auxinas (Ax), giberelinas (GA) e CKs controlam as cascatas de fosforilação das proteínas quinases (MAPK), as quais liberam o ciclo celular, retomando a divisão das células, o crescimento e a brotação de gemas (ANDERSON et al., 2001; ROHDE & BHALERAO, 2007). Logo, os hormônios vegetais são primordiais no controle do ciclo da dormência de gemas. Além disso, reguladores vegetais aplicados em diversos experimentos desempenham papel fisiológico semelhante aos hormônios vegetais. Portanto, aplicações desses reguladores vegetais podem estimular ou atrasar a brotação de gemas em rizomas dormentes.

Os reguladores vegetais também atuam na modificação da síntese de metabólitos especializados nas plantas. A benzilamino-purina promove quedas na produção de citral (PRINS et al., 2013), o etileno provoca a redução nas proporções relativas de terpinoleno (KRAMER et al., 2012) e as citocininas aumentam o rendimento do óleo essencial em *Mentha arvensis* L. (FAROOQI et al., 2003; PRINS et al., 2010). Além disso, a produção de mono e sesquiterpenos nos frutos de manga segue a tendência de produção do etileno (LALEL et al., 2003). Dessa forma, a sinalização de reguladores vegetais também deverá alterar o padrão de produção de substâncias voláteis, dias após a superação da dormência de gemas.

Não somente os fatores endógenos, mas também os fatores ambientais controlam o ciclo da dormência. A dinâmica da água nos ambientes sazonais afeta o ajuste das espécies vegetais (ASBJORSEN et al., 2011) e a deficiência hídrica é um dos eventos ambientais que mais promove mudanças na fisiologia das plantas (YADOLLAHI et al., 2011; RAKIĆ et al., 2015). Conseqüentemente, esses ajustes fisiológicos agem para evitar, tolerar e resistir aos possíveis danos causados pela desidratação, mantendo a homeostase da planta durante períodos de déficit hídrico (GASPAR et al., 2002; FLEXAS et al., 2006; SOUZA & LUETTGE, 2015).

A falta de água no ambiente pode causar alterações no estado hídrico das plantas (FLEXAS et al., 2006; FAVARETTO et al., 2011; EPEL et al., 2013), na dinâmica no balanço de carbono e no transporte de minerais (LARCHER, 2000; VARONE et al., 2012), na inibição da síntese de amido e no estímulo de sua degradação (RIZHSKY et al., 2004; STITT & ZEEMAN, 2012), nos ajustes da etapa fotoquímica da fotossíntese, representada pela fluorescência da clorofila *a* (ORT & BAKER, 2002; BAKER & ROSENQVIST, 2004; RAKIĆ et al., 2015) e a entrada das plantas à dormência (RÍOS et al., 2014).

A senescência da parte aérea é outro mecanismo controlado endogenamente, fazendo parte do ciclo normal de vida das plantas (QUIRINO et al., 2000; THOMAS & OUGHAM, 2014) e também pelo ambiente, principalmente pelo déficit hídrico (NAGY et al., 2013). Durante a senescência das folhas, há a degradação da clorofila (QUIRINO et al., 2000), provocando queda na eficiência do aparato fotoquímico (LU et al., 2001; MOHAPATRA et al., 2013). A perda total das folhas vai de encontro com a dormência, uma vez que plantas de regiões semi-áridas investem na formação de órgãos-estoque em detrimento à manutenção da parte aérea (PATTY et al., 2010; PUMISUTAPON et al., 2012). Sob essa linha de raciocínio, é essencial compreender como os padrões metabólicos durante o ciclo normal de vida das plantas se alteram. Mais interessante, é observar se os padrões expressados nos momentos de perda das folhas durante o ciclo normal de vida da planta e em plantas que passaram por um período de déficit hídrico serão semelhantes entre si.

Para o desenvolvimento desse estudo, utilizamos a espécie *Curcuma zedoaria* (Christm.) Roscoe, nativa do Bangladesh, Sri Lanka e Índia e cultivada no Brasil (LOBO et al., 2009; SHAHRIAR, 2010). *C. zedoaria* é uma planta herbácea, perene, com rizomas (LOBO et al., 2009) e apresenta dormência em períodos desfavoráveis. Essa espécie é amplamente usada na medicina tradicional (RIAZ et al., 2011) e a literatura trás poucos relatos sobre a variação na sua composição química (PURKAYASTHA et al., 2006; LOBO et al., 2009).

O foco multidisciplinar, o qual aborda as áreas da ecofisiologia, fitoquímica e bioquímica levantaram perguntas sobre a manutenção dos aspectos metabólicos e fisiológicos de *Curcuma zedoaria* (Christm.) Roscoe. Essa planta, ao apresentar rizomas como órgãos de resistência ao ambiente desfavorável, deve ser capaz de tolerar a deficiência hídrica e apresentar dormência como um mecanismo que supera momentos de baixa disponibilidade hídrica. Além disso, os reguladores vegetais devem estar envolvidos com a superação da dormência das gemas, mas também com a modificação na produção de substâncias voláteis.

Portanto, temos dois aspectos na investigação do ciclo da dormência. O primeiro aspecto diz respeito à interferência dos reguladores vegetais no estímulo/atraso na brotação de gemas e suas consequências no padrão de produção de substâncias voláteis. O segundo aspecto dessa investigação tem por finalidade avaliar a performance fotoquímica, a síntese de amido e açúcares e a entrada da dormência em plantas que sofrem com deficiência hídrica. Assim, as hipóteses a serem comprovadas por este estudo são:

H₀: Baixas concentrações de cinetina e altas concentrações de ethephon apresentarão o melhor crescimento dos rizomas, as maiores brotações de gemas e comprimento de raízes;

H₀: A sinalização dos reguladores vegetais que inibem a brotação de gemas causarão modificações drásticas no perfil químico volátil dos rizomas. Em contrapartida, reguladores vegetais que estimulam a brotação de gemas causarão modificações pontuais no perfil químico volátil dos rizomas;

H₀: A restrição hídrica modificará drasticamente os padrões metabólicos do estado hídrico e a performance fotoquímica das plantas, elevando os teores de amido nos rizomas;

H₀: A restrição hídrica diminuirá os teores de açúcares redutores, açúcares solúveis e provocará a entrada da dormência dos rizomas.

II. OBJETIVOS

Objetivo geral:

Avaliar os efeitos dos reguladores vegetais e da deficiência hídrica no controle do ciclo da dormência de gemas

Objetivos específicos:

Comprovar se há interferência dos reguladores vegetais cinetina e ethephon na superação da dormência de gemas;

Verificar se há alteração no padrão de produção de substâncias voláteis causados por reguladores vegetais que inibem/estimulam o crescimento;

Verificar se há interferência da deficiência hídrica na mudança dos padrões do estado hídrico e da performance fotossintética da planta, bem como na intensificação da síntese do amido e no decréscimo de glicose e sacarose;

Comparar os padrões metabólicos e fisiológicos de plantas ao longo do seu ciclo normal de vida com plantas que passaram por um período de deficiência hídrica.

III-CAPÍTULO I

Efeito de reguladores vegetais na dormência de gemas e na produção de substâncias voláteis dos rizomas de *Curcuma zedoaria* (Christm.) Roscoe

Manuscrito no formato do periódico **Plant Biosystems**
(Qualis CAPES: **B2**; Fator de Impacto: **1.920**)

Efeito de reguladores vegetais na dormência de gemas e na produção de substâncias voláteis dos rizomas de *Curcuma zedoaria* (Christm.) Roscoe

RO Portella^a; MOM Marques^b; EO Ono^a; Silva, PSS^b; AM Fernandes^c; LF Rolim de Almeida^{a,c*}

^aDepartamento de Botânica, Instituto de Biociências de Botucatu, Univ. Estadual Paulista (UNESP), Botucatu, São Paulo, Brasil;

^bInstituto Agrônômico-IAC, Campinas, São Paulo, Brasil;

^cCentro de Raízes e Amidos Tropicais (CERAT), Univ. Estadual Paulista (UNESP), Botucatu, São Paulo, Brasil.

*autor correspondente: LF Rolim de Almeida, Departamento de Botânica, Instituto de Biociências de Botucatu, Univ. Estadual Paulista (UNESP), Botucatu, São Paulo, Brasil Tel: +55 14 3880 0116. Email: luizfernando@ibb.unesp.br.

Resumo

Reguladores vegetais modulam o metabolismo primário, controlando a superação da dormência. Os reguladores vegetais também podem alterar substancialmente a produção de substâncias voláteis ao longo do tempo. Portanto, foi investigado: (i) a interferência de cinetina (Kt) e ethephon (ETH) na superação da dormência de gemas nos rizomas de *Curcuma zedoaria* (Christm.) Roscoe; (ii) o reflexo da sinalização desses reguladores vegetais no perfil químico volátil dos rizomas, nos primeiros dias após a superação da dormência. Altas concentrações de ETH (600 mg.L⁻¹) atrasaram o crescimento dos rizomas e as demais concentrações afetaram negativamente o crescimento de raízes. Ethephon aumenta a produção de sesquiterpenos oxigenados e diminui os hidrocarbonetos monoterpênicos, mas apresentou padrão metabólico semelhante à condição sem aplicação de reguladores vegetais. Isso mostra que ETH, ao funcionar como sinalizador de estresses ambientais, pode levar ao investimento de outras classes de metabólitos especializados, os quais atuam de forma mais eficiente no combate aos possíveis estresses ambientais. Cinetina manteve a brotação de gemas semelhante às condições normais de crescimento, mas em baixas concentrações (50 mg.L⁻¹) diminuem o crescimento de raízes. Além disso, Kt aumenta a proporção relativa de monoterpênicos e diminui a de sesquiterpenos. A ação integrada de Kt no controle do aumento da divisão celular e na remobilização de açúcares converge com o estímulo da rota do metil-eritritol-fosfato e possível bloqueio da rota mevalonato, provocando aumento substancial dos monoterpênicos e diminuição dos sesquiterpenos ao longo dos dias.

Palavras-chave: padrão metabólico, metabolismo especializado, terpenos, gênero *Curcuma*

Introdução

Por definição, a dormência de gemas corresponde à ausência do crescimento visível dos tecidos meristemáticos em épocas desfavoráveis (Suttle, 2007; Rohde & Bhalerao, 2007; Johansson et al, 2015). Esse mecanismo é regulado por fatores abióticos (Del Pilar Paz et al, 2005; Ríos et al, 2014) e hormonais (Horvath et al, 2003), os quais atuam em conjunto modulando os ciclos de entrada e de superação da dormência (Horvath et al, 2003). A cascata de sinalização química produzida pelas condições ambientais favoráveis (dias longos, altas temperaturas e presença de água) e pelos teores ótimos de giberelinas (GA), citocininas (CK), auxinas (Ax), ácido abscísico (ABA) e etileno (Et) (Horvath et al, 2003; Suttle, 2007; Rohde & Bhalerao, 2007) regem a superação da dormência.

A sinalização química é a chave para compreender a modificação dos padrões no crescimento e no metabolismo das plantas. Os sinais produzidos pelo ambiente são captados por estruturas específicas e transportados para todo o organismo, conferindo ajustes metabólicos (Rohde & Bhalerao, 2007; Souza & Luetttge, 2015). Essa rede complexa de sinais proporciona a manutenção da homeostase da planta (Souza & Luetttge, 2015), gerando padrões metabólicos distintos (Baby et al, 2010). Sob essa perspectiva, os hormônios vegetais desempenham papel fundamental na transdução de sinais, regulando o metabolismo vegetal, induzindo respostas no controle do crescimento da planta (Suttle, 1998; Rohde & Bhalerao, 2007; Santner & estelle, 2009; Prins et al, 2013) e na modulação do metabolismo especializado (Katoh & Croteau, 1998; Kramer et al, 2012; Prins et al, 2013). Para Danner et al. (2015), a comunicação química entre a parte aérea e o sistema radicular deve ser mediada por hormônios vegetais, o que provoca alterações na produção de substâncias voláteis.

No que diz respeito ao desencadeamento de padrões metabólicos, o tempo de reação a um fator externo rege o princípio da sinalização química nas plantas. A produção de substâncias voláteis em curtos e longos períodos de tempo após a interação química com herbívoros se trata de um mecanismo altamente estudado (Loughrin et al, 1994; McCormick et al, 2014; Danner et al, 2015). Outros estudos mostram que a exposição das plantas aos diferentes reguladores vegetais durante tempos distintos de aplicação proporcionam efeitos fisiológicos diferentes (Rylski et al, 1974; Suttle, 1998; Thohirah et al, 2010; Kramer et al, 2012; Rentzsch et al, 2012). Apesar disso, ainda existem questionamentos sobre a viabilidade do tempo de aplicação dos reguladores vegetais como promotores/inibidores da superação da dormência de gemas. Logo, após a aplicação de um regulador vegetal de forma exógena, com o passar dos dias, é esperado que uma das consequências em rizomas seja a modificação nos padrões metabólicos das substâncias voláteis.

No período em que os rizomas de *Curcuma longa* L. estão dormentes, há atividade enzimática nas etapas da degradação de amido e na biossíntese de isoprenóides, direcionando o uso de carboidratos para o crescimento da parte aérea (Chokchaichamnankit et al, 2009). Enzimas das etapas da glicólise, dos ácidos carboxílicos e da oxidação fosforilativa têm máxima atividade após a brotação da parte aérea (Panneerselvam et al, 2007). Os autores também citam que a degradação do amido no final da dormência descende de um sinal químico e hormonal oriundo dos brotos de *C. longa*. Além disso, os açúcares controlam a sinalização química hormonal. A glicose atua na divisão celular, na biossíntese da parede celular e na retroalimentação da fotossíntese, enquanto que a sacarose atua na produção e estocagem de antocianinas (Bolouri-Moghaddam et al, 2010). Logo, açúcares também desempenham papel na sinalização que pode alterar os padrões do metabolismo especializado das substâncias voláteis após a superação da dormência de gemas.

Escolheu-se como modelo de estudo a espécie *Curcuma zedoaria* (Christm.) Roscoe, nativa das regiões do Bangladesh, Sri Lanka e Índia, também cultivada na China, Japão, Brasil, Nepal e Tailândia (Lobo et al, 2009; Shahriar, 2010). Ela é caracterizada como uma espécie herbácea, produtora de rizomas, de caráter medicinal (Wilson et al, 2005; Lobo et al, 2009), com distintas atividades biológicas (Lobo et al, 2009; Shinobu-Mesquita et al, 2011) e apresenta dormência durante períodos desfavoráveis de crescimento. A literatura apresenta estudos que abordam a superação da dormência em espécies do gênero *Curcuma* (Ishimine et al, 2004; Zhang et al, 2011) e a interferência de reguladores vegetais na produção dos terpenos em outras espécies de plantas (Pandit et al, 2010; Prins et al, 2013). Contudo, pouco se sabe sobre a ação da sinalização dos reguladores vegetais no padrão de brotação dessa planta e também na modificação do perfil químico volátil nos rizomas de *C. zedoaria* nos primeiros dias após a superação da dormência de gemas.

Cinetina (Kt) e ethephon (ETH) foram escolhidos como alvo nesse estudo por apresentarem efeitos fisiológicos distintos. As citocininas têm efeitos positivos na produção de óleos essenciais, de substâncias voláteis (Prins et al., 2010; Aremu et al, 2014) e na brotação das gemas (Rohde & Bhalerao, 2007; Suttle, 2007; Camili et al, 2010). Dessa forma, a aplicação de Kt exógena deveria estimular a brotação de gemas e provocar alterações pontuais no perfil químico de substâncias voláteis, se assemelhando às condições sem a aplicação de reguladores vegetais. O etileno atua na inibição do crescimento (Rylski et al, 1974; Suttle, 2007; Dugardeyn & Van Der Straeden, 2008) e também no metabolismo especializado de formas mais variadas (Kramer et al, 2012; Hemmerlin et al, 2012). Logo, a sinalização de ETH poderia atrasar a brotação dos rizomas e provocar drásticas alterações no perfil químico volátil dos rizomas, sendo essa modificação totalmente diferente das condições

sem a aplicação de reguladores vegetais. Nesse contexto, os objetivos foram: (i) investigar a interferência de cinetina (Kt) e ethephon (ETH) na superação da dormência de gemas nos rizomas de *Curcuma zedoaria* (Christm.) Roscoe e (ii) investigar o reflexo da sinalização dos reguladores vegetais no perfil químico volátil dos rizomas nos primeiros dias após a superação da dormência.

Material e Métodos

1. Objeto de estudo e local do experimento

Para a realização dos experimentos foram selecionados rizomas de *Curcuma zedoaria* (Christm.) Roscoe, com massa entre $15,79 \pm 6,07$ g, a partir de plantas cultivadas na Fazenda Experimental São Manuel, da Faculdade de Ciências Agrônômicas - UNESP, localizada no município de São Manuel – São Paulo, Brasil (coordenadas geográficas: 22° 77' S; 48° 57' W e 740 m de altitude), sob responsabilidade do Centro de Amidos e Rizomas Tropicais-CERAT. Os experimentos foram conduzidos em casa de vegetação com temperatura ($\pm 25^\circ\text{C}$) e umidade ($\pm 70\%$) controladas, com aproximadamente $800 \mu\text{mol.m}^{-2} \text{s}^{-1}$ de densidade de fluxo de fótons (DFFF), localizada no Departamento de Botânica, do Instituto de Biociências da UNESP, Botucatu.

2. Delineamento experimental

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com os tratamentos sorteados aleatoriamente. Foram selecionados aleatoriamente nove rizomas para cada tratamento, sendo esses tratados com os reguladores vegetais cinetina (Kt; produzido por Acros Organics, Kinetin[®], 99%) e ethephon (ETH; produzido por Rhodia Agro Ltda, Ethrel[®], Ethephon: 240 g.L⁻¹), nas concentrações de 50, 100 e 150 mg.L⁻¹ e 300, 450 e 600 mg.L⁻¹, respectivamente. Os rizomas foram imersos nessas soluções por 15 minutos ($t=15\text{min}$) e 30 minutos ($t=30\text{min}$). O tratamento controle foi o mesmo para ambos os reguladores vegetais com a imersão dos rizomas somente em água. As concentrações dos reguladores vegetais usados foram baseadas no estudo de Thohirah et al (2010).

Após a imersão nos reguladores vegetais, os rizomas foram acondicionados em bandejas de isopor de 20x25cm, contendo substrato comercial, furadas e irrigadas diariamente por 30 dias (início do experimento: 21/10/2014 e término: 21/11/2014). Características físico-químicas do substrato comercial: Condutividade elétrica = 1,5 dS/m diluição (1:5) variação 0,1 dS/m; pH: 5,65 variação de 0,25; capacidade de retenção de água: 51% em volume; porosidade total: 76%; densidade em umidade de 50%: 220 kg/m³ (umidade 50%); CTC: 1200 mmolc.dm⁻³; Composição física: *Sphagnum* 70%, palha de arroz torrefada 20%, perlita

10%; macro e micronutrientes (solúvel – solubilizado em água) = 0,64 g/L de substrato; 10% N – (2% amoniacal, 8% nitrato); 20% P₂O₅; 24% K₂O; 0,02% B; 0,05% Cu; 0,25% Fe (70% quelado); 0,08% Mn (80% quelado); 0,01% Mo ;0,05% Zn; fertilizantes fosfatados: Yoorin master 1S[®] = 2,2 g/L; Yoorin K[®] = 1,7 g/L e Super simples = 1,2 g/L.

Para a avaliação dos tratamentos foram realizadas as seguintes observações: porcentagem de gemas brotadas, comprimento total de raízes e índice de velocidade de brotação de gemas (IVB). Todas essas medidas foram observadas a cada 5 dias, totalizando 30 dias de experimento. O IVB (Herter et al, 2001) foi calculado através da equação abaixo:

$$IVB = \Sigma \left(\frac{b_1}{d_1} + \frac{b_2}{d_2} + \dots + \frac{b_n}{d_n} \right)$$

Onde: *bn*: número de gemas brotadas no *n* dia de análise de dados; *dn*: dia da coleta de dados, sendo eles, 1°, 6°, 11°, 16°, 21°, 26° e 31° dias de experimento.

Foram coletados no 1° dia (24 horas após a aplicação dos reguladores vegetais) e no 11° dia três rizomas expostos as concentrações de 150 mg.L⁻¹ de Kt (t=30min) e 600 mg.L⁻¹ de ETH (t=30min) para a caracterização das substâncias voláteis. Os rizomas foram cortados em pedaços de 0,5 cm, colocados em sacos de papel kraft[®] e secos em estufa com circulação forçada de ar à 40°C, até atingir massa constante. O material vegetal seco foi armazenado dentro de um armário, até o momento da análise fitoquímica.

3. Captura e caracterização das substâncias voláteis dos rizomas

As análises das substâncias voláteis foram realizadas no Centro de P&D de Recursos Genéticos Vegetais do Instituto Agronômico (IAC), Campinas, São Paulo. As substâncias voláteis dos rizomas foram capturadas por meio de técnica da microextração em fase sólida (SPME), empregando-se fibra CAR/PDMS (Carboxeno/Polidimetilsiloxano, espessura de filme de 75 µm, Supelco, Bellefonte, PA, EUA), condicionada conforme instruções do fabricante. Os rizomas secos (≈0,35 g) foram acondicionados em frasco de vidro (5 mL) com tampa rosqueável e septo. A seguir, foi adicionado 2,5 mL de água destilada e o frasco mantido em banho-maria à 90°C por 60 minutos. A fibra foi exposta ao *headspace* por 8 minutos para a captura dos voláteis, retraída e dessorvida a 220°C em Cromatógrafo à gás acoplado à Espectrômetro de Massas (CG-EM, Shimadzu, QP-5000), operando por impacto de elétrons (70 eV). Para a separação das substâncias foi utilizada coluna capilar de sílica fundida OV-5 Ohio Valley Specialty Chemical, Inc. (30,0m x 0,25mm x 0,25µm) e as

seguintes condições operacionais: detector a 230°C; gás de arraste: Hélio, vazão: 1,0 mL/min; Split: 1/20. Programa de temperatura: 60°C (2'), 60°C – 240°C, 3°C min⁻¹. As substâncias foram identificadas pela comparação dos seus espectros de massas com o banco de dados do CG-EM (NIST 62.lib) e pelo Índice de Retenção (Adams, 2007). O Índice de Retenção (IR) foi calculado pela injeção de uma mistura de *n*-alcanos (C₉- C₂₄) e calculado de acordo com a equação de Van Den Dool & Kratz (1963).

4. Análise estatística

Os resultados do último dia da avaliação (30 dias após a aplicação dos reguladores vegetais) foram submetidos à análise fatorial com dois fatores: 4 concentrações, 0, 50, 100 e 150 mg.L⁻¹ de Kt e 0, 300, 450 e 600 mg.L⁻¹ de ETH e dois tempos de imersão dos rizomas, 15 e 30 minutos, sendo as médias comparadas pelo teste Tukey ($p < 0.05$).

A análise de regressão linear ($f(x) = a.x + b$) entre o número de gemas brotadas *versus* o primeiro, o sexto, o décimo-primeiro e o trigésimo-primeiro dias de coleta de dados foi realizada a fim de observar o efeito da Kt e do ETH após a superação da dormência. A partir da comparação dos valores do coeficiente angular da reta (assíntota máxima, α), foi escolhido os tratamentos usados na avaliação da produção de substâncias voláteis. Foram escolhidas as concentrações de 150 mg.L⁻¹ (t=30min) de Kt e 600 mg.L⁻¹ de ETH (t=30min).

As substâncias identificadas no perfil químico dos rizomas no tratamento controle, sob a ação de ethephon e cinetina foram analisadas individualmente pelo teste *t* ($p < 0.05$). A seguir, foi avaliada a razão de produção com o somatório das médias das proporções relativas de monoterpenos totais (M, onde $M = \text{hidrocarbonetos monoterpênicos} + \text{monoterpenos oxigenados}$) e de sesquiterpenos totais (S, onde $S = \text{hidrocarbonetos sesquiterpênicos} + \text{sesquiterpenos oxigenados}$) para o primeiro e o décimo-primeiro dias após a aplicação dos reguladores vegetais.

A proporção da produção relativa das substâncias voláteis que compõem a classe de terpenos (hidrocarbonetos monoterpênicos, monoterpenos oxigenados, hidrocarbonetos sesquiterpênicos, sesquiterpenos oxigenados) e demais compostos foi calculada para o primeiro e o décimo-primeiro dias, por meio da seguinte fórmula:

$$\text{Proporção relativa da classe de substância} = \left[\frac{\text{Valor da Classe de substância no 11º dia} \times 100}{\text{Valor da Classe de substância no 1º dia}} \right] - 100$$

Para a Análise de Componentes Principais (PCA) foram utilizadas as médias dos valores das substâncias voláteis. A construção da PCA se deu pelo uso do algoritmo da

correlação de Pearson ($n-1$) e as variáveis que expressaram maior correlação com as observações foram escolhidas pelos valores dos cossenos quadrados (valor $>0,700$). A PCA, anteriormente construída com 45 variáveis, passou a conter apenas 21 variáveis, as quais contribuíram com 91.36% da correlação total dos dados. Também foi realizada a análise hierárquica de Cluster (AHC) com matriz de dissimilaridade, usando o *Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean* (UPGMA) como método de aglomeração e o algoritmo da Distância Euclideana.

Resultados

1. Ação dos reguladores vegetais na superação da dormência de gemas dos rizomas

Para cinetina (tabela 1a), tanto as concentrações quanto os tempos de imersão afetaram o crescimento de raízes (interação significativa, $p=0,004$). Somente a concentração de 50 mg.L^{-1} ($t=15\text{min}$) causou decréscimo nos valores do comprimento total de raízes (tabela 1b). Não houve efeito significativo na porcentagem de brotação de gemas e no IVB, mostrando que a cinetina não interfere nos padrões de crescimento da parte aérea. Apesar disso, o tempo de exposição do rizoma à Kt modificou a dinâmica do crescimento de raízes.

Para ethephon, tanto as concentrações quanto os tempos de imersão dos rizomas afetaram significativamente a porcentagem de brotação de gemas (interação significativa, $p=0,005$), o índice de velocidade de brotação de gemas (interação significativa, $p=0,034$) (tabela 2a) e o comprimento total de raízes (interação significativa, $p=0,002$) (tabela 2a). A concentração de 600 mg.L^{-1} ($t=30\text{min}$) causou queda significativa nos valores de ambas as variáveis e a concentração de 450 mg.L^{-1} ($t=15\text{min}$) apresentou o maior valor na brotação de gemas (tabela 2b). Concentrações de 300, 450 e 600 mg.L^{-1} ($t=15\text{min}$) causaram decréscimo significativo no comprimento de raízes e com a alteração do tempo de imersão dos rizomas ($t=15\text{min}$ para $t=30\text{min}$), as concentrações de 300 e 450 mg.L^{-1} ainda mantiveram efeitos negativos no crescimento total de raízes (tabela 2b). Portanto, ethephon influencia negativamente o crescimento das raízes. Além disso, a brotação da parte aérea apresentou efeito distinto com relação ao tempo de exposição e a concentração aplicada.

2. Ação dos reguladores vegetais na produção de substâncias voláteis nos rizomas

2.1. Produção de substâncias voláteis ao longo dos dias sob ação de Kt e ETH

Segundo a análise de regressão linear (tabela 3, figura 1), os 600 mg.L^{-1} ($t=30\text{min}$) de ETH apresentaram os menores valores da assíntota máxima, expressando a pior performance na brotação das gemas. A fim de comparar a presença de efeitos distintos ao ethephon,

escolhemos a concentração de 150 mg.L^{-1} ($t=30\text{min}$) de Kt, por apresentar valores elevados da assíntota máxima, expressando efeitos positivos na brotação.

O perfil químico dos rizomas de *C. zedoaria* (Tabela 4, figura 2) é constituído, principalmente, por substâncias monoterpênicas (hidrocarbonetos monoterpênicos, monoterpênicos oxigenados) e sesquiterpênicas (hidrocarbonetos sesquiterpênicos, sesquiterpênicos oxigenados) e em menor quantidade por compostos não pertencentes à classe dos terpenos, contendo grupos funcionais cetona, aldeído e álcool, denominados no presente estudo como demais compostos. No total, foram identificadas 45 substâncias voláteis no rizoma de *C. zedoaria*. As substâncias majoritárias voláteis são: β -pineno, mirceno, canfeno, 1,8-cineol, cânfora, 2-nonanona, 2-nonanol e curzerenona.

Sob condições de crescimento sem interferência de reguladores vegetais, as substâncias δ -3-careno, 1,8-cineol, cânfora, isoborneol, terpinen-4-ol e α -terpineol apresentaram diferenças significativas entre o 1º e o 11º dias de experimento, com redução da proporção relativa, enquanto 2-nonanona, 2-decanona, 2-decanol, 2-undecanona, β -elemeno, germacreno D, β -selineno, curzereno, β -himachaleno, germacreno B e óxido de cariofileno tiveram aumento significativo. Além disso, com o passar dos dias, o conteúdo dos monoterpênicos oxigenados diminuiu significativamente, enquanto que os hidrocarbonetos sesquiterpênicos e os demais compostos tiveram elevação significativa na proporção relativa. Portanto, em situações normais de crescimento (sem aplicação de regulador vegetal), a tendência do metabolismo de substâncias voláteis é a redução do conteúdo das substâncias monoterpênicas e a elevação das sesquiterpênicas e dos demais compostos.

Ethephon elevou significativamente apenas as proporções relativas de terpinen-4-ol e α -terpineol. Para cinetina, a proporção relativa de 2-nonanona, 2-nonanol, 2-decanona, 2-decanol, β -himachaleno, δ -cadineno, óxido de cariofileno, globulol, curzerenona e germacrona diminuiu significativamente com o passar dos dias, enquanto, sabineno, *n*-nonanal, *n*-decanal, acetato de isobornila e α -humuleno elevaram significativamente suas proporções relativas. Além disso, o conteúdo dos sesquiterpênicos oxigenados e dos demais compostos sofreram reduções significativas.

Após 24 horas, a razão entre monoterpênicos totais e sesquiterpênicos totais (M/S) para o controle, para ethephon e para cinetina foi respectivamente, de 8,08, 7,11 e 6,09. No 11º dia, o controle apresentou razão M/S de 4,16, ETH de 5,18 e Kt de 20,88 (tabela 4). Dessa forma, durante situações normais de crescimento (sem aplicação de regulador vegetal), a razão M/S diminuiu em 48,53%, enquanto que sob ação do ethephon, houve redução de 27,15%. Contudo, para cinetina essa razão aumentou em 242,54%.

2.2. Ação de Kt e ETH na variação temporal na produção das substâncias voláteis

Ao analisar a dinâmica da produção de substâncias voláteis nos rizomas do 1º ao 11º dia, observa-se que em situações normais de crescimento, os hidrocarbonetos monoterpênicos (-4,89%) e os monoterpênicos oxigenados (-21,22%) diminuíram suas proporções, enquanto que os hidrocarbonetos sesquiterpênicos (188,56%), os sesquiterpenos oxigenados (46,24%) e os demais compostos (35,22%) elevaram suas proporções (tabela 5). Sob a ação de ETH, as proporções de monoterpênicos oxigenados (4,49%) e sesquiterpenos oxigenados (38,52%) se elevaram e as proporções de hidrocarbonetos monoterpênicos (-45,67%), hidrocarbonetos sesquiterpênicos (-1,75%) e dos demais compostos (-12,98%) diminuíram. Para Kt, as proporções de hidrocarbonetos monoterpênicos (23,34%) e de monoterpênicos oxigenados (27,04%) se elevaram e as proporções de hidrocarbonetos sesquiterpênicos (-35,35%), de sesquiterpenos oxigenados (-67,99%) e demais compostos (-31,09%) diminuíram, conforme demonstrado na Tabela 5.

A PCA explica 91,36% da correlação total dos dados. A primeira componente principal (F1) explica 64,73% dos dados, delimitando o investimento semelhante de altas concentrações de ethephon (600 mg.L⁻¹) com o controle na produção dos metabólitos voláteis nos rizomas (figura 3). Esse padrão foi caracterizado pelos monoterpênicos oxigenados 1,8-cineol, cânfora, borneol e isoborneol, cujos teores se mantiveram próximos ao tratamento controle do 1º dia (tabela 4). A segunda componente principal (F2) explica 26,63% da correlação total dos dados. F1 e F2 explicam outras correlações entre as variáveis e as observações. O controle no 11º dia é caracterizado por hidrocarbonetos sesquiterpênicos e sesquiterpenos oxigenados. A cinetina no 1º dia é caracterizada por hidrocarbonetos monoterpênicos e por demais compostos. A cinetina no 11º dia é caracterizada por hidrocarbonetos monoterpênicos e monoterpênicos oxigenados.

Na análise de Cluster (figura 4) a cinetina foi agrupada em um ramo distinto de ethephon e do controle. Logo, com o passar dos dias após a superação da dormência, a Kt provoca drásticas modificações no padrão de produção das substâncias voláteis, direcionada para o aumento das proporções relativas de monoterpênicos e redução de sesquiterpenos. Além disso, ETH desencadeou variação das substâncias voláteis, priorizando a produção de sesquiterpenos oxigenados e diminuindo a produção de hidrocarbonetos monoterpênicos.

Discussão

1. Interferência dos reguladores vegetais na superação da dormência

As concentrações de cinetina aplicadas não estimularam, mas mantêm a brotação das gemas nos rizomas de *C. zedoaria*. Além disso, o tempo de exposição à cinetina não é fator de

interferência para a brotação das gemas. As CKs atuam na superação da dormência de gemas, no controle da divisão celular, no crescimento das gemas axilares e na brotação das gemas (Anderson et al, 2001; Howell et al, 2003; Pallardy, 2008; Li et al, 2013). Citocininas estimulam a divisão celular, atuando na transição da fase G1/S por ativar o complexo quinase cdc2a/ciclina, o qual fosforila e inativa proteínas do retinoblastoma, supressores dos genes que controlam a fase S (den Boer & Murray, 2000; Suttle, 2007). As CKs também atuam na manutenção da expressão e estabilidade dos genes envolvidos com a fase G2-M da divisão celular, necessários na citocinese (Horvath et al, 2003). Além disso, há elevação nos teores desse hormônio vegetal próximos à brotação das gemas (Suttle & Banowetz, 2000). Logo, a sinalização das CKs promove a retomada do crescimento e, conseqüentemente, estimula a brotação das gemas da parte aérea (Rohde & Bhalerao, 2007).

As baixas concentrações de Kt modificam a sinalização química nas gemas radiculares, alterando o padrão de distribuição da auxina nesses meristemas e desencadeando a redução no crescimento das raízes. Altos teores de CKs nos tecidos do meristema radicular regulam negativamente a formação e o alongamento de raízes laterais (Debi et al, 2005), pois CK é antagonista à auxina no crescimento de raízes (Dello Loio et al, 2007). As CKs modificam o padrão da expressão dos genes *PIN*, responsáveis pela síntese dos transportadores de Ax para os tecidos (Santner & Estelle, 2009). Como consequência, os meristemas radiculares não apresentarão teores ótimos de Ax necessários para a retomada do crescimento (Dello Loio et al, 2007; Santner & Estelle, 2009). Outro ponto importante é que as CKs promovem a síntese de etileno (Et) nos tecidos vegetais (Dugardeyn & Van Der Straeten, 2008). Dessa forma, as baixas concentrações de Kt aplicadas nesses rizomas podem ter elevado a síntese de Et nos meristemas radiculares, causando um menor crescimento das raízes nos rizomas de *C. zedoaria*.

A ação do ethephon na redução do crescimento radicular é relacionada com a interação da sinalização química entre os hormônios vegetais. A retroalimentação entre a Ax e a manutenção da conformação de proteínas DELLA diminuem a sinalização de GA. Como consequência, há redução no crescimento de raízes. A sinalização de etileno se dá pela ligação com receptores primários (ETR1, ERS1, ETR2, EIN4 e ERS2) encontrados no retículo endoplasmático (Kieber et al, 1993; De Paepe & Van Der Straeten, 2005). Com a queda da atividade de CTR1, repressora da sinalização de Et, a cascata MAPK ativa EIN2, o qual ativará controladores da expressão gênica que desencadeiam respostas na defesa e no crescimento diferencial das plantas (Kieber et al, 1993; De Paepe & Van Der Straeten, 2005; Dugardeyn & Van Der Straeten, 2008).

A ação integrada dos hormônios vegetais é vital para a manutenção do crescimento. É sabido que o etileno inibe o crescimento radicular (Song et al, 2005; Dugardeyn & Van Der Straeden, 2008) por suprimir os primórdios de crescimento das raízes laterais (Huang et al, 2013). O Et estimula a síntese de Ax ao elevar a expressão gênica de *WEI2* e *WEI7*, a qual em altas concentrações eleva a sensibilidade das células ao etileno, reprimindo o crescimento das raízes (Dugardeyn & Van Der Straeden, 2008). As proteínas DELLA apresentam degradação proteômica dependente da presença de GA (Santner & Estelle, 2009). Contudo, na presença de Et, essas proteínas se mantêm estáveis, diminuindo a sinalização das GAs no tecidos, o que leva a queda nas taxas de crescimento das raízes (Dugardeyn & Van Der Straeden, 2008; Santner & Estelle, 2009). Logo, o ethephon desencadeia a complexa sinalização entre os hormônios vegetais, atuando profundamente no controle da brotação de gemas de *C. zedoaria*.

Acreditamos que, tanto o tempo de exposição ao ETH, quanto as diferentes concentrações de ETH aplicadas são fatores-chave na modificação das respostas fisiológicas, contribuindo diferencialmente com o crescimento do rizoma após a superação da dormência. Essas modificações ocorrem pois o etileno estimula a respiração celular nos tecidos das plantas e, como consequência, haverá aumento nas concentrações de CO₂ nesses tecidos, substância antagonista ao efeito fisiológico do etileno (Fagan et al, 2015). Dependendo da concentração e da duração da exposição, o etileno diminui ou prolonga a dormência dos tubérculos (Külen et al, 2011). Exposições ao Et por menos de 3 dias resultam no término prematuro da endodormência em tubérculos, mas a exposição contínua inibe o crescimento (Rylski et al, 1974; Suttle, 1998). Além disso, 6 µL de etileno provocam a inibição em quase todas as plantas, mas após o cessar da sua aplicação, o crescimento continuou normalmente (Kamerbeek & De Munk, 1976). Apesar de altas concentrações de ETH (750 mg.L⁻¹) estimularem a brotação de gemas em *C. alismatifolia* (Thohirah et al, 2010), a resposta fisiológica de *C. zedoaria* foi diferente, expressando atrasos no crescimento dos rizomas quando aplicada altas concentrações de ETH.

2. Padrão temporal da produção de substâncias voláteis sob ação de Kt e ETH

O primeiro aspecto que leva ao aumento dos monoterpenos nos rizomas de *C. zedoaria* é a ação da Kt no controle da divisão celular, uma vez que tecidos mais jovens devem apresentar maiores proporções relativas de substâncias monoterpênicas. As CKs atuam na divisão celular durante o crescimento vegetal (Santner & estelle, 2009; Eviatar-Ribak et al, 2013; Ramireddy et al, 2014) e também na superação da dormência de gemas (Anderson et al, 2001; Horvath et al, 2003; Rohde & Bhalerao, 2007). Sabe-se que tecidos jovens de folhas têm elevada produção de monoterpenos (Gershenzon et al, 2000; Fischbach et al, 2002), pois

a expressão das monoterpene-sintases é elevada nesse tipo de tecido (Grausgruber-Gröger et al, 2012). Tecidos jovens de *Catharanthus roseus* (L.) G. Don apresentam expressão gênica de enzimas da rota do metil-eritritol-fosfato (rota MEP) (Hemmerlin et al, 2012) e rizomas de *Zingiber officinale* Roscoe e *Curcuma longa* L. têm alta expressão gênica de monoterpene-sintases (Koo & Gang, 2012). Apesar disso, nada foi encontrado sobre a produção de voláteis em tecidos jovens de rizomas. Dessa forma, levantamos a hipótese de que a cinetina atuaria positivamente no aumento da atividade metabólica da rota MEP. Como consequência, há aumento nas proporções dos monoterpenos, uma vez que a Kt deve aumentar o número de células e tecidos jovens nas plantas após a superação da dormência.

O segundo ponto é o efeito da Kt na remobilização de açúcares oriundos de reservas energéticas dos drenos. Os açúcares operam uma complexa rede de sinalização hormonal nas plantas (Bolouri-Moghaddam et al, 2010). Além disso, as CKs atuam no controle da formação de órgãos-estoque (Eviatar-Ribak et al, 2013) e na mobilização de açúcares dos tecidos fonte para drenos em crescimento (Barbier et al, 2015). Atrelado à ação dos açúcares derivados da fotossíntese no estímulo da rota MEP nos cloroplastos (Hemmerlin et al, 2012) e da possível ação das CKs em mediar a acumulação de substâncias de defesa na planta (Robischon, 2015), a sinalização química conjunta de Kt e dos açúcares deve regular a atividade da rota MEP. Portanto, Kt deve elevar a proporção relativa dos monoterpenos nos rizomas em crescimento após superarem a dormência.

Há também um terceiro ponto da ação de Kt no metabolismo especializado. Cinetina também provoca quedas substanciais nas proporções relativas dos sesquiterpenos. Em *Cucumis sativus* L., há inibição transcricional de *HMGRI*, gene da rota MVA, após a aplicação de benzilamino-purina (Hemmerlin et al, 2012). O aumento das concentrações de BAP diminuem os teores de citral em *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf (Prins et al, 2013). Os autores afirmam que esse efeito está relacionado com a promoção do crescimento pela citocinina, o que levaria à ativação de rotas de biossíntese dos precursores de mono e sesquiterpenos. Logo, como consequência do estímulo da rota MEP pelas CKs, a rota MVA deve ser pouco estimulada, e até inibida por Kt, levando à redução nas proporções relativas dos sesquiterpenos. Contudo, pouco se sabe sobre o controle das CKs na rota MVA e mais estudos deverão ser conduzidos para a comprovação dessa hipótese.

O etileno é o hormônio vegetal sinalizador de estresses ambientais, prevenindo o crescimento da parte aérea e das raízes em momentos desfavoráveis. Além disso, ETH age prioritariamente no estímulo da produção de substâncias sesquiterpênicas, diferente da ação de cinetina. O Et inibe o crescimento dos tecidos vegetativos (Achard et al, 2003) e atua na cascata de sinalização dos estresses ambientais (Pallardy, 2008). Além disso, o Et é capaz de

alterar a expressão gênica de genes da rota MVA e da rota MEP em *Hevea brasiliensis* (Kunth) Müll. Arg. e *Medicago truncatula* Gaertn. (Hemmerlin et al, 2012) e diminuir os níveis totais de terpenos de *Daucus carota* L. (Kramer et al, 2012). Assim, formulamos a hipótese de que, enquanto a sinalização química de ETH estiver presente nos tecidos dos rizomas, haverá privilégio na produção de outras classes de metabólitos especializados, além das substâncias voláteis, os quais seriam utilizados nas linhas de defesa da planta contra possíveis estresses ambientais. Um dos exemplos, é a ação do etileno em elevar os teores de compostos fenólicos através do aumento na atividade de fenilalanina amonialiase (PAL), principal enzima da rota dos fenilpropanóides (Basilio Heredia & Cisneros-Zevallos, 2009).

Além da ação na proteção contra a interferência dos fatores bióticos e abióticos (Vickers et al, 2009), substâncias do metabolismo especializado são utilizadas como fonte energética. A remobilização do carbono é um mecanismo benéfico para a planta, pois os esqueletos carbônicos do metabolismo especializado, temporariamente usados como substâncias de defesa, podem ser prontamente remobilizados para manter o crescimento (Neilson et al, 2013). A queda nas proporções relativas dos hidrocarbonetos monoterpênicos (-45.67%, tabela 5) poderia indicar a remobilização de energia para a manutenção do crescimento do rizoma, já que ETH tem efeito direto no metabolismo dos monoterpênicos (El-Keltawi & Croteau, 1986).

Durante as etapas que precedem a superação da dormência, o metabolismo primário está em pleno funcionamento, fornecendo energia necessária para a saída da dormência (Anderson et al, 2005; Panneerselvam et al, 2007; Barbier et al, 2015). Porém, o etileno provoca a inibição do crescimento (Suttle, 1998; Song et al, 2005) e esse atraso deve ter modificado as vias metabólicas relacionadas com o fornecimento de energia para a superação da dormência. Logo, a remobilização das substâncias monoterpênicas poderia ser usada como fonte alternativa de energia, a qual iria conferir a manutenção no crescimento dos rizomas, mesmo sob efeito de altas concentrações de ethephon.

Conclusões

Cinetina e ethephon alteram o padrão de brotação e, conseqüentemente, modificam o perfil químico volátil nos rizomas de *C. zedoaria*. Cinetina mantém o padrão de brotação das gemas e provoca redução das proporções relativas de sesquiterpenos e aumento de monoterpênicos. Altas concentrações de ethephon atrasam a brotação de gemas, elevam a produção de sesquiterpenos oxigenados e diminuem a produção de hidrocarbonetos monoterpênicos. O investimento em um novo *pool* de constituintes voláteis confere aos

rizomas maior diversidade de moléculas que proporcionarão uma rede de interações químicas na proteção contra herbívoros, na comunicação planta-animal e na comunicação planta-planta.

Agradecimentos

Nós agradecemos à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e a FAPESP, nº processo 2010/15585-6.

Referencial bibliográfico

Achard P, Vriezen WH, Van Der Straeten D, Harberd NP. 2003. Ethylene regulates Arabidopsis development via the modulation of DELLA protein growth repressor function. *Plant Cell* 15: 2816–2825.

Adams RP. 2007. Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectroscopy. Allured Publ. Corp, Carol Stream.

Anderson JV, Chao WS, Harvath, DP. 2001. A current review on the regulation of dormancy in vegetative buds. *Weed Sci* 49(5): 581-589.

Anderson JV, Gesch RW, Jia Y, Chao WS, Horvath DP. 2005. Seasonal shifts in dormancy status, carbohydrate metabolism, and related gene expression in crown buds of leafy spurge. *Plant Cell Environ*, 28: 1567-1578.

Aremu AO, Plačková L, Bairu MW, Novák N, Ščüiová L, Doležal K, Finnie JF, Van Staden J. 2014. Endogenous cytokinin profiles of tissue-cultured and acclimatized ‘Williams’ bananas subjected to different aromatic cytokinin treatments. *Plant Sci* 214: 88–98.

Baby S, Raj G, Thaha ARM, Dan M. 2010. Volatile chemistry of a plant: monosesquiterpenoid pattern in the growth cycle of *Curcuma haritha*. *Flavour Frag J* 25: 35–40.

Barbier FF, Lunn JE, Beveridge CA. 2015. Ready, steady, go! A sugar hit starts the race to shoot branching. *Curr Opin Plant Biol* 25: 39-45.

Basilio Heredia J, Cisneros-Zevallos, L. 2009. The effect of exogenous ethylene and methyl jasmonate on pal activity, phenolic profiles and antioxidant capacity of carrots (*Daucus carota*) under different wounding intensities. *Postharvest Biol Tec* 51:242-249.

Bolouri-Moghaddam MR, Le Roy K, Xiang L, Rolland F, Van Dan Ende W. 2010. Sugar signalling and antioxidant network connections in plant cells. *FEBS J* . 277: 2022-2037.

Camili EC, Rodrigues JD, Ono EO. Biorregulators on sprouting of superior seedless vineyards. *Biosci. J* 26:339-346, 2010.

Chokchaichamnankit D, Subhasitanont P, Paricharttanakul NM, Sangvanich P, Svasti J, Srisomsap C. 2009. Proteomic alterations during dormant period of *Curcuma longa* rhizomes. *J Proteomics Bioinform* 2 (9): 380-287.

Danner H, Brown P, Cator EA, Harren FJM, Van Dam NM, Cristescu SM. 2015. Aboveground and belowground herbivores synergistically induce volatile organic sulfur compound emissions from shoots but not from roots. *Journal Chem Ecol* 41: 631-640.

Debi BR, Taketa S, Ichii M. 2005. Cytokinin inhibits lateral root initiation but stimulates lateral root elongation in rice (*Oryza sativa*). *Journal Plant Physiol* 162: 507-515.

De Paepe A, Van Der Straeten, D. 2005. Ethylene biosynthesis and signaling: an overview. *Vitam Horm* 72: 399-430.

den Boer BG, Murray AH. 2000. Triggering the cell cycle in plants. *Trends Cell Biol* 10: 245-250.

Del Pilar Paz M, Kuehny JS, McClure G, Graham C, Criley R. 2005. Effect of rhizome storage duration and temperature on carbohydrate content, respiration, growth, and flowering of ornamental Ginger. *Acta Hortic* 673: 737-744.

Dello Loio R, Linhares FS, Scacchi E, Casamitjana-Martinez E, Heidstra R, Costantino P, Sabatini S. 2007. Cytokinins determine *Arabidopsis* root-meristem size by controlling cell differentiation. *Curr Biol* 17: 678–682.

Dugardeyn J, Van Der Straeten D. 2008. Ethylene: Fine-tuning plant growth and development by stimulation and inhibition of elongation. *Plant Sci* 175: 59–70.

El-Keltawi N, Croteau R. 1986. Influence of ethephon and daminozide on growth and essential oil content of peppermint and sage. *Phytochemistry* 25(6): 1285-1288.

Eviatar-Ribak T, Shalit-Kaneh A, Chappell-Maor L, Amsellem Z, Eshed Y, Lifschitz E. 2013. A cytokinin-activating enzyme promotes tuber formation in tomato. *Curr Biol* 23: 1057-1064.

- Fagan EB, Ono EO, Rodrigues JD, Chalfun Júnior A, Dourado Neto D. 2015. Fisiologia Vegetal: Reguladores Vegetais. Editora Andrei, pp 300.
- Fischbach RJ, Staudt M, Zimmer I, Rambal S, Schnitzler J.-P. 2002. Seasonal pattern of monoterpene synthase activities in leaves of the evergreen tree *Quercus ilex*. *Physiol Plantarum* 114: 354–360.
- Gershenson J, McConkey ME, Croteau RB. 2000. Regulation of monoterpene accumulation in leaves of peppermint. *Plant Physiol* 122: 205–213.
- Grausgruber-Gröger S, Schmiederer C, Steinborn R, Novak J. 2012. Seasonal influence on gene expression of monoterpene synthases in *Salvia officinalis* (Lamiaceae). *J Plant Physiol* 169: 353-359.
- Hemmerlin A, Harwood JL, Bach TJ. 2012. *A raison d'être* for two distinct pathways in the early steps of plant isoprenoid biosynthesis? *Progr Lipid Res* 51: 95–148.
- Herter FG, Machado LB, Oliveira, MF, Silva JB. 2001. Efeito do frio na brotação de gemas de pereira (*Pyrus communis* L.) cv. Carrick, em Pelotas, RS. *Rev Bras Frutic* 23(2): 261-264.
- Horvath DP, Anderson JV, Chao WS, Foley ME. 2003. Knowing when to grow: signals regulating bud dormancy. *Trends Plant Sci* 8(11): 534-540.
- Howell SH, Lall S, Che P. Cytokinins and shoot development. 2003. *Trends Plant Sci* 8(9): 453-459.
- Huang W-N, Liu H-K, Zhang H-H, Chen Z, Guo Y-D, Kang Y-F. 2013. Ethylene-induced changes in lignification and cell wall-degrading enzymes in the roots of mungbean (*Vigna radiata*) sprouts. *Plant Physiol Bioch* 73: 412-419
- Ishimine Y, Hossain MdA, Motomura K, Akamine H, Hirayama T. 2004. Effects of planting date on emergence, growth and yield of turmeric (*Curcuma longa* L.) in Okinawa prefecture, Southern Japan. *Jpn J Trop Agr* 48(1): 10-16.

Johansson M, Ramos-Sánchez JM, Conde D, Ibáñez C, Takata N, Allona I, Eriksson ME. 2015. Role of the Circadian Clock in Cold Acclimation and Winter Dormancy in Perennial Plants. in: Anderson JV, editor. *Advances in Plant Dormancy*. Springer International Publishing, Switzerland, pp.51-74.

Kamerbeek GA, De Munk WJ. 1976. A review of ethylene effects in bulbous plants. *Sci Hort* 4: 101-115.

Katoh S, Croteau R. 1998. Individual variation in constitutive and induced monoterpene biosynthesis in Grand Fir. *Phytochemistry* 47(4): 577-582.

Kieber JJ, Rothenberg M, Roman G, Feldmann KA, Ecker JR. 1993. *CTR1*, a negative regulator of the ethylene response pathway in *Arabidopsis*, encodes a member of the Raf family protein kinases. *Cell*, 72: 427-441.

Koo HJ, Gang DR. 2012. Suites of terpene synthases explain differential terpenoid production in ginger and turmeric tissues. *Plos One*, 7(2): 51481-1-23.

Kramer M, Bufler G, Ulrich D, Leitenberger M, Conrad J, Carle R, Kammerer DR. 2012. Effect of ethylene and 1-methylcyclopropene on bitter compounds in carrots (*Daucus carota* L.). *Postharvest Biol Tec* 73: 28–36.

Külen O, Stushnoff C, Davidson RD, Holm DH. 2011. Gibberellic acid and ethephon alter potato minituber bud dormancy and improve seed tuber yield. *Am J Potato Res* 88: 167–174.

Li H, Xu T, Lin D, Wen M, Xie M, Duclercq J, Bielach A, Kim J, Reddy GV, Zuo J, Benková E, Friml J, Guo H, Yang Z. 2013. Cytokinin signaling regulates pavement cell morphogenesis in *Arabidopsis*. *Cell Res* 23: 290-299.

Lobo R, Prabhu KS, Shirwaikar A, Shirwaikar A. 2009. *Curcuma zedoaria* Rosc. (white turmeric): a review of its chemical, pharmacological and ethnomedicinal properties. *Journal of Pharm Pharmacol* 61: 13-21.

Loughrin JH, Manukian A, Heath RR, Turlings TCJ, Tumlinson JH. 1994. Diurnal cycle of emission of induced volatile terpenoids by herbivore-injured cotton plants. *Proc Natl Acad Sci USA* 91(25): 11836-11840.

McCormick AC, Boeckler GA, Köllner TG, Gershenzon J, Unsicker SB. 2014. The timing of herbivore-induced volatile emission in black poplar (*Populus nigra*) and the influence of herbivore age and identity affect the value of individual volatiles as cues for herbivore enemies. *BMC Plant Biol* 14 (304): 1-13.

Neilson EH, Goodger JQD, Woodrow IE, Møller BL. 2013. Plant chemical defense: at what cost? *Trends Plant Sci* 18 (5): 250–258.

Pallardy SG. 2008. Plant Hormones and Other Signaling Molecules. In: *Physiology of Woody Plants*. Elsevier Inc. Academic Press 3th ed. p.367-377.

Pandit SS, Kulkarni RS, Giri AP, Köllner TG, Degenhardt J, Gershenzon J, Gupta VS. 2010. Expression profiling of various genes during the fruit development and ripening of mango. *Plant Physiol Bioch* 48: 426-433.

Panneerselvam R, Jaleel CA, Somasundaram R, Sridharan R, Gomathinayagam M. 2007. Carbohydrate metabolism in *Dioscorea esculenta* (Lour.) Burk. tubers and *Curcuma longa* L. rhizomes during two phases of dormancy. *Colloid Surface B* 59: 59–66.

Prins CL, Vieira IJC, Freitas SP. 2010. Growth regulators and essential oil production. *Braz J Plant Physiol* 22(2): 91-102.

Prins CL, Freitas SP, Gomes MMA, Vieira IJC, Gravine GA. 2013. Citral accumulation in *Cymbopogon citratus* plant as influenced by N6-benzylaminopurine and light intensity. *Theor Exp Plant Physiol* 25(2): 159-166.

Ramireddy E, Chang L, Schmülling T. 2014. Cytokinin as a mediator for regulating root system architecture in response to environmental cues. *Plant Signal Behav* 9: e27771-1-e27771-4.

Rentzsch S, Podzimska D, Voegelé A, Imbeck M, Müller K, Linkies A, Leubner-Metzger G.

2012. Dose- and tissue-specific interaction of monoterpenes with the gibberellin-mediated release of potato tuber bud dormancy, sprout growth and induction of α -amylases and β -amylases. *Planta* 235: 137–151.

Ríos G, Leida C, Badenes ML. 2014. Epigenetic regulation of bud dormancy events in perennial plants. *Front Plant Sci* 5: 1-6.

Robischon M. 2015. Do cytokinins function as two-way signals between plants and animals? *Bioessays* 37: 356–363.

Rohde A, Bhalerao RP. 2007. Plant dormancy in the perennial context. *Trends Plant Sci* 12(5): 217-223.

Rylski I, Rappaport L, Pratt HK. 1974. Dual effects of ethylene on potato dormancy and sprout growth. *Plant Physiol* 53: 658-662.

Santner A, Estelle M. 2009. Recent advances and emerging trends in plant hormone signaling. *Nature* 459: 1071-1078.

Shahriar M. Antimicrobial activity of the rhizomes of *Curcuma zedoaria*. 2010. *Journal of Bangladesh Academy of Sciences* 34: 201-203.

Shinobu-Mesquita CS, Bertoni TA, Guilhermetti E, Svidzinski TIE. 2011. Antifungal activity of the extract of *Curcuma zedoaria* against yeasts of the genus *Candida* isolated from the oral cavity of patients infected with the human immunodeficiency virus. *Braz J Pharmacog* 21: 128-132.

Song J-D, Kim J-H, Lee D-H, Rhew TH, Cho SH, Lee C-H. 2005. Developmental regulation of the expression of 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid (ACC) synthase and ACC oxidase genes in hypocotyls of etiolated mung bean seedlings. *Plant Sci* 168: 1149–1155.

Souza GM, Luetttge U. 2015. Stability as a Phenomenon Emergent from Plasticity Complexity Diversity in Eco-Physiology. *Prog Bot* 76: 211-239.

Suttle JC. 1998. Involvement of ethylene in potato microtuber dormancy. *Plant Physiol* 118: 843–848.

Suttle JC, Banowitz GM. 2000. Changes in *cis*-zeatin and *cis*-zeatin riboside levels and biological activity during potato tuber dormancy. *Physiol Plantarum* 109: 68–74.

Suttle JC. 2007. Dormancy and Sprouting. In: VREUGDENHIL, D. (Org). *Potato Biology and Biotechnology: Advances and Perspectives*. Elsevier B.V. p. 287-309.

Thohirah LA, Flora CLS, Kamalakshi N. 2010. Breaking bud dormancy and different shade levels for production of pot and cut *Cucurma alismatifolia*. *American Journal of Agricultural and Biological Sciences* 5 (3): 385-388.

Van Den Dool H, Kratz DJA. 1963. Generalization of the retention index system including linear temperature programmed gas–liquid partition chromatography. *J Chromatogr A* 11: 463–471.

Vickers CE, Gershenzon J, Lerdau MT, Loreto F. 2009. A unified mechanism of action for volatile isoprenoids in plant abiotic stress. *Nat Chem Biol* 5: 283-291.

Wilson B, Abraham G, Manju VS, Mathew M, Vimala B, Sundaresan S, Nambisan B. 2005. Antimicrobial activity of *Curcuma zedoaria* and *Curcuma malabarica* tubers. *J Ethnopharmacol* 99: 147–151.

Zhang S, Liu N, Sheng A, Ma G, Wu G. 2011. Direct and callus-mediated regeneration of *Curcuma soloensis* Valetton (Zingiberaceae) and ex vitro performance of regenerated plants. *Sci Hortic* 130: 899–905.

Tabelas

Tabela 1a: Efeitos das concentrações de cinetina (Kt) e dos tempos de imersão dos rizomas ao regulador vegetal no crescimento dos rizomas de *Curcuma zedoaria* (Christm.) Roscoe, representado pela porcentagem de brotação de gemas (%), pelo índice de velocidade de brotação de gemas (IVB) e pelo comprimento total de raízes (mm).

Análise fatorial		
Porcentagem de brotação de gemas - Kt		
	F	p
Tratamentos	1,227	0,321
Tempos	2,175	0,178
Tratamentos x Tempos	2,802	0,062
Índice de velocidade de brotação de gemas - Kt		
	F	p
Tratamentos	0,29	0,832
Tempos	0,11	0,749
Tratamentos x Tempos	0,0988	0,96
Comprimento total das raízes - Kt		
	F	p
Tratamentos	5,933	0,004*
Tempos	5,766	0,043*
Tratamentos x Tempos	5,817	0,004*

* indica diferença significativa ($p < 0,05$) na análise fatorial.

Tabela 1b: Efeitos de cinetina (Kt) e dos tempos de imersão dos rizomas de *C. zedoaria* na porcentagem de brotação de gemas (%), no índice de velocidade de brotação de gemas (IVB) e no comprimento total de raízes (mm).

Concentrações de Cinetina (Kt)	% Brotação das gemas	
	15 minutos de imersão	30 minutos de imersão
0 mg.L ⁻¹	60,99 ± 3,8Aa	81,23 ± 4,17Aa
50 mg.L ⁻¹	70,53 ± 4,53Aa	64,32 ± 7,32Aa
100 mg.L ⁻¹	65,67 ± 6,63Aa	59,02 ± 6,05Aa
150 mg.L ⁻¹	63,08 ± 6,58Aa	78,03 ± 4,23Aa
Comprimento total das raízes		
	15 minutos de imersão	30 minutos de imersão
	0 mg.L ⁻¹	233,62 ± 32,38Aa
50 mg.L ⁻¹	69,4 ± 14,42Ab	116,46 ± 16,89Aa
100 mg.L ⁻¹	177,84 ± 25,09Aa	150,7 ± 24,09Aa
150 mg.L ⁻¹	206,23 ± 18,3Aa	152,94 ± 29,12Aa
Índice de velocidade de brotação de gemas		
	15 minutos de imersão	30 minutos de imersão
	0 mg.L ⁻¹	1,28 ± 0,2Aa
50 mg.L ⁻¹	1,09 ± 0,08Aa	1,21 ± 0,2Aa
100 mg.L ⁻¹	1,24 ± 0,16Aa	1,29 ± 0,15Aa
150 mg.L ⁻¹	1,23 ± 0,07Aa	1,21 ± 0,14Aa

* Análise de comparação múltipla de médias (n=9, Média ± E.P.) indicada pelas diferenças significativas na análise fatorial. Letras maiúsculas indicam diferenças significativas entre os tempos de imersão dos rizomas a uma determinada concentração de Kt e as letras minúsculas indicam diferenças significativas entre as concentrações de Kt em cada tempo de imersão (Tukey, $p < 0,05$).

Tabela 2a: Efeitos das concentrações de ethephon (ETH) e dos tempos de imersão dos rizomas ao regulador vegetal no crescimento dos rizomas de *Curcuma zedoaria* (Christm.) Roscoe, representado pela porcentagem de brotação de gemas (%), pelo índice de velocidade de brotação de gemas (IVB) e pelo comprimento total de raízes (mm).

Análise fatorial		
Porcentagem de brotação de gemas - ETH		
	F	p
Tratamentos	1,665	0,201
Tempos	0,751	0,411
Tratamentos x Tempos	5,634	0.005*
Índice de velocidade de brotação de gemas - ETH		
	F	p
Tratamentos	2,358	0,097
Tempos	3,296	0,107
Tratamentos x Tempos	3,395	0,034*
Comprimento total das raízes - ETH		
	F	p
Tratamentos	2,358	0,035*
Tempos	13,151	0,007*
Tratamentos x Tempos	6,601	0,002*

* indica diferença significativa ($p < 0,05$) na análise fatorial.

Tabela 2b: Efeitos de ethephon (ETH) e dos tempos de imersão dos rizomas de *C. zedoaria* na porcentagem de brotação de gemas (%), no índice de velocidade de brotação de gemas (IVB) e no comprimento total de raízes (mm).

Concentrações de Ethephon (ETH)	% Brotação das gemas	
	15 minutos de imersão	30 minutos de imersão
0 mg.L ⁻¹	60,99 ± 3,8Aa	81,23 ± 4,17Ba
300 mg.L ⁻¹	69,84 ± 3,8Aab	72,46 ± 3,33Aab
450 mg.L ⁻¹	82,41 ± 4,9Ab	69,85 ± 4,45Aab
600 mg.L ⁻¹	79,21 ± 6,51Aab	53,71 ± 6,93Bb
Comprimento total das raízes		
	15 minutos de imersão	30 minutos de imersão
0 mg.L ⁻¹	233,62 ± 32,38Aa	86,01 ± 17,77Ba
300 mg.L ⁻¹	151,84 ± 18,67Ab	88 ± 13,58Ba
450 mg.L ⁻¹	119,01 ± 21,36Ab	50,57 ± 11,75Ba
600 mg.L ⁻¹	121,96 ± 12,77Ab	122,59 ± 30,76Aa
Índice de velocidade de brotação de gemas		
	15 minutos de imersão	30 minutos de imersão
0 mg.L ⁻¹	1,28 ± 0,2Aa	1,27 ± 0,11Aa
300 mg.L ⁻¹	1,2 ± 0,14Aa	0,93 ± 0,08Aab
450 mg.L ⁻¹	1,19 ± 0,07Aa	1,34 ± 0,05Aa
600 mg.L ⁻¹	1,3 ± 0,16Aa	0,73 ± 0,12Bb

* Análise de comparação múltipla de médias (n=9, Média ± E.P.) indicada pelas diferenças significativas na análise fatorial. Letras maiúsculas indicam diferenças significativas entre os tempos de imersão dos rizomas a uma determinada concentração de ETH e as letras minúsculas indicam diferenças significativas entre as concentrações de ETH em cada tempo de imersão (Tukey, $p < 0,05$).

Tabela 3: Efeitos dos reguladores vegetais cinetina (Kt) e ethephon (ETH) na performance da brotação das gemas dos rizomas de *C. zedoaria* em função dos dias de coleta.

	Equação da reta	Coefficiente de determinação (R²)	Assíntota
Controle t=15 min	$y = 0,1323x + 0,4353$	0,8637	0,1323
50 mg.L ⁻¹ Kt	$y = 0,1218x + 0,3133$	0,8197	0,1218
100 mg.L ⁻¹ Kt	$y = 0,1216x + 0,7888$	0,6141	0,1216
150 mg.L ⁻¹ Kt	$y = 0,1408 + 0,3304$	0,8099	0,1408
Controle t=30min	$y = 0,1355x + 0,7738$	0,646	0,1355
50 mg.L ⁻¹ Kt	$y = 0,1202x + 0,3885$	0,8003	0,1202
100 mg.L ⁻¹ Kt	$y = 0,1012x + 0,8158$	0,7067	0,1012
150 mg.L ⁻¹ Kt	$y = 0,1390x + 1,1033$	0,6395	0,139
Controle t=15 min	$y = 0,1323x + 0,4353$	0,8637	0,1323
300 mg.L ⁻¹ ETH	$y = 0,1264x + 0,4519$	0,7913	0,1264
450 mg.L ⁻¹ ETH	$y = 0,1336x + 0,6134$	0,779	0,1336
600 mg.L ⁻¹ ETH	$y = 0,1285x + 0,6479$	0,6559	0,1285
Controle t=30min	$y = 0,1355x + 0,7738$	0,646	0,1355
300 mg.L ⁻¹ ETH	$y = 0,1226x + 0,1090$	0,8527	0,1226
450 mg.L ⁻¹ ETH	$y = 0,1376x + 0,5697$	0,6923	0,1376
600 mg.L ⁻¹ ETH	$y = 0,0752x + 0,2728$	0,8916	0,0752

* Análise de regressão linear do número de gema brotadas *versus* o 1^o, 6^o, 11^o e 31^o dias de experimento. Como dito anteriormente, essa análise tem por finalidade amostrar a melhor e a pior performance no crescimento dos rizomas e influenciar na escolha dos tratamentos para a análise das substâncias voláteis.

Tabela 4: Substâncias voláteis dos rizomas de *C. zedoaria* e razão de produção de Monoterpenos/Sesquiterpenos (M/S) sob condições normais de crescimento (controle), sob ação de cinetina (150 mg.L⁻¹; t=30min) e de ethephon (600 mg.L⁻¹; t=30min).

Substâncias	Controle (1ºDia)	Controle (11ºDia)	valor <i>p</i>	Ethephon (1ºDia)	Ethephon (11ºDia)	valor <i>p</i>	Cinetina (1ºDia)	Cinetina (11ºDia)	valor <i>p</i>
<i>α</i> -pineno (m)	0,57 ± 0,12	0,64 ± 0,10	0,495	1,06 ± 0,54	0,57 ± 0,13	0,198	0,71 ± 0,09	1,03 ± 0,49	0,327
canfeno (m)	1,42 ± 0,82	1,32 ± 0,26	0,856	3,36 ± 2,70	1,46 ± 0,49	0,297	1,21 ± 0,13	1,85 ± 0,43	0,068
sabineno (m)	0,23 ± 0,00	0,15 ± 0,01	0,838	0,32 ± 0,08	0,18 ± 0,03	0,802	0,20 ± 0,05	0,35 ± 0,06	0,025*
<i>β</i> -pineno (m)	3,37 ± 0,84	3,71 ± 0,50	0,577	3,07 ± 1,34	2,40 ± 0,39	0,455	3,92 ± 0,62	5,55 ± 3,63	0,486
6-metil-5-hepten-2-ona (dc)	1,56 ± 0,86	1,22 ± 0,20	0,174	0,46 ± 0,06	0,59 ± 0,09	0,100	2,89 ± 0,26	2,93 ± 0,16	0,831
mirreno (m)	1,59 ± 0,19	1,51 ± 0,11	0,578	2,08 ± 0,62	1,43 ± 0,06	0,142	2,30 ± 0,09	2,25 ± 0,20	0,714
<i>δ</i> -3-careno (m)	0,14 ± 0,02	tr	<0,001*	0,65 ± 0,00	0,11 ± 0,00	0,458	0,13 ± 0,04	0,19 ± 0,03	0,093
<i>α</i> -terpineno (m)	0,17 ± 0,00	0,09 ± 0,00	0,697	0,14 ± 0,01	0,10 ± 0,00	0,356	0,23 ± 0,09	0,23 ± 0,02	1,000
<i>p</i> -cimeno (m)	0,40 ± 0,17	0,29 ± 0,02	0,306	0,18 ± 0,06	0,13 ± 0,02	0,144	0,70 ± 0,17	0,67 ± 0,16	0,853
<i>o</i> -cimeno (m)	0,99 ± 0,22	0,72 ± 0,10	0,116	1,99 ± 2,49	0,42 ± 0,12	0,336	1,73 ± 0,36	1,64 ± 0,32	0,761
1,8-cineol (mo)	50,32 ± 2,75	42,00 ± 3,64	0,034*	47,46 ± 5,62	49,29 ± 5,43	0,706	35,30 ± 2,34	43,39 ± 6,07	0,098
<i>Z</i> - <i>β</i> -ocimeno (m)	0,16 ± 0,00	tr	0,116	0,14 ± 0,03	tr	0,124	tr	tr	-
<i>γ</i> -terpineno (m)	0,25 ± 0,07	0,21 ± 0,01	0,421	0,27 ± 0,09	0,18 ± 0,01	0,136	0,29 ± 0,04	0,35 ± 0,03	0,112
terpinoleno (m)	0,22 ± 0,06	0,23 ± 0,02	0,930	0,18 ± 0,04	0,16 ± 0,02	0,557	0,40 ± 0,05	0,41 ± 0,08	0,806
2-nonanona (dc)	6,85 ± 0,14	10,03 ± 0,71	0,002*	6,89 ± 2,27	7,21 ± 0,77	0,832	14,08 ± 1,36	9,58 ± 0,95	0,009*
2-nonanol (dc)	3,85 ± 0,39	4,71 ± 0,79	0,164	3,03 ± 0,80	4,02 ± 0,84	0,215	8,40 ± 0,93	3,95 ± 0,20	0,001*
<i>n</i> -nonanal (dc)	0,69 ± 0,07	0,53 ± 0,23	0,744	0,27 ± 0,00	0,15 ± 0,00	0,716	tr	1,08 ± 0,13	<0,001*
<i>α</i> -canfolenal (mo)	0,34 ± 0,13	0,20 ± 0,01	0,147	0,18 ± 0,11	0,11 ± 0,00	0,381	0,53 ± 0,08	0,58 ± 0,04	0,458
<i>exo</i> -isocitral (mo)	0,29 ± 0,13	0,18 ± 0,04	0,227	0,12 ± 0,01	0,11 ± 0,02	0,454	0,37 ± 0,07	0,49 ± 0,11	0,194
cânfora (mo)	5,92 ± 1,31	2,94 ± 0,73	0,026*	5,16 ± 0,71	5,28 ± 0,58	0,841	2,32 ± 0,54	4,82 ± 1,80	0,083
isoborneol (mo)	0,93 ± 0,20	0,55 ± 0,11	0,049*	0,89 ± 0,18	1,03 ± 0,06	0,263	0,42 ± 0,09	0,72 ± 0,27	0,141
borneol (mo)	0,17 ± 0,02	tr	0,119	0,17 ± 0,07	0,25 ± 0,07	0,234	tr	0,16 ± 0,01	0,117
terpinen-4-ol (mo)	0,70 ± 0,01	0,45 ± 0,03	<0,001*	0,46 ± 0,05	0,57 ± 0,04	0,043*	0,78 ± 0,02	0,68 ± 0,21	0,464
<i>α</i> -terpineol (mo)	0,80 ± 0,06	0,51 ± 0,06	0,004*	0,62 ± 0,01	0,78 ± 0,06	0,010*	0,60 ± 0,08	0,57 ± 0,25	0,851
2-decanona (dc)	0,43 ± 0,09	0,90 ± 0,08	0,002*	0,70 ± 0,34	0,75 ± 0,09	0,791	0,74 ± 0,08	0,49 ± 0,06	0,013*
mirtenal (mo)	1,32 ± 0,51	0,98 ± 0,13	0,327	0,50 ± 0,10	0,50 ± 0,05	0,960	1,93 ± 0,20	2,45 ± 0,50	0,164
2-decanol (dc)	0,13 ± 0,00	0,21 ± 0,06	0,038*	0,17 ± 0,02	0,21 ± 0,06	0,182	0,20 ± 0,07	tr	0,008*
<i>n</i> -decanal (dc)	0,15 ± 0,00	0,14 ± 0,00	0,963	0,09 ± 0,00	0,13 ± 0,00	0,811	tr	0,11 ± 0,03	0,002*
carvona (mo)	0,25 ± 0,09	0,22 ± 0,02	0,636	0,25 ± 0,06	0,36 ± 0,05	0,052	0,22 ± 0,01	0,17 ± 0,07	0,271
acetato de isobornila (dc)	0,44 ± 0,14	0,17 ± 0,04	0,527	4,24 ± 7,07	0,40 ± 0,42	0,402	tr	0,10 ± 0,04	0,007*
2-undecanona (dc)	0,44 ± 0,01	1,26 ± 0,27	0,006*	0,83 ± 0,54	0,98 ± 0,15	0,680	1,17 ± 0,18	0,68 ± 0,31	0,081
<i>β</i> -elemeno (s)	0,38 ± 0,01	0,71 ± 0,12	0,01*	0,72 ± 0,48	0,70 ± 0,10	0,929	0,51 ± 0,29	0,35 ± 0,10	0,420

β-cariofileno (s)	0,12 \pm 0,00	0,16 \pm 0,02	0,118	0,26 \pm 0,08	0,20 \pm 0,05	0,330	0,15 \pm 0,07	0,15 \pm 0,07	0,914
α-humuleno (s)	tr	tr	-	0,12 \pm 0,03	tr	0,127	tr	0,10 \pm 0,02	0,001*
trans-β-farneseno (s)	tr	0,11 \pm 0,01	0,118	tr	tr	-	tr	tr	-
germacreno D (s)	tr	0,16 \pm 0,03	<0,001*	0,25 \pm 0,08	0,17 \pm 0,07	0,951	tr	tr	-
β-selineno (s)	0,13 \pm 0,00	0,21 \pm 0,04	0,029*	0,28 \pm 0,01	0,22 \pm 0,04	0,718	0,21 \pm 0,12	0,13 \pm 0,05	0,369
curzereno (so)	0,37 \pm 0,13	0,78 \pm 0,14	0,021*	0,70 \pm 0,54	0,74 \pm 0,16	0,916	0,59 \pm 0,28	0,27 \pm 0,06	0,120
β-himachaleno (s)	0,18 \pm 0,00	0,23 \pm 0,02	0,049*	0,21 \pm 0,06	0,18 \pm 0,03	0,655	0,17 \pm 0,04	0,09 \pm 0,00	0,02*
δ-cadineno (s)	0,16 \pm 0,05	0,22 \pm 0,04	0,116	0,19 \pm 0,01	0,17 \pm 0,04	0,531	0,21 \pm 0,03	0,09 \pm 0,01	0,004*
germacreno B (s)	tr	0,17 \pm 0,03	<0,001*	0,23 \pm 0,12	0,23 \pm 0,08	0,939	0,19 \pm 0,00	tr	0,374
óxido de cariofileno (so)	0,54 \pm 0,20	1,03 \pm 0,08	0,018*	0,57 \pm 0,30	0,57 \pm 0,10	1,000	0,69 \pm 0,09	0,29 \pm 0,07	0,004*
globulol (so)	0,27 \pm 0,14	0,50 \pm 0,08	0,065	0,30 \pm 0,22	0,42 \pm 0,11	0,426	0,29 \pm 0,07	0,11 \pm 0,02	0,012*
curzerenona (so)	6,03 \pm 3,13	7,92 \pm 1,95	0,425	5,06 \pm 2,72	7,39 \pm 1,62	0,273	5,37 \pm 0,77	1,60 \pm 0,24	0,001*
germacrona (so)	0,80 \pm 0,41	1,49 \pm 0,55	0,153	1,09 \pm 0,65	1,59 \pm 0,63	0,397	0,64 \pm 0,05	0,16 \pm 0,02	<0,001*
Total	92,84	89,34		94,54	92,00		90,61	90,69	
hidrocarboneto monoterpênico (m)	9,20	8,75	0,778	12,82	6,96	0,127	11,77	14,51	0,410
Monoterpeno oxigenado (mo)	60,98	48,04	0,02*	55,70	58,21	0,635	42,48	53,96	0,081
hidrocarboneto sesquiterpênico (s)	0,67	1,93	0,005*	1,91	1,87	0,963	1,32	0,85	0,314
Sesquiterpeno oxigenado (so)	8,02	11,72	0,251	7,73	10,70	0,332	7,58	2,43	0,017*
Demais compostos (dc)	13,98	18,90	0,006*	16,38	14,26	0,344	27,47	18,93	0,007*
Monoterpenos totais (M)	70,17	56,78		68,52	65,17		54,24	68,48	
Sesquiterpenos totais (S)	8,69	13,66		9,63	12,58		8,90	3,28	
Razão M/S	8,08	4,16		7,11	5,18		6,09	20,88	

* indica diferença significativa entre as médias (n=3, Média \pm DP) das substâncias voláteis entre o 1º e o 11º dias pelo teste *t*, para cada situação ($p > 0,05$).

Tabela 5: Dinâmica da produção das classes de substâncias voláteis nos rizomas de *C. zedoaria* entre o 1º e o 11º dias após aplicação dos reguladores vegetais ethephon e cinetina.

Classe de Substância	Controle	Ethephon	Cinetina
Hidrocarbonetos monoterpênicos (m)	-4,89	-45,67	23,34
Monoterpeno oxigenado (mo)	-21,22	4,49	27,04
Hidrocarbonetos sesquiterpênicos (s)	188,56	-1,75	-35,35
Sesquiterpeno oxigenado (so)	46,24	38,52	-67,99
Demais compostos (álcool, aldeído, cetona) (dc)	35,22	-12,98	-31,09

* Calculado segundo a equação da proporção da produção relativa das substâncias voláteis (item 4 do Material e Métodos).

Figuras

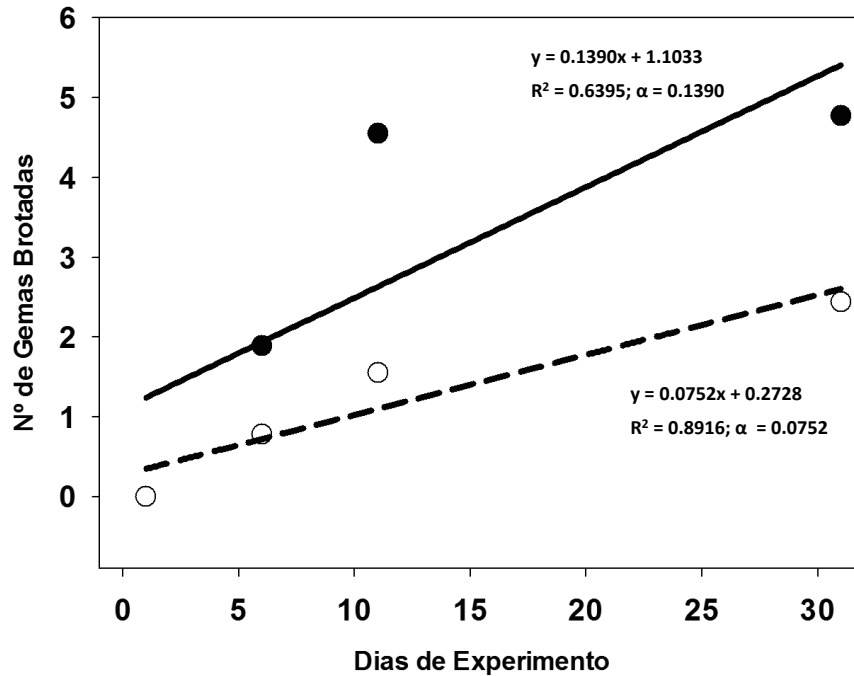


Figura 1: Efeitos dos reguladores vegetais cinetina (círculos pretos) e ethephon (círculos brancos) na performance da brotação das gemas dos rizomas de *C. zedoaria* em função dos dias de coleta. Análise de regressão linear do número de gema brotadas *versus* o 1º, 6º, 11º e 31º dias de experimento. Ambas as retas apresentam a equação da reta, o coeficiente de determinação (R^2) e o ângulo de inclinação da reta (α). Reta contínua: Kt em 150 mg.L^{-1} , $t=30\text{min}$. Reta tracejada: ETH em 600 mg.L^{-1} , $t=30\text{min}$.

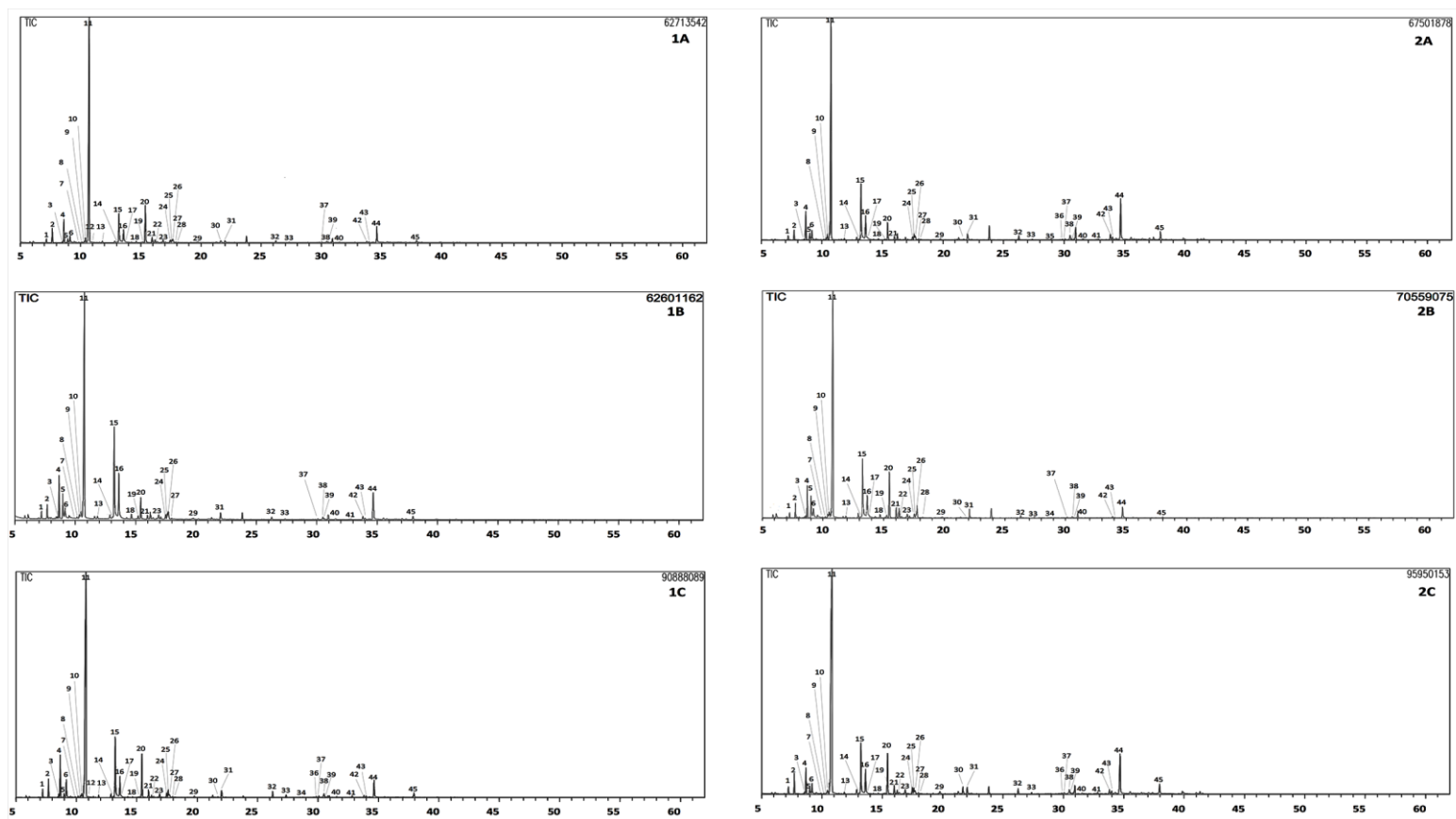


Figura 2: Cromatogramas de íons totais (TIC) do perfil das substâncias voláteis dos rizomas de *C. zedoaria* produzidas durante a situação controle no 1º dia (1A) e no 11º dia (2A), sob a ação de cinetina no 1º dia (1B) e no 11º dia (2B) e de ethephon no 1º dia (1C) e no 11º dia (2C). 1: α -pineno; 2: canfeno; 3: sabineno; 4: β -pineno; 5: 6-metil-5-hepten-2-ona; 6: mirceno; 7: δ -3-careno; 8: α -terpineno; 9: *p*-cimeno; 10: *o*-cimeno; 11: 1,8-cineol; 12: *Z*- β -ocimeno; 13: γ -terpineno; 14: terpinoleno; 15: 2-nonanona; 16: 2-nonanol; 17: *n*-nonanal; 18: α -canfolenal; 19: *exo*-isocitral; 20: cânfora; 21: isoborneol; 22: borneol; 23: terpinen-4-ol; 24: α -terpineol; 25: 2-docanona; 26: mirtental; 27: 2-decanol; 28: *n*-decanal; 29: carvona; 30: acetato de isobornila; 31: 2-undecanona; 32: β -elemeno; 33: β -cariofileno; 34: α -humuleno; 35: *trans*- β -farneseno; 36: germacreno D; 37: β -selineno; 38: curzereno; 39: β -himachaleno; 40: β -cadineno; 41: germacreno B; 42: óxido de cariofileno; 43: globulol; 44: curzerenona; e 45: germacrona.

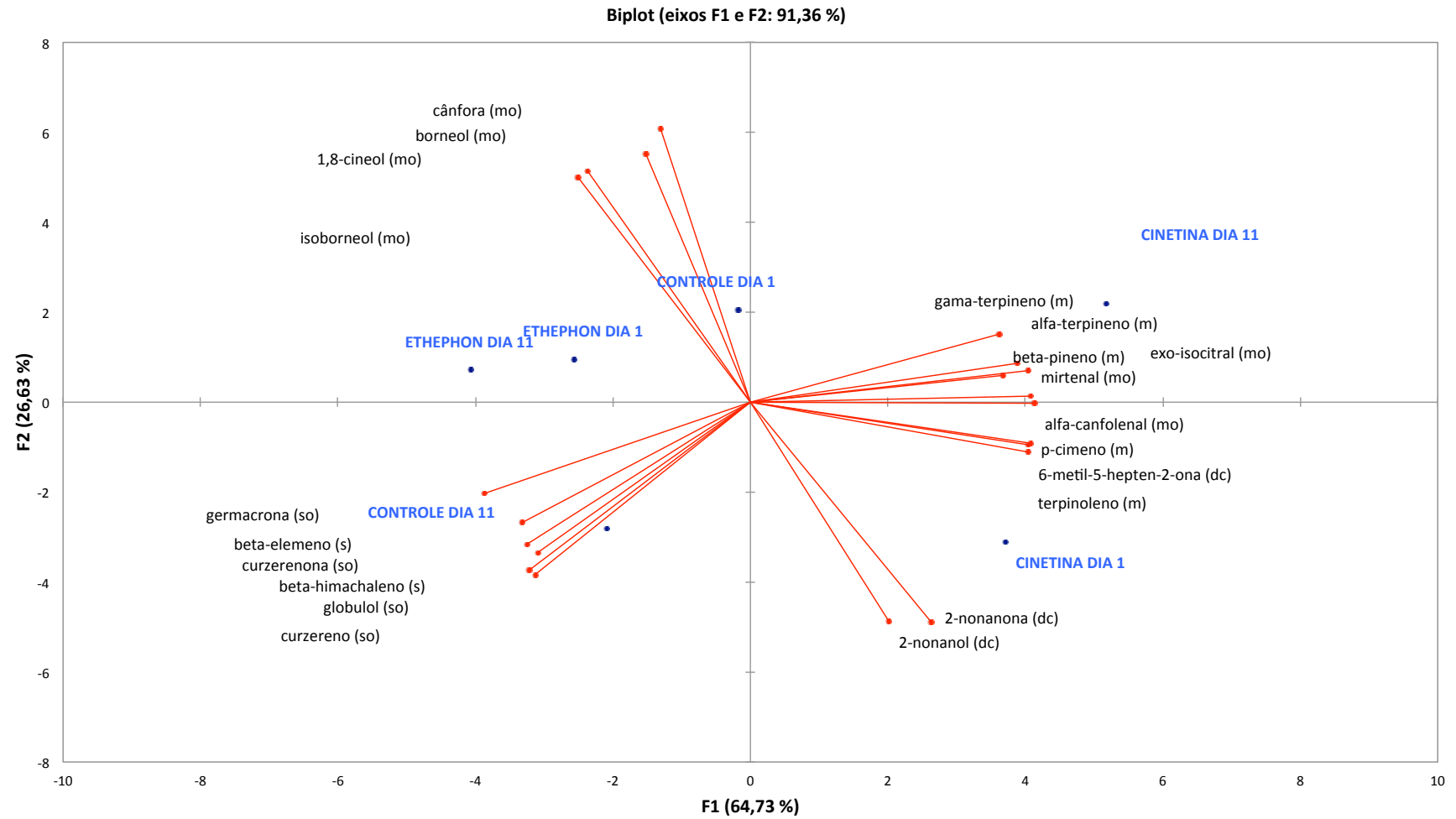


Figura 3: Efeito do tempo na padronização das substâncias voláteis dos rizomas de *C. zedoaria* segundo a aplicação de cinetina e ethephon, proporcionado pela análise de componente principais (PCA). Montada utilizando o algoritmo da correlação de Pearson (n-1).

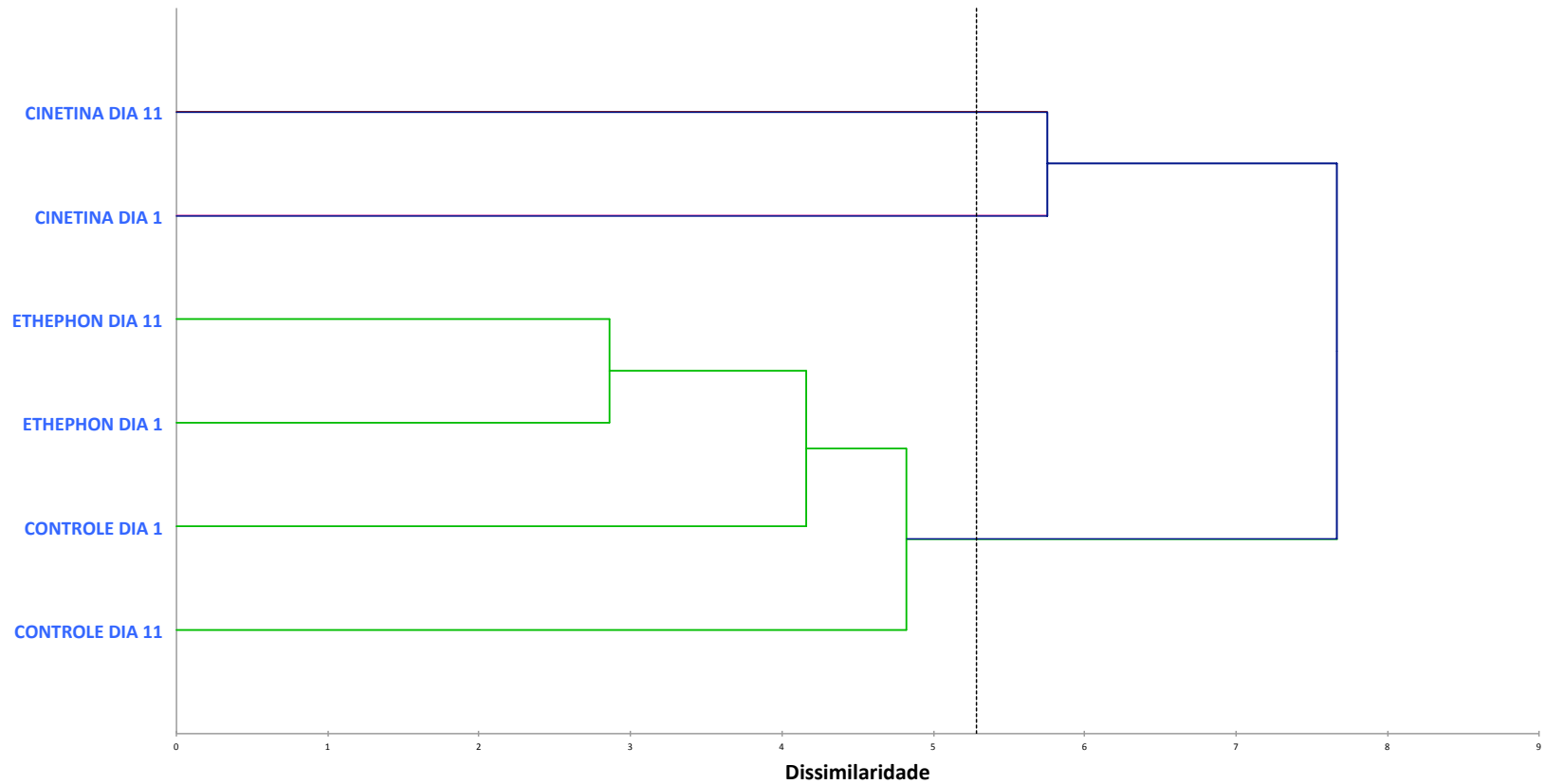


Figura 4: Efeito do tempo no agrupamento da situação em condições normais de crescimento, sob ação de cinetina e ethephon para as substâncias voláteis dos rizomas de *C. zedoaria*. Análise Hierárquica de Cluster (AHC) construída com matriz de dissimilaridade, usando o *Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean* (UPGMA) como método de aglomeração e o algoritmo da Distância Euclideana.

IV-CAPÍTULO II**Deficiência hídrica antecipa a dormência de rizomas**

Manuscrito no formato do periódico **Journal of Experimental Botany**
(Qualis CAPES: **A1**; Fator de Impacto: **5.526**)

Deficiência hídrica antecipa a dormência de rizomas

RO Portella^a; MOM Marques^b; Fernandes, AM^c; LF Rolim de Almeida^{a,c*}

^aDepartamento de Botânica, Instituto de Biociências de Botucatu, Univ. Estadual Paulista (UNESP), Botucatu, São Paulo, Brasil;

^bInstituto Agrônomo, IAC – Instituto Agrônomo, Campinas/SP, Brasil;

^cCentro de Raízes e Amidos Tropicais (CERAT), Univ. Estadual Paulista (UNESP), Botucatu, São Paulo, Brasil.

*autor correspondente: LF Rolim de Almeida, Tel: +55 14 3880 0116. Email: luizfernando@ibb.unesp.br.

Resumo

A dormência confere resistência ao ambiente desfavorável. Além disso, tanto a dormência, como a falta de água no ambiente causam a perda total da parte aérea. Assim, é esperado que alguns processos metabólicos, como a fluorescência da clorofila *a*, apresentem padrões semelhantes, independente do fenômeno que inicia o processo de queda das folhas. Sob esse aspecto, os objetivos desse trabalho foram: (i) avaliar a interferência do déficit hídrico na mudança dos padrões metabólicos e fisiológicos da planta e (ii) comparar os ajustes metabólicos no processo de perda da parte aérea durante eventos de déficit hídrico. Plantas de *Curcuma zedoaria* (Christm.) Roscoe tiveram tolerância ao estresse hídrico até 17 dias de experimento. Apesar disso, essas plantas não foram capazes de manter sua homeostase, visto pela redução na atividade fotoquímica das folhas e perda total da parte aérea. Logo, o déficit hídrico acelera a perda da parte aérea e a entrada da dormência dos rizomas. Plantas totalmente irrigadas também entraram em dormência, de acordo com o padrão normal da espécie. Existe padronização temporal na fluorescência da clorofila *a* de plantas que perderam sua parte aérea ocasionado pelo déficit hídrico e pelo seu ciclo normal de vida. Isso foi visto pelas quedas na fluorescência máxima (*F_m*) e nas demais variáveis que compõem a fluorescência da clorofila *a*. Contudo, houve manutenção da fluorescência basal (*F_o*) nas plantas totalmente irrigadas até os momentos próximos da perda total da parte aérea. Além disso, os rizomas das plantas reidratadas formaram novamente o amido mesmo após entrarem em dormência, reserva energética a qual foi anteriormente degradada durante o déficit hídrico. Portanto, independente do fator que leve a perda da parte aérea e a entrada da dormência dos rizomas dessas plantas, os padrões metabólicos expressos serão semelhantes.

Palavras-chave: estresse hídrico, rizoma, eficiência fotossintética, entrada da dormência

Introdução

A dormência é mecanismo fisiológico altamente regulado pela ação combinada dos hormônios vegetais e do ambiente (Rohde and Bhalerao, 2007), conferindo a máxima resistência da planta aos períodos desfavoráveis de crescimento (Chokchaichamnankit *et al.*, 2009). Os receptores específicos nos tecidos vegetais interpretam as informações ambientais e transmitem sinais, os quais desencadeiam modificações no metabolismo e na fisiologia da planta, induzindo-a a entrar em dormência (Horvath *et al.*, 2003; Suttle, 2007). As plantas devem receber sinais ambientais específicos que desencadeiem esse mecanismo de resistência durante os eventos desfavoráveis, como dias curtos no fotoperíodo, baixas temperaturas e a falta de água no ambiente (Horvath *et al.*, 2003; Rohde and Bhalerao, 2007; Suttle, 2007; Pumisitapon *et al.*, 2012; Ríos *et al.*, 2014). Além disso, plantas de regiões semi-áridas investem em estruturas denominadas rizomas em detrimento à manutenção da parte aérea (Patty *et al.*, 2010). Sob esse aspecto, a perda total da parte aérea é fundamental no fechamento do ciclo de desenvolvimento da planta que apresenta dormência.

O ciclo normal de vida de uma planta está ligado com a superação, a entrada da dormência e com o crescimento (Wisniewski *et al.*, 2015). Além disso, tanto o ambiente, quanto os fatores moleculares regulam o ciclo normal de vida da planta, vistos na brotação de gemas, no cessar do crescimento, na formação de novas gemas e na senescência e abscisão foliares (Rinne *et al.*, 2010; Ding and Nilsson, 2016). A senescência ocorre como uma consequência do processo natural do desenvolvimento da planta, finalizando seu ciclo de vida (Christiansen and Gregersen, 2014).

A senescência foliar é altamente regulada pela ação do ambiente e pelo controle endógeno hormonal (Quirino *et al.*, 2000; Christiansen and Gregersen, 2014; Thomas and Ougham, 2014). É sabido que as primeiras etapas da senescência foliar compreendem à degradação da ultraestrutura dos cloroplastos, após a queda significativa da contribuição das folhas em formarem fotoassimilados (Quirino *et al.*, 2000). Além disso, também ocorre quedas na performance fotoquímica, nos teores dos pigmentos fotossintetizantes (Lu *et al.*, 2001), nos teores de açúcares (Quirino *et al.*, 2000) e na modificação dos padrões de fluorescência da clorofila *a* (Martínez *et al.*, 2008; Duarte *et al.*, 2012; Mohapatra *et al.*, 2013) levando a morte e queda da folha. Aliado aos processos da dormência, a perda da parte aérea confere ajustes essenciais para evitar, tolerar e resistir aos estresses ambientais severos, como a falta de água no ambiente.

A deficiência hídrica é um dos eventos ambientais que mais promove mudanças na fisiologia dos organismos vegetais (Yadollahi *et al.*, 2011; Rakić *et al.*, 2015). A seca modifica os padrões metabólicos e fisiológicos nas plantas e essas respondem se ajustando às

mudanças do meio, mantendo sua performance fisiológica (Flexas *et al.*, 2006; Souza and Luetge, 2015). Dessa forma, ajustes osmóticos nas células (Duque *et al.*, 2013), no fechamento estomático (Flexas *et al.*, 2006), na eficiência do fotossistema II (Demmig-Adams *et al.*, 1996), no *quenching* fotoquímico, na taxa de transporte de elétrons (Rakić *et al.*, 2015), na dissipação alternativa do excesso de energia nos fotossistemas (Ort and Baker, 2002) e na perda das folhas (Manzoni *et al.*, 2015) são estratégias evolutivas que auxiliam as plantas a evitarem os danos causados pela seca.

Os organismos fotossintéticos dominaram a capacidade de capturar a energia luminosa eficientemente e depois evitar, de forma harmoniosa, os danos causados pelo excesso de energia (Demmig-Adams and Adams III, 2000). A fluorescência da clorofila *a* é um mecanismo fisiológico que mostra como o uso da energia da luz influencia significativamente no funcionamento do aparato fotoquímico (Demmig-Adams *et al.*, 1996; Baker *et al.*, 2008). Ela é amplamente utilizada na avaliação dos ajustes fisiológicos das plantas em evitar danos nos fotossistemas, mantendo a performance fotoquímica durante os estresses ambientais (Demmig-Adams and Adams III, 2000; Rakić *et al.*, 2015). Das variáveis da fluorescência da clorofila *a*, a fluorescência basal (*F_o*) e a fluorescência máxima (*F_m*) podem indicar perturbações metabólicas na etapa fotoquímica nas folhas (Ort and Baker, 2002). Assim, *F_o* e *F_m*, em conjunto com as outras variáveis que compõem a fluorescência da clorofila *a*, são ferramentas essenciais na expressão dos padrões metabólicos nas plantas sob déficit hídrico.

A biossíntese de amido nos plastídios coincide com a evolução dos mecanismos de captura da luz (Tetlow and Emes, 2011). A assimilação de CO₂ sob a forma de trioses/hexoses pode ser comprometida devido aos ajustes na fluorescência da clorofila *a* (Tetlow and Emes, 2011). Além disso, a degradação do amido é regulada pela disponibilidade de CO₂ e água (Stitt and Zeeman, 2012). Durante o déficit hídrico, as concentrações internas de CO₂ diminuem (Flexas *et al.*, 2004), acompanhada de mudanças na etapa fotoquímica da fotossíntese (Li *et al.*, 2008; Rakić *et al.*, 2015), levando à inibição da síntese de amido (Rizhsky *et al.*, 2004). Sob esse aspecto, a dificuldade na manutenção da etapa fotoquímica da fotossíntese e o aumento da degradação das reservas energéticas podem levar a planta à perda da parte aérea e a entrada da dormência.

A espécie *Curcuma zedoaria* (Christm.) Roscoe é planta perene, que produz rizomas com alto potencial farmacológico (Lobo *et al.*, 2009; Shinobu-Mesquita *et al.*, 2011). A literatura apresenta um grande número de estudos sobre a fisiologia da dormência, mas são poucos os estudos que relacionam a deficiência hídrica como fator que leva as plantas a entrarem em dormência. Os ajustes metabólicos em momentos anteriores à perda da parte aérea e a entrada da dormência remetem à capacidade das plantas em apresentarem respostas

frente a períodos de deficiência hídrica. Dessa forma, é interessante observar os padrões metabólicos durante o ciclo normal de vida da planta e compara-los com plantas que sofreram deficiência hídrica, procurando as evidências de uma padronização metabólica similar, momentos antes da entrada da dormência. Portanto, os objetivos foram: (i) estudar a interferência da deficiência hídrica na mudança dos padrões metabólicos e fisiológicos da planta e (ii) comparar os ajustes fisiológicos e bioquímicos dessa planta sob o processo da perda da parte aérea durante o déficit hídrico.

Material e Métodos

1. Material vegetal e local do experimento

Os rizomas de *Curcuma zedoaria* (Christm.) Roscoe foram retirados a partir de plantas cultivadas na Fazenda Experimental São Manuel, da Faculdade de Ciências Agrônomicas - UNESP, localizada no município de São Manuel – São Paulo, Brasil (coordenadas geográficas: 22° 77' S; 48° 57' W e 740m de altitude), sob responsabilidade do Centro de Amidos e Rizomas Tropicais-CERAT. O solo do local de cultivo é do tipo Latossolo Vermelho distrófico, de textura arenosa, cuja adubação realizada foi: 1.200 kg.ha⁻¹ do fertilizante formulado N; P₂O₅; K₂O 08-28-16. Os rizomas utilizados no experimento foram plantados em canteiros sob condições naturais para obter plantas homogêneas. Após 30 dias de plantio (DAP), as plantas foram colocadas em vasos com substrato previamente adubado e calado. As tabelas S1 e S2 (anexo) mostram, respectivamente, as características físicas e químicas do substrato. O experimento foi conduzido em casa de vegetação com temperatura (± 25 °C) e umidade (± 70 %) controladas, com aproximadamente 800 $\mu\text{mol.m}^{-2} \text{s}^{-1}$ de DFFF.

2. Delineamento experimental

O experimento foi inteiramente casualizado, utilizando plantas com 137 DAP aclimatadas às condições descritas acima. Ao todo, esse experimento teve duração de 99 dias e para o seu início, foram sorteadas aleatoriamente 48 plantas. Essas plantas foram divididas em tratamento controle (TC, n=24), com máxima capacidade de retenção de água no solo e tratamento sob déficit hídrico (TDH, n=24), sem reposição de água no solo. O TC teve duração de 99 dias e o TDH teve duração de 35 dias, ambos marcados pela perda da parte aérea. O TC foi fisiologicamente avaliado até o 89º dia através da fluorescência da clorofila *a*, apresentando até esse momento cinco plantas com a parte aérea viva. O TDH foi avaliado pelas variáveis que compõem o estado hídrico da planta e também pela fluorescência da clorofila *a*. A data limite para o encerramento do déficit hídrico foi constatado pelas variáveis que compõem o estado hídrico das plantas no TDH, indicado pelos valores de $\text{CRA}_{\text{MD}} = 39,05$

$\pm 6,60$; $\Psi_{\text{H}_2\text{O}} \text{ folha PD} = -2,64 \pm 0,84$; $\Psi_{\text{H}_2\text{O}} \text{ folha MD} = -3,16 \pm 0,70$ e $\Psi_{\text{H}_2\text{O}} \text{ solo} = -10,55 \pm 0,92$. Nessa primeira fase de análises, o propósito é avaliar a dinâmica da etapa fotoquímica das plantas.

A partir do 36º dia, as plantas do TDH foram totalmente irrigadas até a máxima capacidade de retenção de água do solo, sendo considerado agora o tratamento reidratado (TR, n=18). Os rizomas do TR não mais apresentam parte aérea, ficando em contato com a água do solo por 64 dias, tempo esse marcado pela perda total da parte aérea pelo TC. No 35º dia, foram coletados seis plantas do TC e seis plantas do TDH e no 99º dia, foram coletados mais seis plantas do TC e seis plantas do TR para a análise bioquímica de açúcares e amido. Nessa segunda fase de análises, o propósito é avaliar as concentrações de amido e açúcares nos rizomas de plantas que passaram por um momento de déficit hídrico e comparar suas concentrações aos rizomas das plantas que foram reidratados e ficaram em contato com a água por mais de 60 dias.

O controle de água nos vasos foi feito pelo método da gravimetria (adaptado de Klar *et al.*, 1966; Luo *et al.*, 2011; Varone *et al.*, 2012), detalhado no anexo. As medições de todas as variáveis fisiológicas do estado hídrico das plantas e da fluorescência da clorofila *a* foram realizadas na primeira ou na segunda folha totalmente expandida. Foram analisadas quatro repetições para o potencial da água das folhas no *predawn* (05:30) ($\Psi_{\text{H}_2\text{O}} \text{ folha PD}$) e no *midday* (12:00) ($\Psi_{\text{H}_2\text{O}} \text{ folha MD}$), potencial da água do solo ($\Psi_{\text{H}_2\text{O}} \text{ solo}$), potencial da água do rizoma ($\Psi_{\text{H}_2\text{O}} \text{ rizoma}$) e conteúdo relativo de água na folha no *midday* (CRA_{MD}), para cada tratamento. Foram realizadas 12 medições da fluorescência da clorofila *a* para TDH e TC e apenas quatro medições da fluorescência da clorofila *a* no 35º dia de experimento, pois 83% das plantas no TDH perderam sua parte aérea até esse dia. Isso gerou um valor maior no desvio padrão das análises da fluorescência da clorofila *a* para TDH.

3. Medição das variáveis que compõem o estado hídrico das plantas

O potencial da água das folhas ($\Psi_{\text{H}_2\text{O}} \text{ folha PD}$ e $\Psi_{\text{H}_2\text{O}} \text{ folha MD}$, MPa) foi mensurado durante o dia 0 (primeiro dia de restrição hídrica), 9º, 17º, 21º, 28º, e 35º dias de experimento em quatro plantas distintas, totalizando quatro repetições por tratamento. Uma porção do limbo foliar de 3 cm x 6 cm foi coletado e armazenado em isopor, a fim de manter o conteúdo de água nos tecidos foliares. A porção do limbo foliar foi picotado e analisado em Analisador de Potencial Água com Controlador de Temperatura, WP4-T (Decagon/ EUA).

O potencial de água do solo ($\Psi_{\text{H}_2\text{O}} \text{ solo}$, MPa) foi aferido nos mesmos dias do $\Psi_{\text{H}_2\text{O}} \text{ folha}$, com quatro de repetições e analisado pelo WP4-T. Foi retirado uma porção de solo na altura de 20 cm a partir da superfície do substrato nos vasos para a aferição do $\Psi_{\text{H}_2\text{O}} \text{ solo}$. O potencial

da água do rizoma ($\Psi_{\text{H}_2\text{O rizoma}}$, MPa) foi coletado somente no 35º dia de experimento, com quatro repetições e também analisado pelo WP4-T. Uma circunferência de aproximadamente 4 cm de diâmetro e 1 cm de altura do rizoma principal dessas plantas foi cortado e picotado em campo, sendo esse armazenado em isopor. As análises em WP4-T foram realizadas em laboratório, imediatamente após o preparo do material biológico.

O CRA_{MD} foi coletado no 17º, 21º, 28º e 35º DAT. A mensura do CRA_{MD} (Elsheery and Cao, 2008) se deu pelo corte de um retângulo de 2 cm x 4 cm do limbo foliar de uma folha de cada planta, imediatamente pesado em balança de precisão para a obtenção da massa fresca (MF). O mesmo tecido foi colocado em placa de *petri* com água deionizada e acondicionado em geladeira à 4°C por 24 horas para a obtenção da massa túrgida (MT). A massa seca (MS) do tecido foi obtida após a secagem do material em estufa com circulação de ar à 70°C, até atingir massa constante. A determinação do CRA foi feita de acordo com Smart and Bingham (1974), pela seguinte equação: $\text{CRA} (\%) = [(MF - MS)/(MT - MS)] \times 100$. A condutância estomática (g_s , $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) foi mensurada no 0, 2º, 6º, 9º, 14º, 17º, 21º, 28º, 35º, 49º, 56º, 63º, 71º 83º e 89º dias de experimento, em 10 plantas distintas, totalizando 10 repetições por tratamento. Essas medições foram realizadas na porção abaxial das folhas, entre as 09:00 e às 11:00 am, utilizando de um porômetro em estado de equilíbrio dinâmico *Leaf Porometer* Modelo SC-1 (Decagon/EUA).

4. Medição das variáveis que compõem a fluorescência da clorofila *a* das plantas

A fluorescência da clorofila *a* foi mensurada pelo Fluorômetro PAM - Junior - *Chlorophyll - Fluorometer* (WALZ) em folhas aclimatadas no escuro por 30 minutos (totalmente cobertas com papel alumínio) no 0, 3º, 10º, 13º, 17º, 21º, 28º, 35º, 49º, 56º, 63º, 71º 83º e 89º dias de experimento. Depois da aclimação das folhas ao escuro, um pulso de saturação de $10000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ de DFFF, durante 0,6 s, foi aplicado para a obtenção de F_m (fluorescência máxima adaptada ao escuro) e F_m' (fluorescência máxima adaptada ao claro). Os valores de F_o (fluorescência basal adaptada ao escuro) e F_o' (fluorescência basal adaptada ao claro) também foram obtidos. Após a determinação de F_m , pulsos de luz predefinidos nos valores de 125, 190, 285, 420, 625, 820, 1150 e $1500 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ de DFFF, emitidos por 10 segundos cada, foram aplicados para a obtenção da curva de luz nas folhas de *C. zedoaria*.

Foram calculados o *quenching* fotoquímico [$qP = (F'm - F_s)/(F'm - F'o)$] e a taxa de transporte de elétrons [$ETR = \Delta F/F_m' \times DFFF \times 0,5 \times 0,84$], utilizando os valores apresentados pelas curvas de luz de qP e ETR . Também foi calculado o rendimento quântico máximo do PSII (F_v/F_m) [$F_v/F_m = (F_m - F_o/F_m)$] (Maxwell and Johnson, 2000).

A fim de observar a dinâmica das demais variáveis da fluorescência da clorofila *a*, foi escolhido a intensidade luminosa de $820 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ de DFFF da curva de luz realizada nessas plantas, por se tratar da intensidade luminosa presente na condição experimental (item 1 do Material e Métodos). A partir disso, foram calculadas a eficiência de excitação [Y_{exc} ou $Y(II)/qP = Y(II) / qP$] segundo Zribi *et al* (2009), o rendimento quântico efetivo do PSII [$Y(II) = F'm - F / F'm$], o rendimento quântico da perda regulada de energia não-fotoquímica do PSII [$Y(NPQ) = F / F'm - F / Fm$] e o rendimento quântico da perda não-regulada de energia não-fotoquímica do PSII [$Y(NO) = F / Fm$], segundo Klughammer and Scriber (2008).

5. Análise bioquímica do amido e dos açúcares

5.1. Preparação das amostras: Os rizomas foram cortados transversalmente em espessuras de 0,5 cm e colocados em estufa de circulação forçada de ar à 50°C, até atingir massa constante. Após, os rizomas secos foram triturados em moinho de facas e passados em peneira com 250 micra. O pó fino foi utilizado para a determinação bioquímica do amido e dos açúcares. Foram feitas 2 replicatas por amostra e 6 repetições de cada tratamento.

5.2. Determinação do teor de açúcares redutores: foi utilizado 0,5 g de amostra preparada de acordo com o item 5.1, colocado em erlenmeyer de 125 mL e acrescido de 50 mL de água deionizada. Os frascos foram aquecidos em banho de aquecimento à 65°C por 30 minutos. Após resfriamento da amostra, o conteúdo do frasco foi transferido para um balão volumétrico de 50 mL. Após homogeneização, o material foi filtrado e 1 mL dessa solução foi colocada em balão volumétrico de 10 mL. A determinação dos açúcares redutores, expressas por concentração equivalente de glicose/frutose, foi feita pelo método Somogyi and Nelson (Somogyi, 1945; Nelson, 1944):

$$\text{Concentração eq. gli} = A.K.100 / \mu\text{g}$$

Onde: Concentração eq. gli: concentração equivalente de glicose/frutose; A: absorvância da amostra (535nm); K: constante da curva-padrão de glicose; e μg : massa da amostra em microgramas presente na alíquota da reação.

5.3. Determinação do teor de açúcares solúveis totais: foi utilizado 0,5 g de amostra preparada de acordo com o item 5.1, colocado em erlenmeyer de 125 mL e acrescido de 60 mL de etanol à 50% (v/v). Os frascos foram colocados em banho de aquecimento à 65°C por 60 minutos. Após, foi acrescentado 1mL de HCl P.A. concentrado em cada frasco e esses

foram colocados em banho de aquecimento à 65°C por 60 minutos. Após o resfriamento das amostras, a solução foi colocada em balão volumétrico de 100 mL, neutralizado com 2,5 mL de solução de NaOH na concentração de 4 N. Após a homogeneização, a solução contida no balão foi filtrada e 1 mL desse filtrado foi transferido para balão volumétrico de 10 mL. A determinação dos açúcares redutores, expressas por concentração equivalente de sacarose, foi feita segundo o método Somogyi and Nelson (Somogyi, 1945; Nelson, 1944):

$$\text{Concentração eq. sac} = \% \text{açúcares solúveis totais} - \text{Concentração eq. gli}$$

Onde: Concentração eq. sac: Concentração equivalente de sacarose; %açúcares solúveis totais: teor de açúcares na alíquota da amostra do item 5.3, calculada segundo a equação do item 5.2.; e Concentração eq. gli: concentração equivalente de glicose/frutose.

5.4. *Determinação do teor de amido*: determinado segundo AOAC® (AOAC, 1975); Brasil, 1978; ISO 6647 e adaptado de Somogyi and Nelson (Somogyi, 1945; Nelson, 1944). Foi utilizado 0,2 g de amostra preparada de acordo com o item 5.1, colocado em erlenmeyer de 125 ml, acrescentando 42 mL de água deionizada e 100 µL de solução comercial de *alfa*-amilase (Termamyl®) à 50 % (v/v). Os frascos foram colocados em banho de aquecimento à 90°C por duas horas e 30 minutos. Após, foi acrescentado 2,0 mL de solução tampão acetato na concentração de 4 M com pH=4,8 e depois 100 µL de solução de Amiloglucosidade EC 3.2.1.3 de *Rhizopus sp.* (Sigma Co, A7255), na concentração de 10 mg/mL. Os erlenmeyers foram levados novamente em banho de aquecimento à 55°C, por duas horas. Após resfriamento das amostras, o conteúdo foi transferido para um balão volumétrico de 250 mL, foi pipetada uma solução de 5 mL de NaOH na concentração de 4 N. Os 10 mL da solução filtrada foram transferidos para outro balão volumétrico de 100 mL. A determinação dos açúcares foi feita pelo método Somogyi and Nelson (Somogyi, 1945; Nelson, 1944):

$$\text{Concentração eq. amido} = (\% \text{açúcares Amido} - \text{Concentração eq. gli}) * 0,9$$

Onde: Concentração eq. amido: concentração equivalente de amido determinado pelo método no item 5.4; %açúcares amido: teor de açúcares na alíquota da amostra do item 5.4, calculada segundo a equação do item 5.2.; e Concentração eq. gli: concentração equivalente de glicose determinado pelo método do item 5.2.

6. Análise estatística:

Os valores de $\Psi_{\text{H}_2\text{O}} \text{ folha PD}$, $\Psi_{\text{H}_2\text{O}} \text{ folha MD}$, $\Psi_{\text{H}_2\text{O}} \text{ solo}$, $\Psi_{\text{H}_2\text{O}} \text{ rizoma}$, o CRAMD, F_v/F_m , F_o , F_m , $Y(II)/qP$, $Y(II)$, $Y(NO)$, $Y(NPQ)$, g_s , concentração eq. amido, concentração eq. sac e concentração eq. gli foram submetidos ao teste t ($p > 0,05$). As curvas de qP e ETR foram submetidas, respectivamente, à regressão com decaimento exponencial [$f(x) = ae^{-bx}$] e à regressão exponencial com tendência ao máximo [$f(x) = a(1 - e^{-bx})$] para o ajuste da curva. Os valores das assíntotas máximas apresentadas por cada curva de regressão das plantas do TC e do TDH de cada dia de coleta foram utilizados para realizar o teste t ($p > 0,05$).

Resultados

1. Estado hídrico das plantas

O tratamento controle manteve teores próximos de 85% de água no solo durante todo o experimento, enquanto que o TDH apresentou perda de 92.25% de água (Fig. S1). A condutância estomática do TDH apresentou queda significativa a partir do 6º dia e após o 9º dia, os valores de g_s permaneceram significativamente baixos (Fig. 1a).

Os valores de CRAMD tiveram diferenças significativas a partir do 17º dia, com os valores mais baixos no 35º dia ($39,05 \pm 6,60$) para plantas sob déficit hídrico (Tabela 1). O $\Psi_{\text{H}_2\text{O}} \text{ solo}$ apresentou diferenças significativas a partir do 9º dia, com os menores valores no 35º dia ($-10,55 \pm 0,92$). Até o 21º dia, o $\Psi_{\text{H}_2\text{O}} \text{ folha}$ no *predawn* e no *midday* foram iguais. Contudo, nos 28º e 35º dias, os valores do $\Psi_{\text{H}_2\text{O}} \text{ folha}$ em ambos os períodos de coleta do TDH apresentaram valores significativamente baixos. Para *C. zedoaria*, até o 21º dia, mesmo com o teor de água no solo inferior à 20%, o CRAMD, o $\Psi_{\text{H}_2\text{O}} \text{ folha PD}$ e o $\Psi_{\text{H}_2\text{O}} \text{ folha MD}$ mantiveram seus valores. O fechamento parcial dos estômatos pode ser o primeiro fator que contribui com a manutenção do estado hídrico nas folhas. O segundo fator pode ser o alto $\Psi_{\text{H}_2\text{O}} \text{ rizoma}$ em ambos os tratamentos ($-0,52 \pm 0,23$ para o TC e $-0,50 \pm 0,22$ para o TDH, $p=0,901$), mesmo no 35º dia de deficiência hídrica.

2. Etapa fotoquímica

Somente após o 10º dia houveram diferenças significativas nos valores de F_v/F_m (Fig. 1b). Até o 17º dia, os valores de F_v/F_m ainda são elevados, mas a partir do 21º DAT houve declínio dessa variável. Os valores de F_o do TDH são significativamente altos a partir do 21º dia (Fig. 1c) e somente nos 10º e 21º dias os valores de F_m para TDH foram significativamente baixos (Fig. 1d).

Os valores do *quenching* fotoquímico (qP) e da taxa de transporte de elétrons (ETR) das plantas no TDH diminuíram, mas somente nos 21º e 28º dias esse decréscimo foi

significativo (Tabela S3). A eficiência de excitação ($Y(II)/qP$) apresentou diferenças significativas somente nos 28° e 35° dias (Fig. 1e). O rendimento do fotossistema II ($Y(II)$) teve queda significativa a partir do 13° dia (Fig. 1f) e a dissipação regulada ($Y(NPQ)$) teve queda significativa no 10°, 21°, 28° e 35° dias (Fig. 1g). A dissipação não-regulada ($Y(NO)$) aumentou significativamente a partir do 10° dia (Fig. 1h).

Conforme as plantas de *C. zedoaria* do TC foram apresentando sinais visuais de perda da parte aérea, os valores de Fv/Fm , Fm , $Y(II)/qP$ (Fig. 1), ETR (Fig. S2) e qP (Fig. S3) sofreram queda. Contudo, os valores de Fo se mantiveram baixos, indicando funcionamento ótimo do PSII (Fig. 1c). Além disso, a queda de $Y(II)$, $Y(NPQ)$ e o aumento de $Y(NO)$ foram acentuadas quando comparadas com as plantas que sofreram restrição hídrica (Fig. 1). Dessa forma, os ajustes metabólicos expressos pelas quedas nos valores de Fv/Fm , qP , ETR , $Y(II)/qP$, $Y(II)$, $Y(II)/qP$ e Fm devem auxiliar na manutenção da performance fotoquímica nas plantas que não passaram por deficiência hídrica.

3. Bioquímica dos açúcares e do amido nos rizomas

Em nenhum dos momentos de coleta, a dinâmica nas concentrações de glicose e frutose nos rizomas dessas plantas foi significativa (Fig. 1a). Contudo, no 99° dia houve queda significativa nos teores de sacarose entre o TC e o tratamento reidratado (TR) (Fig. 2b). Durante o déficit hídrico, a diminuição nas concentrações de amido foi significativa, mas no 99° dia houve aumento significativo nas suas concentrações em plantas do TR (Fig. 2c). Logo, as reservas energéticas sob a forma de amido nos rizomas dessas plantas foram degradadas pelo efeito da falta de água. Mas após 64 dias de reidratação, os rizomas de plantas que passaram pela experiência de déficit hídrico em contato com a água aumentaram significativamente as concentrações de amido (Fig. 2c).

Discussão

1. A modulação do metabolismo de *C. zedoaria* confere tolerância ao déficit hídrico, mas não impede a entrada da dormência

C. zedoaria apresentou tolerância à falta de água no ambiente, uma vez que a condição de hidratação dos tecidos se alterou somente após o 21° dia. O nível do potencial da água nos tecidos caracteriza o balanço hídrico da planta (Kudoyarova *et al.*, 2013). Um fator-chave para a manutenção do estado hídrico dos tecidos foliares é a presença de água nos rizomas (valores altos de Ψ_{H_2O} rizoma). Logo, o armazenamento de água no rizoma pode auxiliar na manutenção do estado hídrico favorável nas folhas e, conseqüentemente, manter o rendimento fotoquímico das plantas. Além disso, o Ψ_{H_2O} rizoma elevado também indica que essas estruturas

de resistência, os rizomas, acumulam água com a finalidade de enfrentar condições adversas do ambiente.

Além da presença de água nos rizomas, a condutância estomática é outro fator que responde à deficiência hídrica. O Ψ_{H_2O} das folhas (*predawn* e *midday*) e o CRA_{MD} de plantas sob déficit hídrico tiveram valores altos até o 21º dia, fato que confere manutenção da homeostase. A correlação positiva entre a condutância estomática e o CRA confirma que a regulação estomática mantém o conteúdo de água nos tecidos foliares em plantas sob deficiência hídrica (Thameur *et al.*, 2012). Na ausência de chuvas, a queda do potencial da água do solo cria dificuldades para a manutenção do balanço hídrico (Kudoyarova *et al.*, 2013). Isso força a planta a reduzir suas taxas de transpiração, fechando parcialmente os estômatos, fornecendo economia no uso da água pela planta e manutenção dos estoques de água no solo (Kudoyarova *et al.*, 2013). Dessa forma, o primeiro fator a responder à falta de água no ambiente é o fechamento parcial dos estômatos. Como consequência desse mecanismo, há diminuição na perda excessiva de água elevando o CRA e junto à disponibilidade de água nos rizomas, haverá manutenção da parte aérea durante os momentos de déficit hídrico.

Devido a manutenção de água nos tecidos foliares em plantas sob deficiência hídrica, a performance fotoquímica também é mantida, visto por sua manutenção até o 17º dia. Os valores de F_v/F_m ainda são elevados mesmo sob desidratação moderada, provavelmente, pelos valores efetivos de qP e ETR (Rakić *et al.*, 2015). Os autores também ressaltam que a fração dos centros de reação do PSII ainda estão abertos (Q_A oxidada), apresentando eficiente distribuição da energia da luz entre os fotossistemas. Para *Bolboschoenus planiculmis* (F. Schmidt) T.V. Egorova sob déficit hídrico, a manutenção da eficiência fotoquímica é atribuída aos valores elevados de F_v/F_m e ETR (Huang *et al.*, 2013). Dessa forma, *C. zedoaria* modula seu metabolismo a fim de manter funcionamento metabólico ótimo, mesmo durante períodos de restrição hídrica.

Devido a manutenção de ETR e qP , há eficiência na excitação das clorofilas *a* e dessa forma, maior probabilidade de redução de Q_A e de transporte eletrônico. Atrelado à constância de qP e ETR até o 17º dia, a alteração dos valores de F_v/F_m , F_m e $Y(II)$ são ajustes fisiológicos que mantêm a performance fotossintética das plantas sob déficit hídrico. O decréscimo da eficiência do PSII pode refletir apenas um ajuste do PSII às diferentes frações de luz (Demmig-Adams *et al.*, 1996). O $Y(II)$ expressa a porção de luz utilizada na conversão fotoquímica e é o principal indicador da fixação de carbono (Ort and Baker, 2002). Logo, os valores de $Y(II)$ até o 17º dia expressam ótimo funcionamento da etapa fotoquímica da fotossíntese em *C. zedoaria*. O F_m expressa a impossibilidade da etapa fotoquímica e é usado

para detectar perturbações metabólicas nas folhas (Ort and Baker, 2002). Assim, a queda de seus valores durante o déficit hídrico indicaria ajuste metabólico que auxilia na promoção da manutenção da performance fotoquímica. Além disso, a manutenção de *ETR* está relacionada com o aumento da atividade de fontes de consumo alternativo de energia, como o CO_2 e O_2 , mantendo a performance fotossintética (Ort and Baker, 2002; Mantoan *et al.*, 2015).

Apesar disso, mesmo com os ajustes na dissipação alternativa do excesso de energia nos fotossistemas e na manutenção do estado hídrico, *C. zedoaria* apresentou desequilíbrio na fluorescência da clorofila *a* após o 17º dias de deficiência hídrica. Quando o déficit hídrico é severo, o decréscimo no uso de ATP e de NADPH no metabolismo fotossintético não será compensada pelas elevações na ciclagem da água e na fotorrespiração, causando decréscimo na eficiência operacional do PSII (Baker and Rosenqvist, 2004). A queda de *qP*, *ETR* e *Fv/Fm* em plantas sob deficiência hídrica indicam maior número de centros de reação do PSII fechados (Q_A reduzida) e inibição da atividade fotoquímica (Rakić *et al.*, 2015). Além disso, a dessecação também causa quedas de *Y(II)*, *Y(NPQ)* e *ETR*, indicando que o transporte eletrônico é afetado e a dissipação do excesso de energia não ocorre de forma eficiente (Moustakas *et al.*, 2011). Dessa forma, haverá decréscimo no potencial máximo do transporte de elétrons e subsequente queda na capacidade de prevenir danos no PSII (Li *et al.*, 2008).

O aumento nos valores de *Fo* indicam possíveis danos na proteína D1 no PSII (Ort and Baker, 2002; Mantoan *et al.*, 2015). Além disso, *Y(NPQ)* está relacionado com o funcionamento do ciclo das xantofilas e *Y(NO)* com a perda basal de energia sob a forma de calor ou fluorescência, quando os centros de reação do PSII estão fechados (Klughammer and Scriber, 2008). Dessa forma, quedas de *Y(NPQ)* e aumento de *Y(NO)* indicam a inabilidade de planta se proteger contra o excesso de luz (Wang *et al.*, 2013) e também indicam danos no aparato fotoquímico (Klughammer and Scriber, 2008). Portanto, a elevação de *Y(NO)* e a redução de *Y(NPQ)* expressam o mal funcionamento do aparato fotoquímico e indicam queda na performance fotoquímica. Além disso, a desregulação na etapa fotoquímica da fotossíntese ocasionada pela deficiência hídrica trará consequências na formação das reservas energéticas sob a forma de amido.

O déficit hídrico leva a degradação de amido nos rizomas de *C. zedoaria*. Durante o dia, as folhas acumulam altos níveis de sacarose devido a atividade da fotossíntese (Wang *et al.*, 2001). Esse acúmulo facilita a ativação de enzimas que transformam a sacarose em amido e também auxiliam na redistribuição dos açúcares para tecidos-dreno (Wang *et al.*, 2001). Plantas sob déficit hídrico diminuem as concentrações internas de CO_2 (Flexas *et al.*, 2004; Cai *et al.*, 2010), levando à inibição da síntese de amido (Geigenberger *et al.*, 1997; Rizhsky *et al.*, 2004) e a degradação das reservas, aumentando a síntese de glicose (Lee *et al.*, 2008).

Conseqüentemente, o aumento na proporção de carboidratos solúveis atua na regulação osmótica dos tecidos (Morin *et al.*, 2007). As concentrações de sacarose e glicose de plantas sob déficit hídrico são altas (Fig. 2), indicando que a presença glicose/frutose e açúcares de translocação (sacarose) nos rizomas fato que mostra que houve translocação de açúcares oriundos da parte aérea para os tecidos dos rizomas. Isso confere recursos energéticos usados na manutenção do metabolismo nos rizomas, na redistribuição de açúcares para tecidos-dreno e na regulação osmótica dos tecidos dos rizomas o que elevaria os valores do potencial de água nesses tecidos, mesmo sob condições de deficiência hídrica (Tabela 1).

A parte aérea de *Curcuma zedoaria* (Christm.) Roscoe sob déficit hídrico morre após o 35º dia de deficiência hídrica, enquanto que plantas com hidratação constante perdem totalmente a sua parte aérea somente no 99º dia. Portanto, segundo os resultados, a deficiência hídrica acelera à entrada da dormência em rizomas de *C. zedoaria*. A deficiência hídrica reduz o crescimento foliar e aumenta a alocação em valores de massa seca para a fração de raízes (Yin *et al.*, 2005) e a perda da parte aérea confere estratégia que evita a desidratação e otimiza a captação de carbono (Manzoni *et al.*, 2015). Assim, o investimento em órgãos de reserva, como os rizomas, e o mecanismo da dormência conferem vantagens adaptativas às condições desfavoráveis ao crescimento (Pumisutapon *et al.*, 2012). Além disso, a falta de água no ambiente eleva a síntese de etileno (Et), hormônio vegetal que controla a abscisão foliar e a degradação da clorofila (Fagan *et al.*, 2015), mecanismos que indicam a senescência das folhas. Provavelmente, o déficit hídrico gera sinais os quais alteram metabolicamente as plantas de *C. zedoaria*, elevando a síntese de hormônios vegetais que levam a senescência foliar e a perda da parte aérea. Como consequência, esses rizomas entrarão em dormência, resistindo à falta de água no ambiente.

2. Déficit hídrico e a história de vida da planta promovem ajustes metabólicos semelhantes à entrada da dormência

O déficit hídrico acelera os padrões temporais da etapa fotoquímica quando comparados com os padrões apresentados no ciclo normal de vida das plantas. Todas as variáveis que regem a fluorescência da clorofila *a* tiveram quedas nos seus valores em plantas totalmente irrigadas. Contudo, diferente de plantas que sofreram déficit hídrico, os valores de fluorescência basal (*F_o*) nas plantas sempre hidratadas se mantiveram constantes até momentos próximos da queda das folhas. Isso indica que a perda da parte aérea em plantas que não sofrem deficiência hídrica não apresentam danos no aparato fotoquímico, o qual funciona eficientemente até os momentos próximos da perda total das folhas. A senescência da parte aérea é um mecanismo que corresponde à fase final do desenvolvimento foliar (Guo

and Gan, 2005), desencadeando modificação estrutural dos cloroplastos (Quirino *et al.*, 2000) e levando a morte da folha. Durante a senescência foliar, a baixa regulação do PSII está relacionada com a queda de qP e $F'v/F'm$ (Lu *et al.*, 2001). Além disso, o bloqueio no transporte eletrônico entre Q_A e Q_B afeta o transporte de elétrons entre PSII e PSI e causa desequilíbrio no funcionamento do aparato fotoquímico (Mohapatra *et al.*, 2013).

Durante o ciclo normal de vida de plantas que apresentam dormência, a brotação das gemas ocorre no verão; o cessar do crescimento, a formação de gemas e a senescência e abscisão foliares ocorrem no outono; e a dormência ocorre no inverno (Rinne *et al.*, 2010; Ding and Nilsson, 2016). Além disso, a idade da folha, a regulação hormonal e os estresses ambientais controlam a senescência das folhas (Guo and Gan, 2005). Etileno (Et) e ácido Abscísico (ABA) são promotores da senescência, pois ativam uma série de respostas metabólicas da regulação oxidativa (Thomas and Ougham, 2014), levando a degradação e a queda das folhas. Para a dormência, ABA é requerido na indução da dormência (Anderson *et al.*, 2001; Suttle, 2007). Além disso, a falta de água influencia a síntese ABA (Anderson *et al.*, 2001), hormônio vegetal que aumenta a expressão de *DMR1/DRP*, um dos genes responsáveis pela entrada e manutenção da dormência (Rae *et al.*, 2013). Logo, apesar desses mecanismos apresentarem padrões metabólicos distintos, sob a ação da deficiência hídrica ou somente pela história de vida da planta, a sinalização química que causa a senescência e a dormência são semelhantes, fato expressado na fluorescência da clorofila *a*. Portanto, independente do evento que desencadeie a perda da parte aérea, o comportamento da etapa fotoquímica será semelhante.

Apesar dos rizomas de plantas que passaram por um histórico de deficiência hídrica apresentarem consumo de sua reserva energética, após a reidratação e a perda total da parte aérea, as reservas de amido são novamente formadas. Dessa forma, o contato da água, por mais de 60 dias, com rizomas de plantas que passaram por de deficiência hídrica mostram como a água disponível no solo atua fortemente no controle do metabolismo do amido nesses rizomas. Além disso, o aumento significativo nas concentrações de amido nos rizomas reidratados mostram que plantas que sofrem uma experiência de déficit hídrico têm acúmulo significativo de amido, o qual poderá ser utilizado de forma mais eficiente nos momentos favoráveis de rebrota. Durante o déficit hídrico, as reservas de amido são hidrolisadas e as concentrações de açúcares se elevam (Pandey *et al.*, 2010). Contudo, após a reidratação, os tecidos de raízes e caules jovens aumentam o conteúdo de amido, sugerindo que os assimilados das folhas são preferencialmente alocados para tecidos-dreno (An *et al.*, 2011). Para batatas, a formação de tubérculos é marcada pelo acúmulo de amido (Glaassens and Vreugdenhil, 2000) e esse processo também ocorre em estruturas subterrâneas até a queda

total das folhas (Bates *et al.*, 2002). Além disso, os níveis de amido são altos nos períodos de para-dormência e início da endo-dormência (Anderson *et al.*, 2005). Logo, independente dos fatores que conduzem à perda das folhas e a entrada da dormência, *C. zedoaria* apresenta mecanismos bioquímicos responsáveis pela síntese de novas reservas de amido nos rizomas.

Conclusões

Curcuma zedoaria (Christm.) Roscoe em condições de estresse hídrico apresentam tolerância ao estresse hídrico até o 17º dia de experimento, visto pela constância no estado hídrico e ajustes na fluorescência da clorofila *a*. Contudo, essas plantas não foram capazes de manter a regulação hídrica, culminando na perda precoce da parte aérea. Apesar disso, os rizomas das plantas totalmente irrigadas também entraram em dormência devido ao seu ciclo normal de vida, apresentando perda total da parte aérea. Sob essa perspectiva, a fluorescência da clorofila *a* apresenta padrão temporal semelhante durante a perda da parte aérea, tanto durante o ciclo normal de vida da planta, quanto no período de déficit hídrico. Logo, a regulação metabólica que ocorre no ciclo de vida dessa planta é acelerada pelo déficit hídrico. Além disso, enquanto o déficit hídrico causa a degradação das reservas de amido, após a reidratação e perda da parte aérea, o metabolismo nos rizomas dessas plantas retoma suas funções originais na formação dessas reservas. Essas novas reservas formadas serão utilizadas na retomada do crescimento da planta quando o ambiente for favorável.

Agradecimentos

Nós agradecemos à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e a FAPESP, nº processo 2010/15585-6.

Referencial bibliográfico

An Y-Y, Liang Z-S, Zhao R-K, Zhang J, Wang X-J. 2011. Organ-dependent responses of *Periploca sepium* to repeated dehydration and rehydration. *South African Journal of Botany* **77**, 446–454.

Anderson JV, Chao WS, Horvath DP. 2001. A current review on the regulation of dormancy in vegetative buds. *Weed Science* **49**, 581-589.

Anderson JV, Gesch RW, Jia Y, Chao WS, Horvath DP. 2005. Seasonal shifts in dormancy status, carbohydrate metabolism, and related gene expression in crown buds of leafy spurge. *Plant, Cell and Environment* **28**, 1567–1578.

Association of Official Analytical Chemists (AOAC). Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists. 12^a ed, Washington, 1975, p. 1094.

Baker NR, Rosenqvist E. 2004. Applications of chlorophyll fluorescence can improve crop production strategies: an examination of future possibilities. *Journal of Experimental Botany* **55**, 1607–1621.

Baker NR. 2008. Chlorophyll fluorescence: a probe of photosynthesis in vivo. *Annual Review of Plant Biology* **59**, 89–113.

Bates TR, Dunst RM, Joy P. 2002. Seasonal dry matter, starch, and nutrient distribution in ‘concord’ grapevine roots. *HortScience* **37**, 313-316.

Brasil. Resolução nº 12/78 da Comissão Nacional de Normas e Padrões para Alimentos. Aprova as normas técnicas especiais do Estado de São Paulo, revistas pela CNNPA, relativas a alimentos (e bebidas). *Diário Oficial*, Brasília, 24 de julho de 1978, Seção 1, pt I.

Cai Y-F, Zhang S-B, Hu H, Li SY. 2010. Photosynthetic performance and acclimation of *Incarvillea delavayi* to water stress. *Biologia Plantarum* **54**, 89–96.

Chokchaichamnankit D, Subhasitanont P, Paricharttanakul NM, Sangvanich P, Svasti J, Srisomsap C. 2009. Proteomic alterations during dormant period of *Curcuma longa* rhizomes. *Journal of Proteomics & Bioinformatics* **2**, 380-387.

Christiansen, MW, Gregersen, PL. 2014. Members of the barley NAC transcription factor gene family show differential co-regulation with senescence-associated genes during senescence of flag leaves. *Journal of Experimental Botany* **67**, 1-13.

Demmig-Adams B, Adams III WW, Barker DH, Logan BA, Bowling DR, Verhoeven AS. 1996. Using chlorophyll fluorescence to assess the fraction of absorbed light allocated to thermal dissipation of excess excitation. *Physiologia Plantarum* **98**, 253–264.

Demmig-Adams B, Adams III WW. 2000. Harvesting sunlight safely. *Nature* **403**, 373-374.

Ding J, Nilsson O. 2016. Molecular regulation of phenology in trees — because the seasons they are a-changin'. *Current Opinion in Plant Biology* **29**, 73–79.

Duarte B, Couto T, Marques JC, Caçador I. 2012. *Scirpus maritimus* leaf pigment profile and photochemistry during senescence: Implications on carbon sequestration. *Plant Physiology and Biochemistry* **57**, 238-244.

Duque, AF, Almeida AM, Silva AB, Silva JM, Farinha AP, Santos D, Fevereiro P, Araújo SS. 2013. Abiotic Stress Responses in Plants: Unraveling the Complexity of Genes and Networks to Survive, In: Vahdati K, Leslie C, eds *Abiotic Stress - Plant Responses and Applications in Agriculture*, InTech (Ed.), ISBN 978-953-51-1024-8, 49-101.

Elsheery NI, Cao EKF. 2008. Gas exchange, chlorophyll fluorescence, and osmotic adjustment in two mango cultivars under drought stress. *Acta Physiologiae Plantarum* **30**, 769-777.

Fagan EB, Ono EO, Rodrigues JD, Chalfun Júnior A, Dourado Neto D. 2015. *Fisiologia Vegetal: Reguladores Vegetais*. Editora Andrei, pp 300.

Flexas J, Bota J, Loreto F, Cornic G, Sharkey TD. 2004. Diffusive and metabolical limitations to photosynthesis under drought and salinity in C₃ plants. *Plant Biology* **6**, 269-279.

- Flexas J, Bota J, Galmés J, Medrano H, Ribas-Carbo M.** 2006. Keeping a positive carbon balance under adverse conditions: responses of photosynthesis and respiration to water stress. *Physiologia Plantarum* **127**, 343–352.
- Geigenberger P, Reimhlz R, Geiger M, Merlo L, Canale V, Stitt M.** 1997. Regulation of sucrose and starch metabolism in potato tubers in response to short-term water deficit. *Planta* **201**, 502–518.
- Glaassens MMJ, Vreugdenhil D.** 2000. Is dormancy breaking of potato tubers the reverse of tuber initiation? *Potato Research* **43**, 347-369.
- Guo Y, Gan S.** 2005 Leaf Senescence: Signals, Execution, and Regulation. *Current Topics in Developmental Biology* **71**, 83-112.
- Horvath DP, Anderson JV, Chao WS, Foley ME.** 2003. Knowing when to grow: signals regulating bud dormancy. *TRENDS in Plant Science* **8**, 534-540.
- Huang L, Peng Y-K, Li H-L, Zhang M-X, Luo F-L.** 2013. Effects of soil moisture regimes on growth and photosynthesis of the riparian plant *Bolboschoenus planiculmis*. *Forest Science and Practice* **15**, 105-113.
- International Organization for Standarzation.** *Nome Internationale: Dosage L'amidon*. Suisse, 1987, p 4. (ISO, 6647).
- Klar AE, Villa Nova NA, Marcos ZZ, Cervellini A.** 1966. Determinação da umidade do solo pelo método das pesagens. *Anais da Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz*, **23**, 15-30.
- Klughammer C, Screiber U.** 2008. Complementary PS II quantum yields calculated from simple fluorescence parameters measured by PAM fluorometry and the Saturation Pulse method. *PAM Application Notes* **1**, 27-35.
- Kudoyarova GS, Kholodova VP, Veselov DS.** 2013. Current state of the problem of water relations in plants under water deficit. *Russian Journal of Plant Physiology* **60**, 165–175.

Lee B-R, Jin Y-L, Jung W-J, Avice J-C, Morvan-Bertrand A, Ourry A, Park C-W, Kim T-H. 2008. Water-deficit accumulates sugars by starch degradation— not by de novo synthesis—in white clover leaves (*Trifolium repens*). *Physiologia Plantarum* **134**, 403–411.

Li QM, Liu B-B, Wu Y, Zou Z-R. 2008. Interactive effects of drought stresses and elevated CO₂ concentration on photochemistry efficiency of cucumber seedlings. *Journal of Integrative Plant Biology* **50**, 1307–1317.

Lobo R, Prabhu KS, Shirwaikar A, Shirwaikar A. 2009. *Curcuma zedoaria* Rosc. (white turmeric): a review of its chemical, pharmacological and ethnomedicinal properties. *Journal of Pharmacy and Pharmacology* **61**, 13-21.

Lu C, Lu Q, Zhang J, Kuang T. 2001. Characterization of photosynthetic pigment composition, photosystem II photochemistry and thermal energy dissipation during leaf senescence of wheat plants grown in the field. *Journal of Experimental Botany* **52**, 1805-1810.

Luo L-P, Yu Z-W, Wang D, Zhang Y-L, Shi Y. 2001. Effects of plant density and soil moisture on photosynthetic characteristics of flag leaf and accumulation and distribution of dry matter in wheat. *Acta Agronomica Sinica* **37**, 1049-1059

Mantoan LPB, Ferreira G, Boaro CSF. 2015. Chlorophyll a fluorescence in *Annona emarginata* (Schltdl.) H. Rainer plants subjected to water stress and after rehydration. *Scientia Horticulturae* **184**, 23–30.

Manzoni S, Vico G, Thompson S, Beyer F, Weih M. 2015. Contrasting leaf phenological strategies optimize carbon gain under droughts of different duration. *Advances in Water Resources* **84**, 37–51.

Martínez DE, Costa ML, Guiamet JJ. 2008. Senescence-associated degradation of chloroplast proteins inside and outside the organelle. *Plant Biology* **10**, 15-22.

Maxwell K, Johnson GN. 2000. Chlorophyll fluorescence - a practical guide. *Journal of Experimental Botany*, **51**, 659-668.

- Mohapatra PK, Joshi P, Ramaswamy NK, Raval MK, Biswal UC, Biswal B.** 2013. Damage of photosynthetic apparatus in the senescing basal leaf of *Arabidopsis thaliana*: A plausible mechanism of inactivation of reaction center II. *Plant Physiology and Biochemistry* **62**, 116-121.
- Morin X, Améglio T, Ahas R, Kurz-Besson C, Lanta V, Lebourgeois F, Miglietta F, Chuine I.** 2007. Variation in cold hardiness and carbohydrate concentration from dormancy induction to bud burst among provenances of three European oak species. *Tree Physiology* **27**, 817-825.
- Moustakas M, Sperdoui I, Kouna T, Antonopoulou C-I, Therios, I.** 2011. Exogenous proline induces soluble sugar accumulation and alleviates drought stress effects on photosystem II functioning of *Arabidopsis thaliana* leaves. *Plant Growth Regulator* **65**, 315-325.
- Nelson NA.** 1944. Photometric adaptation of the Somogyi method for the determination of glucose. *Journal of Biological Chemistry* **153**, 375-380.
- Ort D, Baker NR.** 2002. A photoprotective role for O₂ as an alternative electron sink in photosynthesis? *Current Opinion in Plant Biology* **5**, 193–198.
- Pandey V, Ranjan S, Deeba F, Panvey AK, Singh R, Shirke PA.** 2010. Desiccation-induced physiological and biochemical changes in resurrection plant, *Selaginella bryopteris*. *Journal of Plant Physiology* **167**, 1351–1359.
- Patty L, Halloy SRP, Hiltbrunner E, Körner C.** 2010. Biomass allocation in herbaceous plants under grazing impact in the high semi-arid Andes. *Flora* **205**, 695-703.
- Pumisutapon P, Visser RGF, De Klerk G-J.** 2012. Moderate abiotic stresses increase rhizome growth and outgrowth of axillary buds in *Alstroemeria* cultured in vitro. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* **110**, 395–400.
- Quirino BF, Noh Y-S, Himelblau E, Amasino RM.** 2000. Molecular aspects of leaf senescence. *TRENDS in Plant Science* **5**, 278-282.

Rae GM, David K, Wood M. 2013. The dormancy marker *DRMI/ARP* associated with Dormancy but a broader Role *in planta*. *Developmental Biology Journal* **2013**, 1-12.

Rakić T, Gajić G, Lazarević M, Stevanović B. 2015. Effects of different light intensities, CO₂ concentrations, temperatures and drought stress on photosynthetic activity in two paleoendemic resurrection plant species *Ramonda serbica* and *R. nathaliae*. *Environmental and Experimental Botany* **109**, 63–72.

Rinne, PLH, Welling, A, van der Schoot, C. 2010. Perennial Life Style of *Populus*: Dormancy Cycling and Overwintering. In: Jasson S, Bhalerao R, Groover A. eds. *Genetics and Genomics of Populus*. Ed. Springer, New York, 171-200.

Ríos G, Leida, C, Badenes ML. 2014. Epigenetic regulation of bud dormancy events in perennial plants. *Frontiers in Plant Science* **5**, 1-6.

Rizhsky L, Liang H, Shuman J, Shulaev V, Davletova S, Mittler R. 2004. When defense pathways collide. The response of arabidopsis to a combination of drought and heat stress. *Plant Physiology* **134**, 1683-1696.

Rohde A, Bhalerao RP. 2007. Plant dormancy in the perennial context. *TRENDS in Plant Science* **12**, 217-223.

Shinobu-Mesquita CS, Bertoni TA, Guilhermetti E, Svidzinski TIE. 2011. Antifungal activity of the extract of *Curcuma zedoaria* against yeasts of the genus *Candida* isolated from the oral cavity of patients infected with the human immunodeficiency virus. *Brazilian Journal of Pharmacognosy* **21**, 128-132.

Smart RE, Bingham GE. 1974. Rapid estimates of relative water content. *Plant Physiology* **53**, 258-260.

Somogyi M. 1945. Determination of blood sugar. *Journal of Biological Chemistry* **160**, 69-73.

Souza GM, Luetttge U. 2015. Stability as a Phenomenon Emergent from Plasticity Complexity Diversity in Eco-Physiology. *Progress in Botany* **76**, 211-239.

Stitt M, Zeeman SC. 2012. Starch turnover: pathways, regulation and role in growth. *Current Opinion in Plant Biology* **15**, 282–292.

Suttle JC. 2007. Dormancy and Sprouting. In: Vreugdenhil D. eds. *Potato Biology and Biotechnology: Advances and Perspectives*. Elsevier B.V., 287-309.

Tetlow IJ, Emes MJ. 2011. Starch Biosynthesis in Higher Plants: The Enzymes of Starch Synthesis. In: Murray Moo-Young ed. *Comprehensive Biotechnology*. Elsevier, 47-65.

Thameur A, Lachiheb B, Ferchichi A. 2012. Drought effect on growth, gas exchange and yield, in two strains of local barley Ardhaoui, under water deficit conditions in southern Tunisia. *Journal of Environmental Management* **113**, 495–500.

Thomas H, Ougham H. 2014. The stay-green trait. *Journal of Experimental Botany* **65**, 3889-3900.

Varone L, Ribas-Carbo M, Cardona C, Gallé A, Medrano H, Gratani L, Flexas J. 2012. Stomatal and non-stomatal limitations to photosynthesis in seedlings and saplings of Mediterranean species pre-conditioned and aged in nurseries: Different response to water stress. *Experimental and Environmental Botany* **75**, 235-247.

Wang S-J, Yeh K-W, Tsai C-Y. 2001. Regulation of starch granule-bound starch synthase I gene expression by circadian clock and sucrose in the source tissue of sweet potato. *Plant Science* **161**, 635-644.

Wisniewski M, Norelli J, Artlip T. 2015. Overexpression of a peach CBF gene in apple: a model for understanding the integration of growth, dormancy, and cold hardiness in woody plants. *Frontiers in Plant Science* **6**, 1-13.

Yadollahi A, Arzani K, Ebadi A, Wirthensohn M, Karimi S. 2001. The response of different almond genotypes to moderate and severe water stress in order to screen for drought tolerance. *Scientia Horticulturae* **129**, 401-413.

Yin C, Wang X, Duan X, Luo J, Li C. 2005. Early growth, dry matter allocation and water use efficiency of two sympatric *Populus* species as affected by water stress. *Environmental*

and Experimental Botany **53**, 315–322.

Zribi L, Fatma G, Fatma R, Salwa R, Hassan N, Néjib RM. 2009. Application of chlorophyll fluorescence for the diagnosis of salt stress in tomato “*Solanum lycopersicum* (variety Rio Grande)”. *Scientia Horticulturae* **120**, 367-372.

Tabelas

Tabela 1: Variáveis fisiológicas (Média±DP) que compõem o estado hídrico das plantas de *C. zedoaria* durante o período de déficit hídrico.

		Ψ água folha (Mpa)		Ψ água solo (Mpa)	CRA _{MD}	Ψ água rizoma (Mpa)
		Predawn	Midday			
Dia 0		-1,08 ± 0,15	-0,87 ± 0,07	-0,005 ± 0	-	-
Dia 9	Controle	-0,78 ± 0,33a	-1,1 ± 0,12a	-0,048 ± 0,05a	-	-
Dia 9	Déficit hídrico	-1,09 ± 0,38a	-1,43 ± 0,313a	-2,26 ± 0,71b	-	-
Dia 17	Controle	-0,93 ± 0,2a	-0,95 ± 0,31a	-0,005 ± 0a	92,85 ± 1,89a	-
Dia 17	Déficit hídrico	-0,95 ± 0,39a	-0,88 ± 0,21a	-9,03 ± 0,47b	81,10 ± 6,2b	-
Dia 21	Controle	-0,57 ± 0,34a	-0,87 ± 0,01a	-0,13 ± 0,2a	93,48 ± 0,68a	-
Dia 21	Déficit hídrico	-0,78 ± 0,18a	-0,95 ± 0,14a	-10,29 ± 1,74b	75,64 ± 9,76b	-
Dia 28	Controle	-0,79 ± 0,39a	-0,83 ± 0,11a	-0,10 ± 0,13a	91,72 ± 1,87a	-
Dia 28	Déficit hídrico	-1,82 ± 0,42b	-2,47 ± 0,71b	-9,67 ± 0,51b	55,45 ± 19,15b	-
Dia 35	Controle	-0,79 ± 0,05a	-1,25 ± 0,47a	-0,13 ± 0,12a	93,69 ± 0,77a	-0,52 ± 0,23a
Dia 35	Déficit hídrico	-2,64 ± 0,84b	-3,16 ± 0,70b	-10,55 ± 0,92b	39,05 ± 6,60b	-0,50 ± 0,22a

* letras diferentes em cada variável, entre os tratamentos de um mesmo dia, indicam diferenças significativas ($p < 0,05$, Tukey). Ψ água folha: Potencial da água das folhas no *predawn* e no *midday*; Ψ água solo: Potencial da água do solo; CRA_{MD}: conteúdo relativo de água das folhas; Ψ água rizoma: Potencial da água dos rizomas.

Figuras

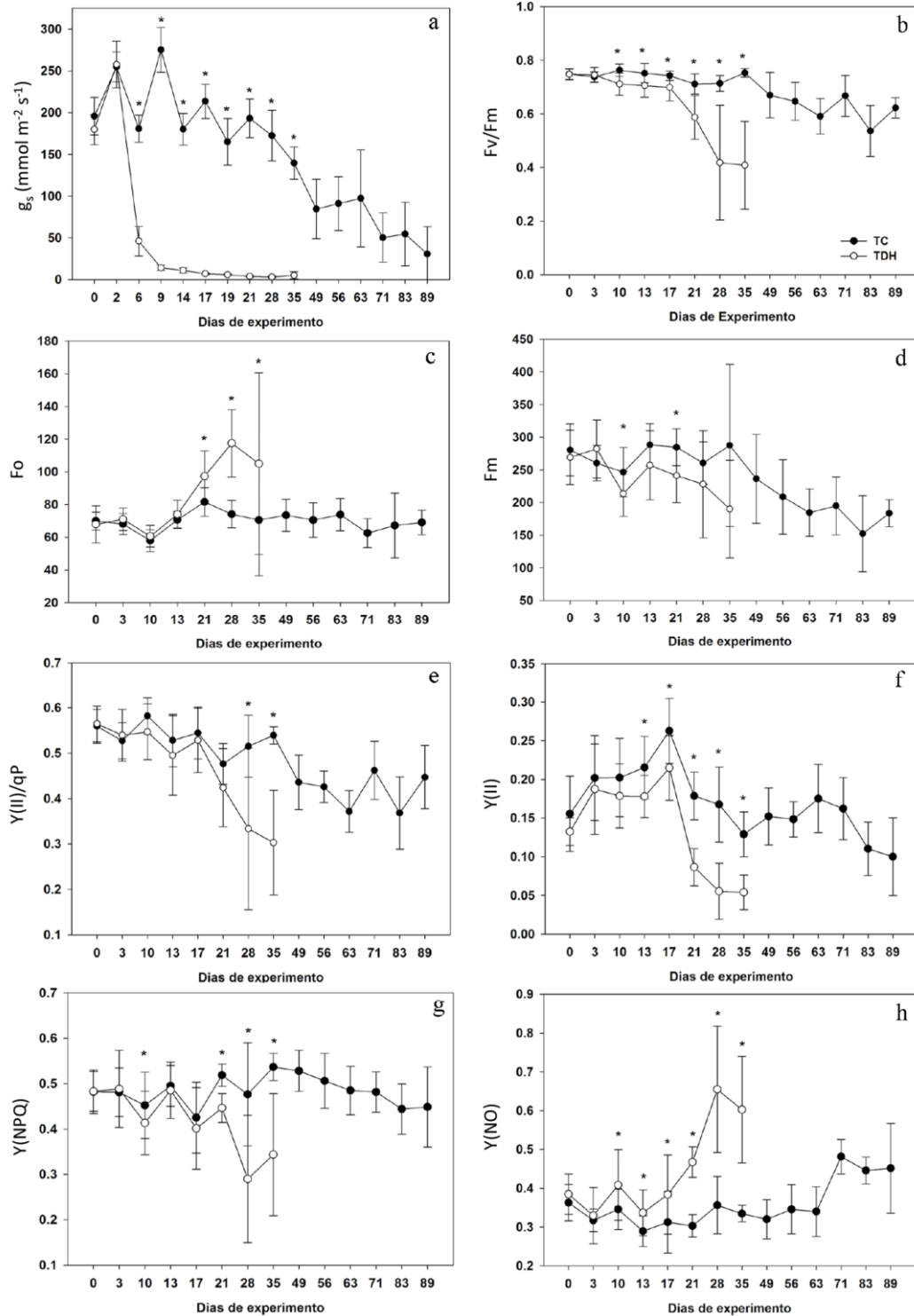


Figura 1: Variáveis fisiológicas mensuradas nas folhas de *Curcuma zedoaria* (Christm.) Roscoe. Condutância estomática (a), rendimento quântico máximo do PSII (b), fluorescência basal (c), fluorescência máxima (d), eficiência de excitação (e), rendimento quântico efetivo do PSII (f), rendimento quântico da perda regulada de energia não-fotoquímica do PSII (g) e rendimento quântico da perda não-regulada de energia não-fotoquímica do PSII (h) no tratamento controle (círculos pretos) e no tratamento sob déficit hídrico (círculos brancos). *indicam diferenças significativas pelo teste t ($p < 0,05$).

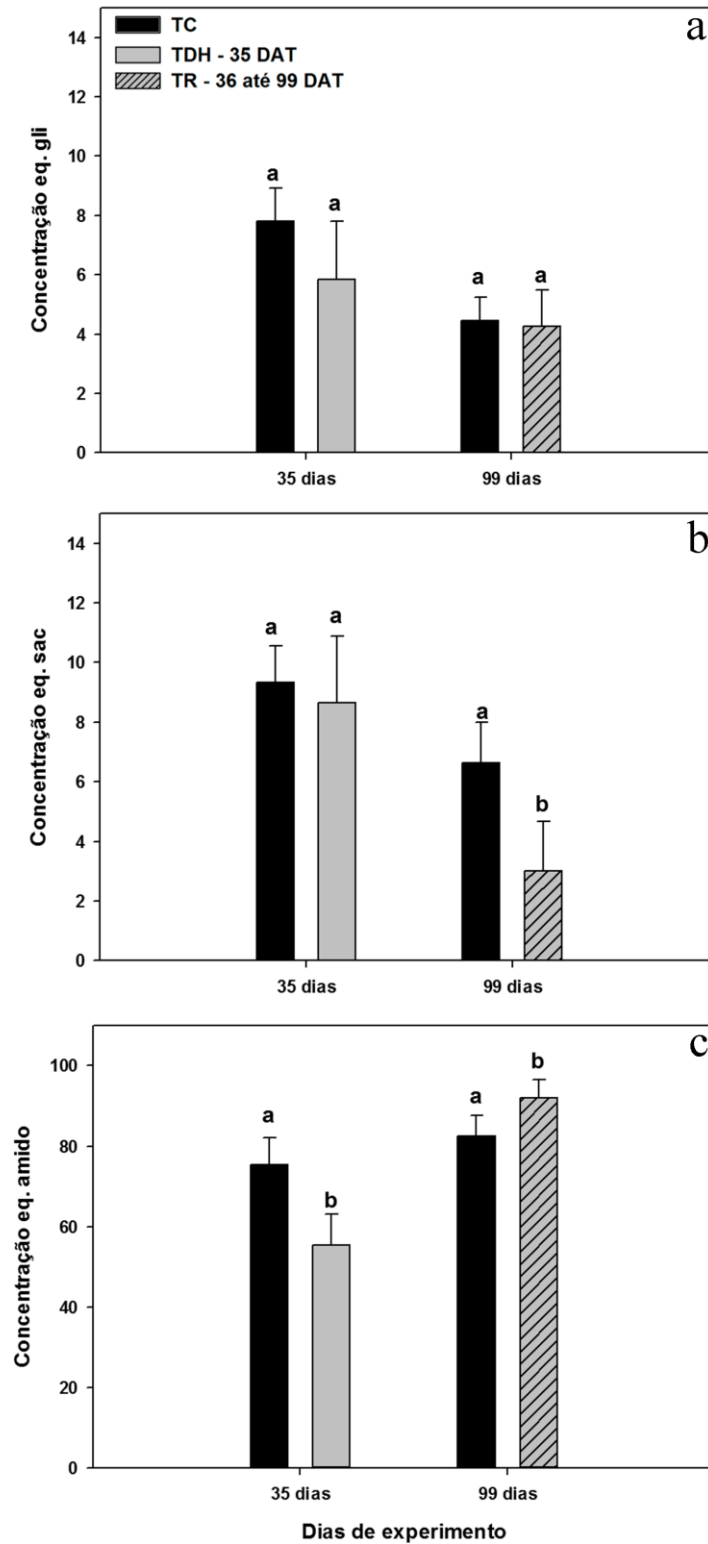


Figura 2: Concentração equivalente de glicose (a), concentração equivalente de sacarose (b) e concentração equivalente de amido (c) nos rizomas de *Curcuma zedoaria* (christm.) Roscoe, para os tratamentos controle (barras pretas), tratamento sob déficit hídrico (barras cinzas) e tratamento reidratado (barras cinzas tracejadas). *letras diferentes entre tratamentos de um mesmo dia (35º dia ou 99º dia) indicam diferenças significativas pelo teste t ($p < 0,05$).

Anexo

Material e Métodos

Pesagem dos vasos

A pesagem da massa de água dos vasos foi realizado pelo método da gravimetria (adaptado de Klar *et al.*, 1966; Varone *et al.*, 2012), pesando os vasos para obter sua massa ao longo do experimento ($M_{\text{tratamento}}$, corresponde a massa do vaso ao longo do experimento). A condição de máxima capacidade de retenção foi obtida após irrigação dos vasos até a percolação e descanso de 24 horas para que ocorresse a drenagem do excesso de água (Thameur *et al.*, 2012). A massa obtida após esse período foi considerada a massa de água na máxima capacidade de retenção ($M_{100\%}$). Utilizando dessas informações, o cálculo do teor de água no solo (Luo *et al.*, 2011) foi realizado pela seguinte fórmula:

$$TAS = (M_{\text{tratamento}} - M_{\text{solo seco}} / M_{\text{solo seco}}) \times 100$$

Onde: TAS: teor de água no solo; $M_{\text{tratamento}}$: massa de solo úmido obtido no dia; $M_{\text{solo seco}}$: massa de solo seco do vaso, anteriormente à colocação de água.

O tratamento controle (TC) apresentou valores de tensão de água entre 0,006 e 0,01. O resultado do TAS foi comparado com a curva de retenção de água do solo (LOPES, 2012), dado pela tabela abaixo:

Tensão (MPa)	0,001	0,003	0,006	0,01	0,03	0,1	0,5	1,5
Água Retida no solo (dm^3/dm^3)	0,46	0,34	0,24	0,17	0,16	0,14	0,13	0,12

Como se trata de uma planta de crescimento anual, após 30 dias de experimento, sacrificamos 3 plantas foram para obtermos a taxa de crescimento e ajustarmos os valores da leitura na balança.

Referencial Bibliográfico

Klar AE, Villa Nova NA, Marcos ZZ, Cervellini A. 1966. Determinação da umidade do solo pelo método das pesagens. Anais da Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, **23**, 15-30.

Lopes TC. 2012. Desenvolvimento inicial de plantas de *Eucalyptus platyphylla* irrigado, em diferentes níveis de salinidade. Masters thesis, Faculdade de Ciências Agronômicas, Universidade Estadual Paulista.

Luo L-P, Yu Z-W, Wang D, Zhang Y-L, Shi Y. 2001. Effects of plant density and soil moisture on photosynthetic characteristics of flag leaf and accumulation and distribution of dry matter in wheat. *Acta Agronomica Sinica* **37**, 1049-1059

Thameur A, Lachiheb B, Ferchichi A. 2012. Drought effect on growth, gas exchange and yield, in two strains of local barley Ardhaoui, under water deficit conditions in southern Tunisia. *Journal of Environmental Management* **113**, 495–500.

Varone L, Ribas-Carbo M, Cardona C, Gallé A, Medrano H, Gratani L, Flexas J. 2012. Stomatal and non-stomatal limitations to photosynthesis in seedlings and saplings of Mediterranean species pre-conditioned and aged in nurseries: Different response to water stress. *Experimental and Environmental Botany* **75**, 235-247.

Tabela S1: Análise física do substrato utilizado nos vasos que continham plantas de *Curcuma zedoaria* (Christm.) Roscoe.

	Areia			Argila	Silte	Umid.	Textura do solo	Balão Vol.	Torrão Imp.
	Grossa	Fina	Total						
			(g.Kg ⁻¹)			(%)		Partículas	Solo
Solo	----	----	633	322	45	----	Média	----	----

Tabela S2: Análise química do substrato utilizado nos vasos que continham plantas de *Curcuma zedoaria* (Christm.) Roscoe.

	pH	M.O.	P_{resina}	Al³⁺	H+Al	K	Ca	Mg	SB
	CaCl₂	g.dm⁻³	mg.dm⁻³	mmol_c.dm⁻³	mmol_c.dm⁻³	mmol_c.dm⁻³	mmol_c.dm⁻³	mmol_c.dm⁻³	mmol_c.dm⁻³
Solo	5,8	10	8	0	17	1,9	38	5	45

	CTC	V%	S	BORO	COBRE	FERRO	MANGANÊS	ZINCO
			mg.dm⁻³	mg.dm⁻³	mg.dm⁻³	mg.dm⁻³	mg.dm⁻³	mg.dm⁻³
Solo	62	72	9	0,10	1,1	15	0.4	0,7

* A matéria orgânica (M.O.) é estimada em g.dm⁻³; a P_{resina} é estimado em mg.dm⁻³

Tabela S3: Valores da assíntota máxima da taxa de transporte de elétrons (*ETR*) e do *quenching* fotoquímico (*qP*) para plantas de *C. zedoaria* durante a deficiência hídrica.

		<i>ETR</i>	<i>R</i> ²	<i>p</i>	<i>qP</i>	<i>R</i> ²	<i>p</i>
Dia 0	Controle	77,0106	0,9785	0,112	0,4767	0,9757	0,885
	Défice hídrico	59,1126	0,9636		0,4629	0,9662	
Dia 3	Controle	107,1169	0,9855	0,543	0,6255	0,9708	0,997
	Défice hídrico	94,5584	0,9722		0,6239	0,9607	
Dia 10	Controle	104,7181	0,9758	0,583	0,6217	0,9653	0,519
	Défice hídrico	91,2018	0,9799		0,5941	0,961	
Dia 13	Controle	113,8067	0,9778	0,515	0,6932	0,9588	0,128
	Défice hídrico	103,2771	0,9702		0,6453	0,947	
Dia 17	Controle	174,2742	0,9768	0,063	0,7348	0,9236	0,556
	Défice hídrico	116,0189	0,9787		0,7155	0,961	
Dia 21	Controle	85,4329	0,9887	<0,001	0,6402	0,9493	<0,001
	Défice hídrico	40,2421	0,9435		0,4407	0,9233	
Dia 28	Controle	79,132	0,9751	<0,001	0,5552	0,9545	0,022
	Défice hídrico	23,0088	0,8831		0,4163	0,9532	
Dia 35	Controle	58,9811	0,954	0,343	0,5198	0,9481	0,065
	Défice hídrico	34,155	0,9608		0,3257	0,7743	

* valores de $p < 0,05$ indicam diferenças significativas (teste de Tukey).

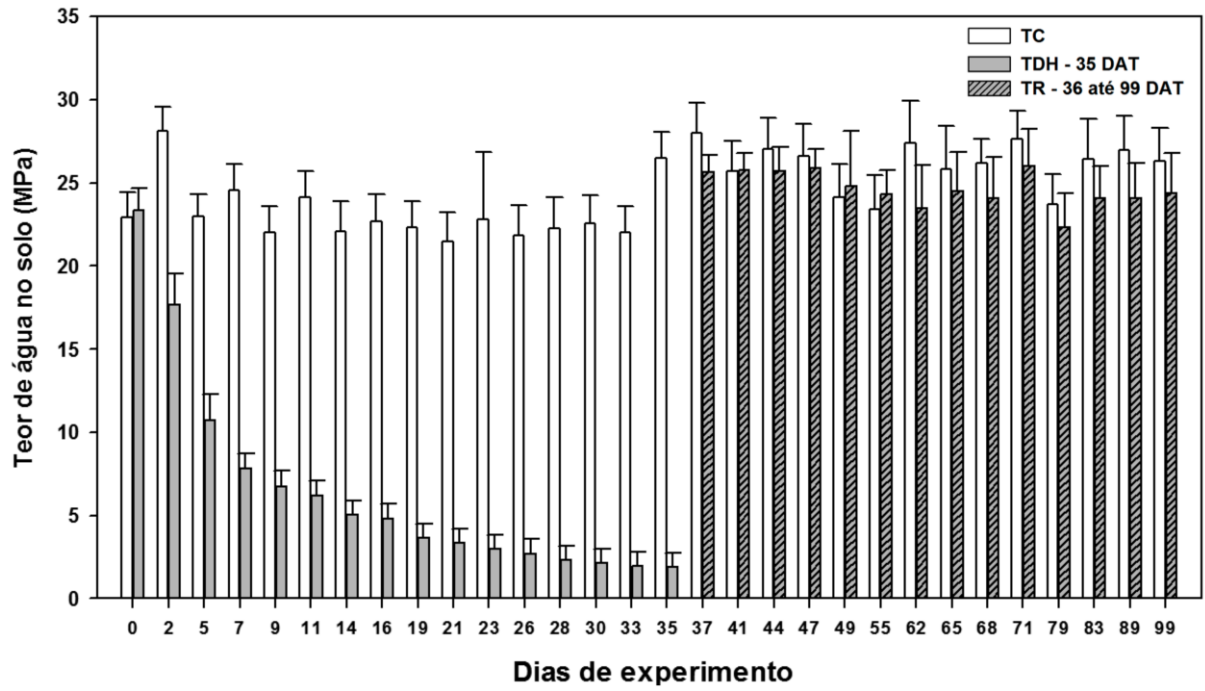


Figura S1: Teor de água no solo (Média±DP) das plantas de *Curcuma zedoaria* (Christm.) Roscoe ao longo dos dias de experimento para o controle (barras brancas), tratamento sob déficit hídrico até o 35º dia (barras cinzas) e tratamento reidratado, do 36º dia até o 99º dia (barras cinzas tracejadas).

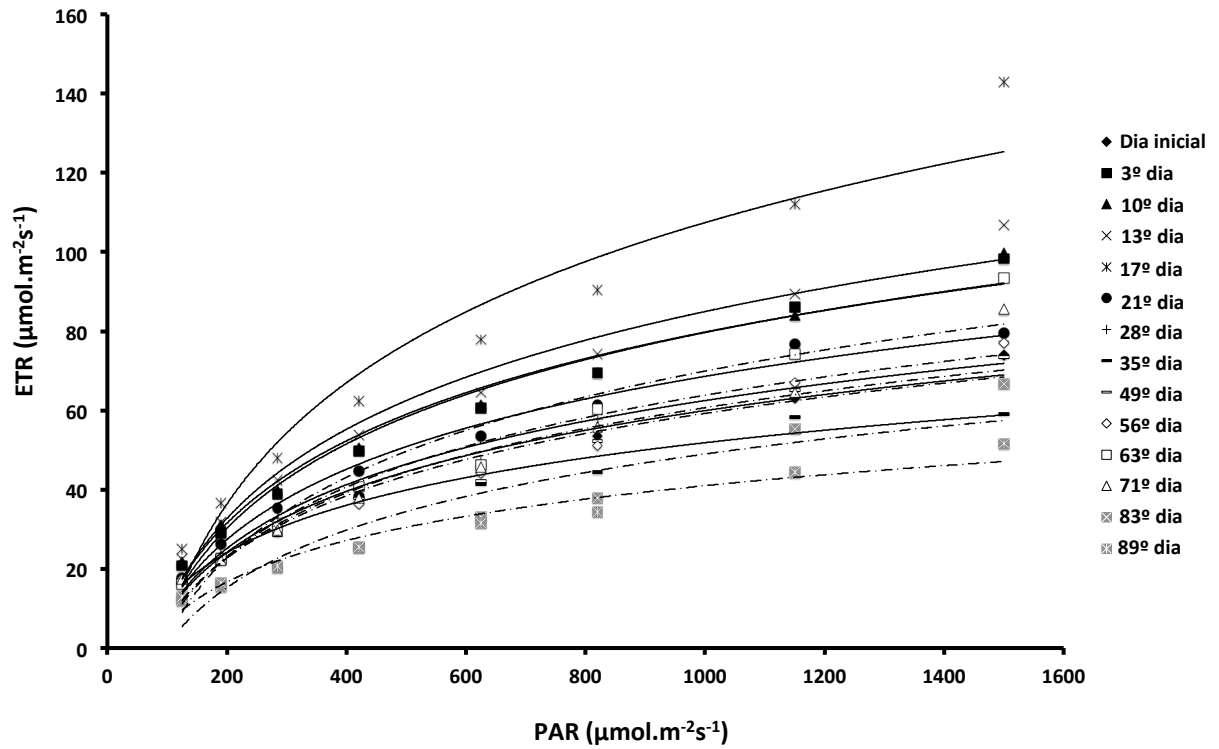


Figura S2: Taxa de transporte de elétrons (*ETR*) em *C. zedoaria* do tratamento controle ao longo dos dias de tratamento. As linhas pretas da regressão linear indicam dias mais distantes da perda da parte aérea e as linhas tracejadas indicam os dias mais próximos da perda total da parte aérea.

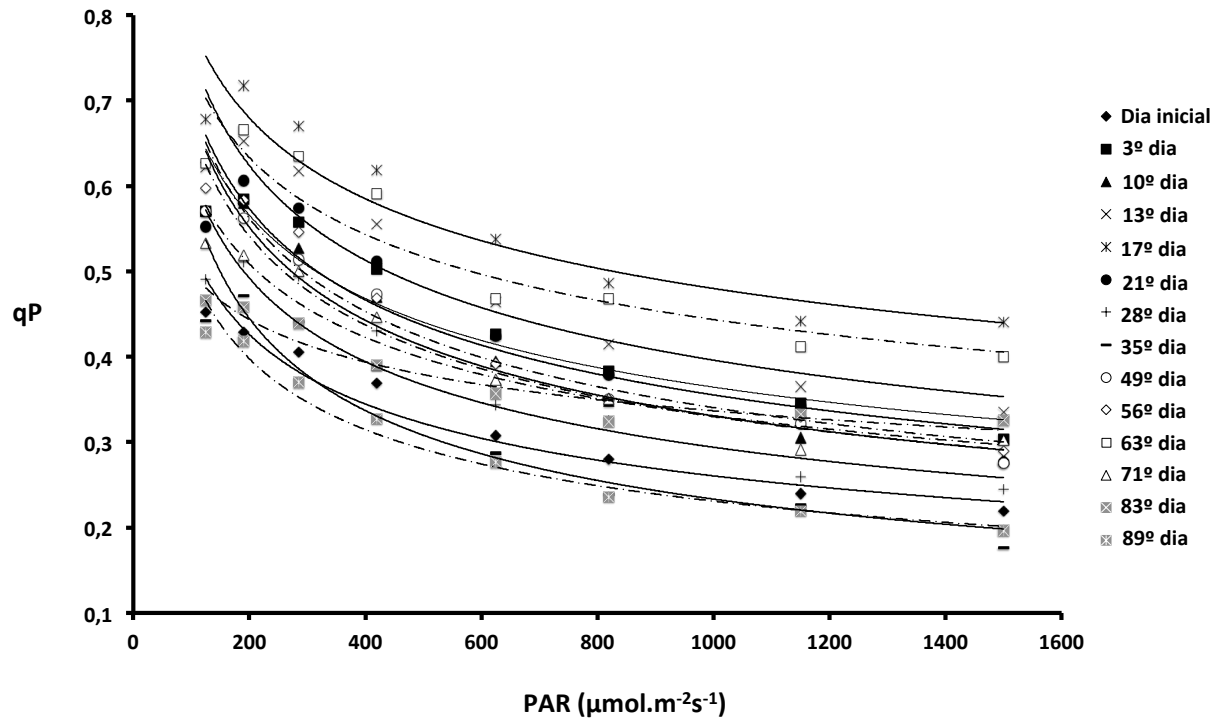


Figura S3: Quenching fotoquímico (qP) em *C. zedoaria* do tratamento controle ao longo dos dias de tratamento. As linhas pretas da regressão linear indicam dias mais distantes da perda da parte aérea e as linhas tracejadas indicam os dias mais próximos da perda total da parte aérea.

V-CONSIDERAÇÕES FINAIS

O mecanismo da dormência em *Curcuma zedoaria* (Christm.) Roscoe é controlado pelos reguladores vegetais, pela deficiência hídrica e pelo seu ciclo de vida. Durante a superação da dormência, cinetina (Kt) apenas mantém o crescimento ótimo dos rizomas, mas causa modificações no perfil químico volátil. As drásticas alterações nas proporções relativas dos mono e sesquiterpenos são relacionados com a ação de Kt no controle do crescimento e na disponibilização de açúcares. Em contrapartida, as altas concentrações de ethephon atrasam o crescimento dos rizomas após a superação da dormência. Apesar disso, sua sinalização não atrasa o perfil químico volátil, mas aumenta a produção de sesquiterpenos oxigenados e diminui a produção de hidrocarbonetos monoterpênicos. Logo, ethephon e cinetina expressaram padronizações distintas no perfil metabólico volátil. A novidade desse estudo é a dinâmica na produção de substâncias voláteis nos rizomas após a superação da dormência. Essa investigação abre novos horizontes sobre a ação dos reguladores vegetais na regulação do metabolismo da dormência e ao mesmo tempo, no metabolismo especializado. Outros estudos com foco no metaboloma dos rizomas dessa planta deverão ser realizados a fim de verificar quais as rotas de biossíntese de metabólitos especializados são influenciados direta e indiretamente, pela ação desses reguladores vegetais.

A segunda etapa dessa investigação tem como novidade a comprovação de que a deficiência hídrica força os rizomas de *C. zedoaria* a entrarem em dormência. Além disso, utilizamos da fluorescência da clorofila *a* como ferramenta para amostrar a interferência da deficiência hídrica e do ciclo de vida da planta na dinâmica do metabolismo vegetal. Chegamos a conclusão de que, independente do evento que desencadeie a perda da parte aérea, momento vital para o fechamento do ciclo de vida da planta, os padrões metabólicos expressos pela fluorescência da clorofila *a* e pela formação de reservas de amido serão semelhantes. Apesar disso, outras investigações deverão ser realizadas a fim de observar o aparecimento desses padrões em outras espécies. Além disso, o uso de outras ferramentas, como a modelagem matemática, podem extrapolar o que foi observado nesse estudo para outros táxons botânicos.

VI. REFERENCIAL BIBLIOGRÁFICO DA INTRODUÇÃO GERAL

ANDERSON. J.V.; CHAO. W.S.; HORVATJ. D.P. A current review on the regulation of dormancy in vegetative buds. **Weed Science**, v. 49, p. 581-589, 2001.

ASBJORNSEN. H.; GOLDSMITH. G.R.; ALVARADO-BARRIENTOS. M.S.; REBEL. K.; OSCH. F.P.V.; RIETKERK. M.; CHEN. J.; GOTSCH. S.; TOBÓN. C.; GEISSERT. D.R.; GÓMEZ-TAGLE. A.; VACHE. K.; DAWSON. T.E. Ecohydrological advances and applications in plant–water relations research: a review. **Journal of Plant Ecology**, v. 4, p. 3-22, 2011.

BABY, S.; RAJ, G.; THAHA, A.R.M.; DAN, M. Volatile chemistry of a plant: monosesquiterpenoid pattern in the growth cycle of *Curcuma haritha*. **Flavour and Fragrance Journal**, v. 25, p. 35–40, 2010.

BAKER. N.R.; ROSENQVIST. E. Applications of chlorophyll fluorescence can improve crop production strategies: an examination of future possibilities. **Journal of Experimental Botany**, v. 55 (403), p. 1607–1621, 2004.

BERTOLLI, S.C.; MAZZAFERA, P.; SOUZA, G.M. Why is it so difficult to identify a single indicator of water stress in plants? A proposal for a multivariate analysis to assess emergent properties. **Plant Biology**, n. 16 (3), p. 578-585, 2014.

DING, J.; NILSSON, O. Molecular regulation of phenology in trees — because the seasons they are a-changin'. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 29, p. 73–79, 2016.

DURYEA. M.L. **Proceedings: Evaluating seedling quality: principle. procedures and predictive abilities of major tests**. Workshop held October 16-18. 1984. Forest Research Laboratory. Oregon State University. Corvallis. ISBN 0-87437-000-0.

EPPEL. A.; KEREN. N.; SALOMON. E.; VOLIS. S.; RACHMILEVITCH. S. The response of *Hordeum spontaneum* desert ecotype to drought and excessive light intensity is characterized by induction of O₂ dependent photochemical activity and anthocyanin accumulation. **Plant Science**, v. 201-202, p.74-80, 2013.

EVIATAR-RIBAK, T., SHALIT-KANEH, A., CHAPPELL-MAOR, L., AMSELLEM, Z., ESHED, Y., LIFSCHITZ, E. A cytokinin-activating enzyme promotes tuber formation in tomato. **Current Biology**, v. 23, p. 1057-1064, 2013.

FAVARETTO, V.F.; MARTINEZ, C.A.; SORIANI, H.H.; FURRIEL, R.P.M. Differential responses of antioxidant enzymes in pioneer and late-successional tropical tree species grown under sun and shade conditions. **Environmental and Experimental Botany**, v. 70, p.20-28, 2011.

FAROOQI, A.H.A.; KHAN, A.; SHARMA, S. Effect of kinetin and chlormequat chloride on growth, leaf abscission and essential oil yield in *Mentha arvensis*. **Indian Perfumer**, v. 47 (4), p. 359-363, 2003.

FLEXAS, J.; BOTA, J.; GALMÉS, J.; MEDRANO, H.; RIBAS-CARBO, M. Keeping a positive carbon balance under adverse conditions: responses of photosynthesis and respiration to water stress. **Physiologia Plantarum**, v. 127, p. 343–352, 2006.

GASPAR, T.; FRANCK, T.; BISBIS, B.; KEVERS, C.; JOUVE, L.; HAUSMAN, J.F. DOMMES, J. Concepts in plant stress physiology. Application to plant tissue cultures. **Plant Growth Regulation**, v. 37, p. 263–285, 2002.

HORVATH, D.P.; ANDERSON, J.V.; CHAO, W.S.; FOLEY, M.E. Knowing when to grow: signals regulating bud dormancy. **TRENDS in Plant Science**, v.8, (11), p. 534-540, 2003.

KRAMER, M.; BUFLER, G.; ULRICH, D.; LEITENBERGER, M.; CONRAD, J.; CARLE, R., KAMMERER, D.R. Effect of ethylene and 1-methylcyclopropene on bitter compounds in carrots (*Daucus carota* L.). **Postharvest Biology and Technology**, v. 73, p. 28–36, 2012.

KUDOYAROVA, G.S.; KHOLODOVA, V.P.; VESELOV, D.S. Current state of the problem of water relations in plants under water deficit. **Russian Journal of Plant Physiology**, v. 60 (2), p. 165–175, 2013.

KUEHNY, J.S.; SARMIENTO, M.; PAZ, M.P.; BRANCH, P.C. Effect of light intensity, photoperiod and plant growth retardants on production of Zingiberacea as pot plants. **Acta Horticulturae**, v. 683, p. 145-154, 2005.

LALEL, H.J.D.; SINGH, Z.; TAN, S.C. Aroma volatiles production during fruit ripening of 'Kensington Pride' mango. **Postharvest Biology and Technology**, v. 27, p. 323-336, 2003.

LARCHER. W. **Ecofisiologia Vegetal**. Ed. RiMa Artes e Textos. São Carlos. 2000. p 341.

LOBO. R.; PRABHU. K.S.; SHIRWAIKAR. A.; SHIRWAIKAR A. *Curcuma zedoaria* Rosc. (white turmeric): a review of its chemical, pharmacological and ethnomedicinal properties. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 61, p. 13-21, 2009.

LU, C.; LU, Q.; ZHANG, J.; KUANG, T. Characterization of photosynthetic pigment composition, photosystem II photochemistry and thermal energy dissipation during leaf senescence of wheat plants grown in the field. **Journal of Experimental Botany**, v. 52, p. 1805-1810, 2001.

MOHAPATRA, P.K.; JOSHI, P.; RAMASWAMY, N.K.; RAVAL, M.K.; BISWAL, U.C.; BISWAL, B. Damage of photosynthetic apparatus in the senescing basal leaf of *Arabidopsis thaliana*: A plausible mechanism of inactivation of reaction center II. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 62, p. 116-121, 2013.

NAGY, Z.; NÉMET, E.; GUÓTH, A.; BONA, L.; WODALA, B.; PÉCSVÁRADI, A. Metabolic indicators of drought stress tolerance in wheat: Glutamine synthetase isoenzymes and Rubisco. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 67, p. 48 – 54, 2013.

ORT. D.; BAKER. N.R. A photoprotective role for O₂ as an alternative electron sink in photosynthesis? **Current Opinion in Plant Biology**, v. 5, p. 193–198, 2002.

PATTY. L.; HALLOY. S.R.P.; HILTBRUNNER. E.; KÖRNER, C. Biomass allocation in herbaceous plants under grazing impact in the high semi-arid Andes. **Flora**, v. 205, p. 695-703, 2010.

PRINS. C.L.; VIEIRA. I.J.C.; FREITAS. S.P. Growth regulators and essential oil production. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, v. 22 (2), p. 91-102, 2010.

PRINS. C.L.; FREITAS. S.P.; GOMES. M.M.A.; VIEIRA. I.J.C.; GRAVINE. G.A. Citral accumulation in *Cymbopogon citratus* plant as influenced by N6-benzylaminopurine and light intensity. **Theoretical and Experimental Plant Physiology**, v. 25 (2), p. 159-166, 2013.

PUMISUTAPON. P.; VISSER. R.G.F.; DE KLERK. G.-J. Moderate abiotic stresses increase rhizome growth and outgrowth of axillary buds in *Alstroemeria* cultured in vitro. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v. 110, p. 395–400, 2012.

PURKAYASTHA. J.; NATH. S.C.; KLINKBY. N. Essential oil of the rhizome of *Curcuma zedoaria* (Christm.) Rose. native to northeast India. **Journal of Essential Oil Research**, v. 18, p. 154-155, 2006.

QUIRINO, B.F.; NOH, Y.-S.; HIMELBLAU, E.; AMASINO, R.M. Molecular aspects of leaf senescence. **TRENDS in Plant Science**, v. 5, p. 278-282, 2000.

RAKIĆ. T.; GAJIĆ. G.; LAZAREVIĆ. M.; STEVANOVIĆ. B. Effects of different light intensities. CO₂ concentrations. temperatures and drought stress on photosynthetic activity in two paleoendemic resurrection plant species *Ramonda serbica* and *R. nathaliae*. **Environmental and Experimental Botany**, v. 109, p. 63–72, 2015.

RAE. G.M.; DAVID. K.; WOOD. M. The dormancy marker *DRM1/ARP* associated with dormancy but a broader role *in planta*. **Developmental Biology Journal**, v. 2013, p. 1-12, 2013.

RIAZ. T.; ABBASI. M.A.; REHMAN. A.-U.R.; SHAHZADI. T.; QURESHI. M.Z.; KLAN. K.M. Antioxidant activity and radical scavenging effects of various fractions from *Curcuma zedoaria*. **Asian Journal of Pharmaceutical and Biological Research**, v. 1, p. 525-533, 2011.

RÍOS. G.; LEIDA. C.; CONEJERO. A.; BANEDES. M.L. Epigenetic regulation of bud dormancy events in perennial plants. **Frontiers in Plant Science**, v. 5, p. 1-6, 2014.

RINNE, P.L.H.; WELLING, A.; VAN DER SCHOOT. C. 2010. Perennial Life Style of *Populus*: Dormancy Cycling and Overwintering. In: Jasson S, Bhalerao R, Groover A. eds. **Genetics and Genomics of Populus**. Ed. Springer, New York, 171-200.

RIZHSKY, L.; LIANG, H.; SHUMAN, J.; SHULAEV, V.; DAVLETOVA, S.; MITTLER, R. When defense pathways collide. The response of arabidopsis to a combination of drought and heat stress. **Plant Physiology**, v. 134, p. 1683-1696, 2004.

ROHDE. A.; BHALERAO. R.P. Plant dormancy in the perennial context. **TRENDS in Plant Science**, v. 12, p. 217-223, 2007.

SHAHRIAR. M. Antimicrobial activity of the rhizomes of *Curcuma zedoaria*. **Journal of Bangladesh Academy of Sciences**, v. 34, p. 201-203, 2010.

SOUZA. G. M.; LUETTGE. U. Stability as a Phenomenon Emergent from Plasticity Complexity Diversity in Eco-Physiology. **Progress in Botany**, v. 76, p. 211-239, 2015.

STITT, M.; ZEEMAN, S.C. Starch turnover: pathways, regulation and role in growth. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 15, p. 282–292, 2012.

SUTTLE. J.C. **Potato Biology and Biotechnology: Advances and Perspectives**. in: Dormancy and Sprouting. Elsevier B.V., Northern Crop Science Laboratory. 2007.

THOMAS, H.; OUGHAM, H. The stay-green trait. **Journal of Experimental Botany**, v. 65, p. 3889-3900, 2014

VARONE. L.; RIBAS-CARBO. M.; CARDONA. C.; GALLÉ. A.; MEDRANO. H.; GRATANI. L.; FLEXAS. J. Stomatal and non-stomatal limitations to photosynthesis in seedlings and saplings of Mediterranean species pre-conditioned and aged in nurseries: different response to water stress. **Environmental and Experimental Botany**, v. 75, p. 235–247, 2012.

YADOLLAHI, A.; ARZANI, K.; EBADI, A.; WIRTHENSOHN, M.; KARIMI, S. The response of different almond genotypes to moderate and severe water stress in order to screen for drought tolerance. **Scientia Horticulturae**, v. 129 (3), p. 401-413, 2011.